(12) **SØKNAD**

(19) NO (21) **20101692** (13) **A1**

NORGE

(51) Int Cl.
C07K 16/18 (2006.01)
C12P 21/08 (2006.01)
C12N 15/13 (2006.01)
A61K 39/395 (2006.01)

Patentstyret

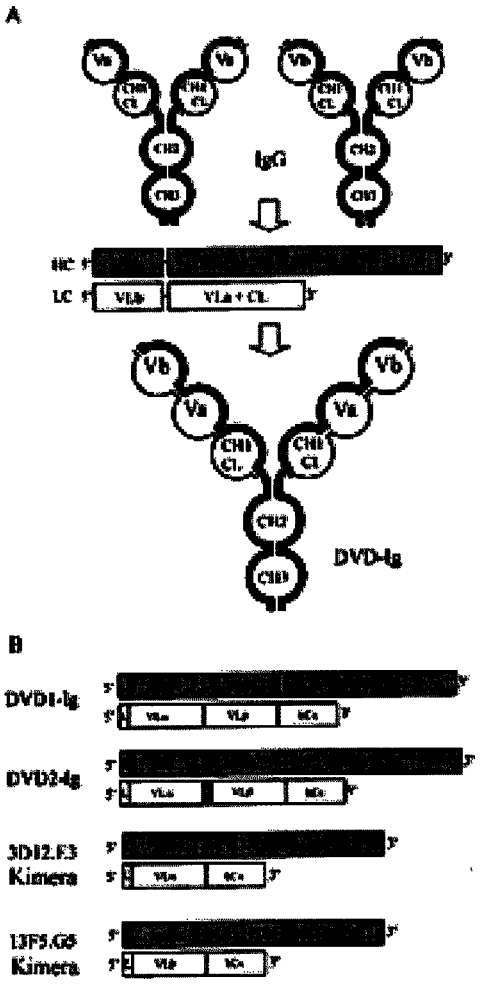
(21)	Søknadsnr	20101692	(86)	Int.inng.dag og søknadsnr	2009.06.03 PCT/US2009/046137
(22)	Inng.dag	2010.12.03	(85)	Videreføringsdag	2010.12.03
(24)	Løpedag	2009.06.03	(30)	Prioritet	2008.06.03, US, 61/130,817 2008.10.23, US, 61/197,172
(41)	Alm.tilgj	2011.03.03			

(73) Innehaver Abbott Laboratories, 100 Abbott Park Road, US-IL60064 ABBOTT PARK, USA
(72) Oppfinner Tariq Ghayur, 1014 Washington Street, US-MA01746 HOLLISTON, USA
Carolyn A Cuff, 23 Elliot Trail, US-MA01519 GRAFTON, USA
Peter C Isakson, 14 Hillside Avenue, US-MA01772 SOUTHBOROUGH, USA
Hamish J Allen, 14 Twin Spring Drive, US-MA01505 BOYLSTON, USA
Lisa M Olson, 4 Circle Drive, US-MA01748 HOPKINTON, USA
Chengbin Wu, 386 Prospect Street, US-MA01748 SHREWSBURY, USA
Margaret Hugunin, 7 Indian Path, US-MA01536 NORTH GRAFTON, USA
Rajesh V Kamath, 27 Redland Street, US-MA01545 SHREWSBURY, USA
(74) Fullmektig Oslo Patentkontor AS, Postboks 7007 Majorstua , 0306 OSLO, Norge

(54) Benevnelse **Immunoglobuliner med dobbelt-variabelt domene, og anvendelse derav**

(57) Sammendrag

Den foreliggende oppfinnelsen angår konstruerte multivalente og multispesifikke bindende proteiner, fremstillingsmetoder, og spesifikt til deres anvendelser i forhindring, diagnose, og/eller behandling av sykdom.



IMMUNOGLOBULINER MED TO VARIABLE DOMENER OG ANVENDELSER DERAV

Referanse til Beslektede Søknader

Denne søknaden er en ikke-provisorisk søknad som krever prioritet fra U.S. Provisorisk søknad serie nr.. 61/130,817, innlevert juni 3, 2008 og U.S. Provisorisk søknad serie nr.. 61/197,172, innlevert oktober 23, 2008, viss innhold er herved inkorporert ved referanse.

Teknisk område ifølge oppfinnelsen

Den foreliggende oppfinnelsen angår multivalente og multispesifikke bindende proteiner, fremstillingsmetoder, og spesifikt til deres anvendelser i diagnose, forhindring og/eller behandling av akutt og kronisk inflammatoriske sykdommer, kreft, og andre sykdommer.

Bakgrunnen for oppfinnelsen

Konstruerte proteiner, slik som multispesifikke antistoffer i stand til å binde to eller flere antigener er kjent i teknikken. Slike multispesifikke bindende proteiner kan bli fremstilt ved å bruke cellefusjon, kjemisk konjugering, eller rekombinante DNA-teknikker.

Bispesifikke antistoffer har blitt produsert ved å bruke "quadroma"-teknologi (se Milstein, C. og A.C. Cuello (1983) Natur 305(5934):537-40) basert på den somatiske fusjonen av to forskjellige hybridomen celle-linjer som uttrykker murine monoklonale antistoffer (mAb'er) med de ønskede spesifisitetene til det bispesifikke antistoffet. På grunn av den tilfeldige parringen av to forskjellige immunoglobulin (Ig) tung- og lettkjeder innenfor den resulterende hybrid–hybridoma (eller quadroma) celle-linjen, blir opptil ti forskjellige Ig-spesier fremstilt, av hvilke bare ett er et funksjonelt bispesifikt antistoff. Nærværet av feilparrede biprodukter, og betydelig reduserte produksjonsutbytter, betyr ved sofistikerte renseprosedyrer er nødvendig.

Bispesifikke antistoffer kan også bli produsert ved kjemisk konjugering av to forskjellige mAb'er (se Staerz, U.D., et al. (1985) Nature 314(6012): 628-31). Denne metoden gir ikke homogent preparat. Andre metoder har anvendt kjemisk konjugering av to forskjellige mAb'er eller mindre antistoff-fragmenter (se Brennan, M., et al. (1985) Science 229(4708): 81-3).

En annen metode anvendt for å produsere bispesifikke antistoffer er koblingen av to moder-antistoffer med en hetero-bifunksjonell krysslinker, men de resulterende bispesifikke antistoffene lider av betydelig molekylær heterogenitet fordi reaksjon av krysslinkeren med moder-antistoffene ikke er rettet mot et spesifikt sete. For å oppnå mer homogene preparater av bispesifikke antistoffer har to forskjellige Fab-fragmenter blitt kjemisk krysslinket ved deres hengselcystein-residuer på en seterettet måte (se Glennie, M.J., et al. (1987) J. Immunol. 139(7): 2367-75). Men denne metoden resulterer i Fab'2 fragmenter, ikke hele IgG-molekyl.

Et stort utvalg av andre rekombinante bispesifikke antistoff-formater har blitt utviklet (se Kriangkum, J., et al. (2001) Biomol. Eng. 18(2): 31-40). Blant dem tandem enkelt-kjede Fv molekyler og diabodier, og diverse derivater derav, er de mest vanlig anvendte. Rutinemessig starter konstruksjonen av disse molekyler fra to enkelt-kjede Fv (scFv) fragmenter som gjenkjenner forskjellige antigener (se Economides, A.N., et al. (2003) Nat. Med. 9(1): 47-52). Tandem scFv molekyler (taFv) representerer et enkelt format ved enkelt å koble de to scFv-molekylene med en ytterligere peptid-linker. de to scFv-fragmentene til stede i disse tandem scFv-molekylene danner separat foldete enheter. Diverse linkere kan bli anvendt for å knytte sammen de to scFv-fragmentene og linkere med en lengde på opp til 63 residuer (se Nakanishi, K., et al. (2001) Ann. Rev. Immunol. 19: 423-74). Selv om moder scFv-fragmentene kan normalt bli uttrykt i løselig form i bakterier, imidlertid er det ofte observert ved tandem scFv-molekylene danner uløselige aggregater i bakterier. Følgelig, refoldingsprotokoller eller anvendelsen av mammaliske uttrykkingssystemer er rutinemessig anvendt for å produsere løselige tandem scFv-molekyler. I et nylig studie, *in vivo* uttrykking av transgene kaniner og kyr av en tandem scFv rettet mot CD28 og et melanom-assosiert proteoglykan ble rapportert (se Gracie, J.A., et al. (1999) J. Clin. Invest. 104(10): 1393-401). I dette konstruksjon, the to scFv molekyler ble connected ved en CH1-linker og serumkonsentrasjoner på opp til 100 mg/L av det bispesifikke antistoffet ble funnet. Diverse strategier inkludert variasjoner i domenerekkefølgen eller ved å bruke midt-linkere med varierende lengde eller fleksibilitet ble anvendt for å tillate løselig uttrykking i bakterier. Noen få studier har nå rapportert uttrykking av løselige tandem scFv-molekyler i bakterier (se Leung, B.P., et al. (2000) J. Immunol. 164(12): 6495-502; Ito, A., et al. (2003) J. Immunol. 170(9): 4802-9; Karni, A., et al. (2002) J. Neuroimmunol. 125(1-2): 134-40) ved å bruke enten en veldig kort Ala3-linker eller lange glycin/serin-rike linkere. I et annet nylig studie, fag-fremvisning av et tandem scFv-repertoar inneholdende randomiserte midt-linkere med en lengde på 3 eller 6 residuer ble anvendt for å berike med de molekyler som blir produsert i løselig og aktiv form i bakterier. Denne metoden resulterte i isoleringen av et tandem scFv-molekyl med en linker med 6 aminosyreresiduer (se Arndt, M. og J. Krauss (2003) Methods Mol. Biol. 207: 305-21). Det er uklart om denne linker-sekvensen representerer en generell løsning på den løselige uttrykkingen av tandem scFv-molekylene. Iallefall demonstrerer dette studiet ved fag-fremvisning av tandem scFv-molekylene i kombinasjon med styrt mutagenese er er et kraftig verktøy for å berike med disse molekyler, som kan bli uttrykt i bakterier i en aktiv form.

Bispesifikke diabodier (Db) benytter seg av diabody-formatet for uttrykking. Diabodier blir produsert fra scFv-fragmenter ved å redusere lengden av linkeren som knytter VH- og VL-domenet til omtrent 5 residuer (se Peipp, M. og T. Valerius (2002) Biochem. Soc. Trans. 30(4): 507-11). Denne reduksjonen av linkerstørrelse legger til rette for dimerisering av to polypeptidkjeder ved kryssoverparring av VH- og VL-domener. Bispesifikke diabodier blir

produsert ved som uttrykker, to polypeptidkjeder med, enten strukturen VHA-VLB og VHB-VLA (VH-VL konfigurasjon), eller VLA-VHB og VLB-VHA (VL-VH konfigurasjon) innenfor den samme cellen. Et stort antall av forskjellige bispesifikke diabodier har blitt produsert tidligere og mesteparten av dem blir uttrykt i løselig form i bakterier. Imidlertid demonstrerer en nylig sammenligningsstudie ved retningen til de variabelt domenene kan påvirke uttrykking og dannelse av aktive bindingsseter (se Mack, M. et al.(1995) Proc. Natl. Acad. Sci. U S en 92(15): 7021-5). Allikevel representerer løselig uttrykking i bakterier en viktig fordel over tandem scFv-molekylene. Siden to forskjellige polypeptidkjeder blir uttrykt innenfor en enkelt celle kan imidlertid uaktive homodimerer bli produsert sammen med aktive heterodimerer. Dette nødvendiggjør innføringen av ytterligere rensetrinn for å oppnå homogene preparater av bispesifikke diabodier. En fremgangsmåte for å fremtvinge dannelsen av bispesifikke diabodier er produksjonen av "knapp-til-hull"-diabodier (se Holliger, P., T. Prospero, og G. Winter (1993) Proc. Natl. Acad. Sci. U S en 90(14): 6444-8.18). Denne metoden ble demonstrert for en bispesifikk diabody rettet mot HER2 og CD3. En stor "knapp" ble introdusert i VH-domenet ved å bytte ut Val37 med Fe og Leu45 med Trp og et komplementært hull ble produsert i VL-domenet ved å mutere Fe98 til Met og Tyr87 til Ala, enten i de anti-HER2- eller anti-CD3-variabelt domenene. Ved å bruke denne metoden kunne produksjonen av bispesifikke diabodier bli økt fra 72% ved hjelp av moder diabodien til over 90% ved "knapp-til-hull"-diabodien. Viktig nok synker produksjonsutbyttet bare såvidt som et resultat av disse mutasjoner. Imidlertid ble en reduksjon i antigen-bindingsaktivitet observert for flere konstruksjoner. Følgelig krever denne ganske omstendelige fremgangsmåten analysen av diverse konstruksjoner for å identifisere de mutasjoner som produserer heterodimere molekyl med uforandret bindingsaktivitet. I tillegg fordrer slike fremgangsmåter muteringsmodifikasjoner av immunoglobulin-sekvensen ved den konstante regionen, og danner følgelig ikke-iboende og unaturlige former av antistoffsekvensen, noe som kan resultere i økt immunogenitet, dårlig *in vivo* stabillitet, så vel som uønsket farmakokinetikk.

Enkelt-kjede diabodier (scDb) representerer en alternativ strategi for å forbedre dannelsen av bispesifikke diabody-lignende molekyler (se Holliger, P. og G. Winter (1997) Cancer Immunol. Immunother. 45(3-4): 128-30; Wu, A.M., et al. (1996) Immunoteknologi 2(1): p. 21-36). Bispesifikk enkelt-kjede diabodier blir produsert ved å koble de to diabody-dannende polypeptidkjedene med en ytterligere midt-linker med en lengde på omtrent 15 aminosyre-residuer. Følgelig, alle molekyler med en molekylvekt tilsvarende monomert enkelt-kjede diabodier (50-60 kDa) er bispesifikk. Flere studier har demonstrert ved bispesifikke enkelt-kjede diabodier blir uttrykt i bakterier i løselig og aktiv form med mesteparten av rensede molekyler tilstede som monomere (se Holliger, P. og G. Winter (1997) Cancer Immunol. Immunother. 45(3-4): 128-30; Wu, A.M., et al. (1996) Immunotechnol. 2(1): 21-36; Pluckthun, A. og P. Pack (1997)

Immunotechnol. 3(2): 83-105; Ridgway, J.B., et al. (1996) Protein Engin. 9(7): 617-21). Følgelig kombinerer enkelt-kjede diabodier fordelene til tandem scFvs (alle monomere er bispesifikke) og diabodier (løselig uttrykking i bakterier).

Mer nylig har diabodier blitt fusjonert til Fc for å generere mer Ig-lignende molekyler, gitt navnet di-diabodier (se Lu, D., et al. (2004) J. Biol. Chem. 279(4): 2856-65). I tillegg, multivalent antistoff konstruksjon omfattende to Fab-repetisjoner i tungkjedet til et IgG og i stand til å binde fire antigen-molekyler har blitt beskrevet (se WO 0177342A1, og Miller, K., et al. (2003) J. Immunol. 170(9): 4854-61).

Det eksisterer et behov i teknikken for forbedrede multivalente bindende proteiner i stand til å binde to eller flere antigener. U.S. Patent Søknad Serienr. 11/507,050 tilveiebringer en ny familie av bindende proteiner i stand til å binde to eller flere antigener med høy affinitet, som blir kalt immunoglobuliner med to variable domener (DVD-Ig^{TM}). Den foreliggende oppfinnelsen tilveiebringer videre nye bindende proteiner i stand til å binde to eller flere antigener.

Sammendrag av oppfinnelsen

Denne oppfinnelsen angår multivalente bindende proteiner i stand til å binde to eller flere antigener. Den foreliggende oppfinnelsen tilveiebringer en ny familie av bindende proteiner i stand til å binde to eller flere antigener med høy affinitet.

I en utførelsesform tilveiebringer oppfinnelsen et bindende protein omfattende et polypeptidkjede, hvori polypeptidkjedet omfatter VD1-(X1)n-VD2-C-(X2)n, hvori VD1 er et første variabelt domene, VD2 er et andre variabelt domene, C er et konstant domene, X1 representerer en aminosyre eller et polypeptid, X2 representerer en Fc-region og n er 0 eller 1. I en utførelsesform er VD1 og VD2 i det bindende proteinet tungkjede variabelt domener. I en annen utførelsesform er det tungkjede variabelt domenet valgt fra gruppen bestående av et murint tungkjede variabelt domene, et humant tungkjede variabelt domene, et CDR-podet tungkjede variabelt domene, og et humanisert tungkjede variabelt domene. I nok en annen utførelsesform er VD1 og VD2 i stand til å binde det samme antigenet. I en annen utførelsesform er VD1 og VD2 i stand til å binde forskjellige antigener. I nok en annen utførelsesform er C et tungkjede konstant domene. For eksempel er X1 en linker med den forutsetningen ved X1 ikke er CH1. For eksempel er X1 en linker valgt fra gruppen bestående av AKTTPKLEEGEFSEAR (SEKV ID NR: 1); AKTTPKLEEGEFSEARV (SEKV ID NR: 2); AKTTPKLGG (SEKV ID NR: 3); SAKTTPKLGG (SEKV ID NR: 4); SAKTTP (SEKV ID NR: 5); RADAAP (SEKV ID NR: 6); RADAAPTVS (SEKV ID NR: 7); RADAAAAGGPGS (SEKV ID NR: 8); RADAAAA$(G_4S)_4$ (SEKV ID NR: 9); SAKTTPKLEEGEFSEARV (SEKV ID NR: 10); ADAAP (SEKV ID NR: 11); ADAAPTVSIFPP (SEKV ID NR: 12); TVAAP (SEKV ID NR: 13); TVAAPSVFIFPP (SEKV ID NR: 14); QPKAAP (SEKV ID NR: 15); QPKAAPSVTLFPP (SEKV ID NR: 16);

AKTTPP (SEKV ID NR: 17); AKTTPPSVTPLAP (SEKV ID NR: 18); AKTTAP (SEKV ID NR: 19); AKTTAPSVYPLAP (SEKV ID NR: 20); ASTKGP (SEKV ID NR: 21); ASTKGPSVFPLAP (SEKV ID NR: 22), GGGGSGGGGSGGGGS (SEKV ID NR: 23); GENKVEYAPALMALS (SEKV ID NR: 24); GPAKELTPLKEAKVS (SEKV ID NR: 25); og GHEAAAVMQVQYPAS (SEKV ID NR: 26). I en utførelsesform er X2 en Fc-region. I en annen utførelsesform er X2 en variant Fc-region.

I en utførelsesform omfatter det bindende proteinet fremvist heri et polypeptidkjede, hvori polypeptidkjedet omfatter VD1-(X1)n-VD2-C-(X2)n, hvori VD1 er et første tungkjede variabelt domene, VD2 er et andre tungkjede variabelt domene, C er et tungkjede konstant domene, X1 er en linker med den forutsetningen at den ikke er CH1, og X2 er en Fc-region.

I en utførelsesform er VD1 og VD2 i det bindende proteinet lettkjede variable domener. I en utførelsesform er lettkjede variabelt domenet valgt fra gruppen bestående av et murint lettkjede variabelt domene, et humant lettkjede variabelt domene, et CDR-podet lettkjede variabelt domene, og et humanisert lettkjede variabelt domene. I en utførelsesform er VD1 og VD2 i stand til å binde det samme antigenet. I en annen utførelsesform er VD1 og VD2 i stand til å binde forskjellige antigener. I en utførelsesform er C et lettkjede konstant domene. I en annen utførelsesform er X1 en linker med den forutsetningen ved X1 ikke er CL1. I en utførelsesform er X1 en linker valgt fra gruppen bestående av AKTTPKLEEGEFSEAR (SEKV ID NR: 1); AKTTPKLEEGEFSEARV (SEKV ID NR: 2); AKTTPKLGG (SEKV ID NR: 3); SAKTTPKLGG (SEKV ID NR: 4); SAKTTP (SEKV ID NR: 5); RADAAP (SEKV ID NR: 6); RADAAPTVS (SEKV ID NR: 7); RADAAAAGGPGS (SEKV ID NR: 8); RADAAAA$(G_4S)_4$ (SEKV ID NR: 9); SAKTTPKLEEGEFSEARV (SEKV ID NR: 10); ADAAP (SEKV ID NR: 11); ADAAPTVSIFPP (SEKV ID NR: 12); TVAAP (SEKV ID NR: 13); TVAAPSVFIFPP (SEKV ID NR: 14); QPKAAP (SEKV ID NR: 15); QPKAAPSVTLFPP (SEKV ID NR: 16); AKTTPP (SEKV ID NR: 17); AKTTPPSVTPLAP (SEKV ID NR: 18); AKTTAP (SEKV ID NR: 19); AKTTAPSVYPLAP (SEKV ID NR: 20); ASTKGP (SEKV ID NR: 21); ASTKGPSVFPLAP (SEKV ID NR: 22), GGGGSGGGGSGGGGS (SEKV ID NR: 23); GENKVEYAPALMALS (SEKV ID NR: 24); GPAKELTPLKEAKVS (SEKV ID NR: 25); og GHEAAAVMQVQYPAS (SEKV ID NR: 26). I en utførelsesform omfatter ikke det bindende proteinet X2.

I en utførelsesform omfatter både det variable tung- og det variable lettkjedet den samme linkeren. I en annen utførelsesform omfatter både det variable tung- og det variable lettkjedet forskjellige linkere. I en annen utførelsesform omfatter både det variable tung- og det variable lettkjedet en kort (omtrent 6 aminosyrer) linker. I en annen utførelsesform omfatter både det variable tung- og det variable lettkjedet en lang (større enn 6 aminosyrer) linker. I en annen utførelsesform omfatter det variable tungkjedet en kort linker og det variable lettkjedet omfatter

en lang linker. I en annen utførelsesform omfatter det variable tungkjedet en lang linker og det variable lettkjedet omfatter en kort linker.

I en utførelsesform omfatter det bindende proteinet fremvist heri et polypeptidkjede, hvori nevnte polypeptidkjede omfatter VD1-(X1)n-VD2-C-(X2)n, hvori VD1 er et første lettkjede variabelt domene, VD2 er et andre lettkjede variabelt domene, C er et lettkjede konstant domene, X1 er en linker med den forutsetningen at den ikke er CH1, og X2 ikke omfatter en Fc-region.

I en annen utførelsesform tilveiebringer oppfinnelsen et bindende protein omfattende to polypeptidkjeder, hvori nevnte første polypeptidkjede omfatter VD1-(X1)n-VD2-C-(X2)n, hvori VD1 er et første tungkjede variabelt domene, VD2 er et andre tungkjede variabelt domene, C er et tungkjede konstant domene, X1 er en linker med den forutsetningen at den ikke er CH1, og X2 er en Fc-region; og nevnte andre polypeptidkjede omfatter VD1-(X1)n-VD2-C-(X2)n, hvori VD1 er et første lettkjede variabelt domene, VD2 er et andre lettkjede variabelt domene, C er et lettkjede konstant domene, X1 er en linker med den forutsetningen at den ikke er CH1, og X2 ikke omfatter en Fc-region. I en bestemt utførelsesform omfatter det (DVD-Dual Variable Domain)-bindende protein med to variable domener fire polypeptidkjeder hvori de første to polypeptidkjedene omfatter VD1-(X1)n-VD2-C-(X2)n, henholdsvis hvori VD1 er et første tungkjede variabelt domene, VD2 er et andre tungkjede variabelt domene, C er et tungkjede konstant domene, X1 er en linker med den forutsetningen at den ikke er CH1, og X2 er en Fc-region; og de andre to polypeptidkjedene omfatter VD1-(X1)n-VD2-C-(X2)n henholdsvis, hvori VD1 er et første lettkjede variabelt domene, VD2 er et andre lettkjede variabelt domene, C er et lettkjede konstant domene, X1 er en linker med den forutsetningen at den ikke er CH1, og X2 ikke omfatter en Fc-region. Et slikt protein med to variable domener har fire antigen-bindende seter.

I en annen utførelsesform er de bindende proteiner fremvist heri i stand til å binde et eller flere mål. I en utførelsesform er målet valgt fra gruppen bestående av cytokiner, celleoverflate-proteiner, enzymer og reseptorer. I en annen utførelsesform er det bindende proteinet i stand til å modulere en biologisk funksjon til et eller flere mål. I en annen utførelsesform er det bindende proteinet i stand til å nøytralisere et eller flere mål. Det bindende proteinet ifølge oppfinnelsen er i stand til å binde cytokiner valgt fra gruppen bestående av lymfokiner, monokiner, polypeptid hormoner, reseptorer, eller tumormarkører. For eksempel er DVD(Dual Variable Domain)-Ig ifølge oppfinnelsen i stand til å binde to eller flere av de følgende: Tumornekrose-faktor (TNF), Reseptor Activator for Nuclear Faktor κ B Ligand (RANKL), Vaskulær Endotel Vekstfaktor (VEGF), Nerve Vekstfaktor (NGF), Sclerostin (SOST), Dickkopf-beslektede protein (DKK), CD-20, alfaVbeta3, Interleukin 13 (IL-13), Interleukin 4 (IL-4), Interleukin 9 (IL-9), Interleukin 17A (IL-17A), Interleukin 1 alfa (IL-1alfa), Interleukin 1 beta (IL-1beta), Interleukin 23, underenhet p19 (IL-23p19), Interleukin 6 (IL-6), Immunoglobulin E (IgE), Interleukin 6 reseptor (IL-6R), og

Interleukin 9 (IL-9) (se også Tabell 2). I en spesifikk utførelsesform er det bindende proteinet i stand til å binde par med mål valgt fra gruppen bestående av TNF og IL-17A; TNF og RANKL; TNF og VEGF; TNF og SOST (sekv. 1); TNF og DKK; TNF og alfaVbeta3; TNF og NGF; TNF og IL-23p19; TNF og IL-6; TNF og SOST (sekv. 2); TNF og IL-6R; TNF og CD-20; IgE og IL-13 (sekv. 1); IL-13 (sekv. 1) og IL-23p19; IgE og IL-4; IgE og IL-9 (sekv. 1); IgE og IL-9 (sekv. 2); IgE og IL-13 (sekv. 2); IL-13 (sekv. 1) og IL-9 (sekv. 1); IL-13 (sekv. 1) og IL-4; IL-13 (sekv. 1) og IL-9 (sekv. 2); IL-13 (sekv. 2) og IL-9 (sekv. 1); IL-13 (sekv. 2) og IL-4; IL-13 (sekv. 2) og IL-23p19; IL-13 (sekv. 2) og IL-9 (sekv. 2); IL-6R og VEGF; IL-6R og IL-17A; IL-6R og RANKL; IL-17A og IL-1beta (sekv. 1); IL-1beta (sekv. 1) og RANKL; IL-1beta (sekv. 1) og VEGF; RANKL og CD-20; IL-1alfa og IL-1beta (sekv. 1); IL-1alfa og IL-1beta (sekv. 2).

I en utførelsesform, det bindende proteinet i stand til å binde TNF og IL-17A omfatter en DVD tungkjede aminosyresekvens valgt fra gruppen bestående av SEKV ID NR. 76 og SEKV ID NR. 78; og en DVD lettkjede aminosyresekvens valgt fra gruppen bestående av SEKV ID NR. 77 og SEKV ID NR. 79. I en utførelsesform, det bindende proteinet i stand til å binde TNF og IL-17A omfatter en DVD tungkjede aminosyresekvens ifølge SEKV ID NR. 76 og en DVD lettkjede aminosyresekvens ifølge SEKV ID NR: 77. I en annen utførelsesform, det bindende proteinet i stand til å binde TNF og IL-17A har en omvendt orientering og omfatter en DVD tungkjede aminosyresekvens ifølge SEKV ID NR. 78 og en DVD lettkjede aminosyresekvens ifølge SEKV ID NR: 79.

I en utførelsesform, det bindende proteinet i stand til å binde TNF og RANKL omfatter en DVD tungkjede aminosyresekvens valgt fra gruppen bestående av SEKV ID NR. 80 og SEKV ID NR. 82; og en DVD lettkjede aminosyresekvens valgt fra gruppen bestående av SEKV ID NR. 81 og SEKV ID NR. 83. I en utførelsesform, det bindende proteinet i stand til å binde TNF og RANKL omfatter en DVD tungkjede aminosyresekvens ifølge SEKV ID NR. 80 og en DVD lettkjede aminosyresekvens ifølge SEKV ID NR: 81. I en annen utførelsesform, det bindende proteinet i stand til å binde TNF og RANKL har en omvendt orientering og omfatter en DVD tungkjede aminosyresekvens ifølge SEKV ID NR. 82 og en DVD lettkjede aminosyresekvens ifølge SEKV ID NR: 83.

I en utførelsesform, det bindende proteinet i stand til å binde TNF og VEGF omfatter en DVD tungkjede aminosyresekvens valgt fra gruppen bestående av SEKV ID NR. 84 og SEKV ID NR. 86; og en DVD lettkjede aminosyresekvens valgt fra gruppen bestående av SEKV ID NR. 85 og SEKV ID NR. 87. I en utførelsesform, det bindende proteinet i stand til å binde TNF og VEGF omfatter en DVD tungkjede aminosyresekvens ifølge SEKV ID NR. 84 og en DVD lettkjede aminosyresekvens ifølge SEKV ID NR: 85. I en annen utførelsesform, det bindende proteinet i stand til å binde TNF og VEGF har en omvendt orientering og omfatter en DVD

tungkjede aminosyresekvens ifølge SEKV ID NR. 86 og en DVD lettkjede aminosyresekvens ifølge SEKV ID NR: 87.

I en utførelsesform, det bindende proteinet i stand til å binde TNF og SOST (sekv. 1) omfatter en DVD tungkjede aminosyresekvens valgt fra gruppen bestående av SEKV ID NR. 88 og SEKV ID NR. 90; og en DVD lettkjede aminosyresekvens valgt fra gruppen bestående av SEKV ID NR. 89 og SEKV ID NR. 91. I en utførelsesform, det bindende proteinet i stand til å binde TNF og SOST (sekv. 1) omfatter en DVD tungkjede aminosyresekvens ifølge SEKV ID NR. 88 og en DVD lettkjede aminosyresekvens ifølge SEKV ID NR: 89. I en annen utførelsesform, det bindende proteinet i stand til å binde TNF og SOST (sekv. 1) har en omvendt orientering og omfatter en DVD tungkjede aminosyresekvens ifølge SEKV ID NR. 90 og en DVD lettkjede aminosyresekvens ifølge SEKV ID NR: 91.

I en utførelsesform, det bindende proteinet i stand til å binde TNF og DKK omfatter en DVD tungkjede aminosyresekvens valgt fra gruppen bestående av SEKV ID NR. 92 og SEKV ID NR. 94; og en DVD lettkjede aminosyresekvens valgt fra gruppen bestående av SEKV ID NR. 93 og SEKV ID NR. 95. I en utførelsesform, det bindende proteinet i stand til å binde TNF og DKK omfatter en DVD tungkjede aminosyresekvens ifølge SEKV ID NR. 92 og en DVD lettkjede aminosyresekvens ifølge SEKV ID NR: 93. I en annen utførelsesform, det bindende proteinet i stand til å binde TNF og DKK har en omvendt orientering og omfatter en DVD tungkjede aminosyresekvens ifølge SEKV ID NR. 94 og en DVD lettkjede aminosyresekvens ifølge SEKV ID NR: 95.

I en utførelsesform, det bindende proteinet i stand til å binde TNF og alfaVbeta3 omfatter en DVD tungkjede aminosyresekvens valgt fra gruppen bestående av SEKV ID NR. 96 og SEKV ID NR. 98; og en DVD lettkjede aminosyresekvens valgt fra gruppen bestående av SEKV ID NR. 97 og SEKV ID NR. 99. I en utførelsesform, det bindende proteinet i stand til å binde TNF og alfaVbeta3 omfatter en DVD tungkjede aminosyresekvens ifølge SEKV ID NR. 96 og en DVD lettkjede aminosyresekvens ifølge SEKV ID NR: 97. I en annen utførelsesform, det bindende proteinet i stand til å binde TNF og alfaVbeta3 har en omvendt orientering og omfatter en DVD tungkjede aminosyresekvens ifølge SEKV ID NR. 98 og en DVD lettkjede aminosyresekvens ifølge SEKV ID NR: 99.

I en utførelsesform, det bindende proteinet i stand til å binde TNF og NGF omfatter en DVD tungkjede aminosyresekvens valgt fra gruppen bestående av SEKV ID NR. 100 og SEKV ID NR. 102; og en DVD lettkjede aminosyresekvens valgt fra gruppen bestående av SEKV ID NR. 101 og SEKV ID NR. 103. I en utførelsesform, det bindende proteinet i stand til å binde TNF og NGF omfatter en DVD tungkjede aminosyresekvens ifølge SEKV ID NR. 100 og en DVD lettkjede aminosyresekvens ifølge SEKV ID NR: 101. I en annen utførelsesform, det

bindende proteinet i stand til å binde TNF og NGF har en omvendt orientering og omfatter en DVD tungkjede aminosyresekvens ifølge SEKV ID NR. 102 og en DVD lettkjede aminosyresekvens ifølge SEKV ID NR: 103.

I en utførelsesform, det bindende proteinet i stand til å binde TNF og IL-23p19 omfatter en DVD tungkjede aminosyresekvens valgt fra gruppen bestående av SEKV ID NR. 104 og SEKV ID NR. 106; og en DVD lettkjede aminosyresekvens valgt fra gruppen bestående av SEKV ID NR. 105 og SEKV ID NR. 107. I en utførelsesform, det bindende proteinet i stand til å binde TNF og IL-23p19 omfatter en DVD tungkjede aminosyresekvens ifølge SEKV ID NR. 104 og en DVD lettkjede aminosyresekvens ifølge SEKV ID NR: 105. I en annen utførelsesform, det bindende proteinet i stand til å binde TNF og IL-23p19 har en omvendt orientering og omfatter en DVD tungkjede aminosyresekvens ifølge SEKV ID NR. 106 og en DVD lettkjede aminosyresekvens ifølge SEKV ID NR: 107.

I en utførelsesform, det bindende proteinet i stand til å binde TNF og IL-6 omfatter en DVD tungkjede aminosyresekvens valgt fra gruppen bestående av SEKV ID NR. 108 og SEKV ID NR. 110; og en DVD lettkjede aminosyresekvens valgt fra gruppen bestående av SEKV ID NR. 109 og SEKV ID NR. 111. I en utførelsesform, det bindende proteinet i stand til å binde TNF og IL-6 omfatter en DVD tungkjede aminosyresekvens ifølge SEKV ID NR. 108 og en DVD lettkjede aminosyresekvens ifølge SEKV ID NR: 109. I en annen utførelsesform, det bindende proteinet i stand til å binde TNF og IL-6 har en omvendt orientering og omfatter en DVD tungkjede aminosyresekvens ifølge SEKV ID NR. 110 og en DVD lettkjede aminosyresekvens ifølge SEKV ID NR: 111.

I en utførelsesform, det bindende proteinet i stand til å binde TNF og SOST (sekv. 2) omfatter en DVD tungkjede aminosyresekvens valgt fra gruppen bestående av SEKV ID NR. 112 og SEKV ID NR. 114; og en DVD lettkjede aminosyresekvens valgt fra gruppen bestående av SEKV ID NR. 113 og SEKV ID NR. 115. I en utførelsesform, det bindende proteinet i stand til å binde TNF og SOST (sekv. 2) omfatter en DVD tungkjede aminosyresekvens ifølge SEKV ID NR. 112 og en DVD lettkjede aminosyresekvens ifølge SEKV ID NR: 113. I en annen utførelsesform, det bindende proteinet i stand til å binde TNF og SOST (sekv. 2) har en omvendt orientering og omfatter en DVD tungkjede aminosyresekvens ifølge SEKV ID NR. 114 og en DVD lettkjede aminosyresekvens ifølge SEKV ID NR: 115.

I en utførelsesform, det bindende proteinet i stand til å binde TNF og IL-6R omfatter en DVD tungkjede aminosyresekvens valgt fra gruppen bestående av SEKV ID NR. 116 og SEKV ID NR. 118; og en DVD lettkjede aminosyresekvens valgt fra gruppen bestående av SEKV ID NR. 117 og SEKV ID NR. 119. I en utførelsesform, det bindende proteinet i stand til å binde TNF og IL-6R omfatter en DVD tungkjede aminosyresekvens ifølge SEKV ID NR. 116 og en

DVD lettkjede aminosyresekvens ifølge SEKV ID NR: 117. I en annen utførelsesform, det bindende proteinet i stand til å binde TNF og IL-6R har en omvendt orientering og omfatter en DVD tungkjede aminosyresekvens ifølge SEKV ID NR. 118 og en DVD lettkjede aminosyresekvens ifølge SEKV ID NR: 119.

I en utførelsesform, det bindende proteinet i stand til å binde TNF og CD-20 omfatter en DVD tungkjede aminosyresekvens valgt fra gruppen bestående av SEKV ID NR. 120 og SEKV ID NR. 122; og en DVD lettkjede aminosyresekvens valgt fra gruppen bestående av SEKV ID NR. 121 og SEKV ID NR. 123. I en utførelsesform, det bindende proteinet i stand til å binde TNF og CD-20 omfatter en DVD tungkjede aminosyresekvens ifølge SEKV ID NR. 120 og en DVD lettkjede aminosyresekvens ifølge SEKV ID NR: 121. I en annen utførelsesform, det bindende proteinet i stand til å binde TNF og CD-20 har en omvendt orientering og omfatter en DVD tungkjede aminosyresekvens ifølge SEKV ID NR. 122 og en DVD lettkjede aminosyresekvens ifølge SEKV ID NR: 123.

I en utførelsesform, det bindende proteinet i stand til å binde IgE og IL-13 (sekv. 1) omfatter en DVD tungkjede aminosyresekvens valgt fra gruppen bestående av SEKV ID NR. 124 og SEKV ID NR. 126; og en DVD lettkjede aminosyresekvens valgt fra gruppen bestående av SEKV ID NR. 125 og SEKV ID NR. 127. I en utførelsesform, det bindende proteinet i stand til å binde IgE og IL-13 (sekv. 1) omfatter en DVD tungkjede aminosyresekvens ifølge SEKV ID NR. 124 og en DVD lettkjede aminosyresekvens ifølge SEKV ID NR: 125. I en annen utførelsesform, det bindende proteinet i stand til å binde IgE og IL-13 (sekv. 1) har en omvendt orientering og omfatter en DVD tungkjede aminosyresekvens ifølge SEKV ID NR. 126 og en DVD lettkjede aminosyresekvens ifølge SEKV ID NR: 127.

I en utførelsesform, det bindende proteinet i stand til å binde IL-13 (sekv. 1) og IL23p19 omfatter en DVD tungkjede aminosyresekvens valgt fra gruppen bestående av SEKV ID NR. 128 og SEKV ID NR. 130; og en DVD lettkjede aminosyresekvens valgt fra gruppen bestående av SEKV ID NR. 129 og SEKV ID NR. 131. I en utførelsesform, det bindende proteinet i stand til å binde IL-13 (sekv. 1) og IL23p19 omfatter en DVD tungkjede aminosyresekvens ifølge SEKV ID NR. 128 og en DVD lettkjede aminosyresekvens ifølge SEKV ID NR: 129. I en annen utførelsesform, det bindende proteinet i stand til å binde IL-13 (sekv. 1) og IL23p19 har en omvendt orientering og omfatter en DVD tungkjede aminosyresekvens ifølge SEKV ID NR. 130 og en DVD lettkjede aminosyresekvens ifølge SEKV ID NR: 131.

I en utførelsesform, det bindende proteinet i stand til å binde IgE og IL-4 omfatter en DVD tungkjede aminosyresekvens valgt fra gruppen bestående av SEKV ID NR. 132 og SEKV ID NR. 134; og en DVD lettkjede aminosyresekvens valgt fra gruppen bestående av SEKV ID NR. 133 og SEKV ID NR. 135. I en utførelsesform, det bindende proteinet i stand til å binde IgE

og IL-4 omfatter en DVD tungkjede aminosyresekvens ifølge SEKV ID NR. 132 og en DVD lettkjede aminosyresekvens ifølge SEKV ID NR: 133. I en annen utførelsesform, det bindende proteinet i stand til å binde IgE og IL-4 har en omvendt orientering og omfatter en DVD tungkjede aminosyresekvens ifølge SEKV ID NR. 134 og en DVD lettkjede aminosyresekvens ifølge SEKV ID NR: 135.

I en utførelsesform, det bindende proteinet i stand til å binde IgE og IL-9 (sekv. 1) omfatter en DVD tungkjede aminosyresekvens valgt fra gruppen bestående av SEKV ID NR. 136 og SEKV ID NR. 138; og en DVD lettkjede aminosyresekvens valgt fra gruppen bestående av SEKV ID NR. 137 og SEKV ID NR. 139. I en utførelsesform, det bindende proteinet i stand til å binde IgE og IL-9 (sekv. 1) omfatter en DVD tungkjede aminosyresekvens ifølge SEKV ID NR. 136 og en DVD lettkjede aminosyresekvens ifølge SEKV ID NR: 137. I en annen utførelsesform, det bindende proteinet i stand til å binde IgE og IL-9 (sekv. 1) har en omvendt orientering og omfatter en DVD tungkjede aminosyresekvens ifølge SEKV ID NR. 138 og en DVD lettkjede aminosyresekvens ifølge SEKV ID NR: 139.

I en utførelsesform, det bindende proteinet i stand til å binde IgE og IL-9 (sekv. 2) omfatter en DVD tungkjede aminosyresekvens valgt fra gruppen bestående av SEKV ID NR. 140 og SEKV ID NR. 142; og en DVD lettkjede aminosyresekvens valgt fra gruppen bestående av SEKV ID NR. 141 og SEKV ID NR. 143. I en utførelsesform, det bindende proteinet i stand til å binde IgE og IL-9 (sekv. 2) omfatter en DVD tungkjede aminosyresekvens ifølge SEKV ID NR. 140 og en DVD lettkjede aminosyresekvens ifølge SEKV ID NR: 141. I en annen utførelsesform, det bindende proteinet i stand til å binde IgE og IL-9 (sekv. 2) har en omvendt orientering og omfatter en DVD tungkjede aminosyresekvens ifølge SEKV ID NR. 142 og en DVD lettkjede aminosyresekvens ifølge SEKV ID NR: 143.

I en utførelsesform, det bindende proteinet i stand til å binde IgE og IL-13 (sekv. 2) omfatter en DVD tungkjede aminosyresekvens valgt fra gruppen bestående av SEKV ID NR. 144 og SEKV ID NR. 146; og en DVD lettkjede aminosyresekvens valgt fra gruppen bestående av SEKV ID NR. 145 og SEKV ID NR. 147. I en utførelsesform, det bindende proteinet i stand til å binde IgE og IL-13 (sekv. 2) omfatter en DVD tungkjede aminosyresekvens ifølge SEKV ID NR. 144 og en DVD lettkjede aminosyresekvens ifølge SEKV ID NR: 145. I en annen utførelsesform, det bindende proteinet i stand til å binde IgE og IL-13 (sekv. 2) har en omvendt orientering og omfatter en DVD tungkjede aminosyresekvens ifølge SEKV ID NR. 146 og en DVD lettkjede aminosyresekvens ifølge SEKV ID NR: 147.

I en utførelsesform, det bindende proteinet i stand til å binde IL-13 (sekv. 1) og IL-9 (sekv. 1) omfatter en DVD tungkjede aminosyresekvens valgt fra gruppen bestående av SEKV ID NR. 148 og SEKV ID NR. 150; og en DVD lettkjede aminosyresekvens valgt fra gruppen

bestående av SEKV ID NR. 149 og SEKV ID NR. 151. I en utførelsesform, det bindende proteinet i stand til å binde IL-13 (sekv. 1) og IL-9 (sekv. 1) omfatter en DVD tungkjede aminosyresekvens ifølge SEKV ID NR. 148 og en DVD lettkjede aminosyresekvens ifølge SEKV ID NR: 149. I en annen utførelsesform, det bindende proteinet i stand til å binde IL-13 (sekv. 1) og IL-9 (sekv. 1) har en omvendt orientering og omfatter en DVD tungkjede aminosyresekvens ifølge SEKV ID NR. 150 og en DVD lettkjede aminosyresekvens ifølge SEKV ID NR: 151.

I en utførelsesform, det bindende proteinet i stand til å binde IL-13 (sekv. 1) og IL-4 omfatter en DVD tungkjede aminosyresekvens valgt fra gruppen bestående av SEKV ID NR. 152 og SEKV ID NR. 154; og en DVD lettkjede aminosyresekvens valgt fra gruppen bestående av SEKV ID NR. 153 og SEKV ID NR. 155. I en utførelsesform, det bindende proteinet i stand til å binde IL-13 (sekv. 1) og IL-4 omfatter en DVD tungkjede aminosyresekvens ifølge SEKV ID NR. 152 og en DVD lettkjede aminosyresekvens ifølge SEKV ID NR: 153. I en annen utførelsesform, det bindende proteinet i stand til å binde IL-13 (sekv. 1) og IL-4 har en omvendt orientering og omfatter en DVD tungkjede aminosyresekvens ifølge SEKV ID NR. 154 og en DVD lettkjede aminosyresekvens ifølge SEKV ID NR: 155.

I en utførelsesform, det bindende proteinet i stand til å binde IL-13 (sekv. 1) og IL-9 (sekv. 2) omfatter en DVD tungkjede aminosyresekvens valgt fra gruppen bestående av SEKV ID NR. 156 og SEKV ID NR. 158; og en DVD lettkjede aminosyresekvens valgt fra gruppen bestående av SEKV ID NR. 157 og SEKV ID NR. 159. I en utførelsesform, det bindende proteinet i stand til å binde IL-13 (sekv. 1) og IL-9 (sekv. 2) omfatter en DVD tungkjede aminosyresekvens ifølge SEKV ID NR. 156 og en DVD lettkjede aminosyresekvens ifølge SEKV ID NR: 157. I en annen utførelsesform, det bindende proteinet i stand til å binde IL-13 (sekv. 1) og IL-9 (sekv. 2) har en omvendt orientering og omfatter en DVD tungkjede aminosyresekvens ifølge SEKV ID NR. 158 og en DVD lettkjede aminosyresekvens ifølge SEKV ID NR: 159.

I en utførelsesform, det bindende proteinet i stand til å binde IL-13 (sekv. 2) og IL-9 (sekv. 1) omfatter en DVD tungkjede aminosyresekvens valgt fra gruppen bestående av SEKV ID NR. 160 og SEKV ID NR. 162; og en DVD lettkjede aminosyresekvens valgt fra gruppen bestående av SEKV ID NR. 161 og SEKV ID NR. 163. I en utførelsesform, det bindende proteinet i stand til å binde IL-13 (sekv. 2) og IL-9 (sekv. 1) omfatter en DVD tungkjede aminosyresekvens ifølge SEKV ID NR. 160 og en DVD lettkjede aminosyresekvens ifølge SEKV ID NR: 161. I en annen utførelsesform, det bindende proteinet i stand til å binde IL-13 (sekv. 2) og IL-9 (sekv. 1) har en omvendt orientering og omfatter en DVD tungkjede aminosyresekvens ifølge SEKV ID NR. 162 og en DVD lettkjede aminosyresekvens ifølge SEKV ID NR: 163.

I en utførelsesform, det bindende proteinet i stand til å binde IL-13 (sekv. 2) og IL-4 omfatter en DVD tungkjede aminosyresekvens valgt fra gruppen bestående av SEKV ID NR.

164 og SEKV ID NR. 166; og en DVD lettkjede aminosyresekvens valgt fra gruppen bestående av SEKV ID NR. 165 og SEKV ID NR. 167. I en utførelsesform, det bindende proteinet i stand til å binde IL-13 (sekv. 2) og IL-4 omfatter en DVD tungkjede aminosyresekvens ifølge SEKV ID NR. 164 og en DVD lettkjede aminosyresekvens ifølge SEKV ID NR: 165. I en annen utførelsesform, det bindende proteinet i stand til å binde IL-13 (sekv. 2) og IL-4 har en omvendt orientering og omfatter en DVD tungkjede aminosyresekvens ifølge SEKV ID NR. 166 og en DVD lettkjede aminosyresekvens ifølge SEKV ID NR: 167.

I en utførelsesform, det bindende proteinet i stand til å binde IL-13 (sekv. 2) og IL-23p19 omfatter en DVD tungkjede aminosyresekvens valgt fra gruppen bestående av SEKV ID NR. 168 og SEKV ID NR. 170; og en DVD lettkjede aminosyresekvens valgt fra gruppen bestående av SEKV ID NR. 169 og SEKV ID NR. 171. I en utførelsesform, det bindende proteinet i stand til å binde IL-13 (sekv. 2) og IL-23p19 omfatter en DVD tungkjede aminosyresekvens ifølge SEKV ID NR. 168 og en DVD lettkjede aminosyresekvens ifølge SEKV ID NR: 169. I en annen utførelsesform, det bindende proteinet i stand til å binde IL-13 (sekv. 2) og IL-23p19 har en omvendt orientering og omfatter en DVD tungkjede aminosyresekvens ifølge SEKV ID NR. 170 og en DVD lettkjede aminosyresekvens ifølge SEKV ID NR: 171.

I en utførelsesform, det bindende proteinet i stand til å binde IL-13 (sekv. 2) og IL-9 (sekv. 2) omfatter en DVD tungkjede aminosyresekvens valgt fra gruppen bestående av SEKV ID NR. 172 og SEKV ID NR. 174; og en DVD lettkjede aminosyresekvens valgt fra gruppen bestående av SEKV ID NR. 173 og SEKV ID NR. 175. I en utførelsesform, det bindende proteinet i stand til å binde IL-13 (sekv. 2) og IL-9 (sekv. 2) omfatter en DVD tungkjede aminosyresekvens ifølge SEKV ID NR. 172 og en DVD lettkjede aminosyresekvens ifølge SEKV ID NR: 173. I en annen utførelsesform, det bindende proteinet i stand til å binde IL-13 (sekv. 2) og IL-9 (sekv. 2) har en omvendt orientering og omfatter en DVD tungkjede aminosyresekvens ifølge SEKV ID NR. 174 og en DVD lettkjede aminosyresekvens ifølge SEKV ID NR: 175.

I en utførelsesform, det bindende proteinet i stand til å binde IL-6R og VEGF omfatter en DVD tungkjede aminosyresekvens valgt fra gruppen bestående av SEKV ID NR. 176 og SEKV ID NR. 178; og en DVD lettkjede aminosyresekvens valgt fra gruppen bestående av SEKV ID NR. 177 og SEKV ID NR. 179. I en utførelsesform, det bindende proteinet i stand til å binde IL-6R og VEGF omfatter en DVD tungkjede aminosyresekvens ifølge SEKV ID NR. 176 og en DVD lettkjede aminosyresekvens ifølge SEKV ID NR: 177. I en annen utførelsesform, det bindende proteinet i stand til å binde IL-6R og VEGF har en omvendt orientering og omfatter en DVD tungkjede aminosyresekvens ifølge SEKV ID NR. 178 og en DVD lettkjede aminosyresekvens ifølge SEKV ID NR: 179.

I en utførelsesform, det bindende proteinet i stand til å binde IL-6R og IL-17A omfatter en DVD tungkjede aminosyresekvens valgt fra gruppen bestående av SEKV ID NR. 180 og SEKV ID NR. 182; og en DVD lettkjede aminosyresekvens valgt fra gruppen bestående av SEKV ID NR. 181 og SEKV ID NR. 183. I en utførelsesform, det bindende proteinet i stand til å binde IL-6R og IL-17A omfatter en DVD tungkjede aminosyresekvens ifølge SEKV ID NR. 180 og en DVD lettkjede aminosyresekvens ifølge SEKV ID NR: 181. I en annen utførelsesform, det bindende proteinet i stand til å binde IL-6R og IL-17A har en omvendt orientering og omfatter en DVD tungkjede aminosyresekvens ifølge SEKV ID NR. 182 og en DVD lettkjede aminosyresekvens ifølge SEKV ID NR: 183.

I en utførelsesform, det bindende proteinet i stand til å binde IL-6R og RANKL omfatter en DVD tungkjede aminosyresekvens valgt fra gruppen bestående av SEKV ID NR. 184 og SEKV ID NR. 186; og en DVD lettkjede aminosyresekvens valgt fra gruppen bestående av SEKV ID NR. 185 og SEKV ID NR. 187. I en utførelsesform, det bindende proteinet i stand til å binde IL-6R og RANKL omfatter en DVD tungkjede aminosyresekvens ifølge SEKV ID NR. 184 og en DVD lettkjede aminosyresekvens ifølge SEKV ID NR: 185. I en annen utførelsesform, det bindende proteinet i stand til å binde IL-6R og RANKL har en omvendt orientering og omfatter en DVD tungkjede aminosyresekvens ifølge SEKV ID NR. 186 og en DVD lettkjede aminosyresekvens ifølge SEKV ID NR: 187.

I en utførelsesform, det bindende proteinet i stand til å binde IL-17A og IL-1beta (sekv. 1) omfatter en DVD tungkjede aminosyresekvens valgt fra gruppen bestående av SEKV ID NR. 188 og SEKV ID NR. 190; og en DVD lettkjede aminosyresekvens valgt fra gruppen bestående av SEKV ID NR. 189 og SEKV ID NR. 191. I en utførelsesform, det bindende proteinet i stand til å binde IL-17A og IL-1beta (sekv. 1) omfatter en DVD tungkjede aminosyresekvens ifølge SEKV ID NR. 188 og en DVD lettkjede aminosyresekvens ifølge SEKV ID NR: 189. I en annen utførelsesform, det bindende proteinet i stand til å binde IL-17A og IL-1beta (sekv. 1) har en omvendt orientering og omfatter en DVD tungkjede aminosyresekvens ifølge SEKV ID NR. 190 og en DVD lettkjede aminosyresekvens ifølge SEKV ID NR: 191.

I en utførelsesform, det bindende proteinet i stand til å binde IL-1beta (sekv. 1) og RANKL omfatter en DVD tungkjede aminosyresekvens valgt fra gruppen bestående av SEKV ID NR. 192 og SEKV ID NR. 194; og en DVD lettkjede aminosyresekvens valgt fra gruppen bestående av SEKV ID NR. 193 og SEKV ID NR. 195. I en utførelsesform, det bindende proteinet i stand til å binde IL-1beta (sekv. 1) og RANKL omfatter en DVD tungkjede aminosyresekvens ifølge SEKV ID NR. 192 og en DVD lettkjede aminosyresekvens ifølge SEKV ID NR: 193. I en annen utførelsesform, det bindende proteinet i stand til å binde IL-1beta (sekv.

1) og RANKL har en omvendt orientering og omfatter en DVD tungkjede aminosyresekvens ifølge SEKV ID NR. 194 og en DVD lettkjede aminosyresekvens ifølge SEKV ID NR: 195.

I en utførelsesform, det bindende proteinet i stand til å binde IL-1beta (sekv. 1) og VEGF omfatter en DVD tungkjede aminosyresekvens valgt fra gruppen bestående av SEKV ID NR. 196 og SEKV ID NR. 198; og en DVD lettkjede aminosyresekvens valgt fra gruppen bestående av SEKV ID NR. 197 og SEKV ID NR. 199. I en utførelsesform, det bindende proteinet i stand til å binde IL-1beta (sekv. 1) og VEGF omfatter en DVD tungkjede aminosyresekvens ifølge SEKV ID NR. 196 og en DVD lettkjede aminosyresekvens ifølge SEKV ID NR: 197. I en annen utførelsesform, det bindende proteinet i stand til å binde IL-1beta (sekv. 1) og VEGF har en omvendt orientering og omfatter en DVD tungkjede aminosyresekvens ifølge SEKV ID NR. 198 og en DVD lettkjede aminosyresekvens ifølge SEKV ID NR: 199.

I en utførelsesform, det bindende proteinet i stand til å binde RANKL og CD-20 omfatter en DVD tungkjede aminosyresekvens valgt fra gruppen bestående av SEKV ID NR. 200 og SEKV ID NR. 202; og en DVD lettkjede aminosyresekvens valgt fra gruppen bestående av SEKV ID NR. 201 og SEKV ID NR. 203. I en utførelsesform, det bindende proteinet i stand til å binde RANKL og CD-20 omfatter en DVD tungkjede aminosyresekvens ifølge SEKV ID NR. 200 og en DVD lettkjede aminosyresekvens ifølge SEKV ID NR: 201. I en annen utførelsesform, det bindende proteinet i stand til å binde RANKL og CD-20 har en omvendt orientering og omfatter en DVD tungkjede aminosyresekvens ifølge SEKV ID NR. 202 og en DVD lettkjede aminosyresekvens ifølge SEKV ID NR: 203.

I en utførelsesform, det bindende proteinet i stand til å binde IL-1alfa og IL-1beta (sekv. 1) omfatter en DVD tungkjede aminosyresekvens valgt fra gruppen bestående av SEKV ID NR. 204 og SEKV ID NR. 206; og en DVD lettkjede aminosyresekvens valgt fra gruppen bestående av SEKV ID NR. 205 og SEKV ID NR. 207. I en utførelsesform, det bindende proteinet i stand til å binde IL-1alfa og IL-1beta (sekv. 1) omfatter en DVD tungkjede aminosyresekvens ifølge SEKV ID NR. 204 og en DVD lettkjede aminosyresekvens ifølge SEKV ID NR: 205. I en annen utførelsesform, det bindende proteinet i stand til å binde IL-1alfa og IL-1beta (sekv. 1) har en omvendt orientering og omfatter en DVD tungkjede aminosyresekvens ifølge SEKV ID NR. 206 og en DVD lettkjede aminosyresekvens ifølge SEKV ID NR: 207.

I en utførelsesform, det bindende proteinet i stand til å binde IL-1alfa og IL-1beta (sekv. 1) omfatter en DVD tungkjede aminosyresekvens valgt fra gruppen bestående av SEKV ID NR. 208 og SEKV ID NR. 210; og en DVD lettkjede aminosyresekvens valgt fra gruppen bestående av SEKV ID NR. 209 og SEKV ID NR. 211. I en utførelsesform, det bindende proteinet i stand til å binde IL-1alfa og IL-1beta (sekv. 1) omfatter en DVD tungkjede aminosyresekvens ifølge SEKV ID NR. 208 og en DVD lettkjede aminosyresekvens ifølge SEKV ID NR: 209. I en annen

utførelsesform, det bindende proteinet i stand til å binde IL-1alfa og IL-1beta (sekv. 1) har en omvendt orientering og omfatter en DVD tungkjede aminosyresekvens ifølge SEKV ID NR. 210 og en DVD lettkjede aminosyresekvens ifølge SEKV ID NR: 211.

I en utførelsesform, det bindende proteinet i stand til å binde IL-1alfa og IL-1beta (sekv. 1) omfatter en DVD tungkjede aminosyresekvens valgt fra gruppen bestående av SEKV ID NR. 212 og SEKV ID NR. 214; og en DVD lettkjede aminosyresekvens valgt fra gruppen bestående av SEKV ID NR. 213 og SEKV ID NR. 215. I en utførelsesform, det bindende proteinet i stand til å binde IL-1alfa og IL-1beta (sekv. 1) omfatter en DVD tungkjede aminosyresekvens ifølge SEKV ID NR. 212 og en DVD lettkjede aminosyresekvens ifølge SEKV ID NR: 213. I en annen utførelsesform, det bindende proteinet i stand til å binde IL-1alfa og IL-1beta (sekv. 1) har en omvendt orientering og omfatter en DVD tungkjede aminosyresekvens ifølge SEKV ID NR. 214 og en DVD lettkjede aminosyresekvens ifølge SEKV ID NR: 215.

I en utførelsesform, det bindende proteinet i stand til å binde IL-1alfa og IL-1beta (sekv. 1) omfatter en DVD tungkjede aminosyresekvens valgt fra gruppen bestående av SEKV ID NR. 216 og SEKV ID NR. 218; og en DVD lettkjede aminosyresekvens valgt fra gruppen bestående av SEKV ID NR. 217 og SEKV ID NR. 219. I en utførelsesform, det bindende proteinet i stand til å binde IL-1alfa og IL-1beta (sekv. 1) omfatter en DVD tungkjede aminosyresekvens ifølge SEKV ID NR. 216 og en DVD lettkjede aminosyresekvens ifølge SEKV ID NR: 217. I en annen utførelsesform, det bindende proteinet i stand til å binde IL-1alfa og IL-1beta (sekv. 1) har en omvendt orientering og omfatter en DVD tungkjede aminosyresekvens ifølge SEKV ID NR. 218 og en DVD lettkjede aminosyresekvens ifølge SEKV ID NR: 219.

I en utførelsesform, det bindende proteinet i stand til å binde IL-1alfa og IL-1beta (sekv. 2) omfatter en DVD tungkjede aminosyresekvens valgt fra gruppen bestående av SEKV ID NR. 220 og SEKV ID NR. 222; og en DVD lettkjede aminosyresekvens valgt fra gruppen bestående av SEKV ID NR. 221 og SEKV ID NR. 223. I en utførelsesform, det bindende proteinet i stand til å binde IL-1alfa og IL-1beta (sekv. 2) omfatter en DVD tungkjede aminosyresekvens ifølge SEKV ID NR. 220 og en DVD lettkjede aminosyresekvens ifølge SEKV ID NR: 221. I en annen utførelsesform, det bindende proteinet i stand til å binde IL-1alfa og IL-1beta (sekv. 2) har en omvendt orientering og omfatter en DVD tungkjede aminosyresekvens ifølge SEKV ID NR. 222 og en DVD lettkjede aminosyresekvens ifølge SEKV ID NR: 223.

I en utførelsesform, det bindende proteinet i stand til å binde IL-1alfa og IL-1beta (sekv. 2) omfatter en DVD tungkjede aminosyresekvens valgt fra gruppen bestående av SEKV ID NR. 224 og SEKV ID NR. 226; og en DVD lettkjede aminosyresekvens valgt fra gruppen bestående av SEKV ID NR. 225 og SEKV ID NR. 227. I en utførelsesform, det bindende proteinet i stand til å binde IL-1alfa og IL-1beta (sekv. 2) omfatter en DVD tungkjede aminosyresekvens ifølge

SEKV ID NR. 224 og en DVD lettkjede aminosyresekvens ifølge SEKV ID NR: 225. I en annen utførelsesform, det bindende proteinet i stand til å binde IL-1alfa og IL-1beta (sekv. 2) har en omvendt orientering og omfatter en DVD tungkjede aminosyresekvens ifølge SEKV ID NR. 226 og en DVD lettkjede aminosyresekvens ifølge SEKV ID NR: 227.

I en utførelsesform, det bindende proteinet i stand til å binde IL-1alfa og IL-1beta (sekv. 2) omfatter en DVD tungkjede aminosyresekvens valgt fra gruppen bestående av SEKV ID NR. 228 og SEKV ID NR. 230; og en DVD lettkjede aminosyresekvens valgt fra gruppen bestående av SEKV ID NR. 229 og SEKV ID NR. 231. I en utførelsesform, det bindende proteinet i stand til å binde IL-1alfa og IL-1beta (sekv. 2) omfatter en DVD tungkjede aminosyresekvens ifølge SEKV ID NR. 228 og en DVD lettkjede aminosyresekvens ifølge SEKV ID NR: 229. I en annen utførelsesform, det bindende proteinet i stand til å binde IL-1alfa og IL-1beta (sekv. 2) har en omvendt orientering og omfatter en DVD tungkjede aminosyresekvens ifølge SEKV ID NR. 230 og en DVD lettkjede aminosyresekvens ifølge SEKV ID NR: 231.

I en utførelsesform, det bindende proteinet i stand til å binde IL-1alfa og IL-1beta (sekv. 2) omfatter en DVD tungkjede aminosyresekvens valgt fra gruppen bestående av SEKV ID NR. 232 og SEKV ID NR. 234; og en DVD lettkjede aminosyresekvens valgt fra gruppen bestående av SEKV ID NR. 233 og SEKV ID NR. 235. I en utførelsesform, det bindende proteinet i stand til å binde IL-1alfa og IL-1beta (sekv. 2) omfatter en DVD tungkjede aminosyresekvens ifølge SEKV ID NR. 232 og en DVD lettkjede aminosyresekvens ifølge SEKV ID NR: 233. I en annen utførelsesform, det bindende proteinet i stand til å binde IL-1alfa og IL-1beta (sekv. 2) har en omvendt orientering og omfatter en DVD tungkjede aminosyresekvens ifølge SEKV ID NR. 234 og en DVD lettkjede aminosyresekvens ifølge SEKV ID NR: 235.

I en annen utførelsesform tilveiebringer oppfinnelsen et bindende protein omfattende et polypeptidkjede, hvori nevnte polypeptidkjede omfatter VD1-(X1)n-VD2-C-(X2)n, hvori; VD1 er et første tungkjede variabelt domene oppnådd fra et første moderantistoff eller antigen-bindende porsjon derav; VD2 er et andre tungkjede variabelt domene oppnådd fra et andre moderantistoff eller antigen-bindende porsjon derav; C er et tungkjede konstant domene; (X1)n er en linker med den forutsetningen at den ikke er CH1, hvori nevnte (X1)n er enten tilstede eller fraværende; og (X2)n er en Fc-region, hvori nevnte (X2)n er enten tilstede eller fraværende. I en utførelsesform er Fc-regionen fraværende fra det bindende proteinet.

I en annen utførelsesform tilveiebringer oppfinnelsen et bindende protein omfattende et polypeptidkjede, hvori nevnte polypeptidkjede omfatter VD1-(X1)n-VD2-C-(X2)n, hvori, VD1 er et første lettkjede variabelt domene oppnådd fra et første moderantistoff eller antigen-bindende porsjon derav; VD2 er et andre lettkjede variabelt domene oppnådd fra et andre moderantistoff eller antigen-bindende porsjon derav; C er et lettkjede konstant domene; (X1)n er en linker med

den forutsetningen at den ikke er CH1, hvori nevnte (X1)n er enten tilstede eller fraværende; og (X2)n ikke omfatter en Fc-region, hvori nevnte (X2)n er enten tilstede eller fraværende. I en utførelsesform er (X2)n fraværende fra det bindende proteinet.

I en annen utførelsesform omfatter det bindende proteinet ifølge oppfinnelsen første og andre polypeptidkjeder, hvori nevnte første polypeptidkjede omfatter en første VD1-(X1)n-VD2-C-(X2)n, hvori VD1 er et første tungkjede variabelt domene oppnådd fra et første moderantistoff eller antigen-bindende porsjon derav; VD2 er et andre tungkjede variabelt domene oppnådd fra et andre moderantistoff eller antigen-bindende porsjon derav; C er et tungkjede konstant domene; (X1)n er en linker med den forutsetningen at den ikke er CH1, hvori nevnte (X1)n er enten tilstede eller fraværende; og (X2)n er en Fc-region, hvori nevnte (X2)n er enten tilstede eller fraværende; og hvori nevnte andre polypeptidkjede omfatter en andre VD1-(X1)n-VD2-C-(X2)n, hvori VD1 er et første lettkjede variabelt domene oppnådd fra et første moderantistoff eller antigen-bindende porsjon derav; VD2 er et andre lettkjede variabelt domene oppnådd fra et andre moderantistoff eller antigen-bindende porsjon derav; C er et lettkjede konstant domene; (X1)n er en linker med den forutsetningen at den ikke er CH1, hvori nevnte (X1)n er enten tilstede eller fraværende; og (X2)n ikke omfatter en Fc-region, hvori nevnte (X2)n er enten tilstede eller fraværende. I en annen utførelsesform omfatter det bindende proteinet to første polypeptidkjeder og to andre polypeptidkjeder. I nok en annen utførelsesform er (X2)n fraværende fra det andre polypeptidet. I nok en annen utførelsesform er Fc-regionen, hvis til stede i det første polypeptidet, valgt fra gruppen bestående av opprinnelig sekvens Fc-region og en variant sekvens Fc-region. I nok en annen utførelsesform er Fc-regionen valgt fra gruppen bestående av en Fc-region fra en IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA, IgM, IgE, og IgD.

I en annen utførelsesform er det bindende proteinet ifølge oppfinnelsen et DVD-Ig i stand til å binde to antigener omfattende fire polypeptidkjeder, hvori, første og tredje polypeptidkjeder omfatter VD1-(X1)n-VD2-C-(X2)n, hvori,VD1 er et første tungkjede variabelt domene oppnådd fra et første moderantistoff eller antigen-bindende porsjon derav; VD2 er et andre tungkjede variabelt domene oppnådd fra et andre moderantistoff eller antigen-bindende porsjon derav; C er et tungkjede konstant domene; (X1)n er en linker med den forutsetningen at den ikke er CH1, hvori nevnte (X1)n er enten tilstede eller fraværende; og (X2)n er en Fc-region, hvori nevnte (X2)n er enten tilstede eller fraværende; og hvori andre og fjerde polypeptidkjeder omfatter VD1-(X1)n-VD2-C-(X2)n, hvori VD1 er et første lettkjede variabelt domene oppnådd fra et første moderantistoff eller antigen-bindende porsjon derav; VD2 er et andre lettkjede variabelt domene oppnådd fra et andre moderantistoff eller antigen-bindende porsjon derav; C er et lettkjede konstant domene; (X1)n er en linker med den forutsetningen at den ikke er CH1, hvori nevnte (X1)n er enten tilstede eller fraværende; og (X2)n ikke omfatter en Fc-region, hvori nevnte (X2)n er enten tilstede eller fraværende.

Oppfinnelsen tilveiebringer en fremgangsmåte for å fremstille et DVD-Ig-bindende protein ved å pre-selektere moderantistoffene. I en utførelsesform omfatter fremgangsmåten for å fremstille et Immunoglobulin med to variable domener, i stand til å binde to antigener trinnene å a) oppnå et første moderantistoff eller antigen-bindende porsjon derav, i stand til å binde et første antigen; b) oppnå et andre moderantistoff eller antigen-bindende porsjon derav, i stand til å binde et andre antigen; c) konstruere første og tredje polypeptidkjeder omfattende VD1-(X1)n-VD2-C-(X2)n, hvori, VD1 er et første tungkjede variabelt domene oppnådd fra nevnte første moder-antistoff eller antigen-bindende porsjon derav; VD2 er et andre tungkjede variabelt domene oppnådd fra nevnte andre moder-antistoff eller antigen-bindende porsjon derav; C er et tungkjede konstant domene; (X1)n er en linker med den forutsetningen at den ikke er CH1, hvori nevnte (X1)n er enten tilstede eller fraværende; og (X2)n er en Fc-region, hvori nevnte (X2)n er enten tilstede eller fraværende; d) konstruere andre og fjerde polypeptidkjeder omfattende VD1-(X1)n-VD2-C-(X2)n, hvori, VD1 er et første lettkjede variabelt domene oppnådd fra nevnte første moder-antistoff eller antigen-bindende porsjon derav; VD2 er et andre lettkjede variabelt domene oppnådd fra nevnte andre moder-antistoff eller antigen-bindende derav; C er et lettkjede konstant domene; (X1)n er en linker med den forutsetningen at den ikke er CH1, hvori nevnte (X1)n er enten tilstede eller fraværende; og (X2)n ikke omfatter en Fc-region, hvori nevnte (X2)n er enten tilstede eller fraværende; e) som uttrykker nevnte første, andre, tredje og fjerde polypeptidkjeder; slik at et immunoglobulin med to variable domener i stand til å binde nevnte første og nevnte andre antigen blir fremstilt.

I nok en annen utførelsesform tilveiebringer oppfinnelsen en fremgangsmåte for å fremstille et Immunoglobulin med to variable domener i stand til å binde to antigener med ønskede egenskaper omfattende trinnet å a) oppnå et første moderantistoff eller antigen-bindende porsjon derav, i stand til å binde et første antigen og innehar minst en ønsket egenskap vist av immunoglobulinet med to variable domener; b) oppnå et andre moderantistoff eller antigen-bindende porsjon derav, i stand til å binde et andre antigen og innehar minst en ønsket egenskap vist av immunoglobulinet med to variable domener; c) konstruere første og tredje polypeptidkjeder omfattende VD1-(X1)n-VD2-C-(X2)n, hvori; VD1 er et første tungkjede variabelt domene oppnådd fra nevnte første moder-antistoff eller antigen-bindende porsjon derav; VD2 er et andre tungkjede variabelt domene oppnådd fra nevnte andre moder-antistoff eller antigen-bindende porsjon derav; C er et tungkjede konstant domene; (X1)n er en linker med den forutsetningen at den ikke er CH1, hvori nevnte (X1)n er enten tilstede eller fraværende; og (X2)n er en Fc-region, hvori nevnte (X2)n er enten til stede eller fraværende; d) konstruere andre og fjerde polypeptidkjeder omfattende VD1-(X1)n-VD2-C-(X2)n, hvori; VD1 er et første lettkjede variabelt domene oppnådd fra nevnte første moder-antistoff eller antigen-bindende porsjon derav; VD2 er et andre lettkjede variabelt domene oppnådd fra nevnte andre moder-antistoff eller

antigen-bindende porsjon derav; C er et lettkjede konstant domene; (X1)n er en linker med den forutsetningen at den ikke er CH1, hvori nevnte (X1)n er enten til stede eller fraværende; og (X2)n ikke omfatter en Fc-region, hvori nevnte (X2)n er enten til stede eller fraværende; e) som uttrykker nevnte første, andre, tredje og fjerde polypeptidkjeder; slik at et immunoglobulin med to variable domener i stand til å binde nevnte første og nevnte andre antigen med ønskede egenskaper blir fremstilt.

I en utførelsesform blir VDI'en til de første og andre polypeptidkjeder fremvist heri oppnådd fra det samme moderantistoff eller antigen-bindende porsjon derav. I en annen utførelsesform blir VDI'en til de første og andre polypeptidkjeder fremvist heri oppnådd fra forskjellige moder-antistoffer eller antigen-bindende porsjoner derav. I en annen utførelsesform blir VD2'en til de første og andre polypeptidkjeder fremvist heri oppnådd fra det samme moderantistoff eller antigen-bindende porsjon derav. I en annen utførelsesform blir VD2'en til de første og andre polypeptidkjeder fremvist heri oppnådd fra forskjellige moder-antistoffer eller antigen-bindende porsjoner derav.

I en utførelsesform det første moder-antistoffet eller antigen-bindende porsjon derav, og det andre moder-antistoffet eller antigen-bindende porsjon derav, er det samme antistoffet. I en annen utførelsesform det første moder-antistoffet eller antigen-bindende porsjon derav, og det andre moder-antistoffet eller antigen-bindende porsjon derav, er forskjellige antistoffer.

I en utførelsesform det første moder-antistoffet eller antigen-bindende porsjon derav, binder et første antigen og det andre moder-antistoffet eller antigen-bindende porsjon derav, binder et andre antigen. I en bestemt utførelsesform, de første og andre antigenene er det samme antigenet. I en annen utførelsesform, moder-antistoffene binder forskjellige epitoper på det samme antigenet. I en annen utførelsesform de første og andre antigenene er forskjellige antigener. I en annen utførelsesform, det første moder-antistoffet eller antigen-bindende porsjon derav, binder det første antigenet med en styrke forskjellig fra styrken som det andre moder-antistoffet eller antigen-bindende porsjon derav, binder det andre antigenet. I nok en annen utførelsesform, det første moder-antistoffet eller antigen-bindende porsjon derav, binder det første antigenet med en affinitet forskjellig fra affiniteten som det andre moder-antistoffet eller antigen-bindende porsjon derav, binder det andre antigenet.

I en annen utførelsesform det første moder-antistoffet eller antigen-bindende porsjon derav, og det andre moder-antistoffet eller antigen-bindende porsjon derav, er valgt fra gruppen bestående av, humant antistoff, CDR-podet antistoff, og humanisert antistoff. I en utførelsesform, antigenet-bindende porsjoner er valgt fra gruppen bestående av et Fab-fragment, en $F(ab')_2$ fragment, et bivalent fragment omfattende to Fab-fragmenter knyttet sammen ved en disulfid-bro ved hengsel-regionen; et Fd-fragment bestående av VH- og CH1-domenene; et Fv-fragment

bestående av VL- og VH-domenene fra en enkelt arm til et antistoff, et dAb-fragment, en isolert komplementaritetsbestemmende region (CDR), et enkelt-kjede antistoff, og diabodier.

I en annen utførelsesform innehar det bindende proteinet ifølge oppfinnelsen minst en ønsket egenskap fremvist av det første moder-antistoffet eller antigen-bindende porsjon derav, eller det andre moder-antistoffet eller antigen-bindende porsjon derav. Alternativt, det første moder-antistoffet eller antigen-bindende porsjon derav og det andre moder-antistoffet eller antigen-bindende porsjon derav inneha minst en ønsket egenskap vist av immunoglobulinet med to variable domener. I en utførelsesform er den ønskede egenskapen valgt fra en eller flere antistoff-parametre. I en annen utførelsesform er antistoff-parametrene valgt fra gruppen bestående av antigen spesifisitet, affinitet ovenfor antigen, styrke, biologisk funksjon, epitop-gjenkjenning, stabillitet, løselighet, produksjonseffektivitet, immunogenitet, farmakokinetikk, biotilgjengelighet, kryssreaktivitet for vev, og ortolog antigen-binding. I en utførelsesform er det bindende proteinet multivalent. I en annen utførelsesform er det bindende proteinet multispesifikt. De multivalente og eller multispesifikke bindende proteinene beskrevet heri har ønskelig egenskaper spesielt fra et terapeutisk standpunkt. For eksempel, det multivalente og eller multispesifikt bindende proteinet kan (1) bli internalisert (og/eller katabolisert) raskere enn et bivalent antistoff av en celle som uttrykker et antigen til hvilket antistoffene binder; (2) være et agonist-antistoff; og/eller (3) indusere celledød og/eller apoptose av en celle som uttrykker et antigen som det multivalente antistoff er i stand til å binde til. "Moder-antistoffet" som tilveiebringer minst et antigen bindingsspesifisitet til de multivalente og eller multispesifikke bindende proteinene kan være et som blir internalisert (og/eller katabolisert) av en celle som uttrykker et antigen til hvilket antistoffet binder; og/eller kan være en agonist, celledød-induserende, og/eller apoptose-induserende antistoff, og det multivalente og eller multispesifikt bindende proteinet som beskrevet heri kan fremvise forbedring(er) i en eller flere av disse egenskaper. Videre, moder-antistoffet kan mangle enhver eller flere av disse egenskaper, men kan bli forsynt med dem når konstruert som et multivalent-bindende protein som beskrevet heri.

I en annen utførelsesform har det bindende proteinet ifølge oppfinnelsen en på-hastighetskonstant (Kon) til et eller flere mål valgt fra gruppen bestående av: minst omtrent $10^2M^{-1}s^{-1}$; minst omtrent $10^3M^{-1}s^{-1}$; minst omtrent $10^4M^{-1}s^{-1}$; minst omtrent $10^5M^{-1}s^{-1}$; og minst omtrent $10^6M^{-1}s^{-1}$, som målt ved overflate-plasmonresonans. I en utførelsesform har det bindende proteinet ifølge oppfinnelsen en på-hastighetskonstant (Kon) til et eller flere mål mellom $10^2M^{-1}s^{-1}$ og $10^3M^{-1}s^{-1}$; mellom $10^3M^{-1}s^{-1}$ og $10^4M^{-1}s^{-1}$; mellom $10^4M^{-1}s^{-1}$ og $10^5M^{-1}s^{-1}$; eller mellom $10^5M^{-1}s^{-1}$ og $10^6M^{-1}s^{-1}$, som målt ved overflate-plasmonresonans.

I en annen utførelsesform har det bindende proteinet en av-hastighetskonstant (Koff) for et eller flere mål valgt fra gruppen bestående av: på det meste omtrent $10^{-3}s^{-1}$; på det meste omtrent $10^{-4}s^{-1}$; på det meste omtrent $10^{-5}s^{-1}$; og på det meste omtrent $10^{-6}s^{-1}$, som målt ved

overflate-plasmonresonans. I en utførelsesform har det bindende proteinet ifølge oppfinnelsen en av-hastighetskonstant (Koff) til et eller flere mål of $10^{-3}s^{-1}$ til $10^{-4}s^{-1}$; på $10^{-4}s^{-1}$ til $10^{-5}s^{-1}$; eller på $10^{-5}s^{-1}$ til $10^{-6}s^{-1}$, som målt ved overflate-plasmonresonans.

I en annen utførelsesform har det bindende proteinet en dissosieringskonstant (K_D) til et eller flere mål valgt fra gruppen bestående av: på det meste omtrent 10^{-7} M; på det meste omtrent 10^{-8} M; på det meste omtrent 10^{-9} M; på det meste omtrent 10^{-10} M; på det meste omtrent 10^{-11} M; på det meste omtrent 10^{-12} M; og på det meste 10^{-13} M. I en utførelsesform har det bindende proteinet ifølge oppfinnelsen en dissosieringskonstant (K_D) til dets mål på 10^{-7} M til 10^{-8} M; på 10^{-8} M til 10^{-9} M; på 10^{-9} M til 10^{-10} M; på 10^{-10} til 10^{-11} M; på 10^{-11} M til 10^{-12} M; eller på 10^{-12} til M 10^{-13} M.

I en annen utførelsesform er det bindende proteinet beskrevet heri et konjugat videre omfattende et middel valgt fra gruppen bestående av et immunoadhesjonsmolekyl, et billedfremkallingsmiddel, et terapeutisk middel, og et cytotoksisk middel. I en utførelsesform er billedfremkallingsmiddelet valgt fra gruppen bestående av et radioaktivt merkestoff, et enzym, et fluorescerende merkestoff, et luminescerende merkestoff, et bioluminescerende merkestoff, et magnetisk merkestoff, og biotin. I en annen utførelsesform er billedfremkallingsmiddelet et radioaktivt merkestoff valgt fra gruppen bestående av: ^{3}H, ^{14}C, ^{35}S, ^{90}Y, ^{99}Tc, ^{111}In, ^{125}I, ^{131}I, ^{177}Lu, ^{166}Ho, og ^{153}Sm. I nok en annen utførelsesform er det terapeutiske eller cytotoksiske middelet valgt fra gruppen bestående av en anti-metabolitt, et alkylerende middel, et antibiotika, en vekstfaktor, et cytokin, et anti-angiogent middel, et anti-mitotisk middel, et antrasyklin, toksin, og et apoptotisk middel.

I en annen utførelsesform er det bindende proteinet beskrevet heri et krystallisert bindende protein og eksisterer som en krystal. I en utførelsesform er krystallen en bærer-fri farmasøytisk kontrollert-frigjørelseskrystall. I nok en annen utførelsesform har det krystalliserte bindende proteinet en lengre halveringstid *in vivo* enn den løselige motparten av nevnte bindende protein. I nok en annen utførelsesform beholder det krystalliserte bindende proteinet biologisk aktivitet.

I en annen utførelsesform er det bindende proteinet beskrevet heri glykosylert. For eksempel er glykosyleringen et humant glykosyleringsmønster.

Et aspekt ifølge oppfinnelsen angår en isolert nukleinsyre som koder for enhver av de bindende proteinene fremvist heri. En ytterligere utførelsesform tilveiebringer en vektor omfattende den isolerte nukleinsyren fremvist heri hvori nevnte vektor er valgt fra gruppen bestående av pcDNA; pTT (Durocher et al., *Nukleinsyrer Forskning* 2002, Vol 30, No.2); pTT3 (pTT med ytterligere multippel kloning sete; pEFBOS (Mizushima, S. og Nagata, S., (1990)

Nukleinsyrer Forskning Vol 18, No. 17); pBV; pJV; pcDNA3.1 TOPO, pEF6 TOPO og pBJ. I en utførelsesform er vektoren en vektor fremvist i US Patent Søknad Serienr. 61/021,282.

I et annet aspekt blir en vertscelle transformert med vektoren fremvist heri. I en utførelsesform er vertscellen en prokaryotisk celle. I en annen utførelsesform er vertscellen E.Coli. I en beslektet utførelsesform er vertscellen en eukaryotisk celle. I en annen utførelsesform er den eukaryotiske cellen valgt fra gruppen bestående av protist-celle, dyrecelle, plantecelle og soppcelle. I nok en annen utførelsesform er vertscellen en pattedyrscelle inkludert, men ikke begrenset til, CHO, COS; NS0, SP2, PER.C6 eller en soppcelle slik som Saccharomyces cerevisiae; eller en insektscelle slik som Sf9.

I en utførelsesform, to eller flere DVD-Ig'er, f.eks., med forskjellig spesifisiteter, blir produsert i en enkelt rekombinant vertscelle. For eksempel har uttrykkingen av en blanding av antistoffer blitt kalt Oligoclonics™ Merus B.V., The Neterlands); U.S. Patentnr.. 7,262,028; 7,429,486.

Et annet aspekt ifølge oppfinnelsen tilveiebringer en fremgangsmåte for å fremstille et bindende protein fremvist heri omfattende å dyrke enhver av vertscellene også fremvist heri i et vekstmedium under betingelser tilstrekkelig for å produsere det bindende proteinet. I en utførelsesform er 50%-75% av det bindende proteinet produsert ved denne metoden et dobbelt spesifikt tetravalent bindende protein. I en bestemt utførelsesform er 75%-90% av det bindende proteinet produsert ved denne metoden et dobbelt spesifikt tetravalent bindende protein. I en bestemt utførelsesform er 90%-95% av det bindende proteinet produsert et dobbelt spesifikt tetravalent bindende protein.

En utførelsesform tilveiebringer en sammensetning for frigjørelsen av et bindende protein hvori sammensetningen omfatter en formulering som igjen omfatter et krystallisert bindende protein, som fremvist heri, og en ingrediens, og minst en polymer bærer. For eksempel er den polymere bæreren en polymer valgt fra en eller flere av gruppen bestående av: poly (akrylsyre), poly (cyanoakrylater), poly (aminosyrer), poly (anhydrider), poly (depsipeptid), poly (estere), poly (melkesyre), poly (melke-ko-glykolsyre) eller PLGA, poly (b-hydroksybutyrat), poly (kaprolakton), poly (dioksanon); poly (etylenglykol), poly ((hydroksypropyl) metakrylamid, poly [(organo)fosfazen], poly (orto-estere), poly (vinylalkohol), poly (vinylpyrrolidon), maleic kopolymere anhydrid-alkylvinyletere, pluroniske polyoler, albumin, alginat, cellulose og cellulose derivater, kollagen, fibrin, gelatin, hyaluronsyre, oligosakkarider, glykaminoglykaner, sulfat polysakkarider, blandinger og kopolymere derav. For eksempel er ingrediensen valgt fra gruppen bestående av albumin, sukrose, trehalose, laktitol, gelatin, hydroksypropyl-β- syklodekstrin, metoksypolyetylenglykol og polyetylenglykol. En annen utførelsesform tilveiebringer en metode

for å behandle et pattedyr omfattende trinnet å administrere til pattedyret en effektiv mengde av sammensetningen fremvist heri.

Oppfinnelsen tilveiebringer også en farmasøytisk sammensetning omfattende et bindende protein, som fremvist heri og en farmasøytisk akseptabel bærer. I en ytterligere utførelsesform den farmasøytiske sammensetningen omfatter minst et ytterligere terapeutisk middel for å behandle en forstyrrelse. For eksempel er det ytterligere middelet valgt fra gruppen bestående av: et terapeutisk middel, et billedfremkallingsmiddel, et cytotoksisk middel, en angiogenese-inhibitor (inkludert men ikke begrenset til et anti-VEGF antistoff eller en VEGF-felle), en kinase-inhibitor (inkludert men ikke begrenset til en KDR- og en TIE-2-inhibitor), en ko-stimulerende molekylblokkerer (inkludert men ikke begrenset til anti-B7.1, anti-B7.2, CTLA4-Ig, anti-CD20), en adhesjonsmolekyl-blokkerer (inkludert men ikke begrenset til et anti-LFA-1 antistoff, et anti-E/L selectin antistoff, en småmolekyl-inhibitor), et anti-cytokin antistoff eller funksjonelt fragment derav (inkludert men ikke begrenset til et anti-IL-18, et anti-TNF, og et anti-IL-6/cytokin reseptor antistoff), metotrexat, syklosporin, rapamycin, FK506, et detekterbart merkestoff eller rapportstoff, en TNF-antagonist, et antirevmatika, en muskelavslapper, et narkotisk stoff, et ikke-steroid anti-inflammatorisk legemiddel (NSAID), et analgetikum, et anestetika, et sedativ, et lokalt anestetika, en neuromuskulær blokkerer, et antimikrobisk middel, et antipsoriatisk middel, et kortikosteriod, et anabolt steroid, et erythropoietin, et immuniseringsmiddel, et immunoglobulin, et immunosuppressiv, et veksthormon, et hormonerstatningslegemiddel, et radiofarmasøytika, et antidepressiva, et antipsykotika, en stimulant, et astma-medikament, en beta-agonist, et inhalert steroid, et epinefrin eller analog, et cytokin, og en cytokin-antagonist.

I et annet aspekt tilveiebringer oppfinnelsen en metode for å behandle en human pasient som lider av en forstyrrelse hvori målet eller målene, i stand til å bli bundet av det bindende proteinet fremvist heri er skadelig, omfattende å administrere til den menneskelige pasienten et bindende protein fremvist heri slik ved aktiviteten til målet eller målene i den menneskelige pasienten blir inhibert og en av flere symptomer blir lindret eller behandling er oppnådd. For eksempel er forstyrrelsen valgt fra gruppen omfattende artritt, osteoartritt, juvenil kronisk artritt, septisk artritt, Lyme artritt, psoriatisk artritt, reaktiv artritt, spondyloartropati, systemisk lupus erytematose, Crohns sykdom, ulcerativ kolitt, inflammatorisk tarmsykdom, insulin avhengig diabetes mellitus, tyroiditt, astma, allergiske sykdommer, psoriasis, dermatitt skleroderma, transplantat-mot-vert sykdom, organtransplantat-avvisning, akutt eller kronisk immunsykdom assosiert med organ-transplantasjon, sarkoidose, aterosklerose, disseminert intravaskulær koagulasjon, Kawasakis sykdom, Graves sykdom, nefrotisk syndrom, kronisk utmattelsessyndrom, Wegeners granulomatose, Henoch-Schoenlein purpurea, mikroskopisk vaskulitt av nyrene, kronisk aktiv hepatitt, uveitt, septisk sjokk, toksisk sjokk syndrom, sepsis

syndrom, kakeksi, smittsomme sykdommer, parasittisk sykdommer, ervervet immunsvikt syndrom, akutt transvers myelitt, Huntingtons chorea, Parkinsons sykdom, Alzheimers sykdom, hjerneslag, primær biliær cirrhose, hemolytisk anemi, maligniteter, hjertesvikt, myokardielt infarkt, Addisons sykdom, sporadisk polyglandulær mangel type I og polyglandulær mangel type II, Schmidts syndrom, voksen (akutt) respiratorisk distress syndrom, alopeki, alopeki areata, seronegativ artopati, artropati, Reiters sykdom, psoriatisk artropati, ulcerativ kolittisk artropati, enteropatisk synovitt, klamydia, yersinia og salmonella assosiert artropati, spondyloartopati, ateromatisk sykdom/arteriosklerose, atopisk allergi, autoimmun bulløs sykdom, pemfigus vulgaris, pemfigus foliaceus, pemfigoid, lineær IgEn sykdom, autoimmun hemolytisk anemi, Coombs positiv hemolytisk anemi, ervervet pernisiøs anemi, juvenil pernisiøs anemi, myalgisk encefalitt/Royal Fri Sykdom, kronisk mucokutan candidiasis, storcelle arteritt, primær skleroserende hepatitt, kryptogenisk autoimmun hepatitt, Ervervet Immunsvikt Sykdom Syndrom, Ervervet Immunsvikt Beslektede Sykdommer, Hepatitt B, Hepatitt C, vanlig variabel immunsvikt (vanlig variabel hypogammaglobulinemi), dilatert kardiomyopati, kvinnelig infertilitet, eggstokksvikt, prematur eggstokksvikt, fibrotisk lungesykdom, kryptogen fibroserende alveolitt, post-inflammatorisk interstitiell lungesykdom, interstitiell pneumonitt, bindevevssykdom assosiert interstitiell lungesykdom, blandet bindevevssykdom assosiert lungesykdom, systemisk sklerose assosiert interstitiell lungesykdom, revmatoid artritt assosiert interstitiell lungesykdom, systemisk lupus erytematose assosiert lungesykdom, dermatomiositt/polymyositt assosiert lungesykdom, Sjögrens sykdom assosiert lungesykdom, ankyloserende spondylitt assosiert lungesykdom, vaskulitisk diffus lungesykdom, hemosiderose assosiert lungesykdom, legemiddelindusert interstitiell lungesykdom, fibrose, strålingsfibrose, bronkiolitt obliterans, kronisk eosinofil lungebetennelse, lymfocytisk infiltrativ lungesykdom, postsmittsom interstitiell lungesykdom, giktisk artritt, autoimmun hepatitt, type-1 autoimmun hepatitt (klassisk autoimmun eller lupoid hepatitt), type-2 autoimmun hepatitt (anti-LKM antistoff hepatitt), autoimmun mediert hypoglykemi, type B insulinresistens med acanthosis nigricans, hypoparatyroidisme, akutt immunsykdom assosiert med organ-transplantasjon, kronisk immunsykdom assosiert med organ-transplantasjon, osteoarthrose, primær skleroserende kolangitt, psoriasis type 1, psoriasis type 2, idiopatisk leukopeni, autoimmun neutropeni, nyresykdom NOS, glomerulonefritt, mikroskopisk vasulitt av nyrene, lyme sykdom, diskoid lupus erytematose, mannlig infertilitet idiopatisk eller NOS, sædcelle autoimmunitet, multippel sklerose (alle undertyper), sympatisk oftalmi, pulmonær hypertensjon sekundært til bindevevssykdom, Goodpastures syndrom, pulmonær manifestasjon av polyarteritt nodosa, akutt revmatisk feber, revmatoid spondylitt, Stills sykdom, systemisk sklerose, Sjörgrens syndrom, Takayasus sykdom/arteritt, autoimmun trombocytopeni, idiopatisk trombocytopeni, autoimmun tyroid sykdom, hypertyroidisme, goitrous autoimmun hypotyroidisme (Hashimotos sykdom), atrofisk autoimmun hypotyroidisme, primært myxoødem, facogen uveitt, primær vaskulitt, vitiligo akutt leversykdom, kroniske leversykdommer,

alkoholisk cirrhose, alkohol-indusert leverskade, koleosatatis, idiosynkratisk leversykdom, Legemiddelindusert hepatitt, Ikke-alkoholisk Steatohepatitt, allergi og astma, gruppe B streptococci (GBS) infeksjon, mentale forstyrrelser (*f.eks.*, depressjon og schizofreni), Th2 Type og Th1 Type medierte sykdommer, akutt og kronisk smerte (forskjellige typer av smerte), og kreftsykdommer slik som lunge, bryst, mage, blære, tykktarm, bukspyttkjertel, eggstokk, prostata og rektal kreft og hematopoietiske maligniteter (leukemi og lymfom), Abetalipoprotemi, Acrocyanose, akutte og kroniske parasittisk eller smittsomme prosesser, akutt leukemi, akutt lymfoblastisk leukemi (ALLE), akutt myeloid leukemi (AML), akutt eller kronisk bakteriell infeksjon, akutt pancreatitt, akutt nyresvikt, adenokarsinomer, luftige ektopiske slag, AIDS demens-kompleks, alkohol-indusert hepatitt, allergisk konjunktivitt, allergisk kontaktdermatitt, allergisk rinitt, allotransplantat-avvisning, alfa-l- antitrypsin mangel, amyotrofisk lateral sklerose, anemi, angina pectoris, fremre horncelle degenerering, anti cd3 terapi, antifosfolipid syndrom, anti-reseptor hypersensitivitetsreaksjoner, aortiske og perifere anevrismer, aortadisseksjon, arteriell hypertensjon, arteriosklerose, arteriovenøs fistula, ataksi, atriell flimmer (vedvarende eller paroksysmal), atriell flutter, atrioventrikulær blokkering, B-celle lymfom, beintransplantat avvisning, beinmargtransplantat (BMT) avvisning, "bundle branch"-blokkering, Burkitts lymfom, Brannskader, kardielle arytmier, kardiell lammelsessyndrom, kardielle tumorer, kardiomyopati, kardiopulmonær bypass inflammasjonsrespons, brusktransplantat-avvisning, cerebellære kortikale degenerasjoner, cerebellære forstyrrelser, kaotisk eller multifokal atriell takykardi, kjemoterapi-assosierte forstyrrelser, kronisk myelocytisk leukemi (CML), kronisk alkoholisme, kroniske inflammatoriske patologier, kronisk lymfocytisk leukemi (CLL), kronisk obstruktiv pulmonær sykdom (COPD), kronisk salisylatforgiftning, kolorektalt karsinom, kongestiv hjertesvikt, konjunktivitt, kontaktdermatitt, cor pulmonale, koronær arteriesykdom, Creutzfeldt-Jakob sykdom, kultur-negativ sepsis, cystisk fibrose, cytokinterapi-assosierte forstyrrelser, Demens pugilistica, demyelinerende sykdommer, dengue hemoragisk feber, dermatitt, dermatologiske tilstander, diabetes, diabetes mellitus, diabetisk ateriosklerotisk sykdom, Diffus Lewy-kropp sykdom, dilatert kongestiv kardiomyopati, forstyrrelser i det basale ganglia, Downs Syndrom i middelalder, legemiddel- indusert bevegelsesforstyrrelser indusert av legemidler som blokkerer CNS dopaminreseptorer, legemiddelfølsomhet, eksem, encefalomyelitt, endokarditt, endokrinopati, epiglottitt, epstein-barr virus infeksjon, erytromelalgi, ekstrapyramidal og cerebellære forstyrrelser, familiær hematofagocytisk lymfohistiocytose, føtalt tymus implantat avvisning, Friedreichs ataksi, funksjonell perifere arterielle forstyrrelser, sopp sepsis, gass-koldbrann, mavesår, glomerulær nefritt, transplantat-avvisning av ethvert organ eller vev, gram-negativ sepsis, gram-positiv sepsis, granulomar på grunn av intracellulære organismer, hårcelle leukemi, Hallerrorden-Spatz sykdom, hashimotos tyroiditt, høyfeber, hjertetransplantasjons-avvisning, hemakromatose, hemodialyse, hemolytisk uremisk syndrom/trombolytisk trombocytopenisk purpura, blødning, hepatitt (A), "His bundle" arytmier, HIV infeksjon/HIV

nevropati, Hodgkins sykdom, hyperkinetiske bevegelsesforstyrrelser, hypersensibilitetsreaksjoner, hypersensitivitet pneumonitt, hypertensjon, hypokinetiske bevegelsesforstyrrelser, hypothalamus-hypofyse-binyre-akse evaluering, idiopatisk Addisons sykdom, idiopatisk pulmonær fibrose, antistoff-mediert cytotoksisitet, Asteni, infantil spinal muskulær atrofi, inflammasjon av aorta, influensa a, ioniserende strålingseksponering, iridocyclitt/uveitt/optisk neuritt, iskemi- reperfusjon skade, iskemisk hjerneslag, juvenil revmatoid artritt, juvenil spinal muskulær atrofi, Kaposis sarkom, nyretransplantasjon avvisning, legionella, leishmaniasis, spedalskhet, lesjoner på det kortikospinale systemet, lipødem, levertransplantasjon avvisning, lymfederma, malaria, malignamt Lymfom, malignant histiocytose, malignant melanom, meningitt, meningococcemia, metabolisk/idiopatisk sykdommer, migrene hodepine, mitokondriell multisystem forstyrrelse, blandet bindevevssykdom, monoklonal gammopati, multippel myelom, multippel-systemdegenerasjoner (Mencel Dejerine- Thomas Shi-Drager og Machado-Josef), myAsteni gravis, mycobacterium avium intracellulære, mycobacterium tuberculose, myelodyplastisk syndrom, myokardielt infarkt, myokardielle iskemiske forstyrrelser, nasofaryngeal karsinom, neonatal kronisk lungesykdom, nefritt, nefrose, nevrodegenerativ sykdommer, nevrogene I muskulære atrofier, neutropen feber, ikke- hodgkins lymfom, okklusjon av den abdominale aorta og dens sidegrener, okklusiv arteriell forstyrrelser, okt3 terapi, orkitt/epidydimitt, orkitt/vasektomi-reversering prosedyrer, organomegali, osteoporose, bukspyttkjertel transplantasjon avvisning, bukspyttkjertel karsinom, paraneoplastisk syndrom/hyperkalsemi av ondartethet, paratyroid transplantasjon avvisning, inflammatorisk bekken sykdom, perennial rinitt, perikardiell sykdom, perifer aterlosklerotisk sykdom, perifere vaskulære forstyrrelser, peritonitt, pernisiøs anemi, pneumocystis carinii lungebetennelse, lungebetennelse, POEMS syndrom (polynevropati, organomegali, endokrinopati, monoklonal gammopati, og hudforandringssyndrom), postperfusjonssyndrom, post pump syndrom, post-MI kardiotomi syndrom, preeklampsi, Progressiv supranukleær parese, primær pulmonær hypertensjon, strålingsterapi, Raynauds fenomen og sykdom, Raynouds sykdom, Refsums sykdom, jevnlig smal QRS takykardi, renovaskulær hypertensjon, reperfusjon skade, restriktiv kardiomyopati, sarkomer, skleroderma, senil chorea, Senil Demens av Lewy-legemer typen, seronegativ artropatier, sjokk, sigd-celle anemi, hud allotransplantat-avvisning, hudforandringssyndrom, liten tarm transplantasjon avvisning, faste tumorer, spesifikke arytmier, spinal ataksi, spinocerebellære degenerasjoner, streptokokk myositt, strukturelle lesjoner på lillehjernen, Subakutt skleroserende panencefalitt, Synkope, syfilis i det kardiovaskulære systemet, systemisk anafalaksi, systemisk inflammatorisk respons syndrom, systemisk utbrudd juvenil revmatoid artritt, T-celle eller FAB ALLE, Telangiektasi, tromboangitt obliterans, trombocytopeni, toksisitet, transplantasjoner, traumer/blødning, type III hypersensitivitetsreaksjoner, type IV hypersensitivitet, ustabil angina, uremi, urosepsis, urtikaria, valvulære hjertesykdommer, åreknuter, vaskulitt, venøse sykdommer, venøs trombose, ventrikulært flimmer, virale infeksjoner og soppinfeksjoner, vital

encefalitt/aseptisk meningitt, vital-assosiert hemafagocytisk syndrom, Wernicke- Korsakoff syndrom, Wilsons sykdom, xenotransplantat-avvisning av ethvert organ eller vev, Akutte koronære syndromer, akutt idiopatisk polyneuritt, akutt inflammatorisk demyelinerende polyradiculonevropati, akutt iskemi, voksen Stills sykdom, alopeki areata, Anafylakse, anti-fosfolipid antistoff syndrom, aplastisk anemi, arteriosklerose, atopisk eksem, atopisk dermatitt, autoimmun dermatitt, autoimmun forstyrrelse assosiert med streptococcus infeksjon, autoimmun enteropati, autoimmun hearing tap, autoimmun lymfoproliferativt syndrom (ALPS), autoimmun myokarditt, autoimmun prematur eggstokksvikt, blefaritt, bronchiectasis, Bulløs pemfigoid, kardiovaskulær sykdom, katastrofisk antifosfolipid syndrom, Cøliac sykdom, Cervikal spondylose, kronisk iskemi, cicatricial pemfigoid, klinisk isolert syndrom (cis) med risiko for multippel sklerose, konjunktivitt, Barndom utbrudd Psykiatrisk forstyrrelse, kronisk obstruktiv pulmonær sykdom (COPD), dacryocystitt, dermatomiositt, diabetisk retinopati, diabetes mellitus, Skiveprolaps, Skiveprolaps, legemiddel indusert immun hemolytisk anemi, endokarditt, endometriose, endoftalmitt, episkleritt, Erytema multiforme, Erytema multiforme major, Svangerskaps pemfigoid, Guillain-Barré syndrom (GBS), høyfeber, Hughes syndrom, idiopatisk Parkinsons sykdom, idiopatisk interstitiell lungebetennelse, IgE-mediert allergi, immun hemolytisk anemi, inclusion body myositt, Smittsom okkulær inflammatorisk sykdom, inflammatorisk demyelinerende sykdom, inflammatorisk hjertesykdom, inflammatorisk nyresykdom, IPF/UIP, iritt, keratitt, keratojuntivitt sicca, Kussmaul sykdom eller Kussmaul-Meier sykdom, Landrys Paralyse, Langerhans celle histiocytose, livedo reticularis, makulær degenerering, mikroskopisk polyangiitt, morbus bechterev, Motornevron forstyrrelser, slimhinne pemfigoid, multippel organsvikt, myAsteni gravis, myelodysplastisk syndrom, myokarditt, Nerverot forstyrrelser, nevropati, ikke-A ikke-B hepatitt, optisk neuritt, osteolyse, eggstokk kreft, Pauciartikulær JRA, perifer arterie okklusiv sykdom (PAOD), perifer vaskulær sykdom (PVD), perifer arterie, sykdom (PAD), flebitt, polyarteritt nodosa (eller periarteritt nodosa), polykondritt, polymyalgi revmatiska, poliose, Polyartikulær JRA, polyendokrin mangel syndrom, polymyositt, polymyalgi revmatiska (PMR), post-pump syndrom, primær Parkinsonisme, prostata og rektal kreft og hematopoietiske maligniteter (leukemi og lymfom), prostatitt, Ren rødcelle aplasi, primær binyrer utilstrekkelighet, tilbakevendende neuromyelitt optica, restenose, revmatisk hjertesykdom, safo (synovitt, akne, pustulose, hyperostose, og osteitt), skleroderma, sekundær amyloidose, Sjokklunge, skleritt, isjas, sekundær binyrer utilstrekkelighet, Silikonassosiert bindevevssykdom, sneddon-wilkinson dermatose, spondilitt ankylosans, Stevens-Johnson syndrom (SJS), systemisk inflammatorisk respons syndrom, temporær arteritt, toksoplasmisk retinitt, toksisk epidermal necrolyse, transvers myelitt, TRAPS (tumornekrose-faktor reseptor, type 1 allergisk reaksjon, type II diabetes, urtikaria, vanlig interstitiell lungebetennelse (UIP), vaskulitt, vernal konjunktivitt, viral retinitt, Vogt-Koyanagi-Harada syndrom (VKH syndrom), våt makulær degenerering, sårtilheling, yersinia og salmonella assosiert artropati.

I en utførelsesform, sykdommer som kan bli behandlet eller diagnostisert med sammensetningene og metodene ifølge oppfinnelsen inkluderer, men er ikke begrenset til, primære og metastatiske kreftsykdommer, inkludert karsinomer i bryst, tykktarm, rektum, lunge, orofarynks, hypofarynks, øsofagus, mave, bukspyttkjertel, lever, galleblære og galleganger, tynntarmen, urinveien (inkludert nyre, blære og urothelium), kvinnelige kjønnsorgan (inkludert livmorhals, livmor og eggstokker så vel som choriokarsinom og Trofoblastisk svangerskapssykdom), manlige kjønnsorgan (inkludert prostata, sædblærer, testikler og kimcellesvulster), endokrine kjertler (inkludert skjoldbruskkjertelen, binyrene og hypofysen), og hud, så vel som hemangiomer, melanomer, sarkomer (inkludert de som stammer fra bein og myke vev så vel som Kaposis sarkom), tumorer i hjernen, nerver, øyne, og hjernehinnene (inkludert astrocytomer, gliomer, glioblastomer, retinoblastomer, nevromer, nevroblastomer, Schwannomer, og meningiomer), faste tumorer oppstående fra hematopoietiske maligniteter slik som leukemier og lymfomer (både Hodgkins og ikke-Hodgkins lymfomer).

DVD-Ig'ene ifølge oppfinnelsen kan også behandle en eller flere av de følgende sykdommer: Akutte koronære syndromer, Akutt Idiopatisk Polyneuritt, Akutt Inflammatorisk Demyelinerende Polyradiculonevropati, Akutt iskemi, Voksen Stills Sykdom, Alopeki areata, Anafylakse, Anti-Fosfolipid Antistoff Syndrom, Aplastisk anemi, Arteriosklerose, Atopisk eksem, Atopisk dermatitt, Autoimmun dermatitt, Autoimmun forstyrrelse assosiert med Streptococcus infeksjon, Autoimmun hørseltap, Autoimmun Lymfoproliferativt syndrom (ALPS), Autoimmun myokarditt, autoimmun trombocytopeni (AITP), Blefaritt, Bronchiectasis, Bulløs pemfigoid, Kardiovaskulær Sykdom, Katastrofisk Antifosfolipid Syndrom, Cøliac Sykdom, Cervikal Spondylose, Kronisk iskemi, Cicatricial pemfigoid, Klinisk isolert Syndrom (CIS) med Risiko for Multippel sklerose, Konjunktivitt, Barndom Utbrudd Psykiatrisk Forstyrrelse, Kronisk obstruktiv pulmonær sykdom (COPD), Dacryocystitt, dermatomiositt, Diabetisk retinopati, Diabetes mellitus, Skiveprolaps, Skiveprolaps, Legemiddel indusert immun hemolytisk anemi, Endokarditt, Endometriose, endoftalmitt, , Episkleritt, Erytema multiforme, Erytema multiforme major, Svangerskaps pemfigoid, Guillain-Barré Syndrom (GBS), Høyfeber, Hughes Syndrom , Idiopatisk Parkinsons Sykdom, idiopatisk interstitiell lungebetennelse, IgE-mediert Allergi, Immun hemolytisk anemi, Inclusion Body Myositt, Smittsom okkulær inflammatorisk sykdom, Inflammatorisk demyelinerende sykdom, Inflammatorisk hjertesykdom, Inflammatorisk nyresykdom, IPF/UIP, Iritt, Keratitt, Keratojuntivitt sicca, Kussmaul sykdom eller Kussmaul-Meier Sykdom, Landrys Paralyse, Langerhans Celle Histiocytose, Livedo reticularis, Makulær Degenerering, maligniteter, Mikroskopisk Polyangiitt, Morbus Bechterev, Motornevron Forstyrrelser, Slimhinne pemfigoid, Multippel organsvikt, MyAsteni Gravis, Myelodysplastisk Syndrom, Myokarditt, Nerverot Forstyrrelser, Nevropati, ikke-A ikke-B Hepatitt, Optisk Neuritt, Osteolyse, Eggstokk kreft, Pauciartikulær JRA, perifer arterie okklusiv sykdom (PAOD), perifer

vaskulær sykdom (PVD), perifer arterie sykdom (PAD), Flebitt, Polyarteritt nodosa (eller periarteritt nodosa), Polykondritt, Polymyalgi Revmatiska, Poliose, Polyartikulær JRA, Polyendokrin Mangel Syndrom, Polymyositt, polymyalgi revmatiska (PMR), Post-Pump Syndrom, primær parkinsonisme, prostata og rektal kreft og hematopoietiske maligniteter (leukemi og lymfom), Prostatitt, Ren rødcelle aplasi, Primær Binyrer Utilstrekkelighet, Tilbakevendende Neuromyelitt Optica, Restenose, Revmatisk hjertesykdom, SAFO (synovitt, akne, pustulose, hyperostose, og osteitt), Skleroderma, Sekundær Amyloidose, Sjokklunge, Skleritt, Isjas, Sekundær Binyrer Utilstrekkelighet, Silikonassosiert bindevevssykdom, Sneddon-Wilkinson Dermatose, spondilitt ankylosans, Stevens-Johnson Syndrom (SJS), Systemisk inflammatorisk respons syndrom, Temporær arteritt, toksoplasmisk retinitt, toksisk epidermal nekrolyse, Transvers myelitt, TRAPS (Tumornekrose-faktor Reseptor, Type 1 allergisk reaksjon, Type II Diabetes, Urtikaria, Vanlig interstitiell lungebetennelse (UIP), Vaskulitt, Vernal konjunktivitt, viral retinitt, Vogt-Koyanagi-Harada syndrom (VKH syndrom), Våt makulær degenerering, og Sårtilheling.

I en utførelsesform blir antistoffene ifølge oppfinnelsen, eller antigen-bindende porsjoner derav, anvendt for å behandle kreft eller i forhindringen av metastaser fra tumorene beskrevet heri enten når anvendt alene eller i kombinasjon med radioterapi og/eller andre kjemoterapeutiske midler.

I et annet aspekt oppfinnelsen tilveiebringer en metode for å behandle en pasient som lider av en forstyrrelse omfattende trinnet å administrere enhver av de bindende proteinene fremvist heri før, samtidig, eller etter administrasjonen av et andre middel, som diskutert heri. I en bestemt utførelsesform det andre middelet er valgt fra gruppen bestående av budenosid, epidermal vekstfaktor, kortikosteroider, syklosporin, sulfasalazin, aminosalisylater, 6-merkaptopurin, azatioprin, metronidazol, lipoksygenase inhibitorer, mesalamin, olsalazin, balsalazid, antioksidanter, tromboksan-inhibitorer, IL-1 reseptor-antagonister, anti-IL-1β mAb'er, anti-IL-6 eller IL-6 reseptor mAb'er, vekstfaktorer, elastase inhibitorer, pyridinyl-imidazol forbindelser, antistoffer eller agonister of TNF, LT, IL-1, IL-2, IL-6, IL-7, IL-8, IL-12, IL-13, IL-15, IL-16, IL-18, IL-23, EMAP-II, GM-CSF, FGF, og PDGF, antistoffer of CD2, CD3, CD4, CD8, CD-19, CD25, CD28, CD30, CD40, CD45, CD69, CD90 eller deres ligander, metotrexat, syklosporin, FK506, rapamycin, mykofenolat mofetil, leflunomid, NSAID'er, ibuprofen, kortikosteroider, prednisolon, fosfodiesterase-inhibitorer, adenosin-agonister, antitrombotiske midler, komplement inhibitorer, adrenergiske midler, IRAK, NIK, IKK, p38, MAP kinase-inhibitorer, IL-1β konverterende enzym-inhibitorer, TNFαkonverterende enzym-inhibitorer, T-celle signalliserings-inhibitorer, metalloproteinase inhibitorer, sulfasalazin, azatioprin, 6-merkaptopuriner, angiotensin-konverterende enzym-inhibitorer, løselige cytokin-reseptorer,

løselig p55 TNF reseptor, løselig p75 TNF reseptor, sIL-1RI, sIL-1RII, sIL-6R, anti-inflammatoriske cytokiner, IL-4, IL-10, IL-11, IL-13 og TGFβ.

I en bestemt utførelsesform de farmasøytiske sammensetningene fremvist heri er administrert til pasienten ved minst en mode valgt fra parenteral, subkutan, intramuskulær, intravenøs, intrartikulær, intrabronkiell, intraabdominal, intrakapsulær, intrakartilaginøst, intrakavitøst, intracelialt, intracerebralt, intracerebroventrikulært, intrakolisk, intracervikalt, intragastrisk, intrahepatisk, intramyokardielt, intraostealt, intrapelvisk, intraperikardielt, intraperitonalt, intrapleuralt, intraprostatisk, intrapulmonært, intrarektalt, intrarenalt, intraretinalt, intraspinalt, intrasynovialt, intratoraksialt, intrauterint, intravesikalt, bolus, vaginalt, rektalt, bukkalt, sublingualt, intranasalt og transdermalt.

Et aspekt ifølge oppfinnelsen tilveiebringer minst et anti-idiotype antistoff til minst et bindende protein ifølge den foreliggende oppfinnelsen. Anti-idiotype antistoffet inkluderer ethvert protein eller peptid inneholdende molekyl som omfatter minst en del av et immunoglobulin molekyl slik som, men ikke begrenset til, minst en komplementært bestemmende region (CDR) til et tung- eller lettkjede eller en ligand-bindende porsjon derav, en tungkjede eller lettkjede variabel region, en tungkjede eller lettkjede konstant region, en rammeverk-region, eller enhver porsjon derav, som kan bli inkorporert inn i et bindende protein ifølge den foreliggende oppfinnelsen.

Kort beskrivelse av tegningene

Figur 1A er en skjematisk representasjon av Ig-konstruksjoner med to variable domener (DVD) og viser strategien for genereringen av et DVD-Ig fra to moderantistoffer;

Figur 1B, er en skjematisk representasjon av konstruksjoner DVD1-Ig, DVD2-Ig, og to kimeriske mono-spesifikke antistoffer fra hybridoma kloner 2D13.E3 (anti-IL–1α) og 13F5.G5 (anti-IL–1β).

Detaljert Beskrivelse av oppfinnelsen

Denne oppfinnelsen angår multivalente og/eller multispesifikke bindende proteiner i stand til å binde to eller flere antigener. Spesifikt angår oppfinnelsen immunoglobuliner med to variable domener (DVD-Ig), og farmasøytiske sammensetninger derav, så vel som nukleinsyrer, rekombinant uttrykkende vektorer og vertsceller for å lage slike DVD-Ig'er. Fremgangsmåter for å anvende DVD-Ig'ene ifølge oppfinnelsen for å detektere spesifikke antigener, enten *in vitro* eller *in vivo* er også omfattet av oppfinnelsen.

Med mindre annet er definert heri, vitenskapelige og tekniske uttrykk anvendt i forbindelse med den foreliggende oppfinnelsen skal ha betydningene som det vanligvis er forstått av fagmann. Betydningen og omfanget av uttrykkene burde være klart, imidlertid, i tilfelle av enhver latent tvetydighet, definisjoner tilveiebrakt heri take presedens over enhver ordbok eller

ytre definisjon. Videre skal, medmindre nødvendig utifra sammenhengen, singulære uttrykkl inkludere pluralities og flertallsuttrykk skal inkludere entall. I denne søknaden betyr anvendelsen av "eller" det samme som "og/eller" medmindre annet er hevdet. Videre, anvendelsen av uttrykket "inkludert", så vel som andre former, slik som "inkluderer" og "inkludert", er ikke begrensende. Også, terms slik som "element" eller "komponent" omfatter både elementer og komponenter omfattende en enhet og elementer og komponenter som omfatter mer enn en underenhet medmindre annet er spesifikt nevnt.

Generelt, nomenklaturer anvendt i forbindelse med, og teknikker of, celle- og vevsdyrking, molekylærbiologi, immunologi, mikrobiologi, genetikk og protein- og nukleinsyrekjemi og hybridisering beskrevet heri er de velkjent og vanligvis anvendt i teknikken. Metodene og teknikkene ifølge den foreliggende oppfinnelsen blir generelt utført ifølge konvensjonelle metoder velkjent i teknikken og som beskrevet i diverse generelle og mer spesifikke referanser som er sitert og diskutert i den foreliggende spesifikkasjonen medmindre ellers indikert. Enzymatiske reaksjoner og renseteknikker blir utført i henhold til produsentens spesifikasjoner, som vanligvis oppnådd i teknikken eller som beskrevet heri. Nomenklaturene anvendt i forbindelse med, og laboratorieprosedyrene og teknikkene for, analytisk kjemi, syntetisk organisk kjemi, og medisinal og farmasøytisk kjemi beskrevet heri er de velkjent og vanligvis anvendt i teknikken. Standard teknikker blir anvendt for kjemisk syntese, kjemisk analyser, farmasøytisk fremstilling, formulering, og levering, og behandling av pasienter.

Slik ved den foreliggende oppfinnelsen kan lettere bli forstått, er utvalgte uttrykk definert nedenfor.

Uttrykket "polypeptid" som anvendt heri, refererer til enhver polymerkjede med aminosyrer. Uttrykkene "peptid" og "protein" er anvendt om hverandre med uttrykket polypeptid og refererer også til en polymerkjede med aminosyrer. Uttrykket "polypeptid" omfatter opprinnelige eller kunstige proteiner, proteinfragmenter og polypeptidanaloger til en proteinsekvens. Et polypeptid kan være monomert eller polymert. Anvendelse av "polypeptid" heri er ment å omfatte polypeptid og fragmenter og varianter (inkludert fragmenter av varianter) derav, medmindre på annen måte motsagt ved sammenhengen. For et antigent polypeptid, inneholder et fragment av polypeptid valgfritt minst en kontinuerlig eller ikke-lineær epitop av polypeptid. De eksakte grensene til det minst ene epitop-fragmentet kan bli bekreftet ved å bruke vanlig ferdighet i teknikken. Fragmentet omfatter minst omtrent 5 kontinuerlige aminosyrer, slik som minst omtrent 10 kontinuerlige aminosyrer, minst omtrent 15 kontinuerlige aminosyrer, eller minst omtrent 20 kontinuerlige aminosyrer. En variant av polypeptid er som beskrevet heri.

Uttrykket "isolert protein" eller "isolert polypeptid" er et protein eller polypeptid som på grunn av dets opphav eller utgangspunkt for derivatisering ikke er assosiert med naturlig

assosierte komponenter som følger med det i dets opprinnelige tilstand; er hovedsaklig fri for andre proteiner fra den samme spesien; er uttrykt av en celle fra en forskjellig type; eller forekommer ikke i naturen. Følgelig vil et polypeptid som er kjemisk syntetisert, eller syntetisert i et cellulært system forskjellig fra cellen fra hvilken den naturlig kommer fra, være "isolert" fra dets naturlig assosierte komponenter. Et protein kan også bli tilveiebrakt hovedsaklig fri for naturlig assosierte komponenter ved isolering, ved å bruke proteinrensingsteknikker velkjent i teknikken.

Uttrykket "å gjenvinne" som anvendt heri, refererer til prosessen med å gjenvinne en kjemisk spesie slik som et polypeptid hovedsaklig fri for naturlig assosierte komponenter ved isolering, f.eks., ved å bruke proteinrensingsteknikker velkjent i teknikken.

"Biologisk aktivitet" som anvendt heri, refererer til enhver eller flere iboende biologiske egenskaper til et molekyl (enten naturlig til stede som funnet *in vivo*, eller tilveiebrakt eller muliggjort ved rekombinante midler). Biologiske egenskaper inkluderer men er ikke begrenset til bindende reseptor; induksjon av celle-proliferering, inhibere celle-vekst, induksjon av andre cytokiner, induksjon av apoptose, og enzymatisk aktivitet. Biologisk aktivitet inkluderer også aktivitet til et Ig-molekyl.

Uttrykkene "spesifikke bindende" eller "spesifikt bindende", som anvendt heri, i referanse til interaksjonen til et antistoff, et protein, eller et peptid med en andre kjemisk spesie, betyr ved interaksjonen er avhengig av nærværet av en bestemt struktur (f.eks. et antigen determinant eller epitop) på det kjemiske spesiet; for eksempel, et antistoff gjenkjenner og binder heller til en spesifikk proteinstruktur enn til proteiner generelt. Hver et antistoff er spesifikt for epitop "A", nærværet av et molekyl inneholdende epitop en (eller fri, umerket A), i en reaksjon inneholdende merket "A" og antistoffet, vil redusere mengden av merket en bundet til antistoffet.

Uttrykket "antistoff", som anvendt heri, refererer bredt til ethvert immunoglobulin (Ig) molekyl omfattet av fire polypeptidkjeder, to tung (H) kjeder og to lett (L) kjeder, eller ethvert funksjonelt fragment, mutant, variant, eller derivat derav, som beholder de essensielle epitop-bindende egenskapene til et Ig-molekyl. Slike mutante, variante, eller derivate antistoff-formater er kjent i teknikken. Ikke-begrensende utførelsesformer of som er diskutert nedenfor.

I et fullengde antistoff er hver tungkjede omfattet av en tungkjede variabel region (forkortet heri som HCVR eller VH) og en tungkjede konstant region. Tungkjede konstant regionen består av tre domener, CH1, CH2 og CH3. Hver lettkjede består av en lettkjede variabel region (forkortet heri som LCVR eller VL) og en lettkjede konstant region. Lettkjede konstant regionen består av et domene, CL. VH og VL regionene kan videre bli delt opp i regioner med hypervariabilitet, kalt komplementaritetsbestemmende regioner (CDR), adskilt med regioner som er mer konservert, kalt rammeverk-regioner (FR). Hver VH og VL består av tre CDR'er og fire

FR'er, arrangert fra amino-terminus til karboksy-terminus i følgende rekkefølge: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, FR4. Immunoglobulin molekyler kan være av enhver type (f.eks., IgG, IgE, IgM, IgD, IgA og IgY), klasse (f.eks., IgG 1, IgG2, IgG 3, IgG4, IgA1 og IgA2) eller underklasse.

Uttrykket "Fc-region" blir anvendt for å definere C-terminal regionen til et immunoglobulin-tungkjede, som kan bli fremstilt ved papain-fordøying av et intakt antistoff. Fc-regionen kan være en Fc-region med opprinnelig sekvens eller en variant Fc-region. Fc-regionen til et immunoglobulin omfatter generelt to konstant domener, et CH2 domene og et CH3 domene, og omfatter valgfritt et CH4 domene. utbyttinger av aminosyre-residuer i Fc-porsjonen for å forandre effektorfunksjonen til antistoff er kjent i teknikken (Winter, *et al.* US Patentnr. 5,648,260 og 5,624,821). Fc-porsjonen av et antistoff medierer flere viktige effektor-funksjoner f.eks. cytokin induksjon, ADCC, fagocytose, komplement-avhengig cytotoksisitet (CDC) og halveringstid/ klareringshastighet til antistoff og antigen-antistoffkomplekser. I noen tilfeller er disse effektor-funksjonene ønskelig for terapeutisk antistoff men kan i andre tilfeller være unødvendige eller til og med ødeleggende, avhengig av de terapeutiske formål. Visse menneskelige IgG erotypes, spesielt IgG1 og IgG3, formidler ADCC og CDC via binding til FcγRs og komplement C1q, henholdsvis. Neonatale Fc-reseptorer (FcRn) er de kritiske komponentene som bestemmer sirkulerings-halveringstiden til antistoffer. I nok en annen utførelsesform er minst en aminosyreresidu byttet ut i konstant-regionen til antistoffet, for eksempel Fc-regionen til antistoffet, slik ved effektorfunksjoner til antistoffet er forandret. Dimeriseringen av to identiske tungkjeder til et immunoglobulin er mediert av dimeriseringen av CH3 domener og er stabilisert av disulfid-bindingene innenfor hengsel-regionen (Huber et al. Nature; 264: 415-20; Ties et al 1999 J Mol Biol; 293: 67-79.). Mutasjon av cystein-residuer innenfor hengsel-regionene for å forhindre tungkjede-tungkjede disulfid-bindinger vil destabilisere dimerisering av CH3 domener. Residuer ansvarlige for CH3 dimerisering har blitt identifisert (Dall'Acqua 1998 Biochemistry 37: 9266-73.). Det er derfor mulig å generere et monovalent halv-Ig. Interessant nok har disse monovalente halv-Ig molekyler blitt funnet i naturen for både IgG og IgA underklasser (Seligman 1978 Ann Immunol 129: 855-70; Biewenga et al 1983 Clin Exp Immunol 51: 395-400). Støkiometrien til FcRn: Ig Fc-region har blitt bestemt å være 2:1 (West et al .2000 Biochemistry 39: 9698-708), og halv Fc er tilstrekkelig for å mediere FcRn-binding (Kim et al 1994 Eur J Immunol; 24: 542-548.). Mutasjoner for å forstyrre dimeriseringen av CH3 domene kan ikke ha større ødeleggende virkning på dets FcRn-binding siden residuene viktig for CH3-dimerisering er lokalisert på det indre grensesnittet til CH3 b-sheet strukturen, mens regionen ansvarlig for FcRn-binding er lokalisert på det ytre grensesnittet til CH2-CH3 domenene. Imidlertid kan det halve Ig-molekylet ha visse fordeler i vevsgjennomtrengning på grunn av dets mindre størrelse enn det til et vanlig antistoff. I en

utførelsesform er minst en aminosyreresidu byttet ut i konstant-regionen til det bindende proteinet ifølge oppfinnelsen, for eksempel Fc-regionen, slik ved dimeriseringen av tungkjedene er forstyrret, resulterende i halve DVD Ig-molekyler. Den anti-inflammatoriske aktiviteten til IgG er helt avhengig på sialylation of the N-linked glycan of IgG Fc-fragmentet. Den eksakte glycan-tilstanden for anti-inflammatorisk aktivitet har blitt bestemt, slik ved et passende IgG1 Fc-fragment kan bli lagd, for dermed å generere en helt rekombinant, sialylert IgG1 Fc med kraftig forbedret styrke (Anthony, R.M., et al. (2008) Science 320:373-376).

Uttrykket "antigen-bindende porsjon" til et antistoff (eller bare "antistoff-porsjonen"), som anvendt heri, refererer til en eller flere fragmenter til et antistoff som beholder evnen til spesifikt å binde til et antigen. Det har blitt vist ved det antigen-bindende funksjonen til et antistoff kan bli utført av fragmenter av et fullengde antistoff. Slike utførelsesformer av antistoffer kan også være bispesifikk, dobbelt spesifikke, eller multi-spesifikke formater; spesifikt bindende til to eller flere forskjellige antigener. Eksempler på bindende fragmenter omfattet innenfor uttrykket "antigen-bindende porsjon" til et antistoff inkluderer (i) et Fab-fragment, et monovalent fragment bestående av VL, VH, CL og CH1 domenene; (ii) en $F(ab')_2$ fragment, et bivalent fragment omfattende to Fab-fragmenter knyttet sammen ved en disulfid-bro ved hengsel-regionen; (iii) et Fd-fragment bestående av VH- og CH1-domenene; (iv) et Fv-fragment bestående av VL- og VH-domenene fra en enkelt arm til et antistoff, (v) et dAb-fragment (Ward *et al.*, (1989) *Natur* 341:544-546, Winter et al., PCT-publikasjon WO 90/05144 A1), som omfatter et enkelt variabelt domene; og (vi) en isolert komplementaritetsbestemmende region (CDR). Videre, selv om de to domenene til Fv-fragmentet, VL og VH, er kodet for av separate gener kan de bli knyttet sammen, ved å bruke rekombinante metoder, av en syntetisk linker som gjør de i stand til å bli lagd som en enkelt proteinkjede hvori VL og VH-regionene parres for å danne monovalente molekyler (kjent som enkelt-kjede Fv (scFv); se *f.eks.*, Bird *et al.* (1988) *Science* 242:423-426; og Huston *et al.* (1988) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 85:5879-5883). Slike enkelt-kjede antistoffer er også ment å være omfattet innenfor uttrykket "antigen-bindende porsjon" til et antistoff. Andre former av enkelt-kjede antistoffer, slik som diabodier er også omfattet. Diabodier er bivalente, bispesifikke antistoffer hvori VH og VL domener blir uttrykt på en enkelt polypeptidkjede, men ved å bruke en linker som er for kort for å muliggjøre parring mellom de to domenene på det samme kjedet, dermed tvinge domenene å parre med komplementære domener til et annet kjede og skaper to antigen-bindende seter (se *f.eks.*, Holliger, P., *et al.* (1993) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90:6444-6448; Poljak, R.J., *et al.* (1994) *Structure* 2:1121-1123). Slike antistoff-bindende porsjoner er kjent i teknikken (Kontermann og Dubel eds., Antibody Engineering (2001) Springer-Verlag. Ny York. 790 pp. (ISBN 3-540-41354-5). I tillegg inkluderer enkelt-kjede antistoffer også "lineære antistoffer" omfattende et par med tandem Fv-segmenter (VH-CH1-VH-CH1) som, sammen med komplementære lettkjede polypeptider, danner

et par med antigen-bindende regioner (Zapata et al. Protein Eng. 8(10):1057-1062 (1995); og US Patentnr. 5,641,870).

Uttrykket "multivalent-bindende protein" blir anvendt gjennom hele denne spesifikasjonen for å betegne et bindende protein omfattende to eller flere antigen-bindende seter. I en utførelsesform er det multivalent-bindende proteinet konstruert for å ha the tre eller flere antigen-bindende seter, og er generelt ikke et naturlig forekommende antistoff. Uttrykket "multispesifikt bindende proteinet" refererer til et bindende protein i stand til å binde to eller flere beslektede eller ikke-beslektede mål. Bindende proteiner med to variable domener (DVD) ifølge oppfinnelsen omfatter to eller flere antigen-bindende seter og er tetravalente eller multivalente bindende proteiner. DVD'er kan være monospesifikke, dvs., i stand til å binde et antigen eller multispesifikt, dvs. i stand til å binde to eller flere antigener. DVD-bindende proteiner omfattende to tungkjede DVD polypeptider og to lettkjede DVD polypeptider er referert til som DVD-Ig. Hver halvpart av et DVD-Ig omfatter et tungkjede DVD polypeptid, og et lettkjede DVD polypeptid, og to antigen-bindende seter. Hvert bindende sete omfatter et tungkjede variabelt domene og et lettkjede variabelt domene med totalt 6 CDR'er involvert i antigen-binding per antigen-bindende sete.

Uttrykket "bispesifikt antistoff", som anvendt heri, refererer til fullengde antistoffer som er fremstilt ved "quadroma"-teknologi (se Milstein, C. og A.C. Cuello, Nature, 1983. 305(5934): p. 537-40), ved kjemisk konjugering av to forskjellige monoklonale antistoffer (se Staerz, U.D., et al., Nature, 1985. 314(6012): p. 628-31), eller ved knapp-i-hull eller lignende metoder som introduserer mutasjoner i Fc-regionen (se Holliger, P., T. Prospero, og G. Winter, Proc Natl Acad Sci U S A, 1993. 90(14): p. 6444-8.18), resulterende i flere forskjellige immunoglobulin-spesier av hvilke bare ett er et funksjonelt bispesifikt antistoff. ved molekylær funksjon, et bispesifikt antistoff binder et antigen (eller epitop) på en av dets to bindende armer (et par med HC/LC), og binder et annet antigen (eller epitop) på dets andre arm (et annet par med HC/LC). Ved denne definisjonen har et bispesifikt antistoff to distinkte antigen-bindende armer (både i spesifisitet og CDR-sekvenser), og er monovalent for hvert antigen det binder til.

Uttrykket "dobbelt-spesifikke antistoff", som anvendt heri, refererer til fullengde antistoffer som kan binde til forskjellige antigener (eller epitoper) i hver av dets to bindende armer (et par med HC/LC) (se PCT-publikasjon WO 02/02773). Følgelig har et dobbelt-spesifikt bindende protein to identiske antigen-bindende armer, med identisk spesifisitet og identiske CDR-sekvenser, og er bivalent for hvert antigen det binder til.

Et "funksjonelt antigen-bindende sete" til et bindende protein er et som er i stand til å binde et mål-antigen. Den antigen-bindende affiniteten til det antigen-bindende setet er ikke nødvendigvis like sterk som moder-antistoffet fra hvilket det antigen-bindende setet er avledet,

men evnen til å binde antigen må være målbar ved å bruke enhver av en rekke metoder kjent for å evaluere antistoff-binding til et antigen. Videre trenger ikke den antigen-bindende affiniteten til hver av de antigen-bindende setene til et multivalent antistoff heri være kvantitativt den samme.

Uttrykket "cytokin" er et generisk uttrykk for proteiner frigjort av en celle-populasjon, som virker på en annen celle-populasjon som intercellulære mediatorer. Eksempler på slike cytokiner er lymfokiner, monokiner, og tradisjonelle polypeptid-hormoner. Inkludert blant cytokinene er veksthormon slik som menneskelig veksthormon, N-metionyl menneskelig veksthormon, og bovint veksthormon; paratyroid hormon; tyroksin; insulin; proinsulin; relaxin; prorelaxin; glykoprotein-hormoner slik som hårsekkstimulerende hormon (FSH), tyroid stimulerende hormon (TSH), og luteinerende hormon (LH); hepatisk vekstfaktor; fibroblast vekstfaktor; prolaktin; placental laktogen; tumornekrose-faktor-alfa og - beta; mullerian-inhiberende stoff; mus gonadotropin-assosiert peptid; inhibin; aktivin; vaskulær endotel vekstfaktor; integrin; trombopoietin (TPO); nerve-vekstfaktorer slik som NGF-alfa; blodplate-vekstfaktor; placental vekstfaktor, transformerende vekstfaktorer (TGF'er) slik som TGF- alfa og TGF-beta; Insulin-lignende vekstfaktor-1 og -11; erythropoietin (EPO); osteoinduktive faktorer; interferoner slik som interferon-alfa, -beta og -gamma kolonistimulerende faktorer (CSF'er) slik som makrofage-CSF (M-CSF); granulocytt makrofage-CSF (GM-CSF); og granulocytt-CSF (G-CSF); interleukiner (IL'er) slik som IL-1, IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-9, IL-10, IL-11, IL-12, IL-13, IL-15, IL-18, IL-21, IL-22, IL-23, IL-33; en tumornekrose-faktor slik som TNF-alfa eller TNF-beta; og andre polypeptid faktorer inkludert LIF og kit ligand (KL). som anvendt heri inkluderer uttrykket cytokin proteiner fra naturlige kilder eller fra rekombinant cellekultur og biologisk aktive ekvivalenter av de opprinnelige sekvens cytokiner.

Uttrykket "linker" blir anvendt for å betegne polypeptider omfattende to eller flere aminosyre-residuer knyttet sammen med peptid-bindinger og blir anvendt for å knytte sammen en eller flere antigen-bindende porsjoner. Slike linker polypeptider er velkjent i teknikken (se *f.eks.*, Holliger, P., *et al.* (1993) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90:6444-6448; Poljak, R.J., *et al.* (1994) *Structure* 2:1121-1123). Eksempelvis inkluderer linkere, men er ikke begrenset til, AKTTPKLEEGEFSEAR (SEKV ID NR: 1); AKTTPKLEEGEFSEARV (SEKV ID NR: 2); AKTTPKLGG (SEKV ID NR: 3); SAKTTPKLGG (SEKV ID NR: 4); SAKTTP (SEKV ID NR: 5); RADAAP (SEKV ID NR: 6); RADAAPTVS (SEKV ID NR: 7); RADAAAAGGPGS (SEKV ID NR: 8); RADAAAA$(G_4S)_4$ (SEKV ID NR: 9); SAKTTPKLEEGEFSEARV (SEKV ID NR: 10); ADAAP (SEKV ID NR: 11); ADAAPTVSIFPP (SEKV ID NR: 12); TVAAP (SEKV ID NR: 13); TVAAPSVFIFPP (SEKV ID NR: 14); QPKAAP (SEKV ID NR: 15); QPKAAPSVTLFPP (SEKV ID NR: 16); AKTTPP (SEKV ID NR: 17); AKTTPPSVTPLAP (SEKV ID NR: 18); AKTTAP (SEKV ID NR: 19); AKTTAPSVYPLAP (SEKV ID NR: 20); ASTKGP (SEKV ID NR: 21); ASTKGPSVFPLAP (SEKV ID NR: 22),

GGGGSGGGGSGGGGS (SEKV ID NR: 23); GENKVEYAPALMALS (SEKV ID NR: 24); GPAKELTPLKEAKVS (SEKV ID NR: 25); og GHEAAAVMQVQYPAS (SEKV ID NR: 26).

Et immunoglobulin konstant domene refererer til et tung- eller lettkjede konstant domene. Menneskelig IgG-tungkjede og lettkjede konstant domene aminosyresekvenser er kjent i teknikken.

Uttrykket "monoklonale antistoff" eller "mAb" som anvendt heri refererer til et antistoff oppnådd fra en populasjon av hovedsaklig homogene antistoffer, dvs., de individuelle antistoffer omfattende populasjonen er identiske bortsett fra mulig naturlig forekommende mutasjoner som kan være tilstede i små mengder. Monoklonale antistoffer er i høy grad spesifikke, rettet mot et enkelt antigen. Videre, i motsetning til polyklonale antistoff-preparater som typisk inkluderer forskjellige antistoffer rettet mot forskjellige determinanter (epitoper), hver mAb er rettet mot en enkelt determinant på antigenet. Modifikatoren "monoklonale" er ikke å bli konstruert som å kreve produksjon av antistoffet ved noen bestemt metode.

Uttrykket "humant antistoff", som anvendt heri, er ment å inkludere antistoffer som har variable og konstante regioner avledet fra immunoglobulin sekvenser fret menneskee kimceller. De humane antistoffene ifølge oppfinnelsen kan inkludere aminosyre-residuer ikke kodet av human kimlinje immunoglobulin sekvenser (f.eks., mutasjoner introdusert ved tilfeldig eller sete-spesifikk mutagenese *in vitro* eller ved somatisk mutasjon *in vivo*), for eksempel i CDR'ene og spesielt CDR3. Imidlertid er ikke uttrykket "humant antistoff", som anvendt heri, ment å inkludere antistoffer hvori CDR-sekvenser avledet fra kjønnscellene til en annen pattedyrart, slik som en mus, har blitt podet på humane rammeverksekvenser.

Uttrykket "rekombinant humant antistoff", som anvendt heri, er ment å inkludere alle humane antistoffer som blir fremstilt, uttrykt, lagd eller isolert ved rekombinante midler, slik som antistoffer uttrykt ved å bruke en rekombinant uttrykkingsvektor transfektert inn i en vertscelle (beskrevet videre i Seksjon II C, nedenfor), antistoffer isolert fra et rekombinant, kombinatorisk humant antistoff-bibliotek (Hoogenboom H.R. (1997) TIB Tech. 15:62-70; Azzazy H., og Highsmith W.E. (2002) Clin. Biochem. 35:425-445; Gavilondo J.V., og Larrick J.W. (2002) BioTechniques 29:128-145; Hoogenboom H., og Chames P. (2000) Immunologi Idag 21:371-378), antistoffer isolert fra et dyr (f.eks., en mus) som er transgent for humane immunoglobulin gener (se, Taylor, L. D., et al. (1992) Nucl. Syrer Res. 20:6287-6295; Kellermann S-A. og Green L.L. (2002) Current Opinion i Bioteknologi 13:593-597; Little M. et al. (2000) Immunologi Idag 21:364-370) eller antistoffer fremstilt, uttrykt, lagd eller isolert ved enhver annen metode som involverer spleising av humane immunoglobulin gensekvenser til andre DNA-sekvenser. Slike rekombinante humane antistoffer har variable og konstante regioner avledet fra immunoglobulin sekvenser fret menneskee kimceller. I visse utførelsesformer er imidlertid slike rekombinante

humane antistoffer utsatt for *in vitro* mutagenese (eller, når et dyr transgent for humane Ig-sekvenser blir anvendt, *in vivo* somatisk mutagenese) og følgelig er aminosyresekvensene til VH og VL regionene til de rekombinante antistoffene sekvenser som, selv om de er avledet fra og relatert til humane kimcellelinje VH og VL sekvenser, ikke kan eksistere naturlig innenfor det humane antistoff repertoaret hos kimcellelinjer *in vivo*.

Et "affinitetsmodnet" antistoff er et antistoff med en eller flere forandringer i en eller flere CDR'er derav som resulterer i en forbedring i affiniteten til antistoffet for antigen, sammenlignet med et moderantistoff som ikke innehar den forandringen(e). Eksempelvis vil affinitetsmodnede antistoffer ha nanomolare eller til og med picomolare affiniteter for mål-antigenet. Affinitetsmodnede antistoffer blir produsert ved prosedyrer kjent i teknikken. Marks et al. BidlTeknologi 10:779-783 (1992) beskriver affinitetsmodning ved VH og VL domenestokking. Tilfeldig mutagenese av CDR og/eller rammeverk-residuer er beskrevet av: Barbas et al. Proc Nat. Acad. Sci, USA 91:3809-3813 (1994); Schier et al. Gene 169:147- 155 (1995); Yelton et al. J. Immunol. 155:1994-2004 (1995); Jackson et al., J. Immunol. 154(7):3310-9 (1995); Hawkins et al, J. Mol. BioL 226:889-896 (1992) og selektiv mutasjon ved selektive mutagenese-posisjoner, kontakt- eller hypermutasjonsposisjoner med en aktivitetsforsterkende aminosyreresidu som beskrevet i US patent US 6914128B1.

Uttrykket "kimerisk antistoff" refererer til antistoffer som omfatter tung- og lettkjede variabel region sekvenser fra en art og konstant region sekvenser fra en annen art, slik som antistoffer som har murine tung- og lettkjede variable regioner knyttet til humane konstantregioner.

Uttrykket "CDR-podet antistoff" refererer til antistoffer som omfatter tung- og lettkjede variabel region sekvenser fra en art men hvori sekvensene til en eller flere av CDR-regionene til VH og/eller VL er byttet ut med CDR-sekvenser fra en annen art, slik som antistoffer som har murine tung- og lettkjede variable regioner hvori en eller flere av de murine CDR'ene (f.eks., CDR3) har blitt byttet ut med humane CDR-sekvenser.

Uttrykket "humanisert antistoff" refererer til antistoffer som omfatter tung- og lettkjede variabel region sekvenser fra en ikke-human art (f.eks., en mus) men hvori minst en del av VH- og/eller VL-sekvensen har blitt forandret til å være mer "menneskelignende", dvs., mer lik humane kimcellelinje variable sekvenser. En type av humanisert antistoff er et CDR-podet antistoff, hvori humane CDR-sekvenser blir introdusert inn i ikke-humane VH og VL sekvenser for å erstatte de korresponderende ikke-humane CDR-sekvensene. Også "humanisert antistoff"er et antistoff eller en variant, derivat, analog eller fragment derav som immunospesifikt binder til et antigen av interesse og som omfatter en rammeverk (FR) region som har hovedsaklig aminosyre-sekvensen til et humant antistoff og en komplementær-bestemmende region (CDR) som har

hovedsaklig aminosyre-sekvensen til et ikke-humant antistoff. Som anvendt heri, refererer uttrykket "hovedsaklig" i sammenheng med en CDR til en CDR som har en aminosyre-sekvens minst 80%, minst 85%, minst 90%, minst 95%, minst 98% eller minst 99% identisk med aminosyre-sekvensen til et ikke-humant antistoff CDR. Et humanisert antistoff omfatter hovedsaklig alle av minst en, og typisk to, variable domener (Fab, Fab', F(ab') 2, FabC, Fv) hvori alle eller hovedsaklig alle av CDR-regionene tilsvarer de til et ikke-humant immunoglobulin (dvs., donor antistoff) og alle eller hovedsaklig alle av rammeverk-regionene er de fra en human immunoglobulin konsensus-sekvens. I en utførelsesform omfatter et humanisert antistoff også minst en del av en immunoglobulin konstant-region (Fc), typisk en fra et humant immunoglobulin. I noen utførelsesformer inneholder et humanisert antistoff både lettkjedet så vel som minst det variable domenet av et tungkjede. Antistoffet kan også inkludere CH1, hengsel, CH2, CH3, og CH4 regionene av tungkjedet. I noen utførelsesformer inneholder et humanisert antistoff bare et humanisert lettkjede. I noen utførelsesformer inneholder et humanisert antistoff bare et humanisert tungkjede. I spesifikke utførelsesformer inneholder et humanisert antistoff bare et humanisert variabelt domene fra et lettkjede og/eller humanisert tungkjede.

Uttrykkene "Kabat-nummerering", "Kabat-definisjoner" og "Kabat-merking" er anvendt om hverandre heri. Disse uttrykkene, som er gjenkjent i teknikken, refererer til et system for å nummerere aminosyre-residuer som er mer variable (*dvs.* hypervariable) enn andre aminosyre-residuer i de tung- og lettkjede variable regionene til et antistoff, eller en antigen-bindende porsjon derav (Kabat-*et al.* (1971) *Ann. NY Acad, Sci.* 190:382-391 og, Kabat, E.A., *et al.* (1991) *Sequences of proteins of immunological interest, Fifth Edition*, U.S. Department of Health and Human Services, NIH Publikasjonsnr. 91-3242). For den tungkjede variable regionen, strekker den hypervariable regionen seg fra aminosyre-posisjoner 31 til 35 for CDR1, aminosyre-posisjoner 50 til 65 for CDR2, og aminosyre-posisjoner 95 til 102 for CDR3. For lettkjede variable regionen, strekker den hypervariable regionen seg fra aminosyre-posisjoner 24 til 34 for CDR1, aminosyre-posisjoner 50 til 56 for CDR2, og aminosyre-posisjoner 89 til 97 for CDR3.

Som anvendt heri, refererer uttrykket "CDR" til den komplementaritetsbestemmende regionen innenfor de antistoff variable sekvenser. Det er tre CDR'er i hver av de variable regionene til tungkjedet og lettkjedet, som er betegnet CDR1, CDR2 og CDR3, for hver av de variable regionene. Uttrykket "CDR-sett" som anvendt heri refererer til en gruppe av tre CDR'er som forekomme i en enkelt variabel region i stand til å binde antigenet. De eksakte grensene for disse CDR'er har blitt definert forskjellig ifølge forskjellig systemer. Systemet beskrevet av Kabat-(Kabat-et al., Sequences of Proteins of immunological interest (National Institutes of Health, Betesda, Md. (1987) og (1991)) tilveiebringer ikke bare et entydig residu-nummereringsystem anvendbart på enhver variabel region til et antistoff, men tilveiebringer også presise residu-grenser som definerer de tre CDR'er. Disse CDR'er kan bli referert til som Kabat-

CDR'er. Chotia og medarbeidere (Chotia &Lesk, J. Mol. Biol. 196:901-917 (1987) og Chotia et al., Nature 342:877-883 (1989)) fant ved visse under-porsjoner innenfor Kabat-CDR'er antar nesten identiske peptidryggrads-konformasjoner, selvom de har stor variasjon på aminosyresekvens-nivået. Disse under-porsjoner ble betegnet som L1, L2 og L3 eller H1, H2 og H3 hvor "L" og "H" betegner henholdsvis lettkjede og tungkjede regionene. Disse regioner kan bli referert til som Chotia CDR'er, som har grenser som overlapper med Kabat-CDR'er. Andre grenser som definerer CDR'er som overlapper med Kabat-CDR'ene har blitt beskrevet av Padlan (FASEB J. 9:133-139 (1995)) og MacCallum (J Mol Biol 262(5):732-45 (1996)). Ytterligere andre definisjoner av CDR-grenser kan strengt tatt ikke følge et av systemene heri, men vil allikevel overlappe med Kabat-CDR'ene, selv om de kan bli forkortet eller forlenget i lys av prediksjon eller eksperimentelle funn ved bestemte residuer eller grupper av residuer eller til og med hele CDR'er ikke påvirker antigen-binding i betydelig grad. Metodene anvendt heri kan benytte seg av CDR'er definert ifølge ethvert av disse systemene, selv om visse utførelsesformer anvender Kabat-eller Chotia definerte CDR'er.

Som anvendt heri, refererer uttrykket "rammeverk" eller "rammeverk-sekvens" til de gjenværende sekvensene til en variabel region minus CDR'ene. Fordi den eksakte definisjonen av en CDR-sekvens kan bli bestemt ved forskjellig systemer, betydningen av en rammeverk-sekvens er gjenstand for tilsvarende forskjellige tolkninger. De seks CDR'ene (CDR-L1, -L2, og -L3 fra lettkjede og CDR-H1, -H2, og -H3 fra tungkjede) deler også rammeverk-regionene på lettkjedet og tungkjedet inn i fire under-regioner (FR1, FR2, FR3 og FR4) på hvert kjede, hvori CDR1 er posisjonert mellom FR1 og FR2, CDR2 mellom FR2 og FR3, og CDR3 mellom FR3 og FR4. Uten å spesifisere de bestemte under-regioner som FR1, FR2, FR3 eller FR4, representerer en rammeverk-region, som referert av andre, de kombinerte FR'ene innenfor den variable regionen av en enkelt, naturlig forekommende immunoglobulinkjede. som anvendt heri, en FR representerer en av de fire under-regionene, og FR'er representerer to eller flere av de fire under-regionene som utgjør en rammeverk-region.

Som anvendt heri, refererer uttrykket "kimlinje antistoffgen" eller "genfragment" til en immunoglobulin-sekvens kodet av ikke-lymfoide celler som ikke har undergått modningsprosessen som fører til genetisk rearrangement og mutasjon for uttrykking av et bestemt immunoglobulin. (Se, f.eks., Shapiro et al., Crit. Rev. Immunol. 22(3): 183-200 (2002); Marchalonis et al., Adv Exp Med Biol. 484:13-30 (2001)). En av fordelene tilveiebrakt av diverse utførelsesformer ifølge den foreliggende oppfinnelsen stammer fra annerkjennelsen av ved kimlinje-antistoff gener er mer sannsynlige enn modne antistoff gener å konservere essensielle aminosyre-sekvens strukturer karakteristiske for individer i teknikken, følgelig mindre sannsynlige å bli gjenkjent som fra en fremmed kilde når anvendt terapeutisk i den teknikken.

Som anvendt heri, uttrykket "nøytraliserende" refererer til å motvirke den biologiske aktiviteten til et antigen når et bindende protein spesifikt binder antigenet. I en utførelsesform, the nøytraliserende-bindende protein binder cytokinet og reduserer dets biologiske aktivitet med minst omtrent 20%, 40%, 60%, 80%, 85% eller mer.

Uttrykket "aktivitet" inkluderer aktiviteter slik som bindings-spesifisiteten og affiniteten til et DVD-Ig ovenfor to eller flere antigener.

Uttrykket "epitop" inkluderer enhver polypeptid determinant i stand til spesifikk binding til en immunoglobulin- eller T-cellereseptor. I visse utførelsesformer inkluderer epitop-determinanter kjemisk aktive overflategrupperinger av molekyler slik som aminosyrer, sukker-sidekjeder, fosforyl, eller sulfonyl, og kan i visse utførelsesformer ha spesifikke tredimensjonale strukturelle karakteristikker, og/eller spesifikke ladningskarakteristikker. En epitop er en region på et antigen som blir bundet til av et antistoff. I visse utførelsesformer, et antistoff er sagt å spesifikt binde et antigen når det gjenkjenner dets målantigen i en kompleks blanding av proteiner og/eller makromolekyler. Antistoffer er sagt å "binde til den samme epitopen" hvis antistoffene kryss-konkurrerer (en forhindrer den bindende eller modulerende virkningen til den andre). I tillegg er strukturelle definisjoner av epitoper (overlappende, lignende, identiske) informative, men funksjonelle definisjoner er ofte mer relevante siden de omfatter strukturelle (binding) og funksjonelle (modulering, konkurranse) parametere.

Uttrykket "overflate-plasmonresonans", som anvendt heri, refererer til et optisk fenomen som gjør det mulig med analysering av sanntids biospesifikke interaksjoner ved detektering av forandringer i protein konsentrasjoner innenfor en biosensor-matrise, for eksempel ved å bruke BIAcore® systemet (BIAcore International AB, en GE Healthcare company, Uppsala, Sweden og Piscataway, NJ). For videre beskrivelser, se Jönsson, U., *et al.* (1993) *Ann. Biol. Clin.* 51:19-26; Jönsson, U., *et al.* (1991) *Biotechniques* 11:620-627; Johnsson, B., *et al.* (1995) *J. Mol. Recognit.* 8:125-131; og Johnnson, B., *et al.* (1991) *Anal. Biochem.* 198:268-277.

Uttrykket "K_{on}", som anvendt heri, er ment å referere til på-hastighetskonstanten for assosiering av et bindende protein (f.eks., et antistoff) to antigenet for å danne f.eks., antistoff/antigen-komplekset som er kjent i teknikken. "Kon" er også kjent ved uttrykkene "assosiasjonshastighets-konstant", eller "Ka", som anvendt om hverandre heri. Denne verdien indikerer bindingshastigheten til et antistoff til dets målantigen eller hastigheten av kompleksdannelse mellom et antistoff og antigen er også vist ved likningen nedenfor:

Antistoff ("Ab") + Antigen ("Ag")→Ab-Ag.

Uttrykket "K_{off}", som anvendt heri, er ment å referere til av-hastighetskonstanten for dissosiering, eller "dissosiasjonshastighetskonstant", til et bindende protein (f.eks., et antistoff) fra

f.eks., antistoff/antigen-komplekset som er kjent i teknikken. Denne verdien indikerer dissosieringshastigheten til et antistoff fra dets målantigen eller separering av Ab-Ag kompleks over tid til fritt antistoff og antigen som vist ved likningen nedenfor:

$$Ab + Ag \leftarrow Ab\text{-}Ag.$$

Uttrykket "K_D", som anvendt heri, er ment å referere til "likevektsdissosiasjonskonstant", og refererer til verdien oppnådd i en titreringsmåling ved likevekt, eller ved å dele dissosiasjonshastighetskonstanten (koff) på assosiasjonshastighets-konstanten (kon). Assosiasjonshastighets-konstanten, dissosiasjonshastighetskonstanten og likevektsdissosiasjons-konstanten blir brukt for å representere bindingsaffiniteten til et antistoff til et antigen. Metoder for å bestemme assosiasjons- og dissosiasjonshastighetskonstanter er velkjent i teknikken. Ved å bruke fluorescens–baserte teknikker gis høy følsomhet og muligheten for å undersøke prøver i fysiologiske buffere ved likevekt. Andre eksperimentelle tilnærminger og instrumenter slik som et BIAcore® (biomolekylær interaksjoneranalyse) assay kan bli anvendt (f.eks., instrument tilgjengelig fra BIAcore International AB, en GE Healthcare company, Uppsala, Sweden). Videre kan et KinExA® (Kinetic Exclusion Assay) assay, tilgjengelig fra Sapidyne Instrumenter (Boise, Idaho) også bli anvendt.

"Merkestoff" og "detekterbart merkestoff" betyr en enhet knyttet til en spesifikt bindende partner, slik som et antistoff eller en analytt, f.eks., for å gjøre reaksjonen mellom medlemmer av et spesifikt bindende par, slik som et antistoff og en analytt, detekterbar, og den spesifikt bindende partneren, f.eks., antistoff eller analytt, som er merket slik blir referert til som "detekterbart merket." Følgelig refererer uttrykket "merket bindende protein", som anvendt heri, til et protein med et merkestoff inkorporert som muliggjør identifiseringen av det bindende proteinet. I en utførelsesform er merkestoffet en detekterbar markør som kan produsere et signal som er detekterbart ved visuelle eller instrumentelle metoder, f.eks., inkorporering av en radioaktivt merken aminosyre eller tilknytning av biotinylenheter til et polypeptid som kan bli detektert ved merket avidin (f.eks. streptavidin inneholdende en fluorescent markør eller enzymatisk aktivitet som kan bli detektert ved optiske eller kolorimetriske metoder). Eksempler på merkestoffer for polypeptider inkluderer, men er ikke begrenset til, de følgende: radioisotoper eller radionuklider (f.eks., ^{3}H, ^{14}C, ^{35}S, ^{90}Y, ^{99}Tc, ^{111}In, ^{125}I, ^{131}I, ^{177}Lu, ^{166}Ho, eller ^{153}Sm); kromogener, fluorescerende merkestoffer (f.eks., FITC, rhodamin, lanthanide fosfors), enzymatisk merkestoffer (f.eks., pepperrot peroksidase, luciferase, basisk fosfatase); kjemoluminescerende markører; biotinyl grupper; forutbestemte polypeptid-epitoper gjenkjent av en sekundær reporter (f.eks., leucin glidelåspar-sekvenser, bindende seter for sekundære antistoffer, metal-bindende domener, epitop-merker); og magnetiske midler, slik som gadolinium kelater. Representative eksempler på merkestoffer vanligvis anvendt for immunassayer

inkluderer enheter som produserer lys, f.eks., acridinium-forbindelser, og enheter som produserer fluorescens, f.eks., fluorescein. Andre merkestoffer er beskrevet heri. I denne sammenhengen kan ikke enheten i seg selv bli detekterbart merket men kan bli detekterbar ved reaksjon med nok en annen enhet. Anvendelse av "detekterbart merket" er ment å omfatte den siste typen av detekterbar merking.

Uttrykket "konjugat" refererer til et bindende protein, slik som et antistoff, kjemisk knyttet til en andre kjemisk enhet, slik som et terapeutisk eller cytotoksisk middel. Uttrykket "middel" blir anvendt heri for å betegne en kjemisk forbindelse, en blanding av kjemiske forbindelser, et biologisk makromolekyl, eller et ekstrakt lagd fra biologiske materialer. I en utførelsesform inkluderer de terapeutiske eller cytotoksiske midlene, men er ikke begrenset til, pertussis toksin, taxol, cytochalasin B, gramicidin D, etidium bromid, emetine, mitomicin, etoposid, tenoposid, vincristin, vinblastin, colchicin, doksorubicin, daunorubicin, dihydroksy anthracindion, mitoxantron, mithramycin, actinomycin D, 1-dehydrotestosteron, glukokortikoider, prokain, tetrakain, lidokain, propranolol, og puromycin og analoger eller homologer derav. Når anvendt i forbindelse med et immunoassay kan konjugat-antistoffet være et detekterbart merket antistoff anvendt som deteksjonsantistoffet.

Uttrykkene "krystall" og "krystallisert" som anvendt heri, refererer til et bindende protein (f.eks., et antistoff), eller antigen-bindende porsjon derav, som eksisterer i form av en krystall. Krystaller er en form av fast stoff, som er distinkt fra andre former slik som den amorfe faste tilstanden eller den flytende krystallformen. Krystaller består av vanlige, repeterende, tredimensjonalee rekker av atomer, ioner, molekyler (f.eks., proteiner slik som antistoffer), eller molekylære sammenstillinger (f.eks., antigen/antistoff komplekser). Disse tre-dimensjonale rekker er arrangert ifølge spesifikke matematiske sammenhenger som er godt forstått i området. Den grunnleggende enheten, eller byggeblokken, som blir repetert i en krystall blir kalt den asymmetriske enheten. Repetisjon av den asymmetriske enheten i et arrangement som konformerer med en gitt, veldefinert krystalllografisk symmetri tilveiebringer "enhetscellen" til krystallen. Repetisjon av enhetscellen ved repeterende videreføringer i alle tre dimensjoner tilveiebringer krystallen. Se Giege, R. og Ducruix, A. Barrett, Crystallization of Nucleic Acids and Proteins, a Practical Approach, 2nd ea., pp. 20 1-16, Oksford University Press, Ny York, Ny York, (1999)."

Uttrykket "polynukleotid" betyr en polymer form bestående av to eller flere nukleotider, enten ribonukleotider eller deoksvnukleotider eller en modifisert form av en av typene nukleotid. Uttrykket inkluderer enkelt eller dobbelttrådede former av DNA.

Uttrykket "isolert polynukleotid" skal bety et polynukleotid (f.eks., av genomisk, cDNA, eller syntetisk opphav, eller en kombinasjon derav) som, grunnet dets opphav, det "isolerte

polynukleotidet" er ikke assosiert med hele eller en del av et polynukleotid med hvilket det "isolerte polynukleotidet" er funnet i naturen; er operasjonelt knyttet til et polynukleotid som det ikke er knyttet til i naturen; eller forekommer ikke i naturen som del av en større sekvens.

Uttrykket "vektor", er ment å referere til et nukleinsyre-molekyl i stand til å transportere en annen nukleinsyre til hvilket det har blitt bundet. En type av vektor er et "plasmid", som refererer til en sirkulær dobbeltrådet DNA-sløyfe inn i hvilket ytterligere DNA-segmenter kan bli ligert. En annen type av vektor er en viral vektor, hvori ytterligere DNA-segmenter kan bli ligert inn i det virale genomet. Visse vektorer er i stand til autonom replikering i en vertscelle inn i hvilken de er introdusert (f.eks., bakterielle vektorer som har et bakterielt opphav av replikering og episomale mammaliske vektorer). Andre vektorer (f.eks. ikke-episomale mammaliske vektorer) kan bli integrert inn i genomet til en vertscelle ved introduksjon inn i vertscellen, og dermed er replicated along med the vert genome. Videre, visse vektorer er i stand til dirigerende uttrykkingen av gener til hvilket de er operativt linked. Slike vektorer er referert til heri as "rekombinant uttrykkende vektorer" (eller bare, "uttrykkingsvektorer"). Generelt, uttrykkingsvektorer of utility i rekombinante DNA-teknikker er ofte i form av plasmids. I the til stede spesifikkation, "plasmid" og "vektor" kan bli anvendt om hverandre as the plasmid er the mest vanligvis anvendt form of vektor. Imidlertid er oppfinnelsen ment å inkludere slike andre former av uttrykkingsvektorer, slik som virale vektorer (f.eks., replikeringsudyktige retrovirus, adenovirus og adeno-assosiert virus), som betjener ekvivalente funksjoner.

Uttrykket "operasjonelt sammenknyttet" refererer til en sammenstilling hvori komponentene beskrevet er i et forhold som tillater dem å fungere på deres tiltenkte måte. En kontrollsekvens "operasjonelt sammenknyttet" til en kodingssekvens er ligert på en slik måte ved uttrykking av kodingssekvensen er oppnådd under betingelser kompatibel med kontrollsekvensener. "Operasjonelt sammenknyttede" sekvenser inkluderer både Uttrykking-kontrollsekvenser som er kontinuerlige med genet av interesse og Uttrykking-kontrollsekvenser som virker i *trans* eller på en avstand for å kontrollere genet av interesse. Uttrykket "uttrykking kontrollsekvens" som anvendt heri refererer til polynukleotid-sekvenser som er nødvendige for å oppnå uttrykkingen og prosessering av kodingssekvenser til hvilket de er ligert. Uttrykking-kontrollsekvenser inkluderer passende transkripsjonsinitierings, -terminerings, -promoterings og forsterkingssekvenser; effektive RNA-prosesseringssignaler slik som spleising og polyadenyleringssignaler; sekvenser som stabiliserer cytoplasmisk mRNA; sekvenser som forbedrer translasjonseffektivitet (dvs., Kozak konsensus-sekvens); sekvenser som forbedrer protein stabillitet; og når ønsket, sekvenser som forbedrer protein utsondring. Egenskapene til slike kontrollsekvenser varierer avhengig av vertsorganismen; i prokaryotes inkluderer slike kontrollsekvenser generelt promoter, ribosomal-bindende sete, og transkripsjonsterminerings-sekvens; i eukaryotes inkluderer generelt slike kontrollsekvenser promoter og

transkripsjonsterminerings-sekvens. Uttrykket "kontrollsekvenser" er ment å inkludere komponenter hvis tilstedeværelse er essensielle for uttrykking og prosessering, og kan også inkludere ytterligere komponenter hvis tilstedeværelse er fordelaktig, for eksempel, leder-sekvenser og fusjonspartner-sekvenser.

"Transformasjon", refererer til enhver prosess ved hvilken eksogen DNA går inn i en vertscelle. Transformasjon kan forekomme under naturlige eller kunstige betingelser ved å bruke diverse metoder velkjent i teknikken. Transformasjon kan baseres på enhver kjent metode for innsettingen av fremmede nukleinsyre-sekvenser inn i en prokaryotisk eller eukaryotisk vertscelle. Metoden blir valgt basert på vertscellen som blir transformert og kan inkludere, men er ikke begrenset til, viral infeksjon, elektroporering, lipofeksjon, og partikkelbombardering. Slike "transformerte" celler inkluderer stabilt transformerte celler hvori det innsatte DNA er i stand til replikering enten som et autonomt replikerende plasmid eller som en del av vertskromosomet. De inkluderer også celler som forbigående uttrykker det innsatte DNA eller RNA for begrensede tidsperioder.

Uttrykket "rekombinant vertscelle" (eller bare "vertscelle"), er ment å referere til en celle inn i hvilket eksogen DNA har blitt introdusert. I en utførelsesform omfatter vertscellen to eller flere (f.eks., multippel) nukleinsyrer som koder for antistoffer, slik som vertscellene beskrevet i US Patentnr. 7,262,028, for eksempel. Slike terms er ment å referere ikke bare til den spesifikke cellen, men også til etterkommere av slik en celle. Fordi visse modifikasjoner kan forekomme i etterfølgende generasjoner på grunn av enten mutasjon eller påvirkninger fra miljøet, trenger faktisk ikke slike etterkommere å være identiske med modercellen, men er allikevel inkludert innenfor omfanget av uttrykket "vertscelle" som anvendt heri. I en utførelsesform inkluderer vertsceller prokaryotiske og eukaryotiske celler valgt fra hvilken som helst del av alt som er levende. I en annen utførelsesform inkluderer eukaryotiske celler protist, sopp, plante og dyreceller. I en annen utførelsesform inkluderer vertsceller men er ikke begrenset til de prokaryotiske cellelinjene E.Coli; mammaliske celle-linjer CHO, HEK 293, COS, NS0, SP2 og PER.C6; insektscellelinjen Sf9; og soppcellen Saccharomyces cerevisiae.

Standard teknikker kan bli anvendt for rekombinant DNA, oligonukleotid syntese, og vevskultur og transformasjon (f.eks., elektroporering, lipofeksjon). Enzymatiske reaksjoner og renseteknikker kan bli utført i henhold til produsentens spesifikasjoner eller som vanligvis oppnådd i teknikken eller som beskrevet heri. De forutgående teknikker og prosedyrer kan generelt bli utført ifølge konvensjonelle metoder velkjent i teknikken og som beskrevet i diverse generelle og mer spesifikke referanser som er sitert og diskutert i den foreliggende spesifikkasjonen. Se f.eks. Sambrook et al. Molecular Cloning: A Laboratory Manual (2d ed., Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y. (1989)).

"Transgen organisme", som kjent i teknikken, refererer til en organisme som har celler som inneholder et transgen, hvori transgenet introdusert inn i organismen (eller en stamfar av organismen) uttrykker et polypeptid ikke naturlig uttrykt i organismen. Et "transgen" er en DNA-konstruksjon, som er stabilt og operasjonelt integrert inn i genomet til en celle fra hvilken en transgen organisme utvikles, dirigerende uttrykkingen av et kodet gen-produkt i en eller flere celletyper eller vev hos den transgene organismen.

Uttrykket "regulerer"og "modulerer" er anvendt om hverandre, og, som anvendt heri, refererer til en forandring eller en endring i aktiviteten til et molekyl av interesse (f.eks., den biologiske aktiviteten til et cytokin). Modulering kan være en økning eller en minsking i størrelsen på en viss aktivitet eller funksjon hos molekylet av interesse. Eksempelvis aktiviteter og funksjoner hos et molekyl inkluderer, men er ikke begrenset til, bindingskarakteristikker, enzymatisk aktivitet, cellereseptor-aktivering, og signaltransduksjoner.

Tilsvarende er uttrykket "modulator" en forbindelse i stand til å forandre eller endre en aktivitet eller funksjon hos et molekyl av interesse (f.eks., den biologiske aktiviteten til et cytokin). For eksempel kan en modulator forårsake en økning eller nedgang i størrelsen på en viss aktivitet eller funksjon hos et molekyl sammenlignet med størrelsen på aktiviteten eller funksjon observert i fraværet av modulatoren. I visse utførelsesformer er en modulator en inhibitor, som senker størrelsen på minst en aktivitet eller funksjon hos et molekyl. Eksempelvis inkluderer inhibitorer, men er ikke begrenset til, proteiner, peptider, antistoffer, peptibodier, karbohydrater eller små organiske molekyler. Peptibodier er beskrevet, f.eks., i WO01/83525.

Uttrykket "agonist", refererer til en modulator som, når kontaktet med et molekyl av interesse, forårsaker en økning i størrelsen på en viss aktivitet eller funksjon hos molekylet sammenlignet med størrelsen på aktiviteten eller funksjon observert i fraværet av agonisten. Spesifikke agonister av interesse kan inkludere, men er ikke begrenset til, polypeptider, nukleinsyrer, karbohydrater, eller ethvert av andre molekyler som binder til antigenet.

Uttrykket "antagonist" eller "inhibitor", refererer til en modulator som, når kontaktet med et molekyl av interesse forårsaker en senking i størrelsen på en viss aktivitet eller funksjon hos molekylet sammenlignet med størrelsen på aktiviteten eller funksjon observert i fraværet av antagonisten. Spesifikke antagonister av interesse inkluderer de som blokkere eller modulerer den biologiske eller immunologiske aktiviteten til antigenet. Antagonister og inhibitorer av antigener kan inkludere, men er ikke begrenset til, proteiner, nukleinsyrer, karbohydrater, eller ethvert av andre molekyler, som binder til antigenet.

Som anvendt heri refererer uttrykket "effektiv mengde" til mengden av en terapi som er tilstrekkelig for å redusere eller forbedre alvorlighetsgraden og/eller varigheten av en forstyrrelse eller en eller flere symptomer derav, forhindre utviklingen av en forstyrrelse, forårsake

tilbakegangen av en forstyrrelse, forhindre tilbakefall, utvikling, utbrudd eller progresjonen av en eller flere symptomer assosiert med en forstyrrelse, detektere en forstyrrelse, eller forbedre eller forbedre den/de profylaktiske eller terapeutiske virkning(ene) av en annen terapi (f.eks., profylaktisk eller terapeutisk middel).

"Pasient" og "subjekt" kan bli anvendt om hverandre heri for å referere til et dyr, slik som et pattedyr, inkludert en primat (for eksempel, et menneske, en apekatt, og en sjimpanse), en ikke-primat (for eksempel, en ku, en gris, en kamel, en lama, en hest, en geit, en kanin, en sau, en hamster, et marsvin, en katt, en hund, en rotte, en mus, en hval), en fugl (f.eks., en and eller en gås), og en hai. Fortrinnsvis er pasienten eller subjektet et menneske, slik som et menneske som blir behandlet eller vurdert for en sykdom, forstyrrelse eller tilstand, et menneske i risiko for en sykdom, forstyrrelse eller tilstand, et menneske som har en sykdom, forstyrrelse eller tilstand, og/eller menneske som blir behandlet for en sykdom, forstyrrelse eller tilstand.

Uttrykket "prøve", som anvendt heri, blir anvendt i dets bredeste betydning. En "biologisk prøve", som anvendt heri, inkluderer, men er ikke begrenset til, enhver mengde av en substans fra en levende ting eller tidligere levende ting. Slike levende tings inkluderer, men er ikke begrenset til, mennesker, mus, rotter, apekatter, hunder, kaniner og andre dyr. Slike stoffer inkluderer, men er ikke begrenset til, blod (f.eks., helt blod), plasma, serum, urin, fostervann, synovialvæske, endotelceller, leukocytter, monocytter, andre celler, organer, vev, beinmarg, lymfekjertler og milten.

"Komponent," "komponenter," og "minst en komponent," refererer generelt til et fange-antistoff, et deteksjons eller konjugatantistoff, en kontroll, en kalibrator, en serie med kalibratorer, et sensitivitetspanel, en beholder, en buffer, et fortynningsmiddel, et salt, et enzym, en ko-faktor for et enzym, et deteksjonsreagens, et forbehandlingsreagens/løsning, et substrat (f.eks., som en løsning), en stoppe-løsning, og lignende som kan bli inkludert i et prøvesett for en testprøve, slik som en pasients urin, serum eller plasma prøve, i henhold til metodene beskrevet heri og andre metoder kjent i teknikken. Følgelig, i sammenheng med den foreliggende beskrivelsen, "minst en komponent," "komponent," og "komponenter" kan inkludere et polypeptid eller andre analytter som over, slik som en sammensetning omfattende en analytt slik som polypeptid, som er valgfritt immobilisert på en fast støtte, slik som ved binding til et anti-analytt (f.eks., anti-polypeptid) antistoff. Noen komponenter kan bli i løsning eller frysetørket for rekonstituering for anvendelse i et assay.

"Kontroll" refererer til en sammensetning kjent å ikke inneholde analytt ("negativ kontroll") eller å inneholde analytt ("positiv kontroll"). En positiv kontroll kan omfatte en kjent konsentrasjon av analytt. "Kontroll," "positiv kontroll," og "kalibrator" kan bli anvendt om hverandre heri for å referere til en sammensetning omfattende en kjent konsentrasjon av analytt.

En "positiv kontroll" kan bli anvendt for å fastsette karakteristikker for ytelsen til assayet og er en nyttig indikator for integriteten til reagenser (f.eks., analytter).

"Forutbestemt cutoff" og "forutbestemt nivå" refererer generelt til en assay cutoff-verdi som blir anvendt for å vurdere resultatene av diagnostiske/prognostiske/terapeutiske effekter ved å sammenligne assayresultatene mot det forutbestemte cutoff/nivå, hvor det forutbestemte cutoff/nivå allerede har blitt knyttet til eller assosiert med diverse kliniske parametere (f.eks., alvorlighetsgrad av sykdom, progresjon/ikke-progresjon/forbedring, osv.). Mens den foreliggende beskrivelsen kan tilveiebringe eksempelvis forutbestemte nivåer, det er velkjent ved cutoff verdier kan variere avhengig av egenskapene til immunoassayet (f.eks., antistoffer anvendt, osv.). Det er videre godt innenfor den vanlige evnen til en i teknikken å tilpasse beskrivelsen heri for andre immunoassayer for å oppnå immunoassay-spesifikke cutoff verdier for de andre immunoassayer basert på denne beskrivelsen. Mens den presise verdien på det forutbestemte cutoff/nivå kan variere mellom assayer, bør korrelasjoner som beskrevet heri (hvis noen) være generelt gjeldende.

"Forbehandlingsreagens," f.eks., lysering, utfelling og/eller oppløsningsreagens, som anvendt i et diagnostisk assay som beskrevet heri er et som lyserer enhver celle og/eller gjør løselig enhver analytt som er til stede i en testprøve. Forbehandling er ikke nødvendig for alle prøver, som beskrevet videre heri. Blant andre ting, å gjøre analytten løselig (f.eks., polypeptid av interesse) kan medføre frigjørelse av analytten fra ethvert endogent bindende protein tilstede i prøven. Et forbehandlingsreagens kan være homogent (ikke kreve et separasjonstrinn) eller heterogent (krever et separasjonstrinn). Med anvendelse av et heterogent forbehandlingsreagens er det fjerning av utfelte analytt-bindende proteiner fra testprøven før man går videre til det neste trinnet til assayet.

"Kvalitetskontroll-reagenser" i sammenheng med immunoassayer og kit beskrevet heri, inkluderer, men er ikke begrenset til, kalibratorer, kontroller, og sensitivitetspaneler. En "kalibrator" eller "standard" blir typisk anvendt (f.eks., en eller flere, slik som et mangfold) for å fastsette kalibrerings (standard) kurver for interpolering av konsentrasjonen av en analytt, slik som et antistoff eller en analytt. Alternativt, en enkelt kalibrator, som er nær en forutbestemt positiv/negativ cutoff, kan bli anvendt. Multippel kalibratorer (dvs., mer enn en kalibrator eller en varierende mengde av kalibrator(er)) kan bli anvendt i sammen for slik å omfatte et "sensitivitets panel."

"Risiko" refererer til muligheten eller sannsynligheten for ved en spesifikk hendelse skal skje enten nå eller ved et tidspunkt i fremtiden. "Risiko stratifisering" refererer til et sett av kjente kliniske risikofaktorer som gjør ved en fagmann kan klassifisere pasienter inn i en lav, moderat, høy eller høyest risiko for å utvikle en spesifikk sykdom, forstyrrelse eller tilstand.

"Spesifikke" og "spesifisitet" i sammenheng med en interaksjon mellom medlemmer av et spesifikt bindende par (f.eks., et antigen (eller fragment derav) og et antistoff (eller antigen-reaktivt fragment derav)) refererer til den selektive reaktiviteten til interaksjonen. Frasen "spesifikt binder til" og analoge fraser refererer til evnen hos antistoffer (eller antigen-reaktive fragmenter derav) til å binde spesifikt til analytt (eller et fragment derav) og ikke binder spesifikt to andre enheter.

"Spesifikk bindende partner" er et medlem av et spesifikt bindende par. Et spesifikt bindende par omfatter to forskjellige molekyler, som spesifikt binder til hverandre gjennom kjemiske eller fysiske midler. Derfor, i tillegg til antigen og antistoff spesifikke bindende par i vanlig immunoassayer, kan andre spesifikke bindende par inkludere biotin og avidin (eller streptavidin), karbohydrater og lektiner, komplementære nukleotidsekvenser, effektor og reseptor molekyler, kofaktorer og enzymer, enzym-inhibitorer og enzymer, og lignende. Videre kan spesifikke bindende par inkludere medlemmer som er analoger av de originale spesifikke bindende medlemmer, for eksempel, en analytt-analog. Immunoreaktiv spesifikke bindende medlemmer inkluderer antigener, antigen-fragmenter, og antistoffer, inkludert monoklonale og polyklonale antistoffer så vel som komplekser, fragmenter, og varianter (inkludert fragmenter av varianter) derav, enten isolert eller rekombinant produsert.

"Variant" som anvendt heri betyr et polypeptid som varierer fra et gitt polypeptid (f.eks., IL-18, BNP, NGAL eller HIV polypeptid eller anti-polypeptid antistoff) i aminosyresekvens ved addisjonen (f.eks., innsetting), sletting, eller konservativ substitusjon av aminosyrer, men som beholder den biologiske aktiviteten til det gitte polypeptidet (f.eks., en variant IL-18 kan konkurrere med anti-IL-18 antistoff for binding til IL-18). En konservativ substitusjon av en aminosyre, dvs., bytte ut en aminosyre med en forskjellig aminosyre med lignende egenskaper (f.eks., hydrofilitet og grad og fordeling av ladede regioner) er annerkjent i teknikken som typisk å involvere en mindre forandring. Disse mindre forandringene kan bli identifisert, delvis, ved å vurdere den hydropatiske indeksen til aminosyrer, som forstått i teknikken (se, f.eks., Kyte et al., J. Mol. Biol. 157: 105-132 (1982)). Den hydropatiske indeksen til en aminosyre er basert på en vurdering av den hydrofobitet og ladning. Det er kjent i teknikken ved aminosyrer med lignende hydropatiske indekser kan bli substituert og fortsatt beholde proteinfunksjon. I et aspekt, aminosyrer som har hydropatisk indexes of ± 2 er substituert. Hydrofiliteten til aminosyrer kan også bli anvendt for å vise substitusjoner som ville resultere i proteiner som beholder biologisk funksjon. En vurdering av hydrofiliteten til aminosyrer i sammenheng med et peptid tillater beregning av den største lokale gjennomsnitts-hydrofiliteten til det peptidet, et nyttig mål som har blitt rapportert å korrelere godt med antigenitet og immunogenitet (se, f.eks., U.S. Pat. Nr. 4,554,101). Substitusjon av aminosyrer som har lignende hydrofilitetsverdier kan resultere i peptider som beholder biologisk aktivitet, for eksempel immunogenitet, som det er forstått i

teknikken. I et aspekt blir substitusjoner utført med aminosyrer som har hydrofilitetsverdier innenfor ± 2 fra hverandre. Både hydrofobisitetsindeksen og hydrofilitetsverdien til aminosyrer er påvirket av den spesifikke sidekjeden til den aminosyren. I samsvar med den observasjonen er aminosyresubstitusjoner som er kompatible med biologisk funksjon forstått å være avhengig av den relative likheten av aminosyrene, og spesielt sidekjedene til de aminosyrene, som vist ved hydrofobisiteten, hydrofilitet, ladning, størrelse, og andre egenskaper. "Variant" kan også bli anvendt for å beskrive et polypeptid eller fragment derav som har blitt differensielt prosessert, slik som ved proteolyse, fosforylering, eller andre post-translasjonale modifikasjoner, men allikevel beholder dets biologiske aktivitet eller antigen reaktivitet, f.eks., evnen å binde til IL-18. Anvendelse av "variant" heri er ment å omfatte fragmenter av en variant medmindre på annen måte motsagt ved sammenhengen.

I. Generering av DVD-bindende protein

Oppfinnelsen angår Bindende proteiner med to variable domener i stand til å binde et eller flere mål og fremstillingsmetoder for samme. I en utførelsesform omfatter det bindende proteinet et polypeptidkjede, hvori nevnte polypeptidkjede omfatter VD1-(X1)n-VD2-C-(X2)n, hvori VD1 er et første variabelt domene, VD2 er et andre variabelt domene, C er et konstant domene, X1 representerer en aminosyre eller et polypeptid, X2 representerer en Fc-region og n er 0 eller 1. Det bindende proteinet ifølge oppfinnelsen kan bli fremstilt ved å bruke diverse teknikker. Oppfinnelsen tilveiebringer uttrykkingsvektorer, vertscelle og metoder for å generere det bindende proteinet.

A. Generering av monoklonale moderantistoffer

De variable domenene til det DVD-bindende proteinet kan bli oppnådd fra moderantistoffer, inkludert polyklonale og mAb'er i stand til å binde antigener av interesse. Disse antistoffer kan være naturlig forekommende eller kan bli fremstilt ved rekombinant teknologi.

MAb'er kan bli fremstilt ved å bruke et stort utvalg av teknikker kjent i teknikken inkludert anvendelsen av hybridoma, rekombinant, og fag-fremvisning teknologier, eller en kombinasjon derav. For eksempel kan mAb'er bli produsert ved å bruke hybridoma-teknikker inkludert de kjent i teknikken og lært, for eksempel, i Harlow et al., Antibodies: A Laboratory Manual, (Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2nd ed. 1988); Hammerling, et al., i: Monoclonal Antibodies and T-Cell Hybridomas 563-681 (Elsevier, N.Y., 1981). Uttrykket "monoklonale antistoff" som anvendt heri er ikke begrenset til antistoffer produsert gjennom hybridoma-teknologi. Uttrykket "monoklonale antistoff" refererer til et antistoff som er avledet fra en enkelt klone, inkludert enhver eukaryotisk, prokaryotisk, eller fag klone, og ikke metoden ved hvilken det er produsert. Hybridomas blir valgt, klonet og videre screenet for ønskelige karakteristikker, inkludert robust hybridoma vekst, høy antistoff-produksjon og ønskede antistoff-karakteristikker,

som diskutert i Eksempel 1 under. Hybridomas kan bli dyrket og ekspandert *in vivo* i syngene dyr, i dyr som mangle et immunsystem, f.eks., nakne mus, eller i cellekultur *in vitro.* Metoder for seleksjon, kloning og ekspandere hybridomas er velkjent for de med vanlig ferdighet i teknikken. I en bestemt utførelsesform er hybridomene muse-hybridomer. I en annen utførelsesform blir hybridomene produsert i en ikke-human, ikke-mus art slik som rotter, sauer, griser, geiter, kuer eller hester. I en annen utførelsesform er hybridomene humane hybridomer, hvori et humant ikke-utsondrende myelom er fusjonert med en human celle som uttrykker et antistoff i stand til å binde et spesifikt antigen.

Rekombinante mAb'er er også fremstilt fra enkeltstående, isolerte lymfocytter ved å bruke en prosedyre referert til i teknikken som den foretrukne lymfocyttantistoff-metoden (SLAM), som beskrevet i U.S. Patentnr. 5,627,052, PCT-publikasjon WO 92/02551 og Babcock, J.S. *et al.* (1996) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 93:7843-7848. I denne metoden, enkeltstående celler som utsondrer antistoffer av interesse, *f.eks.*, blir lymfocytter avledet fra et immunisert dyr identifisert, og tung- og lettkjede variabel region cDNA'er blir reddet fra cellene ved revers transkriptase-PCR og disse variable regionene kan deretter bli uttrykt, i sammenheng med passende immunoglobulin-konstantregioner (*f.eks.*, humane konstantregioner), i mammaliske vertsceller, slik som COS eller CHO-celler. Vertscellene transfektert med de amplifiserte immunoglobulin-sekvensene, avledet fra *in vivo* valgte lymfocytter, kan deretter undergå videre analyse og seleksjon *in vitro*, for eksempel ved å panorere de transfekterte cellene for å isolere celler som uttrykker antistoffer til antigenet av interesse. De amplifiserte immunoglobulin-sekvensene kan videre bli manipulert *in vitro*, slik som ved *in vitro* affinitetsmodning metoder slik som de beskrevet i PCT-publikasjon WO 97/29131 og PCT-publikasjon WO 00/56772.

Monoklonale antistoffer er også produsert ved å immunisere et ikke-humant dyr omfattende noen, eller alle, av de humane immunoglobulin lokus med et antigen av interesse. I en utførelsesform er det ikke-humane dyret en XENOMOUSE transgen mus, en konstruert musetype som omfatter store fragmenter av det humane immunoglobulin loki og er mangelfull i mus antistoff-produksjon. *Se, f.eks.,* Green et al. *Nature Genetics* 7:13-21 (1994) og United States Patent Nr. 5,916,771, 5,939,598, 5,985,615, 5,998,209, 6,075,181, 6,091,001, 6,114,598 og 6,130,364. Se også WO 91/10741, publisert juli 25,1991, WO 94/02602, publisert februar 3, 1994, WO 96/34096 og WO 96/33735, begge publisert oktober 31, 1996, WO 98/16654, publisert april 23, 1998, WO 98/24893, publisert juni 11, 1998, WO 98/50433, publisert november 12, 1998, WO 99/45031, publisert september 10, 1999, WO 99/53049, publisert oktober 21, 1999, WO 00 09560, publisert februar 24, 2000 og WO 00/037504, publisert juni 29, 2000. Den transgene musen XENOMOUSE produserer et voksen-liknende humant repertoar av helt humane antistoffer, og genererer antigen-spesifikke humane monoklonale antistoffer. Den transgene musen XENOMOUSE inneholder omtrent 80% av det humane antistoff

repertoaret gjennom introdusering av megabase størrelse, kjønnscellelinje-konfigurasjon YAC fragmenter av det humane tungkjede loki og x lettkjede loki. Se Mendez et al., *Nature Genetics* 15:146-156 (1997), Green og Jakobovits *J. Exp. Med.* 188:483-495 (1998).

In vitro metoder kan også bli anvendt for å lage moder-antistoffene, hvori et antistoff-bibliotek blir screenet for å identifisere et antistoff som har den ønskede bindingsspesifisiteten. Metoder for slik screening av rekombinant antistoff-biblioteker er velkjent i teknikken og inkluderer metoder beskrevet i, for eksempel, Ladner *et al.* U.S. Patentnr. 5,223,409; Kang *et al.* PCT Publikasjonsnr. WO 92/18619; Dower *et al.* PCT Publikasjonsnr. WO 91/17271; Winter *et al.* PCT Publikasjonsnr. WO 92/20791; Markland *et al.* PCT Publikasjonsnr. WO 92/15679; Breitling *et al.* PCT Publikasjonsnr. WO 93/01288; McCafferty *et al.* PCT Publikasjonsnr. WO 92/01047; Garrard *et al.* PCT Publikasjonsnr. WO 92/09690; Fuchs *et al.* (1991) *Bio/Technology* 9:1370-1372; Hay *et al.* (1992) *Hum Antibod Hybridomas* 3:81-85; Huse *et al.* (1989) *Science* 246:1275-1281; McCafferty *et al., Nature* (1990) 348:552-554; Griffiths *et al.* (1993) *EMBO J* 12:725-734; Hawkins *et al.* (1992) *J Mol Biol* 226:889-896; Clackson *et al.* (1991) *Natur* 352:624-628; Gram *et al.* (1992) *PNAS* 89:3576-3580; Garrad *et al.* (1991) *Bio/Technology* 9:1373-1377; Hoogenboom *et al.* (1991) *Nuc Acid Res* 19:4133-4137; og Barbas *et al.* (1991) *PNAS* 88:7978-7982, US patent søknad publikasjon 20030186374, og PCT Publikasjonsnr. WO 97/29131.

Moderantistoffer ifølge den foreliggende oppfinnelsen kan også bli fremstilt ved å bruke diverse fag-fremvisningsmetoder kjent i teknikken. I fag-fremvisningsmetoder blir funksjonelle antistoffdomener vist frem på overflaten av fag-partikler som bærer polynukleotid-sekvensene som koder for dem. Spesielt kan slike fag bli anvendt for å vise frem antigen-bindende domener uttrykt fra et repertoar eller kombinatorisk antistoff-bibliotek (f.eks., humant eller murint). Fag som uttrykker et antigen-bindende domene som binder antigenet av interesse kan bli valgt eller identifisert med antigen, f.eks., ved å bruke merket antigen eller antigen bundet eller fanget til en fast overflate eller kule. Fag anvendt i disse metoder er typisk filamentøse fag inkludert fd og M13-bindende domener uttrykt fra fag med Fab, Fv eller disulfid-stabiliserte Fv-antistoffdomener rekombinant fusjonert til enten fag-genet III eller gene VIII protein. Eksempler på fag-fremvisningsmetoder som kan bli anvendt for å lage antistoffene ifølge den foreliggende oppfinnelsen inkluderer de fremvist i Brinkman et al., J. Immunol. Methods 182:41-50 (1995); Ames et al., J. Immunol. Methods 184:177-186 (1995); Kettleborough et al., Eur. J. Immunol. 24:952-958 (1994); Persic et al., Gene 187 9-18 (1997); Burton et al., Advances in Immunology 57:191-280 (1994); PCT Søknad Nr. PCT/GB91/01134; PCT-publikasjoner WO 90/02809; WO 91/10737; WO 92/01047; WO 92/18619; WO 93/11236; WO 95/15982; WO 95/20401; og U.S. Pat. Nr. 5,698,426; 5,223,409; 5,403,484; 5,580,717; 5,427,908; 5,750,753; 5,821,047; 5,571,698; 5,427,908; 5,516,637; 5,780, 225; 5,658,727; 5,733,743 og 5,969,108.

Som beskrevet i referansene heri, etter fag seleksjon kan antistoff-kodingsregionene fra faget bli isolert og anvendt for å generere hele antistoffer inkludert humane antistoffer eller ethvert annet ønsket antigen-bindende fragment, og uttrykt i enHvis ønsket vert, inkludert mammaliske celler, insektceller, planteceller, gjær, og bakterier, f.eks., som beskrevet i detalj nedenfor. For eksempel, teknikker for rekombinant å produsere Fab, Fab' og F(ab')2 fragmenter kan også bli anvendt ved å bruke metoder kjent i teknikken slik som de fremvist i PCT-publikasjon WO 92/22324; Mullinax et al., BioTechniques 12(6):864-869 (1992); og Sawai et al., AJRI 34:26-34 (1995); og Bedre et al., Science 240:1041-1043 (1988). Eksempler på teknikker som kan bli anvendt for å produsere enkelt-kjede Fv'er og antistoffer inkluderer de beskrevet i U.S. Pat. 4,946,778 og 5,258, 498; Huston et al., Methods in Enzymology 203:46-88 (1991); Shu et al., PNAS 90:7995-7999 (1993); og Skerra et al., Science 240:1038-1040 (1988).

Alternativt til screening av rekombinante antistoff-bibliotek ved fag-fremvisning, kan andre fremgangsmåter kjent i teknikken for å screene store kombinatoriske bibliotek bli benyttet for identifiseringen av moderantistoffer. En type av alternativt uttrykkingssystem er et hvori det rekombinante antistoff-biblioteket blir uttrykt som RNA-protein fusjoner, som beskrevet i PCT Publikasjonsnr. WO 98/31700 ved Szostak og Roberts, og i Roberts, R.W. og Szostak, J.W. (1997) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 94:12297-12302. I dette system blir en kovalent fusjon lagd mellom en mRNA og peptidet eller proteinet som det koder for ved *in vitro* oversetting av syntetiske mRNA'er som bærer puromycin, et peptidyl-akseptor antibiotika, ved deres 3'-ende. Følgelig kan et spesifikt mRNA bli anriket fra en kompleks blanding av mRNA'er (*f.eks.*, et kombinatorisk bibliotek) basert på egenskapene til det kodede peptidet eller proteinet, *f.eks.*, antistoff, eller porsjon derav, slik som binding av antistoffet, eller porsjon derav, til det dobbelt spesifikke antigenet. Nukleinsyresekvenser som koder for antistoffer, eller porsjoner derav, gjennvunnet fra screening av slike bibliotek kan bli uttrykt ved rekombinante midler som beskrevet heri (*f.eks.*, i mammaliske vertsceller) og, videre, kan bli utsatt for videre affinitetsmodning enten ved ytterligere runder med screening av mRNA-peptid fusjoner hvori mutasjoner har blitt introdusert inn i den/de opprinnelig(e) valgt(e) sekvensen(e), eller ved andre metoder for affinitetsmodning *in vitro* av rekombinante antistoffer, som beskrevet heri.

I en annen tilnærming kan moder-antistoffene også bli fremstilt ved å bruke gjær-fremvisningsmetoder kjent i teknikken. I gjær-fremvisningsmetoder blir genetiske metoder anvendt for å feste antistoffdomener til gjærcelleveggen og viser dem frem på overflaten av gjær. Spesielt kan slike gjær bli anvendt for å vise frem antigen-bindende domener uttrykt fra et repertoar eller kombinatorisk antistoff-bibliotek (f.eks., humant eller murint). Eksempler på gjær-fremvisningsmetoder som kan bli anvendt for å lage moder-antistoffene inkluderer de fremvist i Wittrup, et al. U.S. Patentnr. 6,699,658.

Antistoffene beskrevet heri kan videre bli modifisert for å generere CDR-podete og humaniserte moderantistoffer. CDR-podete moderantistoffer omfatter tung- og lettkjede variabel region sekvenser fra et humant antistoff hvori en eller flere av CDR-regionene til V_H og/eller V_L er byttet ut med CDR-sekvenser fra murine antistoffer i stand til å binde antigen av interesse. En rammeverk-sekvens fra ethvert humant antistoff kan virke som templatet for CDR-poding. Imidlertid fører ofte vanlig kjedeutbytting på et slikt rammeverk til noe tap av bindingsaffinitet ovenfor antigenet. Desto mer homologt et humant antistoff er til det originale murine antistoffet, desto mindre sannsynlig er muligheten for ved å kombinere de murine CDR'ene med det humane rammeverket vil introdusere forvrengninger i CDR'ene som kan redusere affinitet. Derfor, i en utførelsesform, har det humane variable rammeverket som blir valg for å erstatte det murine variable rammeverket bortsett fra CDR'ene minst en 65% sekvensidentitet med det murine antistoff variabel-region rammeverket. I en utførelsesform, har de humane og murine variable regionene bortsett fra CDR'ene minst 70% sekvensidentitet. I en bestemt utførelsesform, har de humane og murine variable regionene bortsett fra CDR'ene minst 75% sekvensidentitet. I en annen utførelsesform, har de humane og murine variable regionene bortsett fra CDR'ene minst 80% sekvensidentitet. Metoder for å produsere slike antistoffer er kjent i teknikken (se EP 239,400; PCT-publikasjon WO 91/09967; U.S. Pat. Nr. 5,225,539; 5,530,101; og 5,585,089), veneering eller resurfacing (EP 592,106; EP 519,596; Padlan, Molecular Immunology 28(4/5):489-498 (1991); Studnicka et al., Protein Engineering 7(6):805-814 (1994); Roguska et al., PNAS 91:969-973 (1994)), og chain shuffling (U.S. Pat. Nr. 5,565,352); og anti-idiotypiske antistoffer.

Humaniserte antistoffer er antistoff-molekyler fra ikke-humane arter antistoff som binder det ønskede antigenet som har en eller flere komplementaritetsbestemmende regioner (CDR'er) fra den ikke-humane arten og rammeverk-regioner fra et humant immunoglobulin molekyl. Kjente humane Ig-sekvenser er vist, f.eks., www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez- /query.fcgi; www.atcc.org/fag/hdb.html; www.sciquest.com/; www.abcam.com/; www.antibodyresource.com/onlinecomp.html; www.public.iastate.edu/.about.pedro/forskning_tools.html; www.mgen.uni-heidelberg.de/SD/DET/DET.html; www.whfreeman.com/immunology/CH- 05/kuby05.htm; www.library.thinkquest.org/12429/Immun/Antibody.html; www.hhmi.org/grants/lectures/1996/vlab/; www.path.cam.ac.uk/.about.mrc7/m- ikeimages.html; www.antibodyresource.com/; mcb.harvard.edu/BioLinks/Immuno-logy.html.www.immunologylink.com/; pathboks.wustl.edu/.about.hcenter/index.- html; www.biotech.ufl.edu/.about.hcl/; www.pebio.com/pa/340913/340913.html- ; www.nal.usda.gov/awic/pubs/antistoff/; www.m.ehime-u.acjp/.about.yasuhito- /Elisa.html; www.biodesign.com/tabell.asp; www.icnet.uk/axp/facs/davies/lin- ks.html;

www.biotech.ufl.edu/.about.fccl/protocoll.html; www.isac-net.org/seter_geo.html; aximtl.imt.uni-marburg.de/.about.rek/AEP- Start.html; baserv.uci.kun.nl/.about.jraats/linksl.html; www.recab.uni-hd.de/immuno.bme.nwu.edu/; www.mrc-cpe.cam.ac.uk/imt-doc/public/INTRO.html; www.ibt.unam.mx/vir/V_mouse.html; imgt.cnusc.fr:8104/; www.biochem.ucl.ac.uk/.about.martin/abs/index.html; antibody.bath.ac.uk/; abgen.cvm.tamu.edu/lab/wwwabgen.html; www.unizh.ch/.about.honegger/AHOseminar/Slide01.html; www.cryst.bbk.ac.uk/.about.ubcg07s/; www.nimr.mrc.ac.uk/CC/ccaewg/ccaewg.htm; www.path.cam.ac.uk/.about.mrc7/humanisation/TAHHP.html; www.ibt.unam.mx/vir/struktur/stat_aim.html; www.biosci.missourdvs.du/smithgp/index.html; www.cryst.bioc.cam.ac.uk/.abo- ut.fmolina/Webpages/Pept/spottech.html; www.jerini.de/fr roducts.htm; www.patents.ibm.com/ibm.html.Kabat-et al., Sequences of proteins of immunological interest, U.S. Dept. Health (1983). Slike importerte sekvenser kan bli anvendt for å redusere immunogenitet eller redusere, forbedre eller modifisere binding, affinitet, på-hastighet, av-hastighet, aviditet, spesifisitet, halveringstid, eller enhver annen passende karakteristikk, som kjent i teknikken.

Rammeverk-residuer i de humane rammeverk-regionene kan bli substituert med det korresponderende residuet fra CDR-donorantistoffet for å forandre, f.eks., forbedre antigen-binding. Disse rammeverk-substitusjonene blir identifisert ved metoder velkjent i teknikken, f.eks., ved modellering av interaksjonene til CDR og rammeverk-residuene for å identifisere rammeverk-residuer viktig for antigen-binding og sekvens-sammenligning for å identifisere uvanlig rammeverk-residuer ved spesifikke posisjoner. (Se, f.eks., Queen et al., U.S. Pat. Nr. 5,585,089; Riechmann et al., Nature 332:323 (1988). Tredimensjonale immunoglobulin modeller er vanligvis tilgjengelig og er kjent for fagmannen. Dataprogrammer er tilgjengelige som illustrerer og viser sannsynlig tredimensjonale konformasjonsstrukturer av valgte kandidater av immunoglobulinsekvenser. Gransking av disse bildene tillater analyse av den sannsynlige rollen til residuene i virkningen til immunoglobulinsekvens-kandidaten , dvs., analysen av residuer som påvirker evnen til immunoglobulin-kandidaten å binde til dets antigen. På denne måten kan FR-residuer bli valgt og kombinert fra konsensus- og importsekvensene slik ved den ønskede antistoff-karakteristikken, slik som økt affinitet for mål-antigenet(ene), er oppnådd. Generelt er CDR-residuene direkte og mest hovedsaklig involvert i å påvirke antigen-binding. Antistoffer kan bli humanisert ved å bruke en rekke teknikker kjent i teknikken, slik som men ikke begrenset til de beskrevet i Jones et al., Nature 321:522 (1986); Verhoeyen et al., Science 239:1534 (1988)), Sims et al., J. Immunol. 151: 2296 (1993); Chotia og Lesk, J. Mol. Biol. 196:901 (1987), Carter et al., Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 89:4285 (1992); Presta et al., J. Immunol. 151:2623 (1993), Padlan, Molecular Immunology 28(4/5):489-498 (1991); Studnicka et al., Protein Engineering 7(6):805-814 (1994); Roguska. et al. , PNAS 91:969-973 (1994); PCT-publikasjon WO 91/09967,

PCT/: US98/16280, US96/18978, US91/09630, US91/05939, US94/01234, GB89/01334, GB91/01134, GB92/01755; WO90/14443, WO90/14424, WO90/14430, EP 229246, EP 592,106; EP 519,596, EP 239,400, U.S. Pat. Nr. 5,565,332, 5,723,323, 5,976,862, 5,824,514, 5,817,483, 5814476, 5763192, 5723323, 5,766886, 5,714,352, 6,204,023, 6,180,370, 5,693,762, 5,530,101, 5,585,089, 5,225,539; 4,816,567.

B. Kriterier for å velge monoklonale moderantistoffer

En utførelsesform ifølge oppfinnelsen angår å velge moderantistoffer med minst en eller flere egenskaper ønsket i DVD-Ig-molekylet. I en utførelsesform er den ønskede egenskapen valgt fra en eller flere antistoff-parametre. I en annen utførelsesform er antistoff-parametrene valgt fra gruppen bestående av antigen spesifisitet, affinitet ovenfor antigen, styrke, biologisk funksjon, epitop-gjenkjenning, stabillitet, løselighet, produksjonseffektivitet, immunogenitet, farmakokinetikk, biotilgjengelighet, kryssreaktivitet for vev, og ortolog antigen-binding.

B1. Affinitet ovenfor antigen

Den ønskede affiniteten til en terapeutisk mAb kan være avhengig av egenskapene til antigenet, og det ønskede terapeutiske endepunkt. I en utførelsesform har monoklonale antistoffer høyere affiniteter (Kd = 0.01 – 0.50 pM) når de blokkerer en cytokin-cytokin reseptor-interaksjon da en slik interaksjon vanligvis er høy-affinitets interaksjoner (f.eks., <pM – <nM ranges). I slike tilfeller bør affiniteten til mAb'et for dets mål være lik eller bedre enn affiniteten til cytokinet (ligand) for dets reseptor. På den annen side, mAb med mindre affinitet (> nM område) kan være terapeutisk effektive f.eks., i klarering av sirkulerende potensielt patogene proteiner f.eks. monoklonale antistoffer som binder til, fanger opp, og klarerer sirkulerende typer av A-β amyloid. I andre tilfeller, å redusere affiniteten til et eksisterende høy-affinitets mAb ved sete-styrt mutagenese eller ved å bruke et mAb med lavere affinitet for dets mål kunne bli anvendt for å unngå potensielle bivirkninger f.eks., kan et høy-affinitets mAb isolere/nøytralisere alle av dets tiltenkte mål, for dermed helt å tømmme/eliminere funksjonen(e) til det tilsiktede proteinet. I dette tilfellet kan et lav-affinitets mAb isolere/nøytralisere en del av målet som kan være ansvarlig for sykdomssymptomene (de patologiske eller overproduserte nivåer), og følgelig tillate en del av målet å fortsette å utføre dets normale fysiologiske funksjon(er). Det kan derfor være mulig å redusere Kd'en for å justere dose og/eller redusere bivirkninger. Affiniteten til moder-mAb'et kan spille en rolle for å målrette celleoverflate-molekyler på en passende måte for å oppnå ønsket terapeutisk resultat. For eksempel, hvis et mål er uttrykt på kreftceller med høy tetthet og på normale celler med lav tetthet, et lavere affinitets mAb vil binde et større antall av mål på tumorceller enn normale celler, resulterende i tumorcelle-eliminering via ADCC eller CDC, og kan derfor ha terapeutisk ønskelige virkninger. Følgelig kan det å velge et mAb med ønsket affinitet være relevant for både løselig og overflate mål.

Signalisering gjennom en reseptor ved interaksjon med dets ligand kan være avhengig av affiniteten til reseptor-ligand interaksjonen. Tilsvarende er det mulig å tenke seg ved affiniteten til et mAb for en overflatereseptor kunne bestemme egenskapene til intracellulær signalisering og enten kan mAb'et levere et agonist eller antagonist signal. Den affinitetsbaserte egenskapen til mAb-mediert signalisering kan ha en innvirkning på dets bivirkningsprofil. Derfor må den ønskede affiniteten og de ønskede funksjonene til terapeutisk monoklonale antistoffer være bestemt nøye ved *in vitro* og *in vivo* eksperimentering.

Den ønskede Kd'en til et bindende protein (f.eks., et antistoff) kan bli bestemt eksperimentelt avhengig av det ønskede terapeutiske resultat. I en utførelsesform, moderantistoffer med affinitet (Kd) for et bestemt antigen lik, eller bedre enn, den ønskede affiniteten til DVD-Ig'et for det samme antigenet er selektert. Den antigen-bindende affiniteten og kinetikk blir vurdert ved Biacore eller en annen lignende teknikk. I en utførelsesform har hvert moderantistoff en dissosieringskonstant (Kd) til dets antigen valgt fra gruppen bestående av: på det meste omtrent 10^{-7} M; på det meste omtrent 10^{-8} M; på det meste omtrent 10^{-9} M; på det meste omtrent 10^{-10} M; på det meste omtrent 10^{-11} M; på det meste omtrent 10^{-12} M; og på det meste 10^{-13} M. Det første moderantistoffet fra hvilket VD1 blir oppnådd og det andre moderantistoffet fra hvilket VD2 blir oppnådd kan ha lignende eller forskjellig affinitet (K_D) for det respektive antigen. Hvert moderantistoff har en på-hastighetskonstant (Kon) til antigenet valgt fra gruppen bestående av: minst omtrent $10^2M^{-1}s^{-1}$; minst omtrent $10^3M^{-1}s^{-1}$; minst omtrent $10^4M^{-1}s^{-1}$; minst omtrent $10^5M^{-1}s^{-1}$; og minst omtrent $10^6M^{-1}s^{-1}$, som målt ved overflate-plasmonresonans. Det første moder-antistoffet fra hvilket VD1 blir oppnådd og det andre moder-antistoffet fra hvilket VD2 blir oppnådd kan ha lignende eller forskjellig på-hastighetskonstant (Kon) for det respektive antigen. I en utførelsesform har hvert moderantistoff en av-hastighetskonstant (Koff) til antigenet valgt fra gruppen bestående av: på det meste omtrent $10^{-3}s^{-1}$; på det meste omtrent $10^{-4}s^{-1}$; på det meste omtrent $10^{-5}s^{-1}$; og på det meste omtrent $10^{-6}s^{-1}$, som målt ved overflate-plasmonresonans. Det første moder-antistoffet fra hvilket VD1 blir oppnådd og det andre moder-antistoffet fra hvilket VD2 blir oppnådd kan ha lignende eller forskjellig av-hastighetskonstanter (Koff) for det respektive antigen.

B2. Styrke

Den ønskede affiniteten/styrken til monoklonale moderantistoffer vil være avhengig av det ønskede terapeutiske resultat. For eksempel, for reseptor-ligand (R-L) interaksjoner er affiniteten (kd) lik eller bedre enn R-L kd'en (pM området). For enkel klarering av et patologisk sirkulerende protein kan Kd'en være i lav nM område f.eks., klarering av forskjellige typer av sirkulerende A-β peptid. I tillegg vil Kd'en også være avhengig av om målet uttrykker flere kopier av den samme epitopen f.eks. en mAb-målrettet konformasjons-epitop i Aβ oligomere.

Hvor VDI og VD2 binder det samme antigenet, men distinkte epitoper, vil DVD-Ig'et inneholde 4-bindende seter for det samme antigenet, og følgelig øke aviditeten og dermed den tilsynelatende kd'en til DVD-Ig'et. I en utførelsesform blir moderantistoffer med lik eller lavere kd enn den ønsket i DVD-Ig'et valgt. Affinitetsvurderingene for et moder-mAb kan også være avhengig av om DVD-Ig'et inneholder fire eller flere identiske antigen-bindende seter (dvs.; et DVD-Ig fra en enkelt mAb). I dette tilfellet ville den tilsynelatende kd være større enn mAb'et på grunn av aviditet. Slike DVD-Ig'er kan bli anvendt for å kryssbinde overflatereseptorer, øke nøytraliseringsstyrke, forbedre klarering av patologisk proteiner osv.

I en utførelsesform blir moderantistoffer med nøytraliseringsstyrke for spesifikke antigen lik eller bedre enn det ønskede nøytraliseringspotensialet til DVD-Ig'et for det samme antigenet valgt. Nøytraliseringsstyrken kan bli vurdert ved et mål-avhengig bioassay hvor celler av passende type produserer et målbart signal (dvs. proliferering eller cytokin-produksjon) som reaksjon på mål-stimulering, og mål-nøytralisering ved hjelp av mAb'et kan redusere signalet på en dose-avhengig måte.

B3. Biologiske funksjoner

Monoklonale antistoffer kan potensielt utføre flere funksjoner. Noen av disse funksjonene er opplistet i Tabell 1. Disse funksjonene kan bli vurdert ved både *in vitro* assayer (f.eks., celle-baserte og biokjemiske assayer) og *in vivo* dyremodeller.

Tabell 1: <u>Noen potensielle anvendelser for terapeutiske antistoffer</u>

Mål (Klasse)	Virkningsmekanisme (mål)
Løselig (cytokiner,andre)	Nøytralisering av aktivitet (f.eks., et cytokin) Forbedre klaring (f.eks., Aβ oligomere) Øke halveringstid (f.eks., GLP 1)
Celleoverflate (Reseptorer, andre)	Agonist (f.eks., GLP1 R; EPO R; osv.) Antagonist (f.eks., integrins; osv.) Cytotoksisk (CD 20; osv.)
Proteinavleiringer	Forbedre klarering/nedbrytning (f.eks., Aβ plakk, amyloid avleiringer)

MAb'er med distinkte funksjoner beskrevet i eksemplene heri i Tabell 1 kan bli valgt for å oppnå ønsket terapeutisk resultat. To eller flere valgte monoklonale moderantistoffer kan deretter bli anvendt i DVD-Ig format for å oppnå to distinkte funksjoner i et enkelt DVD-Ig-molekyl. For eksempel kan et DVD-Ig bli fremstilt ved å velge et moder-mAb som nøytraliserer funksjonen til et bestemt cytokin, og å velge et moder-mAb som forbedrer klarering av et patologisk protein. Tilsvarende kan vi velge to monoklonale moderantistoffer som gjenkjenner to

forskjellige celleoverflate-reseptorer, en mAb med en agonist-funksjon på en reseptor og det andre mAb'et med en antagonist-funksjon på en forskjellig reseptor. Disse to valgte monoklonale antistoffene hver med en distinkt funksjon kan bli anvendt for å konstruere et enkelt DVD-Ig-molekyl som vil inneha de to distinkte funksjonene (agonist og antagonist) til de valgte monoklonale antistoffene i et enkelt molekyl. Tilsvarende, to antagonistiske monoklonale antistoffer til celleoverflate reseptorer hver blokkerer binding av respektive reseptorligander (f.eks., EGF og IGF) kan bli anvendt i et DVD-Ig format. Motsatt, et antagonistisk anti-reseptor mAb (f.eks., anti-EGFR) og en nøytraliserende anti-løselig mediator (f.eks., anti-IGF1/2) mAb kan bli valgt for å lage et DVD-Ig.

B4. Epitop-gjenkjenning:

Forskjellige regioner i proteiner kan utføre forskjellige funksjoner. For eksempel interagerer spesifikke regioner i et cytokin med cytokin-reseptoren for å oppnå reseptor aktivering mens andre regioner i proteinet kan være nødvendig for å stabilisere cytokinet. I dette tilfellet kan man velge et mAb som binder spesifikt til reseptorens interagerende region(er) på cytokinet og dermed blokkerer cytokin-reseptor-interaksjon. I noen tilfeller, for eksempel visse kjemokinreseptorer som binder flere ligander, kan et mAb som binder til epitopen (region på kjemokinreseptor) som interagerer med bare en ligand bli valgt. I andre tilfeller kan monoklonale antistoffer binde til epitoper på et mål som ikke er direkte ansvarlig for de fysiologiske funksjonene til proteinet, men binding av et mAb til disse regionene kan enten interferere med fysiologiske funksjoner (sterisk hindring) eller forandre konformasjonen til proteinet slik ved proteinet ikke kan fungere (mAb til reseptorer med flere ligander som forandrer reseptorkonformasjonen slik ved ingen av ligandene kan binde). Anti-cytokin monoklonale antistoffer som ikke blokkerer binding av cytokinet til dets reseptor, men blokkerer signaltransduksjoner har også blitt identifisert (f.eks., 125-2H, et anti-IL-18 mAb).

Eksempler på epitoper og mAb-funksjoner inkluderer, men er ikke begrenset til, blokkering av Reseptor-Ligand (R-L) interaksjon (nøytraliserende mAb som binder R-interagerende sete); sterisk hindring resulterende i svekket eller ingen R-binding. Et Ab kan binde målet ved et sete annet enn et reseptor-bindende sete, men fortsatt interferere med reseptor-binding og funksjoner til målet ved å indusere konformasjonsforandring og eliminere funksjon (f.eks., Xolair), binding til R men blokkere signalisering (125-2H).

I en utførelsesform må moder-mAb'et rettes mot den passende epitopen for maksimal effekt. Slike epitoper bør være konservert i DVD-Ig'et. Den bindende epitopen til et mAb kan bli bestemt ved flere metoder, inkludert ko-krystalllografi, begrenset proteolyse av mAb-antigen kompleks pluss massespektrometrisk peptidkartlegging (Legros V. et al 2000 Protein Sci.

9:1002-10), fag-fremvist peptid bibliotek (O'Connor KH et al 2005 J Immunol Methods. 299:21-35), så vel som mutagenese (Wu C. et al . 2003 J Immunol 170:5571-7).

B5. Fysikokjemiske og farmasøytiske egenskaper:

Terapeutisk behandling med antistoffer krever ofte administrasjon av høye doser, ofte flere mg/kg (på grunn av en lav styrke basert på masse som en konsekvens av en typisk høy molekylvekt). For å ta hensyn til pasient-etterfølgelse og for å addressere på en tilstrekkelig måte terapier for kroniske sykdommer og behandling av pasienter utenfor sykehuset, er subkutan (s.c.) eller intramuskulær (i.m.) administrasjon av terapeutiske mAb'er ønskelig. For eksempel, det ønskede maksimale volumet for s.c. administrasjon er ~1.0 mL, og derfor er konsentrasjoner på >100 mg/mL ønskelig for å begrense antallet injiseringer per dose. I en utførelsesform blir det terapeutiske antistoffet administrert i en dose. Utviklingen av slike formuleringer er imidlertid begrenset av protein-protein interaksjoner (f.eks., aggregering, som potensielt øker risiko for immunogenitet) og av begrensninger i løpet av prosessering og levering (f.eks., viskositet). Følgelig, de store mengdene nødvendig for klinisk effekt og de assosierte utviklings-begrensningene begrenser full utnytting av potensialet til antistoff-formulering og s.c. administrasjon i høy-dose-regimer. Det er åpenbart ved de fysikokjemiske og farmasøytiske egenskapene til et proteinmolekyl og proteinløsningen er av største viktighet, f.eks. stabillitet, løselighet og viskositetsegenskaper.

B5.1. Stabillitet:

En "stabil" antistoff-formulering er en hvori antistoffet deri hovedsaklig beholder dets fysiske stabillitet og/eller kjemisk stabillitet og/eller biologisk aktivitet ved lagring. Stabillitet kan bli målt ved en valgt temperatur i en valgt tidsperiode. I en utførelsesform er antistoffet i formuleringen stabilt ved romtemperatur (omtrent 30°C) eller ved 40°C i minst 1 måned og/eller stabilt ved omtrent 2-8°C. i minst 1 år i minst 2 år. Videre, i en utførelsesform, er formuleringen stabil etter nedfrysing (to, f.eks., -70°C) og opptining av formuleringen, herietter referert til som en "fryse/tine syklus." I et annet eksempel kan en "stabil" formulering være en hvori mindre enn omtrent 10% og mindre enn omtrent 5% av proteinet er tilstede som et aggregat i formuleringen.

En DVD-Ig stabil *in vitro* ved forskjellige temperaturer i en forlenget tidsperiode er ønskelig. Man kan oppnå dette ved rask screening av moder-mAb'er stabile *in vitro* ved forhøyet temperatur, f.eks., ved 40°C i 2-4 uker, og deretter vurdere stabillitet. I løpet av lagring ved 2-8°C, viser proteinet stabillitet i minst 12 måneder, f.eks., minst 24 måneder. Stabillitet (% av monomert, intakt molekyl) kan bli vurdert ved å bruke diverse teknikker slik som kationeutbyttingskromatografi, størrelseseksklusjons-kromatografi, SDS-PAGE, så vel som bioaktivitetstesting. For en mer utfyllende liste med analytisk teknikker som kan bli anvendt for å analysere kovalente og konformelle modifikasjoner se Jones, A. J. S. (1993) Analytical methods

for the vurdering av protein formulations and delivery systems. I: Cleland, J. L.; Langer, R., editors. Formulation and delivery of peptides and proteins, 1st edition, Washington, ACS, pg. 22-45; og Pearlman, R.; Nguyen, T. H. (1990) Analyzes of protein drugs. I: Lee, V. H., editor. Peptide and protein drug delivery, 1st edition, Ny York, Marcel Dekker, Inc., pg. 247-301.

Heterogenitet og aggregatdannelse: stabilliteten til antistoffet kan være slik ved formuleringen kan vise mindre enn omtrent 10%, og, i en utførelsesform, mindre enn omtrent 5%, i en annen utførelsesform, mindre enn omtrent 2%, eller, i en utførelsesform, innenfor området av 0.5% til 1.5% eller mindre i GMP-antistoffmaterialet som er tilstede som aggregat. Størrelseseksklusjons-kromatografi er en metode som er følsom, reproduserbar, og veldig robust i deteksjonen av proteinaggregater.

I tillegg til lave aggregatenivåer, må antistoffet, i en utførelsesform, være kjemisk stabilt. Kjemisk stabillitet kan bli bestemt ved ioneutbyttingskromatografi (f.eks. kation eller anioneutbyttingskromatografi), hydrofob-interaksjonerkromatografi, eller andre metoder slik som isoelektrisk fokusering eller kapillær elektroforese. For eksempel kan den kjemiske stabilliteten til antistoffet være slik ved etter lagring i minst 12 måneder ved 2-8°C kan ikke toppen som representerer ikke-modifisert antistoff i et kationeutbyttingskromatografi øke mer enn 20%, i en utførelsesform, ikke mer enn 10%, eller, i en annen utførelsesform, ikke mer enn 5% sammenlignet med antistoffløsningen før lagringstesting.

I en utførelsesform viser moder-antistoffene strukturell integritet; riktig disulfid-bindingsdannelse, og riktig folding: Kjemisk ustabilitet på grunn av forandringer i sekundær eller tertiær struktur til et antistoff kan påvirke antistoff-aktivitet. For eksempel kan stabillitet som indikert ved aktivitet til antistoffet være slik ved etter lagring i minst 12 måneder ved 2-8°C kan aktiviteten til antistoffet minske ikke mer enn 50%, i en utførelsesform ikke mer enn 30%, eller til og med ikke mer enn 10%, eller i en utførelsesform ikke mer enn 5% eller 1% sammenlignet med antistoffløsningen før lagringstesting. Passende antigen-binding assayer kan bli anvendt for å bestemme antistoff-aktivitet.

B5.2. Løselighet:

"Løseligheten" av et mAb korrelerer med produksjonen av riktig foldet, monomert IgG. Løseligheten av IgG'et kan derfor bli vurdert ved HPLC. For eksempel vil løselig (monomert) IgG gi opphav til en enkelt topp på HPLC-kromatografen, mens uløselig (f.eks., multimert og aggregert) vil gi opphav til et mangfold av topper. En fagmann vil derfor være i stand til å detektere en økning eller nedgang i løselighet av et IgG ved å bruke rutinemessige HPLC-teknikker. For en mer utfyllende liste med analytisk teknikker som kan bli anvendt for å analysere løselighet (se Jones, A. G. Dep. Chem. Biochem. Eng., Univ. Coll. London, London, UK. Editor(s): Shamlou, P. Ayazi. Process. Fast-Liq. Suspensions (1993), 93-117. Publisher:

Butterworth-Heinemann, Oksford, UK og Pearlman, Rodney; Nguyen, Tue H, Advances in Parenteral Sciences (1990), 4 (Pept. Protein Drug Delivery), 247-301). Løseligheten til et terapeutisk mAb er kritisk for formulering til høy konsentrasjon ofte nødvendig for tilstrekkelig dosering. Som skissert heri, kan løseligheter på >100 mg/mL være nødvendig for å imøtekomme effektiv antistoff-dosering. For eksempel kan ikke antistoff-løselighet være mindre enn omtrent 5 mg/mL i tidlig forskningsfase, i en utførelsesform ikke mindre enn omtrent 25 mg/mL i senere trinn i prosessteknikk, eller i en utførelsesform ikke mindre enn omtrent 100 mg/mL, eller i en utførelsesform ikke mindre enn omtrent 150 mg/mL. Det er åpenbart for en fagmann ved de iboende egenskapene til et proteinmolekyl er viktig for de fysiko-kjemiske egenskapene til proteinløsningen, f.eks. stabillitet, løselighet, viskositet. Imidlertid vil en fagmann sette pris på ved en stor mengde med eksipienter eksisterer som kan bli anvendt som tilsetningsstoffer for fordelaktig å påvirke karakteristikkene til den endelige proteinformuleringen. Disse eksipienter kan inkludere: (i) væskeløsemidler, koløsemidler (f.eks., alkoholer slik som etanol); (ii) buffermidler (f.eks., fosfat, acetat, sitrat, aminosyre buffere); (iii) sukkere eller sukker-alkoholer (f.eks., sukrose, trehalose, fruktose, raffinose, mannitol, sorbitol, dekstraner); (iv) surfaktanter (f.eks., polysorbat 20, 40, 60, 80, poloksamere); (v) isotonisitet modifikatorer (f.eks., salter slik som NaCl, sukkere, sukker-alkoholer); og (vi) andre (f.eks., konserveringsmidler, kelateringsmidler, antioksidanter, kelaterende stoffer (f.eks., EDTA), bio-nedbrytbare polymerer, bæremolekyler (f.eks., HSA, PEGs)

Viskositet er en parameter av høy viktighet med hensyn til antistoff-fremstilling og antistoff-prosessering (f.eks., diafiltrering/ultrafiltrering), fyllingsavslutning prosesser (pumpeaspekter, filtreringsaspekter) og leveringsaspekter (sprøyteevne, avansert anordningslevering). Lave viskositeter muliggjør væskeløsning av antistoffet som har en høyere konsentrasjon. Dette muliggjør ved den samme dosen kan bli administrert i mindre volumer. Små injiseringsvolumer innehar fordelen av lavere smerte ved injiseringsfølelser, og løsningene trenger ikke nødvendigvis å være isotoniske for å redusere smerte ved injisering i pasienten. Viskositeten til antistoffløsningen kan være slik ved ved skjærhastigheter på 100 (1/s) er antistoffløsningsviskositet under 200 mPa s, i en utførelsesform under 125 mPa s, i en annen utførelsesform under 70 mPa s, og i nok en annen utførelsesform under 25 mPa s eller til og med under 10 mPa s.

B 5.3. Produksjonseffektivitet

Generering av et DVD-Ig som effektivt blir uttrykt i mammaliske celler, slik som Eggledercelle fra kinesiske hamstre (CHO), vil i en utførelsesform trenge to monoklonale moderantistoffer som selv er uttrykt effektivt i mammaliske celler. Produksjonsutbyttet fra en stabil mammalisk linje (dvs., CHO) bør være over omtrent 0.5g/L, i en utførelsesform over omtrent 1g/L, og i en annen utførelsesform i området av omtrent 2 til omtrent 5 g/L eller mer

(Kipriyanov SM, Little M. 1999 Mol Biotechnol. 12:173-201; Carroll S, Al-Rubeai M. 2004 Expert Opin Biol Ther. 4:1821-9).

Produksjon av antistoffer og Ig fusjonsproteiner i mammaliske celler er påvirket av flere faktorer. Konstruksjon av uttrykkingsvektoren via inkorporering av sterke promotorer, forsterkere og seleksjonsmarkører kan maksimere transkripsjon av genet av interesse fra en integrert vektorkopi. Identifiseringen av vektorintegrerings-seter som tillater høye nivåer av gentranskripsjon kan forsterke proteinuttrykking fra en vektor (Wurm et al, 2004, Nature Biotechnology, 2004, Vol/Iss/Pg. 22/11 (1393-1398)). Videre er produksjonsnivåer påvirket av forholdet mellom antistoff tung og lettkjeder og diverse trinn i proteinsammenstillingsprosessen og utsondring (Jiang et al. 2006, Biotechnology Progress, Jan-Feb 2006, vol. 22, no. 1, p. 313-8).

B 6. Immunogenitet

Administrasjon av en terapeutisk mAb kan resultere i visse tilfeller av en immunrespons (dvs., dannelsen av endogene antistoffer rettet mot det terapeutiske mAb). Potensielle elementer som kan indusere immunogenitet bør bli analysert i løpet av seleksjon av de monoklonale moderantistoffene, og trinn for å redusere slike risiko kan bli tatt for å optimalisere de monoklonale moderantistoffene før DVD-Ig-konstruksjon. Mus-avledede antistoffer har blitt funnet å være i høy grad immunogene i pasienter. Generering av kimeriske antistoffer omfattet av mus variable og humane konstantregioner presenterer et logisk neste trinn for å redusere immunogeniteten til terapeutiske antistoffer (Morrison og Schlom, 1990). Alternativt kan immunogenitet bli redusert ved å overføre murine CDR-sekvenser inn i et humant antistoff-rammeverk (reforming/CDR-poding/humanisering), som beskrevet for et terapeutisk antistoff av Riechmann et al., 1988. En annen metode er referert til som "resurfacing" eller "veneering", starter med de variable lette og tunge domenene fra gnager, bare overflate-tilgjengelige rammeverk-aminosyrer blir forandret til humane, mens CDR'en og begravde aminosyrer forblir fra moderantistoffet fra gnager (Roguska et al., 1996). I en annen type av humanisering, i stedet for å pode hele CDR'ene, poder en teknikk bare de "spesifisitetsbestemmende regionene" (SDR'er), definert som den undergruppen av CDR-residuer som er involvert i binding av antistoffet til dets mål (Kashmiri et al., 2005). Dette nødvendiggjør identifisering av SDR'ene enten gjennom analyse av tilgjengelig tredimensjonale strukturer av antistoff-mål komplekser eller mutasjonsanalyse av antistoff-CDR-residuene for å bestemme hvilke som interagerer med målet. Alternativt kan helt humane antistoffer ha redusert immunogenitet sammenlignet med murine, kimeriske eller humaniserte antistoffer.

En annen tilnærming for å redusere immunogeniteten til terapeutiske antistoffer er elimineringen av visse spesifikke sekvenser som er forutsagt å være immunogene. I en fremgangsmåte, etter ved et første-generasjons biologika har blitt utprøvd i mennesker og funnet å

være uakseptabelt immunogent, kan B-celle epitopene bli kartlagt og deretter forandret for å unngå immundeteksjon. En annen tilnærming bruker metoder for å forutsi og fjerne potensielle T-celle epitoper. Beregningsmetoder har blitt utviklet for å skanne og å identifisere peptidsekvensene til biologiske terapeutika med potensialet for å binde til MHC-proteiner (Desmet et al., 2005). Alternativt kan en metode basert på humane dendritiske celler bli anvendt for å identifisere $CD4^+$ T-celle epitoper i potensielle proteinallergener (Stickler et al., 2005; S.L. Morrison og J. Schlom, *Important Adv. Oncol.* (1990), pp. 3–18; Riechmann, L., Clark, M., Waldmann, H. og Winter, G. "*Reforming humane antistoffer for terapi.*" Nature (1988) 332: 323-327; Roguska-M-A, Pedersen-J-T, Henry-A-H, Searle-S-M, Roja-C-M, Avery-B, Hoffee-M, Cook-S, Lambert-J-M, Blättler-W-A, Rees-A-R, Guild-B-C. en sammenligning of to murine mAb'er humanisert ved CDR-grafting og variabelt domene resurfacing.Protein engineering, {Protein-Eng}, 1996, vol. 9, p. 895-904; Kashmiri-Syed-V-S, De-Pascalis-Roberto, Gonzales-Noreen-R, Schlom-Jeffrey. SDR grafting--a ny tilnærming to antistoff humanisering. Metoder (San Diego Calif.), {Metoder}, Kan 2005, vol. 36, no. 1, p. 25-34; Desmet-Johan, Meersseman-Geert, Boutonnet-Nathalie, Pletinckx-Jurgen, De-Clercq-Krista, Debulpaep-Maja, Braeckman-Tessa, Lasters-Ignace. Anchor profiler of HLA-spesifikke peptider: analyse ved en ny affinitet scoring metode og eksperimentell validering. Proteiner, 2005, vol. 58, p. 53-69; Stickler-M-M, Estell-D-A, Harding-F-A. CD4+ T-celle epitop bestemmelse ved å bruke unexposed human donor perifert blod mononukleære celler. Journal of immunotherapy 2000, vol. 23, p. 654-60.)

B 7. *In vivo* effekt

For å generere et DVD-Ig-molekyl med ønsket *in vivo* effekt, er det viktig å generere og velge mAb'er med tilsvarende ønsket *in vivo* effekt når gitt i kombinasjon. Imidlertid kan, i noen tilfeller DVD-Ig'et fremvise *in vivo* effekt som ikke kan bli oppnådd med kombinasjonen av to separate mAb'er. For eksempel kan et DVD-Ig bringe to mål nærme hverandre og medføre en aktivitet som ikke kan bli oppnådd med kombinasjonen av to separate mAb'er. Ytterligere ønskelige biologiske funksjoner er beskrevet heri i seksjon **B 3**. Moderantistoffer med karakteristikker ønskelig i DVD-Ig-molekylet kan bli valgt basert på faktorer slik som farmakokinetikk t ½; fordeling i vev; løselighet versus celleoverflate mål; og mål konsentrasjon-løselig/tetthet –overflate.

B 8. *In vivo* fordeling i vev

For å generere et DVD-Ig-molekyl med ønsket *in vivo* fordeling i vev må, i en utførelsesform, moder-mAb'er med lignende ønsket in vivo fordeling i vev profil være valgt. Alternativt, basert på mekanismen til strategien med dobbelt-spesifikk målretting, kan det andre ganger ikke være nødvendig å velge moder-mAb'er med den tilsvarende ønskede *in vivo* fordelingen i vev når gitt i kombinasjon. For eksempel, i tilfellet av et DVD-Ig hvori en bindende

komponent målretter DVD-Ig'et til et spesifikt sete for dermed å bringe den andre bindende komponenten til det samme målsetet. For eksempel kunne en bindingsspesifisitet til et DVD-Ig målrettes mot bukspyttkjertelen (islet-celler) og den andre spesifisiteten kunne bringe GLP1 til bukspyttkjertelen for å indusere insulin.

B 9. Isotype

For å generere et DVD-Ig-molekyl med ønskede egenskaper inkludert, men ikke begrenset til, Isotype, effektorfunksjoner og den sirkulerende halveringstiden, i en utførelsesform blir moder-mAb'er med passende Fc-effektorfunksjoner avhengig av den terapeutiske anvendelsen og det ønskede terapeutiske endepunkt valgt. Det eksisterer fem hovedklasser av tungkjeder eller isotyper noen av hvilke har flere undergrupper og disse bestemmer virkningen eller funksjonene til et antistoff-molekyl. Disse effektorfunksjonene befinner seg i hengsel-regionen, CH2 og CH3 domener til antistoffmolekylet. Imidlertid kan også residuer i andre deler til et antistoff-molekyl ha virkninger på effektorfunksjoner. Hengsel-regionen Fc-effektorfunksjoner inkluderer: (i) antistoff-avhengig cellulær cytotoksisitet, (ii) komplement (C1q)-binding, aktivering og komplement-avhengig cytotoksisitet (CDC), (iii) fagocytose/klarering av antigen-antistoff komplekser, og (iv) cytokin-frigjørelse i noen tilfeller. Disse Fc-effektorfunksjonene til et antistoff-molekyl blir mediert gjennom interaksjonen til Fc-regionen med en gruppe av klasse-spesifikke celleoverflate-reseptorer. Antistoffer av IgG 1 isotypen er mest aktive mens IgG2 og IgG4 som har minimal eller ingen effektorfunksjoner. Virkningen eller funksjonene til IgG-antistoffene blir mediert gjennom interaksjoner med tre strukturelt homologe cellulære Fc-reseptortyper (og undergrupper) (FcgR1, FcgRII og FcgRIII). Disse effektorfunksjonene til en IgG1 kan bli eliminert ved å mutere spesifikke aminosyre-residuer i den lavere hengselregionen (f.eks. L234A, L235A) som er nødvendig for FcgR og C1q-binding. Aminosyre-residuer i Fc-regionen, spesielt CH2-CH3-domenene, bestemmer også den sirkulerende halveringstiden til antistoffmolekylet. Denne Fc-funksjonen er mediert gjennom bindingen av Fc-regionen til den neonatale Fc-reseptoren (FcRn) som er ansvarlig for resirkulering av antistoff-molekyler fra de sure lysosomer tilbake til generell sirkulering.

Om et mAb skal ha en aktiv eller en uaktiv isotype vil være avhengig av det ønskede terapeutiske endepunkt for et antistoff. Noen eksempler på bruk av isotyper og ønsket terapeutisk resultat er listet opp nedenfor:

a) Hvis det ønskede endepunktet er funksjonell nøytralisering av et løselig cytokin da kan en inaktiv isotype bli anvendt;

b) Hvis det ønskede resultatet er klarering av et patologisk protein kan en aktiv isotype bli anvendt;

c) Hvis det ønskede resultatet er klarering av proteinaggregater kan en aktiv isotype bli anvendt;

d) Hvis det ønskede resultatet er å antagonisere en overflatereseptor blir en uaktiv isotype anvendt (Tysabri, IgG4; OKT3, mutert IgG1);

e) Hvis det ønskede resultatet er å eliminere mål-celler blir en aktiv isotype anvendt (Herceptin, IgG1 (og med forbedrede effektorfunksjoner); og

f) Hvis det ønskede resultatet er å klarere proteiner fra sirkulering uten å gå inn i CNS kan en IgM-erotype bli anvendt (f.eks. klarering av sirkulerende Ab peptidtyper).

Fc-effektorfunksjonene for et moder-mAb kan bli bestemt ved diverse *in vitro* metoder velkjent i teknikken.

Som diskutert, valget av isotype, og dermed virkningen eller funksjonene vil være avhengig av det ønskede terapeutiske endepunkt. I tilfeller hvor enkel nøytralisering av et sirkulerende mål er ønsket, for eksempel å blokkere reseptor-ligand interaksjoner, trenger ikke virkningen eller funksjonene være nødvendig. I slike tilfeller er isotyper eller mutasjoner i Fc-regionen til et antistoff som eliminere effektorfunksjoner ønskelig. I andre tilfeller hvor eliminering av mål-celler er det terapeutiske endepunktet, for eksempel eliminering av tumorceller, er isotyper eller mutasjoner eller de-fucosylering i Fc-regionen som forbedrer effektorfunksjoner ønskelig (Presta GL, Adv. Drug Delivery Rev. 58:640-656, 2006; Satoh M., Iida S., Shitara K. Expert Opinion Biol. Ther. 6:1161-1173, 2006). Tilsvarende, avhengig av den terapeutiske anvendelsen, kan den sirkulerende halveringstiden til et antistoff-molekyl bli redusert/forlenget ved modulerende antistoff-FcRn interaksjoner ved å introdusere spesifikke mutasjoner i Fc-regionen (Dall'Acqua WF, Kiener PA, Wu H. J. Biol. Chem. 281:23514-23524, 2006; Petkova SB., Akilesh S., Sproule TJ. et al. Internat. Immunol. 18:1759-1769, 2006; Vaccaro C., Bawdon R., Wanjie S et al. PNAS 103:18709-18714, 2007).

Den publiserte informasjonen om de forskjellige residuer som påvirker de forskjellige effektorfunksjonene til et vanlig terapeutisk mAb må kanskje bli bekreftet for DVD-Ig. Det kan være mulig ved i et DVD-Ig format ytterligere (forskjellig) Fc-region residuer, andre enn de identifisert for moduleringen av monoklonale antistoff effektorfunksjoner, kan være viktig.

Alt i alt, bestemmelsen angående hvilke Fc-effektorfunksjoner (isotype) vil være kritiske i det endelige DVD-Ig-formatet vil være avhengig av sykdomsindikasjonen, terapeutisk mål, ønsket terapeutisk endepunkt og sikkerhetsvurderinger. Opplistet nedenfor er eksempelvis passende tungkjede og lettkjede konstantregioner inkludert, men ikke begrenset til:

- IgG1 – allotype: G1mz
- IgG1 mutant – A234, A235

- IgG2 – allotype: G2m(n-)
- Kappa – Km3
- Lambda

Fc Reseptor og C1q Studier: Sjansene for uønsket antistoff-avhengig celle-mediert cytotoksisitet (ADCC) og komplement-avhengig cytotoksisitet (CDC) ved antistoff-kompleksering til ethvert overuttrykt mål på cellemembraner kan bli opphevet av (for eksempel, L234A, L235A) hengselregion-mutasjonene. Disse substituerte aminosyrene, tilstede i IgG1 hengselregionen til mAb, er forventet å resultere i svekket binding av mAb til humane Fc-reseptorer (men ikke FcRn), siden FcgR-binding er trodd å forekomme innenfor overlappende seter på IgG1 hengselregionen. Denne trekket ved mAb kan lede til en forbedret sikkerhetsprofil i forhold til antistoffer inneholdende en villtype IgG. binding av mAb til humane Fc-reseptorer kan bli bestemt ved "flow cytometry" eksperimenter ved å bruke celle-linjer (f.eks. THP-1, K562) og en konstruert CHO-cellelinje som uttrykker FcgRIIb (eller andre FcgRs). Sammenlignet med kontroll bestående av IgG1 monoklonale antistoffer, viser mAb redusert binding til FcgRI og FcgRIIa mens binding til FcgRIIb er upåvirket. Bindingen og aktiveringen av C1q ved antigen/IgG immunkomplekser utløser den klassiske komplementkaskaden med følgende inflammatoriske og/eller immunoregulatoriske responser. C1q-bindingssetet på IgG'er har blitt lokalisert til residuer innenfor IgG-hengselregionen. C1q-binding til økende konsentrasjoner av mAb ble vurdert ved C1q ELISA. Resultatene viser ved mAb ikke er i stand til å binde til C1q, som forventet når sammenlignet med bindingen av en villtype kontroll-IgG1. Alt i alt, L234A, L235A hengselregionmutasjonen fjerner binding av mAb til FcgRI, FcgRIIa og C1q men påvirker ikke interaksjonen til mAb med FcgRIIb. Disse data antyder ved *in vivo*, vil mAb med mutant Fc interagere normalt med den inhiberende FcgRIIb men vil sannsynligvis misslykkes i å interagere med de aktiverende FcgRI og FcgRIIen reseptorene eller C1q.

Human FcRn-binding: Den neonatale reseptoren (FcRn) er ansvarlig for transport av IgG over placenta og for å kontrollere den katabolske halveringstiden til IgG-molekylene. Det kan være ønskelig å øke den uttrykksmessige halveringstiden til et antistoff for å forbedre effekt, å redusere dosen eller administrasjonsfrekvensen, eller for å forbedre lokalisering til målet. Alternativt kan det være fordelaktig å gjøre det omvendte som er å minske den uttrykksmessige halveringstiden til et antistoff for å redusere eksponering av hele kroppen eller for å forbedre forholdet mellom binding til målet i forhold til ikke-mål. Å skreddersy interaksjonen mellom IgG og dets bergingsreseptor, FcRn, tilbyr en måte å øke eller minske den uttrykksmessige halveringstiden til IgG. Proteiner i blodomløpet, inkludert IgG, blir tatt opp i fluidfasen gjennom mikropinocytose av visse celler, slik som de i det vaskulære endothelium. IgG kan binde FcRn i endosomer under lett sure betingelser (pH 6.0–6.5) og kan resirkulere til celleoverflaten, hvor det

blir frigjort under nesten nøytrale betingelser (pH 7.0–7.4). Kartlegging av Fc-region-bindingssetet på FcRn80, 16, 17 viste ved to histidinresiduer som er konservert over arter, His310 og His435, er ansvarlige for pH-avhengigheten til denne interaksjonen. Ved å bruke fag-fremvisningsteknologi, ble en mus Fc-region mutasjon som øker binding til FcRn og forlenger halveringstiden til mus IgG identifisert (se Victor, G. et al.; Nature Biotechnology (1997), 15(7), 637-640). Fc-region mutasjoner som øker bindingsaffiniteten til humant IgG for FcRn ved pH 6.0, men ikke ved pH 7.4, har også blitt identifisert (se Dall'Acqua William F, et al., Journal of Immunology (2002), 169(9), 5171-80). Videre, i ett tilfelle, en lignende pH-avhengig økning i binding (opp til 27-ganger) ble også observert for rhesus FcRn, og dette resulterte i en togangers økning i serum halveringstid i rhesus-apekatter sammenlignet med moder-IgG'et (se Hinton, Paul R. et al., Journal of Biological Chemistry (2004), 279(8), 6213-6216). Disse funnene indikerer ved det er mulig å forlenge plasmahalveringstiden til antistoff-terapeutika ved å skreddersy interaksjonen til Fc-regionen med FcRn. Motsatt kan Fc-region mutasjoner som demper interaksjon med FcRn redusere antistoff halveringstid.

B.10 Farmakokinetikk (PK):

For å generere et DVD-Ig-molekyl med ønsket farmakokinetikkprofil blir, i en utførelsesform moder-mAb'er med den tilsvarende ønskede farmakokinetikkprofil valgt. En vurdering er ved immunogen respons til monoklonale antistoffer (dvs., HAHA, human anti-humant antistoff respons; HACA, human anti-kimerisk antistoff respons) videre kompliserer farmakokinetikken til disse terapeutiske midlene. I en utførelsesform, blir monoklonale antistoffer med minimal eller ingen immunogenitet anvendt for konstruere DVD-Ig-molekyler slik ved de resulterende DVD-Ig'ene også vil ha minimal eller ingen immunogenitet. Noen av faktorene som bestemmer PK'en til et mAb inkluderer, men er ikke begrenset til iboende egenskaper til mAb'et (VH aminosyresekvens); immunogenitet; FcRn-binding og Fc-funksjoner.

PK-profilen til valgte monoklonale moderantistoffer kan lett bli bestemt i gnagere siden PK-profilen i gnagere korrelerer bra med (eller forutsier nærme) PK-profilen til monoklonale antistoffer i cynomolgus-apekatter og mennesker. PK-profilen blir bestemt som beskrevet i Eksempel seksjon 1.2.2.3.A.

Etter ved de monoklonale moderantistoffene med ønskede PK-karakteristikker (og andre ønskede funksjonelle egenskaper som diskutert heri) er valgt blir DVD-Ig'et konstruert. Siden DVD-Ig-molekyler inneholder to antigen-bindende domener fra to monoklonale moderantistoffer, blir også PK-egenskapene til DVD-Ig'et vurdert. Derfor, selv om de bestemmer PK-egenskapene til DVD-Ig'et, kan PK-assayer bli anvendt som bestemmer PK-profilen basert på funksjonaliteten til begge antigen-bindende domener avledet fra de 2 monoklonale moderantistoffene. PK-profilen til et DVD-Ig kan bli bestemt som beskrevet i Eksempel 1.2.2.3.A. Ytterligere faktorer som kan

påvirke PK-profilen til DVD-Ig inkluderer orienteringen til det antigen-bindende domenet (CDR); Linkerstørrelse; og Fc / FcRn interaksjoner. PK-karakteristikker til moderantistoffer kan bli evaluert ved å vurdere etter-parametrene: absorpsjon, fordeling, metabolisme og utskilling.

Absorpsjon: Opp til nå skjer administrasjon av terapeutisk monoklonale antistoffer via parenterale ruter (f.eks., intravenøs [IV], subkutan [SC], eller intramuskulær [IM]). Absorpsjon av et mAb inn i den systemiske sirkulasjonen etter enten SC eller IM administrasjon fra det interstitielle rommet er primært gjennom den lymfatiske signalveien. Mettbar, presystemisk, proteolytisk nedbrytning kan resultere i variabel absolutt biotilgjengelighet etter ekstravaskulær administrasjon. Vanligvis kan økning i absolutt biotilgjengelighet med økende doser av monoklonale antistoffer bli observert på grunn av mettet proteolytisk kapasitet ved høyere doser. Absorpsjonsprosessen for et mAb er vanligvis ganske treg siden lymfefluidene trekker sakte inn i det vaskulære systemet, og varigheten av absorpsjon kan forekomme over timer til flere dager. Den absolutte biotilgjengeligheten av monoklonale antistoffer etter SC administrasjon varierer generelt fra 50% til 100%. I tilfellet av en transport-medierende struktur ved blod-hjerne barrieren målsatt av DVD-Ig-konstruksjonen kan sirkuleringstiden i plasma bli redusert på grunn av forbedret trans-cellulær transport ved blod-hjerne barrieren (BBB) inn i CNS-rommet, hvor DVD-Ig'et blir frigjort for å muliggjøre interaksjon via dets andre antigengjenkjenningssete.

Fordeling: Etter IV administrasjon følger vanligvis monoklonale antistoffer en tofaset serum (eller plasma) konsentrasjon-tid profil, begynnende med en rask fordelingsfase, etterfulgt av en treg elimineringsfase. Generelt beskriver en bieksponential farmakokinetikkmodell best denne typen av farmakokinetikkprofil. Fordelingsvolumet i det sentrale rommet (Vc) for et mAb er vanligvis likt eller litt større enn plasmavolumet (2-3 liter). Et distinkt tofaset mønster i profilen for serum (plasma) konsentrasjon versus tid kan ikke synes med andre parenterale adminstrasjonsformer, slik som IM eller SC, fordi fordelingsfasen til serum (plasma) konsentrasjon-tid kurven er maskert av den lange absorpsjonsdelen. Mange faktorer, inkludert fysikokjemiske egenskaper, sete-spesifisitet og målrettet reseptormediert opptak, bindingskapasitet til vev, og mAb-dose kan påvirke biofordeling av et mAb. Noen av disse faktorer kan bidra til ikke-lineæritet i biofordeling for et mAb.

Metabolisme og Utskilling: på grunn av molekylstørrelsen blir ikke intakte monoklonale antistoffer utskilt i urinen via nyrene. De blir primært deaktivert ved metabolisme (f.eks., katabolisme). For IgG-baserte terapeutisk monoklonale antistoffer, varierer halveringstidene typisk fra timer eller 1-2 dager til over 20 dager. Elimineringen av et mAb kan bli påvirket av mange faktorer, inkludert, men ikke begrenset til, affinitet for FcRn-reseptoren, immunogeniteten til mAb'et, graden av glykosylering av mAb'et, mottageligheten av mAb'et for proteolyse, og reseptor-mediert eliminering.

B.11 Kryssreaktivitetsmønster i vev hos mennesker og toks-arterer:

Identisk flekkfargingsmønster antyder ved potensiell human toksisitet kan bli evaluert i toks-arter. Toks-arter er de dyrene hvori urelatert toksisitet blir studert.

De individuelle antistoffer blir valgt for å møte to kriterier. (1) Flekkfarging av vev passende for den kjente uttrykkingen av antistoff-målet. (2) Lignende flekkfargingsmønster mellom humant og toks-arter vev fra det samme organet.

Kriterium 1: Immuniseringer og/eller antistoff seleksjoner anvender typisk rekombinante eller syntetiserte antigener (proteiner, karbohydrater eller andre molekyler). Binding til den naturlige motpart og mot-screening mot ikke-beslektede antigener er ofte del av screeningstrakten for terapeutiske antistoffer. Imidlertid er screening mot et stort antall med antigener ofte upraktisk. Derfor hjelper studier av kryssreaktivitet i vev med humant vev fra alle hovedorganer å utelukke uønsket binding til antistoffet til ethvert ikke-beslektet antigen.

Kriterium 2: Sammenligningsstudier av kryssreaktivitet for vev med humant vev og toks-arter vev (cynomolgus-apekatter, hund, muligens gnagere og andre, de samme 36 eller 37 vev blir testet som i det humane studiet) hjelper med å validere valget av en toks-arter. I de typiske studiene av kryssreaktivitet i vev på fryste vevseksjoner kan terapeutiske antistoffer demonstrere den forventede bindingen til det kjente antigenet og/eller i en mindre grad, binding til vev basert enten på lavnivå-interaksjoner (ikke-spesifikk binding, lavnivå-binding til lignende antigener, ladningsbaserte lavnivå-interaksjoner, osv.). I hvert tilfelle er den mest relevante toksikologiske dyrearten den med den høyeste graden av tilfeller med binding til humant vev og dyrevev.

Studier av kryssreaktivitet for vev følger de passende regulatoriske retningslinjene inkludert EC CPMP Guideline III/5271/94 "Production and quality control of mAbs" og the 1997 US FDA/CBER "Points to Consider i the Fremstilling and Testing of Monoclonal Antibody Products for Human Use". Kryoseksjoner (5 μm) med humant vev oppnådd ved obduksjon eller biopsi ble fiksert og tørket på objektglass. Peroksidase-flekkfargingen av vev-seksjoner ble utført, ved å bruke avidin-biotin systemet. FDAs Veiledning *"Points to Consider i the Fremstilling and Testing of Monoclonal Antibody Products for Human Use"*. Relevante referanser inkluderer Clarke J 2004, Boon L. 2002a, Boon L 2002b, Ryan en 1999.

Studier av kryssreaktivitet for vev blir ofte gjort i to trinn, med det første trinnet inkluderende kryoseksjoner av 32 vev (typisk: Binyrene, Gastrointestinalkanalen, Prostata, Blære, Hjerte, Skjelettmuskulaturen, Blodceller, Nyre, Hud, Beinmarg, Lever, Ryggmarg, Bryst, Lunge, Milten, Cerebellum, Lymfekjertler, Testikler, Hjernebarken, Eggstokker, Thymus, Tykktarm, Bukspyttkjertel, Tyroid, Endothelium, Paratyroid, Urinleder, Øye, Hypofyse, Livmor, Eggleder og Placenta) fra en menneskelig donor. I den andre fasen blir et helt kryssreaktivitetsstudie utført med opp til 38 vev (inkludert binyrer, blod, blodkar, beinmarg, cerebellum, cerebrum, cervix,

øsofagus, øye, hjerte, nyre, tykktarm, lever, lunge, lymfekjertler, melkekjertler fra bryst, eggstokker, oviduct, bukspyttkjertel, paratyroid, perifere nerver, hypofyse, placenta, prostata, spyttkjertel, hud, tynntarmen, ryggmarg, milten, mave, tverrstripet muskulatur, testikler, thymus, tyroid, mandel, urinleder, urinblære, og livmor) fra 3 ikke-beslektede voksne. Studier blir typisk utført ved minimum to dosenivåer.

Det terapeutiske antistoffet (dvs., prøvegjenstanden) og isotype-tilpasset kontroll-antistoff kan bli biotinylert for avidin-biotin kompleks (ABC) deteksjon; andre deteksjonsmetoder kan inkludere tertiær antistoff deteksjon for en FITC (eller annen) merket prøvegjenstand, eller prekompleksering med et merket anti-humant IgG for en umerket prøvegjenstand.

For en kort tid blir kryoseksjoner (omtrent 5 μm) med humant vev oppnådd ved obduksjon eller biopsi fiksert og tørket på objektglass. Peroksidase-flekkfargingen av vev-seksjoner blir utført, ved å bruke avidin-biotin systemet. Først (i tilfellet av et prekompleksering-deteksjonssystem), blir prøvegjenstanden inkubert med det sekundære biotinylerte anti-humane IgG og utviklet til immunkompleks. Immunkomplekset ved sluttkonsentrasjonene på 2 og 10 μg/mL med prøvegjenstand blir tilsatt på vevseksjoner på objektglass og deretter ble vevseksjonene reagert i 30 minutter med et avidin-biotin-peroksidase kit. Deretter ble DAB (3,3'-diaminobenzidine), et substrat for peroksidase-reaksjonen, tilsatt i 4 minutter for flekkfarging av vev. Antigen-Sefarose kuler blir anvendt som positive kontroll-vevseksjoner.

Enhver spesifikk flekkfarging blir vurdert å være enten en forventet (f.eks. konsistent med antigen-uttrykking) eller uventet reaktivitet basert på kjent uttrykking av det gjeldende mål-antigenet. Enhver flekkfarging som blir vurdert spesifikk blir poengsatt for intensitet og hyppighet. Antigen eller serum konkurranse- eller blokkeringsstudier kan hjelpe videre med å bestemme om observert flekkfarging er spesifikk eller ikke-spesifikk.

Hvis to valgte antistoffer er funnet å møte utvalgskriteriene – passende flekkfarging av vev, matchende flekkfarging mellom humant vev og spesifikt vev fra toksikologiske dyr – kan de bli valgt for DVD-Ig-generering.

Studiet av kryssreaktivitet for vev må bli repetert med den endelige DVD-Ig-konstruksjonen, men mens disse studiene følger den samme protokollen som skissert heri, er de mer komplekse å evaluere fordi enhver binding kan komme fra ethvert av de to moderantistoffene, og enhver uforklart binding må bli bekreftet med komplekse antigen-konkurranse studier.

Det er lett å se ved den komplekse utførelsen av kryssreaktivitetsstudier av vev med et multispesifikt molekyl som et DVD-Ig er sterkt forenklet hvis de to moder-antistoffene er selektert for (1) funn av manglende uventet kryssreaktivitet for vev og (2) for funn av passende

likhet av kryssreaktivitet for vev mellom det korresponderende humane vevet og det toksikologiske dyreart vevet.

B.12 Spesifisitet og selektivitet:

For å generere et DVD-Ig-molekyl med ønsket spesifisitet og selektivitet, må man generere og velge moder-mAb'er med den tilsvarende ønskede spesifisitet og selektivitetsprofil.

Bindingsstudier for spesifisitet og selektivitet med et DVD-Ig kan være komplekse på grunn av de fire, eller flere, bindende setene, to hver for hvert antigen. Kort fortalt, bindingsstudier ved å bruke ELISA, BIAcore. KinExA eller andre interaksjonerstudier med et DVD-Ig må overvåke bindingen av en, to eller flere antigener til DVD-Ig-molekylet. Mens BIAcore teknologi kan løse den sekvensielle, uavhengige bindingen av flere antigener, mer tradisjonelle metoder inkludert ELISA eller mer moderne teknikker som KinExA kan ikke. Derfor er det kritisk med nøye karakterisering av hvert moderantistoff. Etter ved hvert individuelle antistoff har blitt karakterisert for spesifisitet, er bekreftelsen av spesifisitetsretensjonen til de individuelle bindende setene i DVD-Ig-molekylet sterkt forenklet.

Det er lett å se ved den komplekse utførelsen for å bestemme spesifisiteten til et DVD-Ig er sterkt forenklet hvis de to moder-antistoffene er selektert for spesifisitet før de blir kombinert inn i et DVD-Ig.

Antigen–antistoff interaksjonerstudier kan ta mange former, inkludert mange klassiske protein-protein interaksjonerstudier, inkludert ELISA (Enzym-sammenkoblet immunosorbent assay), Massespektrometri, kjemisk kryssbinding, SEC med lysspredning, likevektsdialyse, gel-gjennomtrengning, ultrafiltrering, gel-kromatografi, large-zone analytisk SEC, mikropreparativ ultrasentrifugering (sedimenteringslikevekt), spektroskopiske metoder, titrerings-mikrokalorimetri, sedimenteringslikevekt (i analytisk ultrasentrifuge), sedimenteringshastighet (i analytisk sentrifuge), overflate-plasmonresonans (inkludert BIAcore). Relevante referanser inkluderer "Current Protocolls in Protein Science", John E. Coligan, Ben M. Dunn, David W. Speicher, Paul T, Wingfield (eds.) Volum 3, chapters 19 og 20, publisert av John Wiley & Sons Inc., og referanser inkludert deri og "Current Protocolls in Immunology", John E. Coligan, Barbara E. Bierer, David H. Margulies, Etan M. Shevach, Warren Strober (eds.) publisert av John Wiley & Sons Inc og relevante referanser inkludert deri.

Cytokinfrigjøring i helt blod: Interaksjonen til mAb med humane blodceller kan bli undersøkt ved hjelp av et cytokinfrigjøringsassay (Wing, M. G. Therapeutic Immunology (1995), 2(4), 183-190; "Current Protocolls in Farmacology", S.J. Enna, Michael Williams, John W. Ferkany, Terry Kenakin, Paul Moser, (eds.) publisert av John Wiley & Sons Inc; Madhusudan, S. Clinical Cancer Forskning (2004), 10(19), 6528-6534; Coks, J. Methods (2006), 38(4), 274-282; Choi, I. European Journal of Immunology (2001), 31(1), 94-106). Kort fortalt, diverse

konsentrasjoner av mAb blir inkubert med humant helt blod i 24 timer. Den testede konsentrasjonen bør dekke et bredt område inkludert sluttkonsentrasjoner som etterligner typisk blod nivåer i pasienter (inkludert men ikke begrenset til 100 ng/ml – 100μg/ml). Etter inkuberingen ble supernatanter og cellelysater analysert for nærværet av IL-1Rα, TNF-α, IL-1b, IL-6 og IL-8. Cytokin-konsentrasjonsprofiler fremstilt for mAb ble sammenlignet med profiler produsert ved en negativ human IgG-kontroll og en positiv LPS- eller FEn-kontroll. Cytokinprofilen fremvist av mAb fra både cellesupernatanter og cellelysater var sammenlignbar med human IgG-kontroll. I en utførelsesform interagerer ikke det monoklonale antistoffet med humane blodceller for spontant å frigjøre inflammatoriske cytokiner.

Cytokinfrigjøringsstudier for et DVD-Ig er komplekse på grunn av de fire, eller flere, bindende setene, to hver for hvert antigen. Kort fortalt, cytokinfrigjøringsstudier som beskrevet heri måler virkningen av hele DVD-Ig-molekylet på helt blod eller andre celle-systemer, men kan løse hvilken del av molekylet som forårsaker cytokinfrigjøring. Når cytokinfrigjøringen har blitt detektert, må renheten av DVD-Ig-preparatet bli fastslått, fordi noen ko-rensende cellulære komponenter kan forårsake cytokinfrigjøring på egen hånd. Hvis renhet ikke er problemet, fragmentering av DVD-Ig (inkludert men ikke begrenset til fjerning av Fc-delen, separering av bindende seter osv.), må kanskje bindingssete-mutagenese eller andre metoder bli anvendt for å oppklare noen observasjoner. Det er lett å se ved denne komplekse utførelsen er sterkt forenklet hvis de to moder-antistoffene er selektert for mangel av cytokinfrigjøring før de blir kombinert inn i et DVD-Ig.

B.13 Kryssreaktivitet til andre arter for toksikologiske studier:

I en utførelsesform er de individuelle antistoffer valgt med tilstrekkelig kryssreaktivitet til passende forks arter, for eksempel, cynomolgus-apekatter. Moder-antistoffer må binde til mål hos ortologe arter (dvs. cynomolgus-apekatter) og utløse passende respons (modulering, nøytralisering, aktivering). I en utførelsesform bør kryssreaktiviteten (affinitet/styrke) ovenfor mål hos ortologe arter være innenfor 10-ganger av det humane målet. I praksis blir moder-antistoffene evaluert for flere arter, inkludert mus, rotte, hund, apekatt (og andre ikke-humane primater), så vel som sykdomsmodell-arter (dvs. sauer for astmamodell). Den akseptable kryssreaktiviteten til toks-arter fra de monoklonale moderantistoffene tillater senere toksikologistudier av DVD-Ig-Ig i den samme spesien. På grunn av det bør de to monoklonale moderantistoffene ha akseptabel kryssreaktivitet for en vanlig toks-art for derfor å tillate toksikologistudier av DVD-Ig i den samme spesien.

Moder-mAb'er kan bli valgt fra diverse mAb'er i stand til å binde spesifikke mål og velkjent i teknikken. Disse inkluderer, men er ikke begrenset til anti-TNF antistoff (US Patentnr. 6,258,562), anti-IL-12 og/eller anti-IL-12p40 antistoff (US Patentnr. 6,914,128); anti-IL-18

antistoff (US 2005/0147610 A1), anti-C5, anti-CBL, anti-CD147, anti-gp120, anti-VLA-4, anti-CD11a, anti-CD18, anti-VEGF, anti-CD40L, anti CD-40 (f.eks., se WO2007124299) anti-Id, anti-ICAM-1, anti-CXCL13, anti-CD2, anti-EGFR, anti-TGF-beta 2, anti-HGF, anti-cMet, anti DLL-4, anti-NPR1, anti-PLGF, anti-ErbB3, anti-E-selectin, anti-Fact VII, anti-Her2/neu, anti-F gp, anti-CD11/18, anti-CD14, anti-ICAM-3, anti-RON, anti CD-19, anti-CD80 (f.eks., se WO2003039486, anti-CD4, anti-CD3, anti-CD23, anti-beta2-integrin, anti-alfa4beta7, anti-CD52, anti-HLA DR, anti-CD22 (f.eks., se US Patent NO: 5,789,554), anti-CD20, anti-MIF, anti-CD64 (FcR), anti-TCR alfa beta, anti-CD2, anti-Hep B, anti-CA 125, anti-EpCAM, anti-gp120, anti-CMV, anti-gpIIbIIIa, anti-IgE, anti-CD25, anti-CD33, anti-HLA, anti-IGF1,2, anti IGFR, anti-VNRintegrin, anti-IL-1alfa, anti-IL-1beta, anti-IL-1 reseptor, anti-IL-2 reseptor, anti-IL-4, anti-IL-4 reseptor, anti-IL5, anti-IL-5 reseptor, anti-IL-6, anti- IL-6R, RANKL, NGF, DKK, alfaVbeta3, IL-17A, anti-IL-8, anti-IL-9, anti-IL-13, anti-IL-13 reseptor, anti-IL-17, og anti-IL-23; IL-23p19; (se Presta LG. 2005 Seleksjon, design, og konstruksjon av terapeutiske antistoffer J Allergi Clin Immunol. 116:731-6 og http://www.path.cam.ac.uk/~mrc7/humanization/antibodies.html).

Moder-mAb'er kan også være valgt fra diverse terapeutiske antistoffer godkjent for anvendelse, i kliniske studier, eller i utvikling for klinisk anvendelse. Slike terapeutiske antistoffer inkluderer, men er ikke begrenset til, rituximab (Rituxan®, IDEK/Genentech/Roche) (se for eksempel U. S. Pat. Nr. 5,736,137), et kimerisk anti-CD20 antistoff godkjent for å behandle ikke-Hodgkins lymfom; HuMax-CD20, et anti-CD20 for tiden under utvikling av Genmab, et anti-CD20 antistoff beskrevet i U.S. Pat. Nr. 5, 500,362, AME-133 (Applied Molecular Evolution), hA20 (Immunomedics, Inc.), HumaLYM (Intracel), og PRO70769 (PCT/US2003/040426, med tittelen "Immunoglobulin Varianter og Anvendelser derav"), trastuzumab (Herceptin®, Genentech) (se for eksempel U.S. Pat. Nr. 5,677,171), et humanisert anti- Her2/neu antistoff godkjent for å behandle bryst kreft; pertuzumab (rhuMab-2C4, Omnitarg®), for tiden under utvikling av Genentech; et anti-Her2 antistoff beskrevet i U.S. Pat. Nr. 4,753,894; cetuximab (Erbitux®, Imclone) (U.S. Pat. Nr. 4,943,533; PCT WO 96/40210), et kimerisk anti-EGFR antistoff i kliniske studier for en rekke kreftsykdommer; ABX-EGF (U.S. Pat. Nr. 6,235,883), for tiden under utvikling av Abgenix-Immunex-Amgen; HuMax- EGFr (U.S. Ser. No. 10/172,317), for tiden under utvikling av Genmab; 425, EMD55900, EMD62000, og EMD72000 (Merck KGaA) (U.S. Pat. Nr. 5,558,864; Murthy et al. 1987, Arch Biochem Biofys. 252(2):549-60; Rodekk et al., 1987, J Celle Biochem. 35(4):315-20; Kettleborough et al., 1991, Protein Eng. 4(7):773-83); ICR62 (Institute of Cancer Forskning) (PCT WO 95/20045; Modjtahedi et al., 1993, J. Celle Biofys. 1993, 22(1-3):129-46; Modjtahedi et al., 1993, Br J Cancer. 1993, 67(2):247-53; Modjtahedi et al, 1996, Br J Cancer, 73(2):228-35; Modjtahedi et al, 2003, Int J Cancer, 105(2):273-80); TheraCIM hR3 (YM Biosciences, Canada og Centro de

Immunologiet molekylær, Cuba (U.S. Pat. Nr. 5,891,996; U.S. Pat. Nr. 6,506, 883; Mateo et al, 1997, Immunotechnology, 3(1):71-81); mAb-806 (Ludwig Institue for Cancer Forskning, Memorial Sloan-Kettering) (Jungbluth et al. 2003, Proc Natl Acad Sci USA. 100(2):639-44); KSB-102 (KS Biomedix); MR1-1 (IVAX, National Cancer Institute) (PCT WO 0162931A2); og SC100 (Scancell) (PCT WO 01/88138); alemtuzumab (Campath®, Millenium), et humanisert mAb for tiden godkjent for behandling av B-celle kronisk lymfocytisk leukemi; muromonab-CD3 (Orthoclone OKT3®), et anti-CD3 antistoff utviklet av Ortho Biotech/Johnson & Johnson, ibritumomab tiuxetan (Zevalin®), et anti-CD20 antistoff utviklet av IDEK/Schering AG, gemtuzumab ozogamicin (Mylotarg®), et anti-CD33 (p67 protein) antistoff utviklet av Celltech/Wyet, alefacept (Amevive®), et anti-LFA-3 Fc fusjon utviklet av Biogen), abciximab (ReoPro®), utviklet av Centocor/Lilly, basiliximab (Simulect®), utviklet av Novartis, palivizumab (Synagis®), utviklet av Medimmune, infliximab (Remicade®), et anti-TNFalfa antistoff utviklet av Centocor, adalimumab (Humira®), et anti-TNFalfa antistoff utviklet av Abbott, Humicade®, et anti-TNFalfa antistoff utviklet av Celltech, golimumab (CNTO-148), en helt human TNF antistoff utviklet av Centocor, etanrcept (Enbrel®), an p75 TNF reseptor Fc fusjon utviklet av Immunex/Amgen, lenercept, an p55TNF reseptor Fc fusjon tidligere utviklet av Roche, ABX-CBL, et anti-CD147 antistoff som blir utviklet av Abgenix, ABX-IL8, et anti-IL8 antistoff som blir utviklet av Abgenix, ABX-MA1, et anti-MUC18 antistoff som blir utviklet av Abgenix, Pemtumomab (R1549, 90Y-muHMFG1), et anti-MUC1 i utvikling ved Antisoma, Therex (R1550), et anti-MUC1 antistoff som blir utviklet av Antisoma, AngioMab (AS1405), som blir utviklet av Antisoma, HuBC-1, som blir utviklet av Antisoma, Tioplatin (AS1407) som blir utviklet av Antisoma, Antegren® (natalizumab), et anti-alfa-4-beta-1 (VLA-4) og alfa-4-beta-7 antistoff som blir utviklet av Biogen, VLA-1 mAb, et anti-VLA-1 integrin antistoff som blir utviklet av Biogen, LTBR mAb, et anti-lymfotoksin beten reseptor (LTBR) antistoff som blir utviklet av Biogen, CAT-152, et anti-TGF-β2 antistoff som blir utviklet av Cambridge Antibody Technology, ABT 874 (J695), et anti- IL-12 p40 antistoff som blir utviklet av Abbott, CAT-192, et anti-TGFβ1 antistoff som blir utviklet av Cambridge Antibody Technology og Genzyme, CAT-213, et anti-Eotaxin1 antistoff som blir utviklet av Cambridge Antibody Technology, LymfoStat-B® et anti-Blys antistoff som blir utviklet av Cambridge Antibody Technology og Human Genome Sciences Inc., TRAIL-R1mAb, et anti-TRAIL-R1 antistoff som blir utviklet av Cambridge Antibody Technology og Human Genome Sciences, Inc. , Avastin® bevacizumab, rhuMAb-VEGF), et anti-VEGF antistoff som blir utviklet av Genentech, et anti-HER reseptor familie antistoff som blir utviklet av Genentech, Anti-Vev Faktor (ATF), et anti-Vev Faktor antistoff som blir utviklet av Genentech, Xolair® (Omalizumab), et anti-IgE antistoff som blir utviklet av Genentech, Raptiva® (Efalizumab), et anti- CD11a antistoff som blir utviklet av Genentech og Xoma, MLN-02 Antistoff (formerly LDP-02), som blir utviklet av Genentech og Millenium Farmaceuticals, HuMax CD4, et anti-CD4 antistoff som blir utviklet av Genmab,

HuMax-IL15, et anti-IL15 antistoff som blir utviklet av Genmab og Amgen, HuMax-Inflam, som blir utviklet av Genmab og Medarex, HuMax-Kreft, et anti-Heparanase I antistoff som blir utviklet av Genmab og Medarex og Oksford GcoSciences, HuMax-Lymfom, som blir utviklet av Genmab og Amgen, HuMax-TAC, som blir utviklet av Genmab, IDEK-131, og anti-CD40L antistoff som blir utviklet av IDEK Farmaceuticals, IDEK-151 (Clenoliximab), et anti- CD4 antistoff som blir utviklet av IDEK Farmaceuticals, IDEK-114, et anti- CD80 antistoff som blir utviklet av IDEK Farmaceuticals, IDEK-152, et anti- CD23 som blir utviklet av IDEK Farmaceuticals, anti-makrofage migration faktor (MIF) antistoffer som blir utviklet av IDEK Farmaceuticals, BEC2, et anti-idiotypiske antistoff som blir utviklet av Imclone, IMC-1C11, et anti-KDR antistoff som blir utviklet av Imclone, DC101, et anti-flk-1 antistoff som blir utviklet av Imclone, anti-VE cadherin antistoffer som blir utviklet av Imclone, CEA-Cide® (labetuzumab), et anti-carcinoembryonic antigen (CEA) antistoff som blir utviklet av Immunomedics, LymfoCide® (Epratuzumab), et anti-CD22 antistoff som blir utviklet av Immunomedics, AFP-Cide, som blir utviklet av Immunomedics, MyelomaCide, som blir utviklet av Immunomedics, LkoCide, som blir utviklet av Immunomedics, ProstaCide, som blir utviklet av Immunomedics, MDX-010, et anti-CTLA4 antistoff som blir utviklet av Medarex, MDX-060, et anti-CD30 antistoff som blir utviklet av Medarex, MDX-070 som blir utviklet av Medarex, MDX-018 som blir utviklet av Medarex, Osidem® (IDM-1), og anti-Her2 antistoff som blir utviklet av Medarex og Immuno-Utformet Molekyler, HuMax®-CD4, et anti-CD4 antistoff som blir utviklet av Medarex og Genmab, HuMax-IL15, et anti-IL15 antistoff som blir utviklet av Medarex og Genmab, CNTO 148, et anti-TNFα antistoff som blir utviklet av Medarex og Centocor/J&J, CNTO 1275, et anti-cytokin antistoff som blir utviklet av Centocor/J&J, MOR101 og MOR102, anti-intercellulær adhesion molekyl-1 (ICAM-1) (CD54) antistoffer som blir utviklet av MorfoSys, MOR201, et anti-fibroblast vekstfaktor reseptor 3 (FGFR-3) antistoff som blir utviklet av MorfoSys, Nuvion® (visilizumab), et anti-CD3 antistoff som blir utviklet av Protein Design Labs, HuZAF®, et anti-gamma interferon antistoff som blir utviklet av Protein Design Labs, Anti-α 5β1 Integrin, som blir utviklet av Protein Design Labs, anti-IL-12, som blir utviklet av Protein Design Labs, ING-1, et anti-Ep-CAM antistoff som blir utviklet av Xoma, Xolair® (Omalizumab) et humanisert anti-IgE antistoff utviklet av Genentech og Novartis, og MLN01, et anti-Beta2 integrin antistoff som blir utviklet av Xoma. I en annen utførelsesform, the terapeutika inkluderer KRN330 (Kirin); huA33 antistoff (A33, Ludwig Institute for Cancer Forskning); CNTO 95 (alfa V integrins, Centocor); MEDI-522 (alfa Vβ3 integrin, Medimmune); volociximab (alfa Vβ1 integrin, Biogen/PDL); Human mAb 216 (B-celle glycosolated epitop, NCI); BiTE MT103 (bispesifikk CD19 x CD3, Medimmune); 4G7xH22 (Bispesifikk BcellxFcgammaR1, Medarex/Merck KGa); rM28 (Bispesifikk CD28 x MAPG, US Patentnr. EP1444268); MDX447 (EMD 82633) (Bispesifikk CD64 x EGFR, Medarex); Catumaxomab (removab) (Bispesifikk EpCAM x anti-CD3, Trion/Fres); Ertumaxomab (bispesifikk

HER2/CD3, Fresenius Biotech); oregovomab (OvaRex) (CA-125, ViRexx); Rencarex® (WX G250) (karbonic anhydrase IX, Wilex); CNTO 888 (CCL2, Centocor); TRC105 (CD105 (endoglin), Tracon); BMS-663513 (CD137 agonist, Brystol Myers Squibb); MDX-1342 (CD19, Medarex); Siplizumab (MEDI-507) (CD2, Medimmune); Ofatumumab (Humax-CD20) (CD20, Genmab); Rituximab (Rituxan) (CD20, Genentech); veltuzumab (hA20) (CD20, Immunomedics); Epratuzumab (CD22, Amgen); lumiliximab (IDEK 152) (CD23, Biogen); muromonab-CD3 (CD3, Ortho); HuM291 (CD3 fc reseptor, PDL Biofarma); HeFi-1, CD30, NCI); MDX-060 (CD30, Medarex); MDX-1401 (CD30, Medarex); SGN-30 (CD30, Seattle Genentics); SGN-33 (Lintuzumab) (CD33, Seattle Genentics); Zanolimumab (HuMax-CD4) (CD4, Genmab); HCD122 (CD40, Novartis); SGN-40 (CD40, Seattle Genentics); Campath1h (Alemtuzumab) (CD52, Genzyme); MDX-1411 (CD70, Medarex); hLL1 (EPB-1) (CD74.38, Immunomedics); Galiximab (IDEK-144) (CD80, Biogen); MT293 (TRC093/D93) (kløyvd kollagen, Tracon); HuLuc63 (CS1, PDL Farma); ipilimumab (MDX-010) (CTLA4, Brystol Myers Squibb); Tremelimumab (Ticilimumab, CP-675,2) (CTLA4, Pfizer); HGS-ETR1 (Mapatumumab) (DR4 TRAIL-R1 agonist, Human Genome Science /Glaxo Smith Kline); AMG-655 (DR5, Amgen); Apomab (DR5, Genentech); CS-1008 (DR5, Daiichi Sankyo); HGS-ETR2 (lexatumumab) (DR5 TRAIL-R2 agonist, HGS); Cetuximab (Erbitux) (EGFR, Imclone); IMC-11F8, (EGFR, Imclone); Nimotuzumab (EGFR, YM Bio); Panitumumab (Vectabix) (EGFR, Amgen); Zalutumumab (HuMaxEGFr) (EGFR, Genmab); CDX-110 (EGFRvIII, AVANT Immunoterapeutika); adekatumumab (MT201) (Epcam , Merck); edrecolomab (Panorex, 17-1A) (Epcam , Glaxo/Centocor); MORAb-003 (folat reseptor a, Morfotech); KW-2871 (ganglioside GD3, Kyowa); MORAb-009 (GP-9, Morfotech); CDX-1307 (MDX-1307) (hCGb, Celldex); Trastuzumab (Herceptin) (HER2, Celldex); Pertuzumab (rhuMAb 2C4) (HER2 (DI), Genentech); apolizumab (HLA-DR beta chain, PDL Farma); AMG-479 (IGF-1R, Amgen); anti-IGF-1R R1507 (IGF1-R, Roche); CP 751871 (IGF1-R, Pfizer); IMC-A12 (IGF1-R, Imclone); BIIB022 (IGF-1R , Biogen); Mik-beta-1 (IL-2Rb (CD122), Hoffman LaRoche); CNTO 328 (IL6, Centocor); Anti-KIR (1-7F9) (Killer celle Ig-lignende Reseptor (KIR), Novo); Hu3S193 (Lewis (y), Wyet, Ludwig Institute of Cancer Forskning); hCBE-11 (LTßR, Biogen); HuHMFG1 (MUC1, Antisoma/NCI); RAV12 (N-linked karbohydrat epitop, Raven); CAL (paratyroid hormon-beslektede protein (PTH-rP), University of California); CT-011 (PD1, CureTech); MDX-1106 (ono-4538) (PD1, Medarex/Ono); MAb CT-011 (PD1, Curetech); IMC-3G3 (PDGFRa, Imclone); bavituximab (fosfatidylserin, Peregrine); huJ591 (PSMA, Cornell Forskning Foundation); muJ591 (PSMA, Cornell Forskning Foundation); GC1008 (TGFb (pan) inhibitor (IgG4), Genzyme); Infliximab (Remicade) (TNFa, Centocor); A27.15 (transferrin reseptor, Salk Institute, INSERN WO 2005/111082); E2.3 (transferrin reseptor, Salk Institute); Bevacizumab (Avastin) (VEGF, Genentech); HuMV833 (VEGF, Tsukuba Forskning Lab-

WO/2000/034337, University of Texas); IMC-18F1 (VEGFR1, Imclone); IMC-1121 (VEGFR2, Imclone).

B. Konstruksjon av DVD-molekyler:

Immunoglobulin (DVD-Ig) molekylet med to variable domener er utformet slik ved to forskjellige lettkjede variable domener (VL) fra de to forskjellige monoklonale moderantistoffene er knyttet sammen direkte eller via en kort linker ved rekombinante DNA-teknikker, etterfulgt av lettkjede konstantdomenet. Tilsvarende omfatter tungkjedet to forskjellige tungkjede variabeldomener (VH) knyttet sammen, etterfulgt av konstantdomene CH1 og Fc-region (Figur 1A).

De variable domenene kan bli oppnådd ved å bruke rekombinante DNA-teknikker fra et moderantistoff fremstilt ved enhver av metodene beskrevet heri. I en utførelsesform er det variable domenet et murint tung eller lettkjede variabelt domene. I en annen utførelsesform er det variable domenet et CDR-podet eller et humanisert variabelt tung eller lettkjede domene. I en utførelsesform er det variable domenet et humant tung eller lettkjede variabelt domene.

I en utførelsesform blir det første og andre variable domenet knyttet direkte til hverandre ved å bruke rekombinante DNA-teknikker. I en annen utførelsesform blir de variable domenene knyttet via en linker-sekvens. I en utførelsesform blir to variable domener knyttet sammen. Tre eller flere variable domener kan også være knyttet sammen direkte eller via en linker-sekvens. De variable domenene kan binde det samme antigenet eller kan binde forskjellige antigener. DVD-molekyler ifølge oppfinnelsen kan inkludere et immunoglobulin variabelt domene og en ikke-immunoglobulin variabelt domene slik som et ligand-bindende domene til en reseptor, aktivt domene av et enzym. DVD-molekyler kan også omfatte 2 eller flere ikke-Ig domener.

Linker-sekvensen kan være en enkelt aminosyre eller en polypeptidsekvens. I en utførelsesform er linker-sekvensene valgt fra gruppen bestående av AKTTPKLEEGEFSEAR (SEKV ID NR: 1); AKTTPKLEEGEFSEARV (SEKV ID NR: 2); AKTTPKLGG (SEKV ID NR: 3); SAKTTPKLGG (SEKV ID NR: 4); SAKTTP (SEKV ID NR: 5); RADAAP (SEKV ID NR: 6); RADAAPTVS (SEKV ID NR: 7); RADAAAAGGPGS (SEKV ID NR: 8); RADAAAA$(G_4S)_4$ (SEKV ID NR: 9); SAKTTPKLEEGEFSEARV (SEKV ID NR: 10); ADAAP (SEKV ID NR: 11); ADAAPTVSIFPP (SEKV ID NR: 12); TVAAP (SEKV ID NR: 13); TVAAPSVFIFPP (SEKV ID NR: 14); QPKAAP (SEKV ID NR: 15); QPKAAPSVTLFPP (SEKV ID NR: 16); AKTTPP (SEKV ID NR: 17); AKTTPPSVTPLAP (SEKV ID NR: 18); AKTTAP (SEKV ID NR: 19); AKTTAPSVYPLAP (SEKV ID NR: 20); ASTKGP (SEKV ID NR: 21); ASTKGPSVFPLAP (SEKV ID NR: 22), GGGGSGGGGSGGGGS (SEKV ID NR: 23); GENKVEYAPALMALS (SEKV ID NR: 24); GPAKELTPLKEAKVS (SEKV ID NR: 25); og GHEAAAVMQVQYPAS (SEKV ID NR: 26). Valget av linker-sekvenser er basert på krystallstruktur-analyse av flere Fab-

molekyler. Det er en naturlig fleksibel sammenkobling mellom det variable domenet og det CH1/CL konstante domenet i Fab eller antistoff-molekylær struktur. Denne naturlige sammenkoblingen omfatter omtrent 10-12 aminosyre-residuer, bidratt med 4-6 residuer fra C-terminus til V-domenet og 4-6 residuer fra N-terminus til CL/CH1 domenet. DVD-Ig'er ifølge oppfinnelsen ble fremstilt ved å bruke N-terminal 5-6 aminosyre-residuer, eller 11-12 aminosyre-residuer, fra CL eller CH1 som linker i henholdsvis lettkjede og tungkjede til DVD-Ig.. N-terminal-residuene fra CL eller CH1 domener, spesielt de første 5-6 aminosyre-residuene, inntar en løkke-konformasjon uten sterke sekundære strukturer, og kan derfor virke som fleksible linkere mellom de to variable domenene. N-terminal-residuene fra CL eller CH1 domener er naturlige forlengninger av de variable domenene, siden de er en del av Ig-sekvensene, og minimerer derfor i stor grad enhver immunogenitet som potensielt kommer fra linkerene og sammenkoblinger.

Andre linker-sekvenser kan inkludere enhver sekvens av enhver lengde av CL/CH1 domenet men ikke alle residuene til CL/CH1 domenet; for eksempel de første 5-12 aminosyre-residuene til CL/CH1 domenene; lettkjede linkerene kan være fra Cκ eller Cλ; og tungkjede linkerene kan være avledet fra CH1 av enhver isotyper, inkludert Cγ1, Cγ2, Cγ3, Cγ4, Cα1, Cα2, Cδ, Cε, og Cμ. Linker-sekvenser kan også være avledet fra andre proteiner slik som Ig-lignende proteiner, (f.eks.TCR, FcR, KIR); G/S baserte sekvenser (f.eks., G4S repetisjoner SEKV ID NR: 27); hengselregion-avledede sekvenser; og andre naturlige sekvenser fra andre proteiner.

I en utførelsesform er et konstant domene knyttet til de to sammenknyttede variable domenene ved å bruke rekombinante DNA-teknikker. I en utførelsesform er en sekvens omfattende sammenkoblede tungkjede variable domener knyttet til et tungkjede konstant domene og en sekvens omfattende sammenkoblede lettkjede variable domener er knyttet til et lettkjede konstant domene. I en utførelsesform, er de konstante domenene henholdsvis humant tungkjede konstant domene og human lettkjede konstant domene. I en utførelsesform er DVD-tungkjedet videre knyttet til en Fc-region. Fc-regionen kan være en Fc-region med opprinnelig sekvens, eller en variant Fc-region. I en annen utførelsesform er Fc-regionen en human Fc-region. I en annen utførelsesform inkluderer Fc-regionen Fc-regioner fra IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA, IgM, IgE, eller IgD.

I en annen utførelsesform to tungkjede DVD polypeptider og to lettkjede DVD polypeptider er kombinert for å danne et DVD-Ig-molekyl. Tabell 2 lister opp aminosyresekvenser av VH- og VL-regioner fra eksempelvise antistoffer for mål nyttig for å behandle sykdom, f.eks., for å behandle kreft. I en utførelsesform tilveiebringer oppfinnelsen en DVD omfattende minst to av VH- og/eller VL-regionene opplistet i Tabell 2, i enhver orientering.

Tabell 2: Liste med aminosyresekvenser fra VH- og VL-regioner til antistoffer for å generere DVD-Ig'er

SEQ ID No.	ABT Unik ID	Protein Region	Sekvens 12345678901234567890123456789012345678
28	AB001VH	VH CD20	QVQLQQPGAELVKPGASVKMSCKASGYTFTSYNMHW VKQTPGRGLEWIGAIYPGNGDTSYNQKFKGKATLTA DKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYYCARSTYYGGDWYF NVWGAGTTVTVSA
29	AB001VL	VL CD20	QIVLSQSPAILSPSPGEKVTMTCRASSSVSYIHWFQ QKPGSSPKPWIYATSNLASGVPVRFSGSGSGTSYSL TISRVEAEDAATYYCQQWTSNPPTFGGGTKLEIKR
30	AB014VH	VH VEGF	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYTFTNYGMNW VRQAPGKGLEWVGWINTYTGEPTYAADFKRRFTFSL DTSKSTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAKYFYYGSSHWY FDVWGQGTLVTVSS
31	AB014VL	VL VEGF	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCSASQDISNYLNWY QQKPGKAPKVLIYFTSSLHSGVPSRFSGSGSGTDFT LTISSLQPEDFATYYCQQYSTVPWTFGQGTKVEIKR
32	AB017VH	VH TNF	EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHW VRQAPGKGLEWVSAITWNSGHIDYADSVEGRFTISR DNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKVSYLSTASSL DYWGQGTLVTVSS
33	AB017VL	VL TNF	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGIRNYLAWY QQKPGKAPKLLIYAASTLQSGVPSRFSGSGSGTDFT LTISSLQPEDVATYYCQRYNRAPYTFGQGTKVEIKR
34	AB018VH	VH RANKL	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSW VRQAPGKGLEWVSGITGSGGSTYYADSVKGRFTISR DNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKDPGTTVIMSW FDPWGQGTLVTVSS
35	AB018VL	VL RANKL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVRGRYLAW YQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDF TLTISRLEPEDFAVFYCQQYGSSPRTFGQGTKVEIK R
36	AB020VH	NGF	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGFSLIGYDLNW IRQPPGKGLEWIGIIWGDGTTDYNSAVKSRVTISKD TSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARGGYWYATSYYF DYWGQGTLVTVSS
37	AB020VL	NGF	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISNNLNWY QQKPGKAPKLLIYYTSRFHSGVPSRFSGSGSGTDFT FTISSLQPEDIATYYCQQEHTLPYTFGQGTKLEIKR
38	AB022VH	SOST (seq 1)	EVQLQQSGPELVTPGASVKISCKASGYTFTDHYMSW VKQSHGKSLEWIGDINPYSGETTYNQKFKGTATLTV DKSSSIAYMEIRGLTSEDSAVYYCARDDYDASPFAY WGQGTLVTVSA
39	AB022VL	SOST (seq 1)	DVQMIQSPSSLSASLGDIVTMTCQASQGTSINLNWF QQKPGKAPKLLIYGSSNLEDGVPSRFSGSRYGTDFT LTISSLEDEDLATYFCLQHSYLPYTFGGGTKLEIKR
40	AB023VH	DKK	EVQLVESGGGLVQPANSLKLSCAASGFTFSDYAMAW VRQSPKKGLEWVATIIYDGSSTYYRDSVKGRFTISR DNAKSTLYLQMDSLRSEDTATYYCATGLGIATDYFD YWGQGVLVTVSS
41	AB023VL	DKK	DIRMTQSPASLSASLGETVNIECLASEDIYSDLAWY QQKPGKSPQLLIYNANSLQNGVPSRFSGSGSGTQYS LKINSLQSEDVATYFCQQYNNYPPTFGGGTKLELKR

SEQ ID No.	ABT Unik ID	Protein Region	Sekvens 1234567890123456789012345678901234567890123456
42	AB024VH	alfaVbeta3	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYDMSW VRQAPGKGLEWVAKVSSGGGSTYYLDTVQGRFTISR DNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARHNYGSFAYWG QGTTVTVSS
43	AB024VL	alfaVbeta3	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCQASQSISNHLHWY QQRPGQAPRLLIKYRSQSISGIPARFSGSGSGTDFT LTISSLEPEDFAVYYCQQSGSWFTFGGGTKVEIKR
44	AB026VH	IL-13 (seq 1)	EVTLRESGPGLVKPTQTLTLTCTLYGFSLSTSDMGV DWIRQPPGKGLEWLAHIWWDDVKRYNPALKSRLTIS KDTSKNQVVLKLTSVDPVDTATYYCARTVSSGYIYY AMDYWGQGTLVTVSS
45	AB026VL	IL-13 (seq 1)	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTISCRASQDIRNYLNWY QQKPGKAPKLLIFYTSKLHSGVPSRFSGSGSGTDYT LTISSLQPEDIATYYCQQGNTLPLTFGGGTKVEIKR
46	AB027VH	IL-4	QVTLRESGPALVKPTQTLTLTCTFSGFSLSTSGMGV SWIRQPPGKGLEWLAHIYWDDDKRYNPSLKSRLTIS KDTSRNQVVLTMTNMDPVDTATYYCARRETVFYWYF DVWGRGTPVTVSS
47	AB027VL	IL-4	DIVLTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQSVDYDGDSY MNWYQQKPGKAPKLLIYAASNLESGIPSRFSGSGSG TDFTFTISSLQPEDIATYYCQQSNEDPPTFGQGTKV EIKR
48	AB028VH	IL-9 (seq 1)	QVQLVQSGAEVKKPGASVKSCKASGYTFTGYWIEWV RQAPGQLEWMGEILPGSTTNYNEKFKGRVTMTRDTS TSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARADYYGSDYVKFDY WGQGTLVTSS
49	AB028VL	IL-9 (seq 1)	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQHVGTHVTWY QQKPGKAPKLLIYSTSYRYSGVPSRFSGSGSGTDFT LTISSLQPEDFATYYCQHFYSYPLTFGGGTKVEIKR
50	AB029VH	IL-17A	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYWMNW VRQAPGKGLEWVAAINQDGSEKYYVGSVKGRFTISR DNAKNSLYLQMNSLRVEDTAVYYCVRDYYDILTDYY IHYWYFDLWGRGTLVTVSS
51	AB029VL	IL-17A	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAW YQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDF TLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPCTFGQGTRLEIK R
52	AB032VH	IL-1beta (sekv. 1)	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSVYGMNW VRQAPGKGLEWVAIIWYDGDNQYYADSVKGRFTISR DNSKNTLYLQMNGLRAEDTAVYYCARDLRTGPFDYW GQGTLVTVSS
53	AB032VL	IL-1beta (sekv. 1)	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQSIGSSLHWY QQKPDQSPKLLIKYASQSFSGVPSRFSGSGSGTDFT LTINSLEAEDAAAYYCHQSSSLPFTFGPGTKVDIKR
54	AB038VH	IL-23 p19	DVNLVESGGGLVKPGGSLKLSCAASGFTFSSYTMSW VRQTPEKRLEWVATISSGGTYTYYPDSVKGRFTISR DNAKNTLYLQMSSLKSEDTAMFYCTRDNHAYDRGPF FDYWGQGATLTVSS
55	AB038VL	IL-23 p19	DIVMSQSPSSLVVSVGEKVTMSCKSSQNLFYRSNQK NHLAWYQQKPGQSPTLLIYWTSTRESGVPDRFTGSG SGTDFTLTISRVKAEDLAVYYCQQYYSYPPTFGGGT KLEIKR
56	AB040VH	IL-6	QVTLKESGPGILQPSQTLSLTCSFSGFSLSTNGMGV SWIRQPSGKGLEWLAHIYWDEDKRYNPSLKSRLTIS KDTSNNQVFLKITNVDTADTATYYCARRRIIYDVED YFDYWGQGTTLTVSS

SEQ ID No.	ABT Unik ID	Protein Region	Sekvens 1234567890123456789012345678901234567890123456
57	AB040VL	IL-6	QIVLIQSPAIMSASPGEKVTMTCSASSSVSYMYWYQ QKPGSSPRLLIYDTSNLASGVPVRFSGSGSGTSYSL TISRMEAEDAATYYCQQWSGYPYTFGGGTKLEIKR
58	AB050VH	SOST (seq 2)	EVQLQQSGPELMKPGASVKMSCKASGYTFTDYNMHW MKQNQGKSLEWIGEINPNSGGSGYNQKFKGKATLTV DKSSSTAYMELRSLTSEDSAVYYCARLGYYGNYEDW YFDVWGAGTTVTVSS
59	AB050VL	SOST (seq 2)	DLQMTQTTSSLSASLGDRVTISCRASQDISNYLNWY QQKPDGTVKLLIFYTSTLQSGVPSRFSGSGSGTNYS LTITNLEQDDAATYFCQQGDTLPYTFGGGTKLEIKR
60	AB051VH	IL-13 (seq 2)	EVTLRESGPGLVKPTQTLTLTCTLYGFSLSTSDMGV DWIRQPPGKGLEWLAHIWWDDVKRYNPALKSRLTIS KDTSKNQVVLKLTSVDPVDTATYYCARTVSSGYIYY AMDYWGQGTLVTVSS
61	AB051VL	IL-13 (seq 2)	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTISCRASQDIRNYLNWY QQKPGKAPKLLIFYTSKLHSGVPSRFSGSGSGTDYT LTISSLQPEDIATYYCQQGLTPPLTFGGGTKVEIKR
62	AB053VH	IgE	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGYSITSGYSWN WIRQAPGKGLEWVASITYDGSTNYNPSVKGRITTRD DSKNTFYLQMNSLRAEDTAVYYCARGSHYFGHWHFA VWGQGTLVTVSS
63	AB053VL	IgE	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSVDYDGDSY MNWYQQKPGKAPKLLIYAASYLESGVPSRFSGSGSG TDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSHEDPYTFGQGTKV EIKR
64	AB054VH	IL-6R	EVQLQESGPGLVRPSQTLSLTCTVSGYSITSDHAWS WVRQPPGRGLEWIGYISYSGITTYNPSLKSRVTMLR DTSKNQFSLRLSSVTAADTAVYYCARSLARTTAMDY WGQGSLVTVSS
65	AB054VL	IL-6R	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISSYLNWY QQKPGKAPKLLIYYTSRLHSGVPSRFSGSGSGTDFT FTISSLQPEDIATYYCQQGNTLPYTFGQGTKVEIKR
66	AB056VH	IL-9 (seq 2)	QVQLQQSGAELMKPGASVKLSCKATGYTFTGSWIEW IKQRPGHGLEWIGQILPGSGSAYYNEKFKGKATFTA DTSSKTVYIQLISLTTEDSAIYYCAREDNYGSSSLA YWGQGTLLTVSA
67	AB056VL	IL-9 (seq 2)	DILLTQSPAILSVSPGERVSFSCRASQSIGTNIHWY QQRTNGSPRLLIKYASESISGIPSRFSGGGSGTDFT LSINSVESEDIADYYCQQSNNWPLTFGAGTKLELKR
68	AB065VH	IL1-alfa	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCTASGFTFSMFGVHW VRQAPGKGLEWVAAVSYDGSNKYYAESVKGRFTISR DNSKNILFLQMDSLRLEDTAVYYCARGRPKVVIPAP LAHWGQGTLVTFSS
69	AB065VL	IL1- alfa	DIQMTQSPSSVSASVGDRVTITCRASQGISSWLAWY QQKPGKAPKLLIYEASNLETGVPSRFSGSGSGSDFT LTISSLQPEDFATYYCQQTSSFLLSFGGGTKVEHKR
70	AB066VH	IL1- beta (sekv. 2)	EVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCSSSGFIFSSYDMSW VRQAPGKGLEWVAYISSGGGGTYYPDTVKGRFTISR DNSKNTLFLQMDSLRPEDTGVYFCARGGVTKGYFDV WGQGTPVTVSS
71	AB066VL	IL1- beta (sekv. 2)	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASGNIHNYLTWY QQTPGKAPKLLIYNAKTLADGVPSRFSGSGSGTDYT FTISSLQPEDIATYYCQHFWSIPYTFGQGTKLQIT

Detaljert beskrivelse av spesifikke DVD-Ig-molekyler i stand til å binde spesifikke mål, og fremstillingsmetoder for samme, er tilveiebrakt i eksempelseksjonene nedenfor.

C. Produksjon av DVD-proteiner

Bindende proteiner ifølge den foreliggende oppfinnelsen kan bli produsert ved enhver av en rekke teknikker kjent i teknikken. For eksempel, uttrykking fra vertsceller, hvori uttrykkingsvektor(er) som koder for DVD tung- og lettkjedene blir transfektert inn i en vertscelle ved hjelp av standardteknikker. De forskjellige former av uttrykket "transfeksjon" er ment å omfatte et stort utvalg av teknikker vanligvis anvendt for introduseringen av eksogen DNA inn i en prokaryotisk eller eukaryotisk vertscelle, *f.eks.*, elektroporering, kalsium-fosfat utfelling, DEAE-dekstran transfeksjon og lignende. Selv om det er mulig å uttrykke DVD-proteinene ifølge oppfinnelsen i enten prokaryotiske eller eukaryotiske vertsceller, blir DVD-proteiner uttrykt i eukaryotiske celler, for eksempel, mammaliske vertsceller, fordi slike eukaryotiske celler (og spesielt mammaliske celler) er mer sannsynlige enn prokaryotiske celler å sette sammen og utsondre et riktig foldet og immunologisk aktivt DVD-protein.

Eksempelvise mammaliske vertsceller som uttrykker de rekombinante antistoffene ifølge oppfinnelsen inkluderer Kinesisk Hamster Eggstokker (CHO-celler) (inkludert dhfr-CHO-celler, beskrevet i Urlaub og Chasin, (1980) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 77:4216-4220, anvendt med en DHFR selektabel markør, *f.eks.*, som beskrevet i R.J. Kaufman og P.A. Sharp (1982) *Mol. Biol.* 159:601-621), NS0 myelom celler, COS-celler, SP2 og PER.C6 celler. Når rekombinant uttrykkende vektorer som koder for DVD-proteiner er introdusert inn i mammaliske vertsceller, blir DVD-proteinene produsert ved å dyrke vertscellene i en tid tilstrekkelig for å muliggjøre uttrykking av DVD-proteinene i vertscellene eller utsondring av DVD-proteinene inn i vekstmediumet hvori vertscellene blir dyrket. DVD-proteiner kan bli gjenvunnet fra vekstmediumet ved å bruke standard proteinrensingsmetoder.

I et eksempelvis system for rekombinant uttrykking av DVD-proteiner ifølge oppfinnelsen, blir en rekombinant uttrykkingsvektor som koder for både DVD-tungkjedet og DVD-lettkjedet introdusert inn i dhfr-CHO-celler ved kalsiumfosfat-mediert transfeksjon. Inne i den rekombinante uttrykkingsvektoren, er genene til DVD tung- og lettkjedet hver operativt knyttet til CMV forsterker/AdMLP promoter regulatoriske elementer for å drive høye nivåer av transkripsjon av genene. Den rekombinante uttrykkingsvektoren bærer også et DHFR-gen, som tillater for seleksjon av CHO-celler som har blitt transfektert med vektoren ved å bruke metotrexat seleksjon/forsterking. De valgte transformant vertscellene blir dyrket for å muliggjøre uttrykking av DVD tung- og lettkjedene og intakt DVD-protein blir gjenvunnet fra vekstmediumet. Standard molekylærbiologi-teknikker blir anvendt for å fremstille den rekombinante uttrykkingsvektoren, transfektere vertscellene, velge for transformanter, dyrke vertscellene og gjenvinne DVD-

proteinet fra vekstmediumet. Enda videre tilveiebringer oppfinnelsen en metode for å syntetisere et DVD-protein ifølge oppfinnelsen ved å dyrke en vertscelle ifølge oppfinnelsen i et passende vekstmedium til et DVD-protein ifølge oppfinnelsen er syntetisert. Metoden kan videre omfatte isolating DVD-proteinet fra vekstmediumet.

Et viktig trekk ved DVD-Ig er ved det kan bli produsert og renset på en lignende måte som et konvensjonelt antistoff. Produksjonen av DVD-Ig resulterer i et homogent, enkeltstående hovedprodukt med ønsket dobbelt-spesifikk aktivitet, uten noen sekvensmodifikasjon av den konstante regionen eller kjemiske modifikasjoner av noe slag. Andre tidligere beskrevne metoder for å generere "bi-spesifikke", "multi-spesifikke", og "multi-spesifikke multivalente" full-lengde bindende proteiner leder ikke til et enkelt primært produkt men leder i stedet til den intracellulære eller utsondrede produksjonen av en blanding av sammensatte uaktive, mono-spesifikke, multi-spesifikke, multivalente, full-lengde bindende proteiner, og multivalente full-lengde bindende proteiner med en kombinasjon av forskjellige bindende seter. Som et eksempel, basert på utformingen beskrevet av Miller og Presta (PCT-publikasjon WO2001/077342(A1), er det 16 mulige kombinasjoner av tung- og lettkjeder. Følgelig er bare 6.25% av protein sannsynlig å være i den ønskede aktive formen, og ikke som et enkelt hovedprodukt eller et enkelt primært produkt sammenlignet med de andre 15 mulige kombinasjonene. Separering av den ønskede, fullt aktive formen av proteinet fra uaktive og delvis aktive former av proteinet ved å bruke standard kromatografi-teknikker, typisk anvendt i stor-skala fremstilling er ennå ikke demonstrert.

Overraskende fører utformingen av de "dobbelt-spesifikke multivalente full-lengde bindende proteinene" ifølge den foreliggende oppfinnelsen til et lettkjede med to variable domener og et tungkjede med to variable domener som primært setter seg sammen til de ønskede "dobbelt-spesifikke multivalente full-lengde bindende proteinene".

Minst 50%, minst 75% og minst 90% av de sammensatte, og uttrykte immunoglobulin-molekylene med to variable domener er det ønskede dobbelt-spesifikke tetravalente proteinet. Dette aspektet ifølge oppfinnelsen forbedrer spesielt den kommersielle anvendelsen av oppfinnelsen. Den foreliggende oppfinnelsen inkluderer derfor en metode for å uttrykke et lettkjede med to variable domener og et tungkjede med to variable domener i en enkelt celle for å lede til et enkelt primært produkt bestående av et "dobbelt-spesifikt tetravalent full-lengde bindende protein".

Den foreliggende oppfinnelsen tilveiebringer en metode som uttrykker et lettkjede med to variable domener og et tungkjede med to variable domener i en enkelt celle for å lede til et "primært produkt" bestående av et "dobbelt-spesifikt tetravalent full-lengde bindende protein", hvor det "primære produktet" er mer enn 50% av alle de sammensatte proteinene, omfattende et lettkjede med to variable domener og et tungkjede med to variable domener.

Den foreliggende oppfinnelsen tilveiebringer metoder som uttrykker et lettkjede med to variable domener og et tungkjede med to variable domener i en enkelt celle for å lede til et enkelt "primær produkt" bestående av et "dobbelt-spesifikt tetravalent full-lengde bindende protein", hvor det "primære produktet" er mer enn 75% av av alle de sammensatte proteinene, omfattende et lettkjede med to variable domener og et tungkjede med to variable domener.

Den foreliggende oppfinnelsen tilveiebringer metoder som uttrykker et lettkjede med to variable domener og et tungkjede med to variable domener i en enkelt celle for å lede til et enkelt "primær produkt" bestående av et "dobbelt-spesifikt tetravalent full-lengde bindende protein", hvor det "primære produktet" er mer enn 90% av alle de sammensatte proteinene, omfattende et lettkjede med to variable domener og et tungkjede med to variable domener.

II. Derivatiserte DVD-bindende proteiner:

En utførelsesform tilveiebringer et merket bindende protein hvori det bindende proteinet ifølge oppfinnelsen er derivatisert eller knyttet til et annet funksjonelt molekyl (f.eks., et annet peptid eller protein). For eksempel kan et merket bindende protein ifølge oppfinnelsen bli avledet ved funksjonelt å knytte et bindende protein ifølge oppfinnelsen (ved kjemisk kobling, genetisk fusjon, ikke-kovalent assosiasjon eller andre metoder) til en eller flere andre molekylære enheter, slik som et annet antistoff (f.eks., et bispesifikt antistoff eller en "diabody"), et detekterbart middel, et cytotoksisk middel, et farmasøytisk middel, og/eller et protein eller peptid som kan formidle assosiering av det bindende proteinet med et annet molekyl (slik som en streptavidin-kjerneregion eller en polyhistidin-markør).

Nyttige detekterbare midler med hvilke et bindende protein ifølge oppfinnelsen kan bli derivatisert inkluderer fluorescerende forbindelser. Eksempelvis fluorescerende detekterbare midler inkluderer fluorescein, fluorescein isotiocyanat, rhodamin, 5-dimetylamin-1-naftalensulfonylklorid, fycoerythrin og lignende. Et bindende protein kan også bli derivatisert med detekterbare enzymer, slik som basisk fosfatase, pepperrot peroksidase, glukose oksidase og lignende. Når et bindende protein er derivatisert med et detekterbart enzym, blir det detektert ved å tilsette ytterligere reagenser som enzymet bruker for å produsere et detekterbart reaksjonsprodukt. For eksempel, når det detekterbare middelet pepperrot peroksidase er til stede, fører tilsetningen av hydrogenperoksid og diaminobenzidin til et farget reaksjonsprodukt, som er detekterbart. Et bindende protein kan også bli derivatisert med biotin, og detektert gjennom indirekte måling av avidin- eller streptavidin-binding.

En annen utførelsesform ifølge oppfinnelsen tilveiebringer et krystallisert bindende protein og formuleringer og sammensetninger omfattende slike krystaller. I en utførelsesform har det krystalliserte bindende proteinet en lengre halveringstid *in vivo* enn den løselige partneren til

det bindende proteinet. I en annen utførelsesform beholder det bindende proteinet biologisk aktivitet etter krystallisering.

Krystallisert bindende protein ifølge oppfinnelsen kan bli produsert ifølge metoder kjent i teknikken og som fremvist i WO 02072636.

En annen utførelsesform ifølge oppfinnelsen tilveiebringer et glykosylert bindende protein hvori antistoffet eller antigen-bindende porsjon derav omfatter en eller flere karbohydrat residuer. Begynnende *in vivo* protein-produksjon kan undergå videre prosessering, kjent som post-translasjonale modifikasjoner. Spesielt kan sukker (glykosyl) residuer bli tilsatt enzymatisk, en prosess kjent som glykosylering. De resulterende proteinene som bærer kovalent sammenkoblede oligosakkarid-sidekjeder er kjent som glykosylerte proteiner eller glykoproteiner. Antistoffer er glykoproteiner med en eller flere karbohydrat-residuer i Fc-domenet, så vel som det variable domenet. Karbohydrat-residuer i Fc-domenet har viktig virkning på virkningen eller funksjonen til Fc-domenet, med minimal virkning på antigen-binding eller halveringstid til antistoffet (R. Jefferis, *Biotechnol. Prog.* **21** (2005), pp. 11–16). Motsatt kan glykosylering av det variable domenet ha en virkning på den antigen-bindende aktiviteten til antistoffet. Glykosylering i det variable domenet kan ha en negativ virkning på antistoff bindingsaffinitet, sannsynligvis på grunn av sterisk hindring (Co, M.S., et al., Mol. Immunol. (1993) 30:1361- 1367), eller resultere i økt affinitet for antigenet (Wallick, S.C., et al., Exp. Med. (1988) 168:1099-1109; Wright, A., et al., EMBO J. (1991) 10:2717 2723).

Et aspekt ifølge den foreliggende oppfinnelsen er rettet mot å generere glykosyleringssete-mutanter hvori det O- eller N-tilknyttede glykosyleringssetet til det bindende proteinet har blitt mutert. En fagmann kan generere slike mutanter ved å bruke standard velkjente teknologier. Glykosyleringssete-mutanter som beholder den biologiske aktiviteten men har økt eller senket bindingsaktivitet er et annet formål ifølge den foreliggende oppfinnelsen.

I nok en annen utførelsesform blir glykosyleringen til antistoffet eller antigen-bindende porsjon ifølge oppfinnelsen modifisert. For eksempel kan et aglykosylert antistoff bli lagd (dvs., antistoffet mangler glykosylering). Glykosylering kan bli forandret for å, for eksempel, øke affiniteten til antistoffet for antigen. Slike karbohydrat-modifikasjoner kan bli oppnådd ved, for eksempel, å forandre en eller flere seter for glykosylering innenfor antistoff-sekvensen. For eksempel kan en eller flere aminosyre-substitusjoner bli lagd som resulterer i eliminering av en eller flere variabel region glykosyleringsseter for dermed å eliminere glykosylering ved det setet. Slik aglykosylering kan øke affiniteten til antistoffet for antigen. En slik tilnærming er beskrevet i videre detalj i PCT-publikasjon WO2003016466A2, og U.S. Pat. Nr. 5,714,350 og 6,350,861.

Videre eller alternativt, kan et modifisert bindende protein ifølge oppfinnelsen bli lagd som har en forandret type av glykosylering, slik som et hypofucosylert antistoff som har reduserte

mengder av fucosyl-residuer (se Kanda, Yutaka et al., Journal of Biotechnology (2007), 130(3), 300-310.) eller et antistoff som har økte halverende GlcNAc-strukturer. Slike forandrede glykosyleringsmønstre har blitt demonstrert å øke ADCC-evnen til antistoffer. Slike karbohydrat-modifikasjoner kan bli oppnådd ved, for eksempel, å uttrykke antistoffet i en vertscelle med forandret glykosyleringsmaskineri. Celler med forandret glykosyleringsmaskineri har blitt beskrevet i teknikken og kan bli anvendt som vertsceller hvori å uttrykke rekombinante antistoffer ifølge oppfinnelsen for dermed å produsere et antistoff med forandret glykosylering. Se, for eksempel, Shields, R. L. et al. (2002) J. Biol. Chem. 277:26733-26740; Umana et al. (1999) Nat. Biotech. 17:176-1, så vel som, Europeisk patentNo: EP 1,176,195; PCT-publikasjoner WO 03/035835; WO 99/54342 80.

Protein-glykosylering er avhengig av aminosyre-sekvensen til proteinet av interesse, så vel som vertscellen hvori proteinet er uttrykt. Forskjellig organismer kan produsere forskjellig glykosyleringsenzymer (f.eks., glykosyltransferaser og glykosidaser), og har forskjellige substrater (nukleotidsukkere) tilgjengelig. På grunn av slike faktorer kan protein-glykosyleringsmønstre, og sammensetningen av glykosyl-residuer, variere avhengig av vertssystemet hvori det bestemte proteinet blir uttrykt. Glykosyl-residuer nyttige i oppfinnelsen kan inkludere, men er ikke begrenset til, glukose, galaktose, mannose, fucose, n-acetylglukosamin og sialsyre. I en utførelsesform omfatter det glykosylerte bindende proteinet glykosyl-residuer slik ved glykosyleringsmønsteret er humant.

Det er kjent for fagmannen ved forskjellig protein-glykosylering kan resultere i forskjellige protein-karakteristikker. For eksempel kan effekten av et terapeutisk protein produsert i en mikroorganisme-vert, slik som gjær, og glykosylert ved å bruke den endogene signalveien til gjær bli redusert sammenlignet med den til det samme proteinet uttrykt i en pattedyrscelle, slik som en CHO-cellelinje. Slike glykoproteiner kan også være immunogene i mennesker og viser redusert halveringstid *in vivo* etter administrasjon. Spesifikke reseptorer i mennesker og andre dyr kan kjenne igjen spesifikke glykosyl-residuer og promotere den raske klareringen av proteinet fra blodomløpet. Andre ugunstige virkninger kan inkludere forandringer i protein-folding, løselighet, mottakelighet for proteaser, trafikkering, transport, kompartementalisering, utsondring, gjenkjenning ved andre proteiner eller faktorer, antigenitet, eller allergenisitet. Følgelig kan en fagmann velge et terapeutisk protein med en spesifikk sammensetning og glykosyleringsmønster, for eksempel er glykosyleringssammensetning og -mønster identiske, eller minst lignende, til den produsert i humane celler eller i teknikken-spesifikke celler av det tilsiktede subjektdyret.

Uttrykking av glykosylerte proteiner forskjellige fra de til en vertscelle kan bli oppnådd ved å genetisk modifisere vertscellen til å uttrykke heterologe glykosyleringsenzymer. Ved å bruke teknikker kjent i teknikken kan en fagmann generere antistoffer eller antigen-bindende

porsjoner derav som viser human protein-glykosylering. For eksempel har gjærstammer blitt genetisk modifisert for å uttrykke ikke-naturlig forekommende glykosyleringsenzymer slik ved glykosylerte proteiner (glykoproteiner) produsert i disse gjærstammene fremviser protein-glykosylering identisk med den til dyreceller, spesielt humane celler (U.S patent søknader 20040018590 og 20020137134 og PCT-publikasjon WO2005100584 A2).

I tillegg til de bindende proteinene er den foreliggende oppfinnelsen også rettet mot anti-idiotypiske (anti-Id) antistoffer spesifikke for slike bindende proteiner ifølge oppfinnelsen. Et anti-Id antistoff er et antistoff, som gjenkjenner unike determinanter generelt assosiert med den antigen-bindende regionen til et annet antistoff. Anti-Id'en kan bli fremstilt ved å immunisere et dyr med det bindende proteinet eller en CDR-inneholdende region derav. Det immuniserte dyret vil kjenne igjen, og respondere til de idiotypiske determinantene til det immuniserende antistoffet og produsere et anti-Id antistoff. Det er lett å se ved det kan være lettere for å generere anti-idiotypiske antistoffer til de to eller flere moderantistoffene inkorporert inn i et DVD-Ig-molekyl; og bekrefte bindingsstudier ved metoder velkjent i teknikken (f.eks., BIAcore, ELISA) å verifisere ved anti-idiotypiske antistoffer spesifikke for idiotypen til hvert moderantistoff også kjenner igjen idiotypen (f.eks., antigen-bindende sete) i sammenheng med DVD-Ig'et. Anti-Id'eniotypiske antistoffer spesifikke for hver av de to eller flere antigen-bindende seter til et DVD-Ig tilveiebringer ideelle reagenser for å måle DVD-Ig konsentrasjoner av et humant DVD-Ig i pasientserum; DVD-Ig-konsentrasjonsassayer kan bli etablert ved å bruke et "sandwich assay ELISA format" med et antistoff til en første antigen-bindende region belagt på den faste fasen (f.eks., BIAcore chip, ELISA plate osv.), skyllt med skylle-buffer, inkubering med serum-prøven, et annet rensetrinn og til slutt inkubering med et annet anti-idiotypisk antistoff til det andre antigen-bindende setet, selv merket med et enzym for kvantifisering av bindingsreaksjonen. I en utførelsesform, for et DVD-Ig med mer enn to forskjellige bindende seter, anti-idiotypiske antistoffer til de to ytterste bindende setene (mest distal og proksimal fra den konstante regionen) vil ikke bare hjelpe med å bestemme DVD-Ig-konsentrasjonen i humant serum men også dokumentere integriteten til molekylet *in vivo*. Hvert anti-Id-antistoff kan også bli anvendt som et "immunogen" for å indusere en immunrespons i nok et annet dyr, produserende et såkalt anti-anti-Id antistoff.

Videre vil det settes pris på av en fagmann ved et protein av interesse kan bli uttrykt ved å bruke et bibliotek med vertsceller genetisk konstruert for å uttrykke diverse glykosyleringsenzymer, slik ved medlemsvertsceller i biblioteket produserer proteinet av interesse med varierende glykosyleringsmønstre. En fagmann kan deretter velge å isolere proteinet av interesse med bestemte nye glykosyleringsmønstre. I en utførelsesform, utviser proteinet som har et spesielt valgt nytt glykosyleringsmønster forbedrede eller forandrede biologiske egenskaper.

III. Anvendelser av DVD-Ig

Gitt deres evne for å binde til to eller flere antigener kan de bindende proteinene ifølge oppfinnelsen bli anvendt for å detektere antigener (*f.eks.*, i en biologisk prøve, slik som serum eller plasma), ved å bruke et konvensjonelt immunoassay, slik som et "enzyme linked immunosorbent assay" (ELISA), et radioimmunoassay (RIA) eller vev-immunohistokjemi. DVD-Ig'et blir direkte eller indirekte merket med en detekterbar substans for å legge til rette for deteksjon av bundet eller ikke-bundet antistoffet. Passende detekterbare stoffer inkluderer diverse enzymer, prostetiske grupper, fluorescerende materialer, luminescerende materialer og radioaktive materialer. Eksempler på passende enzymer inkluderer pepperrot peroksidase, basisk fosfatase, β-galaktosidase, eller acetylkolinesterase; eksempler på passende komplekser av prostetiske grupper inkluderer streptavidin/biotin og avidin/biotin; eksempler på passende fluorescerende materialer inkluderer umbelliferone, fluorescein, fluorescein isotiocyanat, rhodamin, diklortriazinylamin fluorescein, dansyl klorid eller fycoerythrin; et eksempel på et luminescerende materiale inkluderer luminol; og eksempler på passende radioaktive materialer inkluderer ^{3}H, ^{14}C, ^{35}S, ^{90}Y, ^{99}Tc, ^{111}In, ^{125}I, ^{131}I, ^{177}Lu, ^{166}Ho, eller ^{153}Sm.

I en utførelsesform er de bindende proteinene ifølge oppfinnelsen i stand til å nøytralisere aktiviteten til antigener både *in vitro* og *in vivo*. Følgelig kan slike DVD-Ig'er bli anvendt for å inhibere antigenaktivitet, *f.eks.*, i en cellekultur inneholdende antigenene, i pasienter eller i andre mammaliske subjekter som har antigenene med hvilke et bindende protein ifølge oppfinnelsen kryssreagerer. I en annen utførelsesform tilveiebringer oppfinnelsen en metode for å redusere antigen-aktivitet i en pasient som lider av en sykdom eller forstyrrelse hvori antigen-aktiviteten er skadelig. Et bindende protein ifølge oppfinnelsen kan bli administrert til en menneskelig pasient for terapeutisk formål.

Som anvendt heri, uttrykket "en forstyrrelse hvori antigen-aktivitet er skadelig" er ment å inkludere sykdommer og andre forstyrrelser hvori nærværet av antigenet i en pasient som lider av forstyrrelsen har blitt vist å være eller er mistenkt å være enten ansvarlige for patofysiologien til forstyrrelsen eller en faktor som bidrar til en forverring av forstyrrelsen. Følgelig, en forstyrrelse hvori antigen-aktivitet er skadelig er en forstyrrelse hvori reduksjon av antigen-aktivitet er forventet å lindre symptomene og/eller progresjonen av forstyrrelsen. Slike forstyrrelser kan bli påvist, for eksempel, ved en økning i konsentrasjonen av antigenet i et biologisk fluid fra en pasient som lider av forstyrrelsen (*f.eks.*, en økning i konsentrasjonen av antigen i serum, plasma, synovialvæske, osv. hos pasienten). Ikke-begrensende eksempler på forstyrrelser som kan bli behandlet med de bindende proteinene ifølge oppfinnelsen inkluderer de forstyrrelser diskutert nedenfor og i seksjonen som vedrører farmasøytiske sammensetninger av antistoffene ifølge oppfinnelsen.

DVD-Ig'ene ifølge oppfinnelsen kan binde et antigen eller flere antigener. Slike antigener inkluderer, men er ikke begrenset til, målene opplistet i databasene etter, hvilke databaser er inkorporert heri ved referanse. Disse måldatabasene inkluderer disse opplistet:

Terapeutisk mål (http://xin.cz3.nus.edu.sg/gruppe/cjttd/ttd.asp);

Cytokiner og cytokin reseptorer (http://www.cytokinwebfacts.com/, http://www.copewithcytokins.de/cope.cgi, og

http://cmbi.bjmu.edu.cn/cmbidata/cgf/CGF_Database/cytokin.medic.kumamoto-u.ac.jp/CFC/indexR.html);

Kjemokiner (http://cytokin.medic.kumamoto-u.ac.jp/CFC/CK/Chemokine.html);

Kjemokinreseptorer og GPCRs (http://csp.medic.kumamoto-u.ac.jp/CSP/Reseptor.html, http://www.gpcr.org/7tm/);

Olfaktoriske Reseptorer (http://senselab.med.yale.edu/senselab/ORDB/default.asp);

Reseptorer (http://www.iufar-db.org/iufar-rd/list/index.htm);

Kreft mål (http://cged.hgc.jp/cgi-bin/input.cgi);

Utsondrede proteiner som potensielle antistoff-mål (http://spd.cbi.pku.edu.cn/);

Proteinkinaser (http://spd.cbi.pku.edu.cn/), og

Humane CD markører (http://content.labvelocity.com/tools/6/1226/CD_tabell_final_locked.pdf) og (Zola H, 2005 CD molekyler 2005: human celle differensiering molekyler Blod, 106:3123-6).

DVD-Ig'er er nyttige som terapeutiske midler for samtidig å blokkere to forskjellige mål for å forbedre effekt/sikkerhet og/eller øke pasientdekning. Slike mål kan inkludere løselige mål (TNF) og Celleoverflate-reseptor mål (VEGFR og EGFR). Det kan også bli anvendt for å indusere redirigert cytotoksisitet mellom tumorceller og T-celler (Her2 og CD3) for kreftterapi, eller mellom autoreaktive celler og effektorceller for autoimmunsykdom eller transplantasjon, eller mellom enhver mål-celle og effektor-celle for å eliminere sykdomsforårsakende celler i enhver gitt sykdom.

I tillegg kan DVD-Ig bli anvendt for å utløse reseptor-gruppering og aktivering når det er utformet for å målrette to forskjellige epitoper på den samme reseptoren. Dette kan ha en fordel i fremstilling av agonistisk og antagonistisk anti-GPCR terapeutika. I dette tilfellet kan DVD-Ig bli anvendt for å målrette to forskjellige epitoper (inkludert epitoper på både løkke-regionene og det ekstracellulære domenet) på en celle for gruppering/signalisering (to celleoverflate-molekyler) eller signalisering (på et molekyl). Tilsvarende kan et DVD-Ig-molekyl bli utformet for å utløse CTLA-4 ligering, og et negativt signal ved å målrette to forskjellige epitoper (eller 2 kopier av

den samme epitopen) av CTLA-4 ekstracellulære domenet, for å lede til nedregulering av immunresponsen. CTLA-4 er et klinisk validert mål for terapeutisk behandling av en rekke immunologiske forstyrrelser. CTLA-4/B7 interaksjoner regulerer negativt T-celle aktivering ved å dempe cellesyklus-progresjon, IL-2 produksjon, og proliferering av T-celler etter aktivering, og CTLA-4 (CD152) engasjement kan nedregulere T-celle aktivering og promotere induksjonen av immuntoleranse. Imidlertid har strategien med å dempe T-celle aktivering ved agonistisk antistoff engasjement av CTLA-4 vært misslykket siden CTLA-4 aktivering krever ligering. Den molekylære interaksjonen av CTLA-4/B7 er i "skewed zipper arrays", som demonstrert ved krystallstruktur-analyse (Stamper 2001 Nature 410:608). Imidlertid har ingen av de for tiden tilgjengelige CTLA-4-bindende reagenser ligeringsegenskaper, inkludert anti-CTLA-4 mAb'er. Det har vært flere forsøk på å addressere dette problemet. I et tilfelle ble et cellemedlem-bundet enkelt-kjede antistoff fremstilt, og inhiberte betydelig allogen avvisning i mus (Hwang 2002 JI 169:633). I et annet tilfelle ble kunstig APC overflate-koblet enkelt-kjede antistoff til CTLA-4 fremstilt og demonstrert å dempe T-celle-responser (Griffin 2000 JI 164:4433). I begge tilfellene ble CTLA-4 ligering oppnådd ved tett lokaliserte medlem-bundet antistoffer i kunstige systemer. Mens disse eksperimenter tilveiebringer "proof-of-concept" for immun nedregulering ved å utløse CTLA-4 negativ signalisering, reagensene anvendt i disse rapportene er ikke passende for terapeutisk anvendelse. For dette formål kan CTLA-4 ligering bli oppnådd ved å bruke et DVD-Ig-molekyl, som målretter to forskjellige epitoper (eller 2 kopier av den samme epitopen) av CTLA-4 ekstracellulære domenet. Rasjonalet er ved avstanden mellom to bindende seter i et IgG, omtrent 150-170Å, er for stort for aktiv ligering av CTLA-4 (30-50 Å mellom 2 CTLA-4 homodimere). Imidlertid er avstanden mellom de to bindende setene på DVD-Ig (en arm) mye kortere, også i området av 30-50 Å, tillatende riktig ligering av CTLA-4.

Tilsvarende kan DVD-Ig målrette to forskjellige medlemmer av et celleoverflatereseptor-kompleks (f.eks. IL-12R alfa og beta). Videre kan DVD-Ig målrette CR1 og et løselig protein/patogen for å drive rask klarering av det målrettede løselige protein/patogen.

Videre kan DVD-Ig'er ifølge oppfinnelsen bli anvendt for vev-spesifikk levering (målrett en vevsmarkør og en sykdomsmediator for forbedrede lokal PK følgelig høyere effekt og/eller lavere toksisitet), inkludert intracellulær levering (målrette en internaliserende reseptor og et intracellulært molekyl), levering til innsiden av hjernen (målrette transferrin reseptor og en CNS-sykdomsmediator for å krysse blod-hjerne barrieren). DVD-Ig kan også gjøre tjeneste som et bærerprotein for å levere et antigen til en spesifikk plassering via binding til en ikke-nøytraliserende epitop av det antigenet og også for å øke halveringstiden til antigenet. Videre kan DVD-Ig bli utformet for enten å være fysisk knyttet til medisinske anordninger implantert i pasienter eller målrette disse medisinske anordninger (se Burke, Sandra E.; Kuntz, Richard E.; Schwartz, Lewis B., Zotarolimus eluerende stenter. Advanced Drug DeliveryReviews (2006),

58(3), 437-446; Overflate belegg for biologisk aktivering og funksjonalisering av medisinske anordninger, Hildebrand, H. F.; Blanchemain, N.; Mayer, G.; Chai, F.; Lefebvre, M.; Boschin, F., Overflate og Belegg Teknologi (2006), 200(22-23), 6318-6324; Legemiddel/ anordning kombinasjoner for lokal legemiddel terapier og infeksjon profylaxis, Wu, Peng; Grainger, David W., Biomaterials (2006), 27(11), 2450-2467; Mediation of cytokinet nettverk i the implantering of orthopedic anordnings., Marques, A. P.; Hunt, J. A.; Reis, Rui L., Bio-nedbrytbare Systemer i Vev Engineering og Regenerative Medicine (2005), 377-397). Kort fortalt å dirigere passende typer av celler til setet til et medisinsk implantat kan promotere tilheling og gjenopprette normal vev funksjon. Alternativt, inhibering av mediatorer (inkludert men ikke begrenset til cytokiner), frigjort ved anordningsimplantering ved en DVD koblet til eller målrettet mot en anordning er også tilveiebrakt. For eksempel har stenter blitt anvendt for år i interventional kardiology for å klarere blokkerte arterier og for å forbedre strømmen av blod til hjertemuskelen. Imidlertid, tradisjonelle bart metall stenter har blitt kjent for å forårssake restenose (re-innsnevring av arterien i et behandlet område) i noen pasienter og kan lede til blodpropper. Nylig har et anti-CD34 antistoff belagt stent blitt beskrevet som redusert restenose og forhindrer blodpropper fra å oppstå ved å fange endotel progenitor celler (EPC) sirkulerende i hele blodet. Endotelceller er celler som line blodkars, tillater blod å strømme lett. EPC'ene fester seg til den harde overflaten til stenten og danner et glatt lag som ikke bare promoterer tilheling men forhindrer restenose og blodpropper, komplikasjoner tidligere assosiert med anvendelsen av stenter (Aoji et al. 2005 J Am Coll Kardiol. 45(10):1574-9). I tillegg til å forbedre resultat for pasienter som må ha stenter, er det også implikasjoner for pasienter som må ha kardiovaskulær bypass kirurgi. For eksempel, en prostetisk vaskulær kanal (kunstig arterie) belagt med anti-EPC antistoffer ville eliminere the behov å anvende arteries fra pasienter legs eller arms for bypass kirurgi grafts. Dette ville redusere kirurgi- og anestesitidene, som igjen vil redusere koronært kirurgi dødsfall. DVD-Ig er utformet på en slik måte ved det binder til en celleoverflate markør (slik som CD34) så vel som et protein (eller en epitop av enhver type, inkludert men ikke begrenset til proteiner, lipider og polysakkarider) som har blitt belagt på den implanterte anordningen for å legge til rette for celle-rekrutteringen. Slike metoder kan også bli brukt på andre medisinske implantater generelt. Alternativt kan DVD-Ig'er bli belagt på medisinske anordninger og ved implantering og frigjøre alle DVD'er fra anordningen (eller ethvert annet behov som kan trenge ytterligere frisk DVD-Ig, inkludert aldring og denaturering av det allerede opplastede DVD-Ig) anordningen kunne bli reladet ved systemisk administrasjon av ny DVD-Ig til pasienten, hvor DVD-Ig'et er utformet for å binde til et mål av interesse (et cytokin, en celleoverflate markør (slik som CD34) osv.) med ett sett av bindende seter og til et mål belagt på anordningen (inkludert et protein, en epitop av enhver type, inkludert men ikke begrenset til lipider, polysakkarider og polymerer) med det andre. Denne teknologien har fordelen av å forlenge nyttigheten av belagte implantater.

A. Anvendelse av DVD-Ig'er i diverse sykdommer

DVD-Ig-molekyler ifølge oppfinnelsen er også nyttig som terapeutiske molekyler for å behandle diverse sykdommer. Slike DVD-molekyler kan binde et eller flere mål involvert i en spesifikk sykdom. Eksempler på slike mål i diverse sykdommer er beskrevet nedenfor.

1. Humane Autoimmune og Inflammatoriske Responser

Mange proteiner har blitt impliserte i generelt autoimmune og inflammatoriske responser, inkludert C5, CCL1 (I-309), CCL11 (eotaxin), CCL13 (mcp-4), CCL15 (MIP-1d), CCL16 (HCC-4), CCL17 (TARC), CCL18 (PARC), CCL19, CCL2 (mcp-1), CCL20 (MIP-3a), CCL21 (MIP-2), CCL23 (MPIF-1), CCL24 (MPIF-2 / eotaxin-2), CCL25 (TECK), CCL26, CCL3 (MIP-1a), CCL4 (MIP-1b), CCL5 (RANTES), CCL7 (mcp-3), CCL8 (mcp-2), CXCL1, CXCL10 (IP-10), CXCL11 (I-TAC / IP-9), CXCL12 (SDF1), CXCL13, CXCL14, CXCL2, CXCL3, CXCL5 (ENA-78 / LIX), CXCL6 (GCP-2), CXCL9, IL13, IL8, CCL13 (mcp-4), CCR1, CCR2, CCR3, CCR4, CCR5, CCR6, CCR7, CCR8, CCR9, CX3CR1, IL8RA, XCR1 (CCXCR1), IFNA2, IL10, IL13, IL17C, IL1A, IL1B, IL1F10, IL1F5, IL1F6, IL1F7, IL1F8, IL1F9, IL22, IL5, IL8, IL9, LTA, LTB, MIF, SCYE1 (endotel Monocyte-aktiverende cytokin), SPP1, TNF, TNFSF5, IFNA2, IL10RA, IL10RB, IL13, IL13RA1, IL5RA, IL9, IL9R, ABCF1, BCL6, C3, C4A, CEBPB, CRP, ICEBERG, IL1R1, IL1RN, IL8RB, LTB4R, TOLLIP, FADD, IRAK1, IRAK2, MYD88, NCK2, TNFAIP3, TRADD, TRAF1, TRAF2, TRAF3, TRAF4, TRAF5, TRAF6, ACVR1, ACVR1B, ACVR2, ACVR2B, ACVRL1, CD28, CD3E, CD3G, CD3Z, CD69, CD80, CD86, CNR1, CTLA4, CYSLTR1, FCER1A, FCER2, FCGR3A, GPR44, HAVCR2, OPRD1, P2RX7, TLR2, TLR3, TLR4, TLR5, TLR6, TLR7, TLR8, TLR9, TLR10, BLR1, CCL1, CCL2, CCL3, CCL4, CCL5, CCL7, CCL8, CCL11, CCL13, CCL15, CCL16, CCL17, CCL18, CCL19, CCL20, CCL21, CCL22, CCL23, CCL24, CCL25, CCR1, CCR2, CCR3, CCR4, CCR5, CCR6, CCR7, CCR8, CCR9, CX3CL1, CX3CR1, CXCL1, CXCL2, CXCL3, CXCL5, CXCL6, CXCL10, CXCL11, CXCL12, CXCL13, CXCR4, GPR2, SCYE1, SDF2, XCL1, XCL2, XCR1, AMH, AMHR2, BMPR1A, BMPR1B, BMPR2, C19orf10 (IL27w), CER1, CSF1, CSF2, CSF3, DKFZp451J0118, FGF2, GFI1, IFNA1, IFNB1, IFNG, IGF1, IL1A, IL1B, IL1R1, IL1R2, IL2, IL2RA, IL2RB, IL2RG, IL3, IL4, IL4R, IL5, IL5RA, IL6, IL6R, IL6ST, IL7, IL8, IL8RA, IL8RB, IL9, IL9R, IL10, IL10RA, IL10RB, IL11, IL11RA, IL12A, IL12B, IL12RB1, IL12RB2, IL13, IL13RA1, IL13RA2, IL15, IL15RA, IL16, IL17, IL17R, IL18, IL18R1, IL19, IL20, KITLG, LEP, LTA, LTB, LTB4R, LTB4R2, LTBR, MIF, NPPB, PDGFB, TBX21, TDGF1, TGFA, TGFB1, TGFB1I1, TGFB2, TGFB3, TGFBI, TGFBR1, TGFBR2, TGFBR3, TH1L, TNF, TNFRSF1A, TNFRSF1B, TNFRSF7, TNFRSF8, TNFRSF9, TNFRSF11A, TNFRSF21, TNFSF4, TNFSF5, TNFSF6, TNFSF11, VEGF, ZFPM2, og RNF110 (ZNF144). I et aspekt, DVD-Ig'er i stand til å binde en eller flere av målet opplistet heri er tilveiebrakt.

DVD-Ig'er i stand til å binde de etterfølgende par med mål for å behandle inflammatorisk sykdom er påtenkt: TNF og IL-17A; TNF og RANKL; TNF og VEGF; TNF og SOST (sekv. 1); TNF og DKK; TNF og alfaVbeta3; TNF og NGF; TNF og IL-23p19; TNF og IL-6; TNF og SOST (sekv. 2); TNF og IL-6R; TNF og CD-20; IgE og IL-13 (sekv. 1); IL-13 (sekv. 1) og IL23p19; IgE og IL-4; IgE og IL-9 (sekv. 1); IgE og IL-9 (sekv. 2); IgE og IL-13 (sekv. 2); IL-13 (sekv. 1) og IL-9 (sekv. 1); IL-13 (sekv. 1) og IL-4; IL-13 (sekv. 1) og IL-9 (sekv. 2); IL-13 (sekv. 2) og IL-9 (sekv. 1); IL-13 (sekv. 2) og IL-4; IL-13 (sekv. 2) og IL-23p19; IL-13 (sekv. 2) og IL-9 (sekv. 2); IL-6R og VEGF; IL-6R og IL-17A; IL-6R og RANKL; IL-17A og IL-1beta (sekv. 1); IL-1beta (sekv. 1) og RANKL; IL-1beta (sekv. 1) og VEGF; RANKL og CD-20; IL-1alfa og IL-1beta (sekv. 1); IL-1alfa og IL-1beta (sekv. 2) (se Eksempler 2.1 to 2.40).

2. Astma

Allergisk astma er karakterisert ved nærværet av eosinofili, "goblet"-celle metaplasi, epitelcelle forandringer, luftvei hyperreaktivitet (AHR), og Th2 og Th1 cytokin-uttrykking, så vel som forhøyet serum IgE nivåer. Det er nå vidt akseptert ved luftvei-inflammasjon er nøkkelfaktoren som ligger under patogenesen til astma, som involverer et komplekst samspill av inflammatoriske celler slik som T-celler, B-celler, eosinofils, mastceller og makrofager, og av deres utsondrede mediatorer inkludert cytokiner og kjemokiner. Kortikosteroider er den mest viktige anti-inflammatoriske behandlingen for astma idag, imidlertid er deres virkningsmekanisme ikke-spesifikk og uro over sikkerheten eksisterer, spesielt i den yngre pasientpopulasjonen. Utviklingen av mer spesifikke og målrettede terapier er derfor berettiget. Det er økende bevis ved IL-13 i mus hermer etter mange av trekkene ved astma, inkludert AHR, slim hypersekresjon og luftvei-fibrose, uavhengig av eosinofil inflammasjon (Finotto et al., International Immunology (2005), 17(8), 993-1007; Padilla et al., Journal of Immunology (2005), 174(12), 8097-8105).

IL-13 har blitt implisert å ha en sentral rolle i å forårsake patologisk responser assosiert med astma. Utviklingen av anti-IL-13 mAb terapi for å redusere virkningene av IL-13 i lungen er en spennende ny tilnærming som tilbyr betydelig løfte som en ny behandling for astma. Imidlertid er andre mediatorer av differensielle immunologiske signalveier også involvert i astma patogenese, og å blokkere disse mediatorer, i tillegg til IL-13, kan tilby ytterligere terapeutisk nytte. Slike mål-par inkluderer, men er ikke begrenset til, IL-13 og et pro-inflammatorisk cytokin, slik som tumornekrose-faktor-α (TNF-α). TNF-α kan forsterke den inflammatoriske responsen i astma og kan bli knyttet til sykdomsalvorlighetsgrad (McDonnell, et al., Progress in Respiratory Forskning (2001), 31(New Drugs for Asthma, Allergy and COPD), 247-250.). Dette antyder ved å blokkere både IL-13 og TNF-α kan ha gunstig virkninger, spesielt i alvorlig luftvei sykdom. I en annen utførelsesform binder DVD-Ig'et ifølge oppfinnelsen målet IL-13 og TNFα og blir anvendt for å behandle astma.

Dyremodeller slik som OVA-indusert astma musemodell, hvor både inflammasjon og AHR kan bli vurdert, er kjent i teknikken og kan bli anvendt for å bestemme evnen til diverse DVD-Ig-molekyler for å behandle astma. Dyremodeller for å studere astma er vist i Coffman, et al., Journal of Experimental Medicine (2005), 201(12), 1875-1879; Lloyd, et al., Advances in Immunology (2001), 77, 263-295; Boyce et al., Journal of Experimental Medicine (2005), 201(12), 1869-1873; og Snibson, et al., Journal of the Britth Society for Allergy and Clinical Immunology (2005), 35(2), 146-52. I tillegg til rutinemessig sikkerhetsvurderinger av disse mål-par kan spesifikke prøver for graden av immunundertrykking være berettiget og hjelpsomt i å velge det beste mål-par (se Luster et al., Toxicology (1994), 92(1-3), 229-43; Descotes, et al., Developments in biologic standardization (1992), 77 99-102; Hart et al., Journal of Allergy and Clinical Immunology (2001), 108(2), 250-257).

Basert på rasjonalet fremvist heri og ved å bruke den samme evalueringsmodellen for effekt og sikkerhet kan andre par med mål som DVD-Ig-molekyler kan binde og være nyttige for å behandle astma bli bestemt. I en utførelsesform inkluderer slike mål, men er ikke begrenset til, IL-13 og IL-1beta, siden IL-1beta også er impliserte i inflammatorisk respons i astma; IL-13 og cytokiner og kjemokiner som er involvert i inflammasjon, slik som IL-13 og IL-9; IL-13 og IL-4; IL-13 og IL-5; IL-13 og IL-25; IL-13 og TARC; IL-13 og MDC; IL-13 og MIF; IL-13 og TGF-β; IL-13 og LHR agonist; IL-13 og CL25; IL-13 og SPRR2a; IL-13 og SPRR2b; og IL-13 og ADAM8. Den foreliggende oppfinnelsen tilveiebringer også DVD-Ig'er i stand til å binde et eller flere mål involvert i astma valgt fra gruppen bestående av CSF1 (MCSF), CSF2 (GM-CSF), CSF3 (GCSF), FGF2, IFNA1, IFNB1, IFNG, histamin og histamin reseptorer, IL1A, IL1B, IL2, IL3, IL4, IL5, IL6, IL7, IL8, IL9, IL10, IL11, IL12A, IL12B, IL13, IL14, IL15, IL16, IL17, IL18, IL19, KITLG, PDGFB, IL2RA, IL4R, IL5RA, IL8RA, IL8RB, IL12RB1, IL12RB2, IL13RA1, IL13RA2, IL18R1, TSLP, CCL1, CCL2, CCL3, CCL4, CCL5, CCL7, CCL8, CCL13, CCL17, CCL18, CCL19, CCL20, CCL22, CCL24,CX3CL1, CXCL1, CXCL2, CXCL3, XCL1, CCR2, CCR3, CCR4, CCR5, CCR6, CCR7, CCR8, CX3CR1, GPR2, XCR1, FOS, GATA3, JAK1, JAK3, STAT6, TBX21, TGFB1, TNF, TNFSF6, YY1, CYSLTR1, FCER1A, FCER2, LTB4R, TB4R2, LTBR, og Chitinase.

3. Revmatoid artritt

Revmatoid artritt (RA), en systemisk sykdom, er karakterisert ved en kronisk inflammatorisk reaksjon i synovium i ledd og er assosiert med degenerering av brusk og erosjon av juxta-artikulært ben. Mange pro-inflammatoriske cytokiner inkludert TNF, kjemokiner, og vekstfaktorer blir uttrykt i syke ledd. Systemisk administrasjon av anti-TNF antistoff eller sTNFR fusjonsprotein til musemodeller av RA ble vist å være anti-inflammatorisk og ledd-beskyttende. Kliniske undersøkelser hvori aktiviteten til TNF i RA-pasienter ble blokkert med intravenøst administrert infliximab (Harriman G, Harper LK, Schaible TF. 1999 Sammendrag av kliniske

studier i revmatoid artritt ved å bruke infliximab, et anti-TNFalfa behandling. Ann Rheum Dis 58 Suppl 1:I61-4), et kimerisk anti-TNF mAb, har tilveiebrakt bevis ved TNF regulerer IL-6, IL-8, MCP-1, og VEGF produksjon, rekruttering av immun og inflammatoriske celler inn i ledd, angiogenese, og reduksjon av blodnivåer av matrix metalloproteinases-1 og -3. En bedre forståelse av den inflammatoriske signalveien i revmatoid artritt har ledet til identifisering av andre terapeutisk mål involvert i revmatoid artritt. Lovende behandlinger slik som interleukin-6 antagonister (IL-6 reseptor antistoff MRA, utviklet av Chugai, Roche (se Nishimoto, Norihiro et al., Arthritis & Rheumatism (2004), 50(6), 1761-1769), CTLA4Ig (abatacept, Genovese Mc et al 2005 Abatacept for revmatoid artritt refractory to tumornekrose-faktor alfa inhibering. N Engl J Med. 353:1114-23.), og anti-B-celle terapi (rituximab, Okamoto H, Kamatani N. 2004 Rituximab for revmatoid artritt. N Engl J Med. 351:1909) har allerede blitt utprøvd i randomiserte kontrollerte studier i løpet av det siste året. Andre cytokiner har blitt identifisert og har blitt vist å være av nytte i dyremodeller, inkludert interleukin-15 (terapeutisk antistoff HuMax-IL_15, AMG 714 se Baslund, Bo et al., Arthritis & Rheumatism (2005), 52(9), 2686-2692), interleukin-17, og interleukin-18, og kliniske studier av disse midler er for tiden under vei. Dobbelt-spesifikke antistoff terapi, ved å kombinere anti-TNF og en annen mediator, har stort potensiale i å forsterke klinisk effekt og/eller pasientdekning. For eksempel, å blokkere både TNF og VEGF kan potensielt fjerne inflammasjon og angiogenese, begge av hvilke er involvert i patofysiologi hos RA. Å blokkere andre par med mål involvert i RA inkludert, men ikke begrenset til, TNF og IL-18; TNF og IL-12; TNF og IL-23; TNF og IL-1beta; TNF og MIF; TNF og IL-17; og TNF og IL-15 med spesifikke DVD-Ig'er er også påtenkt. I tillegg til rutinemessig sikkerhetsvurderinger av disse mål-par, kan spesifikke prøver for graden av immunundertrykking være berettiget og hjelpsomt i å velge det beste mål-par (se Luster et al., Toxicology (1994), 92(1-3), 229-43; Descotes, et al., Developments in biologic standardization (1992), 77 99-102; Hart et al., Journal of Allergy and Clinical Immunology (2001), 108(2), 250-257). Om et DVD Ig-molekyl vil være nyttig for behandlingen av revmatoid artritt kan bli vurdert ved å bruke pre-kliniske dyr- RA-modeller slik som den kollagen-induserte artritt musemodellen. Andre nyttig modeller er også velkjent i teknikken (se Brand DD., Comp Med. (2005) 55(2):114-22). Basert på kryssreaktiviteten til moder-antistoffene for human- og musortologer (f.eks. reaktivitet for humant og mus TNF, humant og mus IL-15 osv.) valideringsstudier i mus CIA-modellen kan bli utført med "matchet surrogat antistoff" avledet DVD-Ig-molekyler; Kort fortalt kan et DVD-Ig basert på to (eller flere) mus-mål spesifikke antistoffer bli matchet så langt det lar seg gjøre til karakteristikkene til de humane eller humaniserte moderantistoffene anvendt for humant DVD-Ig-konstruksjon (lignende affinitet, lignende nøytraliseringsstyrke, lignende halveringstid osv.).

4. SLE

Det immunopatogene kjennetegnet for SLE er den polyklonale B-celle aktiveringen, som fører til hyperglobulinemi, autoantistoff-produksjon og immunkompleks-dannelse. Det fundamentale avviket ser ut til å være svikten av T-celler i å undertrykke de forbudte B-celle klonene på grunn av generalisert T-celle dysregulering. I tillegg er B og T-celle interaksjon lagt til rette for av flere cytokiner slik som IL-10 så vel som ko-stimulatoriske molekyler slik som CD40 og CD40L, B7 og CD28 og CTLA-4, som initierer det andre signalet. Disse interaksjoner sammen med svekket fagocytisk klarering av immun komplekser og apoptotisk materiale, opprettholder immunresponsen med resulterende vev-skade. De følgende målene kan være involvert i SLE og kan potensielt bli anvendt for DVD-Ig tilnærming for terapeutisk intervensjon: B-celle målrettede terapier: CD-20, CD-22, CD-19, CD28, CD4, CD80, HLA-DRA, IL10, IL2, IL4, TNFRSF5, TNFRSF6, TNFSF5, TNFSF6, BLR1, HDAC4, HDAC5, HDAC7A, HDAC9, ICOSL, IGBP1, MS4A1, RGS1, SLA2, CD81, IFNB1, IL10, TNFRSF5, TNFRSF7, TNFSF5, AICDA, BLNK, GALNAC4S-6ST, HDAC4, HDAC5, HDAC7A, HDAC9, IL10, IL11, IL4, INHA, INHBA, KLF6, TNFRSF7, CD28, CD38, CD69, CD80, CD83, CD86, DPP4, FCER2, IL2RA, TNFRSF8, TNFSF7, CD24, CD37, CD40, CD72, CD74, CD79A, CD79B, CR2, IL1R2, ITGA2, ITGA3, MS4A1, ST6GAL1, CD1C, CHST10, HLA-A, HLA-DRA, og NT5E.; ko-stimulatoriske signaler: CTLA4 eller B7.1/B7.2; inhibering av B-celle overlevelse: BlyS, BAFF; Komplement inaktivering: C5; Cytokin modulering: hovedprinsippet er ved netto biologika-respons i ethvert vev er resultatet av en balanse mellom lokale nivåer av proinflammatoriske eller anti-inflammatoriske cytokiner (se Sfikakis PP et al 2005 Curr Opin Rheumatol 17:550-7). SLE er ansett å være en Th-2 drevet sykdom med dokumenterte økninger i serum IL-4, IL-6, IL-10. DVD-Ig'er i stand til å binde et eller flere mål valgt fra gruppen bestående av IL-4, IL-6, IL-10, IFN-α, og TNF-α er også påtenkt. Kombinasjon av mål diskutert heri vil forbedre terapeutisk effekt for SLE hvilket kan bli utprøvd i en rekke lupus prekliniske modeller (se Peng SL (2004) Methods Mol Med.;102:227-72). Basert på kryssreaktiviteten til moder-antistoffene for human- og musortologer (f.eks. reaktivitet for humant og mus CD20, humant og mus Interferon alfa osv.) valideringsstudier i en mus lupus modell kan bli utført med "matchet surrogat antistoff" avledet DVD-Ig-molekyler; Kort fortalt kan et DVD-Ig basert på to (eller flere) mus-mål spesifikke antistoffer bli matchet så langt det lar seg gjøre til karakteristikkene til de humane eller humaniserte moderantistoffene anvendt for humant DVD-Ig-konstruksjon (lignende affinitet, lignende nøytraliseringsstyrke, lignende halveringstid osv.).

5. Multippel sklerose

Multippel sklerose (MS) er en kompleks human autoimmun-type sykdom med en hovedsaklig ukjent etiologi. Immunologisk ødeleggelse av myelin basisk protein (MBP) gjennom hele nervesystemet er den viktigste patologien til multippel sklerose. MS er en sykdom med

komplekse patologier, som involverer infiltrering av CD4+ og CD8+ T-celler og med respons innenfor det sentrale nervesystemet. Uttrykking i CNS av cytokiner, reaktive nitrogenspesier og kostimulator-molekyler har alle blitt beskrevet i MS. Av stor viktighet er immunologiske mekanismer som bidrar til utviklingen av autoimmunitet. Spesielt, antigen-uttrykking, cytokin og leukocytt interaksjoner, og regulatoriske T-celler, som hjelper med å balansere/modulere andre T-celler slik som Th1 og Th2 celler, er viktige områder for terapeutisk mål-identifisering.

IL-12 er et proinflammatorisk cytokin som er produsert ved APC og promoterer differensiering av Th1 effektor-celler. IL-12 er produsert i lesjonene under utvikling i pasienter med MS så vel som i EAE-påvirket dyr. Tidligere ble det vist ved interferens i IL-12 signalveier effektivt forhindrer EAE i gnagere, og ved *in vivo* nøytralisering av IL-12p40 ved å bruke et anti-IL-12 mAb har gunstig virkninger i den myelin-induserte EAE modellen i vanlig silkeaper.

TWEAK er et medlem av TNF-familien, iboende uttrykt i sentralnervesystemet (CNS), med pro-inflammatoriske, proliferative eller apoptotiske virkninger avhengig av celletyper. Dets reseptor, Fn14, er uttrykt i CNS av endotelceller, reaktive astrocytter og nevroner. TWEAK og Fn14 mRNA uttrykking øker i ryggmargen i løpet av eksperimentell autoimmun encefalomyelitt (EAE). Anti-TWEAK antistoff behandling i myelin oligodendrocytt glykoprotein (MOG) indusert EAE i C57BL/6 mus resulterte i en reduksjon av sykdomsalvorlighetsgrad og leukocytt infiltrering når mus ble behandlet etter den innledende fasen.

Et aspekt ifølge oppfinnelsen angår DVD-Ig-molekyler i stand til å binde en eller flere, for eksempel to, mål valgt fra gruppen bestående av IL-12, TWEAK, IL-23, CXCL13, CD40, CD40L, IL-18, VEGF, VLA-4, TNF, CD45RB, CD200, IFNgamma, GM-CSF, FGF, C5, CD52, og CCR2. En utførelsesform inkluderer et dobbelt-spesifikt anti-IL-12/TWEAK DVD Ig som et terapeutisk middel gunstig for behandlingen av MS.

Flere dyremodeller for å vurdere nytten av DVD-molekylene for å behandle MS er kjent i teknikken (se Steinman L, et al., (2005) Trends Immunol. 26(11):565-71; Lublin FD., et al., (1985) Springer Semin Immunopathol.8(3):197-208; Genain CP, et al., (1997) J Mol Med. 75(3):187-97; Tuohy VK, et al., (1999) J Exp Med. 189(7):1033-42; Owens T, et al., (1995) Neurol Clin.13(1):51-73; og 't Hart BA, et al., (2005) J Immunol 175(7):4761-8. Basert på kryssreaktiviteten til moder-antistoffene for humane og dyreart ortologer (f.eks.,reaktivitet for humant og mus IL-12, humant og mus TWEAK osv.) valideringsstudier i mus EAE-modellen kan bli utført med "matchet surrogat antistoff" avledet DVD-Ig-molekyler; Kort fortalt kan et DVD-Ig basert på to (eller flere) mus-mål spesifikke antistoffer bli matchet så langt det lar seg gjøre til karakteristikkene til de humane eller humaniserte moderantistoffene anvendt for humant DVD-Ig-konstruksjon (lignende affinitet, lignende nøytraliseringsstyrke, lignende halveringstid osv.). Det samme konseptet gjelder for dyremodeller i andre ikke-gnager arter, hvor et "matchet surrogat

antistoff" avledet DVD-Ig ville bli valgt for den forventede farmakologien og muligens sikkerhet studier. I tillegg til rutinemessig sikkerhetsvurderinger av disse mål-par kan spesifikke prøver for graden av immunundertrykking være berettiget og hjelpsomt i å velge det beste mål-par (se Luster et al., Toxicology (1994), 92(1-3), 229-43; Descotes, et al., Developments in biologic standardization (1992), 77 99-102; Jones R. 2000 Rovelizumab (ICOS Corp). ILegemidler.3(4):442-6).

6. Sepsis

Patofysiologien til sepsis er initiert av komponentene i den ytre membranen til både gram-negative organismer (lipopolysaccharide [LPS], lipid A, endotoksin) og gram-positive organismer (lipoteichoic syre, peptidoglycan). Disse ytre-membran komponentene er i stand til å binde til CD14-reseptoren på overflaten av monocytter. På grunn av de nylig beskrevne toll-like reseptorene, blir et signal så sendt til cellen, for å lede til den endelige produksjon av de proinflammatoriske cytokinene tumornekrose-faktor-alfa (TNF-alfa) og interleukin-1 (IL-1). Overveldende inflammatorisk og immun responser er essensielle trekk ved septisk sjokk og spiller en sentral rolle i patogenesen av vev-skade, multippel organsvikt, og død indusert av sepsis. Cytokiner, spesielt tumornekrose-faktor (TNF) og interleukin (IL-1), har blitt vist å være kritiske mediatorer av septisk sjokk. Disse cytokiner har en direkte toksisk virkning på vev; de aktiverer også fosfolipase A2. Disse og andre virkninger leder til økte konsentrasjoner av blodplate-aktiverende faktor, promotering av nitrogenmonoksid syntase aktivitet, promotering av vev infiltrering av nevtrofiler, og promotering av nøytrofil aktivitet.

Behandlingen av sepsis og septisk sjokk forblir en klinisk gåte, og nylige prospektive forsøk med biologiske responsmodifikatorer (dvs. anti-TNF, anti-MIF) rettet mot den inflammatoriske responsen har vist bare beskjeden klinisk nytte. Nylig har interessen skiftet mot terapier rettet mot å reversere de medfølgende periodene med immunundertrykking. Studier i forsøksdyr og kritisk syke pasienter har demonstrert ved økt apoptose av lymfoide organer og noen parenchymale vev bidra til denne immunundertrykkingen, anergy, og organ system dysfunksjon. I løpet av sepsis-syndromer kan lymfocytt apoptose bli utløst av fraværet av IL-2 eller av frigjørelsen av glukokortikoider, granzymer, eller de såkalte 'død' cytokinene: tumornekrose-faktor alfa eller Fas ligand. Apoptose går via auto-aktivering av cytosolisk og/eller mitokondriell kaspaser, som kan være påvirket av de pro- og anti-apoptotiske medlemmer av Bcl-2-familien. I forsøksdyr, ikke bare kan behandling med inhibitorer av apoptose forhindre lymfoid celle apoptose; det kan også forbedre resultat. Selv om kliniske studier med anti-apoptotisk midler forblir fjernt grunnet for en stor del i tekniske problemer assosiert med deres administrasjon og vev-målretting, representerer inhibering av lymfocytt apoptose et attraktivt terapeutisk mål for den septiske pasienten. Likeledes kan et dobbelt-spesifikt middel som målretter både inflammatorisk mediator og en apoptotisk mediator, ha ytterligere nytte. Et aspekt ifølge

oppfinnelsen angår DVD-Ig'er i stand til å binde et eller flere mål involvert i sepsis, i en utførelsesform to mål, valgt fra gruppen bestående TNF, IL-1, MIF, IL-6, IL-8, IL-18, IL-12, IL-23, FasL, LPS, Toll-like reseptorene, TLR-4, vev faktor, MIP-2, ADORA2A, CASP1, CASP4, IL-10, IL-1B, NFKB1, PROC, TNFRSF1A, CSF3, CCR3, IL1RN, MIF, NFKB1, PTAFR, TLR2, TLR4, GPR44, HMOKS1, midkine, IRAK1, NFKB2, SERPINA1, SERPINE1, og TREM1. Effekten av slike DVD-Ig'er for sepsis kan bli vurdert i prekliniske dyremodeller kjent i teknikken (se Buras JA, et al.,(2005) Nat Rev Drug Discov. 4(10):854-65 og Calandra T, et al., (2000) Nat Med. 6(2):164-70).

7. Nevrologiske forstyrrelser

7.1. Nevrodegenerative sykdommer

Nevrodegenerative sykdommer er enten kroniske i hvilket tilfelle de vanligvis er alders-avhengige eller akutte (f.eks., hjerneslag, traumatisk hjerneskade, ryggmargskade, osv.). De er karakterisert ved progressivt tap av nevronale funksjoner (nevronal celledød, demyelinering), tap av mobilitet og tap av hukommelse. Fremvoksende kunnskap om mekanismene som ligger under kronisk nevrodegenerative sykdommer (f.eks., Alzheimers sykdom sykdom) viser en kompleks etiologi og en rekke faktorer har blitt anerkjent å bidra til deres utvikling og progresjon f.eks. alder, glykemisk status, amyloid produksjon og multimerisering, akkumulering av "advanced glycation end-products" (AGE) som binder til deres reseptor RAGE (reseptor for AGE), økt oksidativt stress i hjernen, minsket cerebralt blodomløp, neuroinflammasjon inkludert frigjørelse av inflammatoriske cytokiner og kjemokiner, nevronal dysfunksjon og mikroglial aktivering. Følgelig representerer disse kronisk nevrodegenerative sykdommer en kompleks interaksjon mellom flere celletyper og mediatorer. Behandling strategier for slike sykdommer er begrenset og består for det meste av enten å blokkere inflammatorisk prosesser med ikke-spesifikke anti-inflammatorisk midler (f.eks., kortikosteroider, COKS inhibitorer) eller midler for å forhindre tap av nevroner og/eller synaptiske funksjoner. Disse behandlinger mislykkes i å stoppe sykdomsprogresjon. Nylige studier foreslår ved mer målrettede terapier slik som antistoffer til løselig A-b peptid (inkludert de A-b oligomere former) ikke bare kan hjelpe å stoppe sykdomsprogresjon men kan hjelpe å opprettholde hukommelse as brønn. Disse foreløpige observasjoner foreslår ved spesifikke terapier målrette mer enn en sykdomsmediator (f.eks.,A-b og et pro-inflammatorisk cytokin slik som TNF) kan tilveiebringe enda bedre terapeutisk effekt for kronisk nevrodegenerative sykdommer enn observert ved å målrette en enkelt sykdomsmekanisme (f.eks.,løselig A-þalene) (se C.E. Sheferd, et al, Neurobiol Aging. 2005 Okt 24; Nelson RB., Curr Pharm Des. 2005;11:3335; William L. Klein.; Neurochem Int. 2002 ;41:345; Michelle C Janelsins, et al., J Neuroinflammation. 2005 ;2:23; Soloman B., Curr Alzheimer Res. 2004;1:149; Igor Klyubin, et al., Nat Med. 2005;11:556-61; Arancio O, et al.,

EMBO Journal (2004) 1-10; Bornemann KD, et al., Am J Pathol. 2001;158:63; Deane R, et al., Nat Med. 2003;9:907-13; og Eliezer Masliah, et al., Neuron. 2005;46:857).

DVD-Ig-molekylene ifølge oppfinnelsen kan binde et eller flere mål involvert i Kronisk nevrodegenerative sykdommer slik som Alzheimers. Slike mål inkluderer, men er ikke begrenset til, enhver mediator, løselig eller Celleoverflate, impliserte i AD patogenese, f.eks., AGE (S100 A, amfoterin), pro-inflammatoriske cytokiner (f.eks., IL-1), kjemokiner (f.eks., MCP 1), molekyler som inhiberer nerve regenerering (f.eks., Nogo, RGM A), molekyler som forbedrer neurite vekst (nevrotrofiner) og molekyler som kan formidle transport ved blod-hjerne barrieren (f.eks., transferrin reseptor, insulin reseptor eller RAGE). Effekten av DVD-Ig-molekyler kan bli validert i pre-kliniske dyremodeller slik som den transgene musen som over-uttrykker amyloid forløper protein eller RAGE og utvikler Alzheimers sykdomsliknende symptomer. I tillegg kan DVD-Ig-molekyler bli konstruert og utprøvd for effekt i dyremodellene og det beste terapeutiske DVD-Ig'et kan bli valgt for utprøving i menneskelige pasienter. DVD-Ig-molekyler kan også bli anvendt for behandling av andre nevrodegenerative sykdommer slik som Parkinsons sykdom. Alfa-Synuclein er involvert i Parkinsons patologi. Et DVD-Ig i stand til målrette alfa-synuclein og inflammatoriske mediatorer slik som TNF, IL-1, MCP-1 kan vise seg som effektiv terapi for Parkinsons sykdom og er påtenkt i oppfinnelsen.

7.2 Nevronal Regenerering og Ryggmargskade

Til tross for en økning i kunnskap om de patologiske mekanismene, er ryggmargskade (SCI) fortsatt en ødeleggende tilstand og representerer en medisinsk indikasjon karakterisert ved et høyt medisinsk behov. De fleste ryggmargskader er kontusjons- eller kompressjonsskader og den primære skaden er vanligvis etterfulgt av sekundære skademekanismer (inflammatoriske mediatorer f.eks., cytokiner og kjemokiner) som forverrer den innledende skaden og resulterer i betydelig enlargement av lesjonsområdet, noen ganger mer enn 10-ganger. Disse primær og sekundær mekanismer i SCI ligner veldig på de i hjerneskade forårsaket på andre måter f.eks., hjerneslag. Ingen tilfredsstillende behandling eksisterer og høy dose bolus injisering av metylprednisolon (MP) er den anvendte terapien innenfor et smalt tidsvindu på 8 timer etter skade. Denne behandlingen, imidlertid, er bare ment for å forhindre sekundær skade uten å forårsake noen betydelig funksjonell gjenvinning. Den er sterkt kritisert for mangelen av utvetydig effekt og alvorlig ugunstige virkninger, som immunundertrykking med etterfølgende infeksjoner og alvorlig histopatologiske muskelforandringer. Ingen andre legemidler, biologika eller små molekyler, stimulerende det endogene regenerative potensialet er godkjent, men lovende behandlingsprinsipper og legemiddel kandidater har vist effekt i dyremodeller av SCI i senere år. I en stor grad mangelen av funksjonell gjenvinning i human SCI er forårsaket av faktorinhiberende neurite-vekst, ved lesjon seter, i arr vev, i myelin så vel som på skade-assosierte-celler. Slike faktorer er de myelin-assosierte proteinene NogoA, OMgp og MAG,

RGM A, det arr-assosierte CSPG (Kondroitin Sulfat Proteoglykaner) og inhiberende faktorer på reaktive astrocytter (some semaforins og efrins). Imidlertid, ved lesjonssetet er ikke bare vekst inhiberende molekyler funnet men også neurite vekst stimulerende faktorer som nevrotrofiner, laminin, L1 og andre. Dette ensemblet av neurite vekst inhiberende og vekst promoterende molekyler kan forklare at å blokkere enkelte faktorer, som NogoA eller RGM A, resulterte i betydelig funksjonell gjenvinning i gnager SCI modeller, fordi en reduksjon av de inhiberende påvirkninger kunne skifte balansen fra vekst-inhibering til vekst promotering. Imidlertid, gjenvinningen observert med å blokkere et enkelt neuriteutvekst-inhiberende molekyl var ikke komplett. For å oppnå raskere og mer uttalt gjenvinningen enten å blokkere to neuriteutvekst-inhiberende molekyler, f.eks., Nogo og RGM A, eller å blokkere et neuriteutvekst-inhiberende molekyl og forsterke funksjoner of et neuriteutvekst-forsterkende molekyl, f.eks. Nogo og nevrotrofiner, eller å blokkere en neuriteutvekst-inhiberende molekyl, f.eks. Nogo og et pro-inflammatorisk molekyl f.eks. TNF, kan være ønskelig (se McGee AW, et al. (2003) Trends Neurosci. 26:193; Marco Domeniconi, et al. (2005) J. Neurol. Sci. 233:43; Milan Makwanal, et al. (2005) FEBS J. 272:2628; Barry J. Dickson (2002) Science 298:1959; Felicia Yu Hsuan Teng, et al. (2005) J. Neurosci. Res. 79:273; Tara Karnezis, et al. (2004) Natur Neuroscience 7:736; Gang Xu, et al. (2004) J. Neurochem. 91:1018).

I et aspekt, DVD-Ig'er i stand til å binde mål-par slik som NgR og RGM A; NogoA og RGM A; MAG og RGM A; OMGp og RGM A; RGM en og RGM B; CSPGs og RGM A; aggrecan, midkine, neurocan, versican, fosfacan, Te38 og TNF-α; Aß globulomer-spesifikke antistoffer kombinert med antistoffer promoterende dendritt & akson-utvekst er tilveiebrakt. Dendritt patologi er et veldig tidlig tegn på AD og det er kjent at NOGO en begrenser dendritt vekst. Man kan kombinere slike typer av ab med enhver av SCI-kandidatene (myelin-proteiner) Ab. Andre DVD-Ig mål kan inkludere enhver kombinasjon av NgR-p75, NgR-Troy, NgR-Nogo66 (Nogo), NgR-Lingo, Lingo-Troy, Lingo-p75, MAG eller Omgp. Videre mål kan også inkludere enhver mediator, løselig eller Celleoverflate, impliserte i inhibering av neurite f.eks. Nogo, Ompg, MAG, RGM A, semaforins, efrins, løselig A-b, pro-inflammatoriske cytokiner (f.eks., IL-1), kjemokiner (f.eks., MIP 1a), molekyler som inhiberer nerve regenerering. Effekten av anti-nogo / anti-RGM en eller lignende DVD-Ig-molekyler kan bli validert i pre-kliniske dyremodeller av ryggmargskade. I tillegg kan disse DVD-Ig-molekyler bli konstruert og utprøvd for effekt i dyremodellene og det beste terapeutiske DVD-Ig'et kan bli valgt for utprøving i menneskelige pasienter. I tillegg kan DVD-Ig-molekyler bli konstruert som målrettes til to distinkte ligand-bindende seter på en enkelt reseptor f.eks., Nogo reseptor som binder tre ligand Nogo, Ompg, og MAG og RAGE som binder A-b og S100 A. Videre, neurit-utvekst inihibitorer f.eks., nogo og nogo reseptor, spiller også en rolle i å forhindre nerve regenerering i immunologiske sykdommer som multippel sklerose. Inhibering av nogo-nogo reseptor-

interaksjon har blitt vist å forbedre gjenvinning i dyremodeller av multippel sklerose. Derfor, DVD-Ig-molekyler som kan blokkere funksjonen til en immun mediator eg et cytokin som IL-12 og et neurit-utvekst inhibitor molekyl eg nogo eller RGM kan tilby raskere og større effekt enn å blokkere enten et immun eller et neurit-utvekst inhibitor molekyl alene.

Generelt krysser ikke antistoffer blod-hjerne barrieren (BBB) på en effektiv og relevant måte. Imidlertid, i visse nevrologiske sykdommer, f.eks., hjerneslag, traumatisk hjerneskade, multippel sklerose, osv., BBB kan bli svekket og tillater for økt penetrering av DVD-Ig'er og antistoffer inn i hjernen. I andre nevrologisk tilstander, hvor BBB lekkasje er ikke occuring, kan man anvende målrettingen av endogene transport systemer, inkludert bærer-medierte transportere slik som glukose og aminosyre bærere og reseptor-mediert transcytose-formidlende celle strukturer/reseptorer ved det vaskulære endothelium av BBB, følgelig muligjørende trans-BBB transport av DVD-Ig'et. Strukturer ved BBB muligjørende slik transport inkluderer men er ikke begrenset til insulin-reseptoren, transferrin reseptor, LRP og RAGE. I tillegg, strategier som muliggjør anvendelsen av DVD-Ig'er også as shuttles for å transportere potensielle legemidler inn i CNS inkludert lav molekylvekt legemidler, nanopartikler og nukleinsyrer (Coloma MJ, et al. (2000) Pharm Res. 17(3):266-74; Boado RJ, et al. (2007) Bioconjug. Chem. 18(2):447-55).

8. Onkologiske forstyrrelser

Monoklonalt-antistoff terapi har stått frem som en viktig terapeutisk modalitet for kreft (von Mehren, M., et al. (2003) Annu. Rev. Med. 54:343-69). Antistoffer kan utøve antitumor virkninger ved å indusere apoptose, redirigert cytotoksisitet, interferere med ligand-reseptor-interaksjoner, eller forhindre uttrykkingen av proteiner som er kritiske for den neoplastiske fenotypen. I tillegg kan antistoffer målrette komponenter i tumor-mikromiljøet, for å forstyrre vitale strukturer slik som dannelsen av tumor-assosiert vaskulatur. Antistoffer kan også målrette reseptorer hviss ligander er vekstfaktorer, slik som epidermal-vekstfaktor reseptoren. Antistoffet inhiberer følgelig naturlige ligander, som stimulerer celle vekst, fra å binde til målrettede tumorceller. Alternativt kan antistoffer indusere et anti-idiotype nettverk, komplement-mediert cytotoksisitet, eller antistoff-avhengig cellulær cytotoksisitet (ADCC). Anvendelsen av dobbelt-spesifikke antistoff som målrettes mot to separate tumor mediatorer vil sannsynligvis gi ytterligere nytte sammenlignet med en mono-spesifikk terapi.

I en annen utførelsesform er en DVD ifølge oppfinnelsen i stand til å binde VEGF og fosfatidylserin; VEGF og ErbB3; VEGF og PLGF; VEGF og ROBO4; VEGF og BSG2; VEGF og CDCP1; VEGF og ANPEP; VEGF og c-MET; HER-2 og ERB3; HER-2 og BSG2; HER-2 og CDCP1; HER-2 og ANPEP; EGFR og CD64; EGFR og BSG2; EGFR og CDCP1; EGFR og ANPEP; IGF1R og PDGFR; IGF1R og VEGF; IGF1R og CD20; CD20 og CD74; CD20 og CD30; CD20 og DR4; CD20 og VEGFR2; CD20 og CD52; CD20 og CD4; HGF og c-MET;

HGF og NRP1; HGF og fosfatidylserin; ErbB3 og IGF1R; ErbB3 og IGF1,2; c-Met og Her-2; c-Met og NRP1; c-Met og IGF1R; IGF1,2 og PDGFR; IGF1,2 og CD20; IGF1,2 og IGF1R; IGF2 og EGFR; IGF2 og HER2; IGF2 og CD20; IGF2 og VEGF; IGF2 og IGF1R; IGF1 og IGF2; PDGFRa og VEGFR2; PDGFRa og PLGF; PDGFRa og VEGF; PDGFRa og c-Met; PDGFRa og EGFR; PDGFRb og VEGFR2; PDGFRb og c-Met; PDGFRb og EGFR; RON og c-Met; RON og MTSP1; RON og MSP; RON og CDCP1; VGFR1 og PLGF; VGFR1 og RON; VGFR1 og EGFR; VEGFR2 og PLGF; VEGFR2 og NRP1; VEGFR2 og RON; VEGFR2 og DLL4; VEGFR2 og EGFR; VEGFR2 og ROBO4; VEGFR2 og CD55; LPA og S1P; EFB2 og RON; CTLA4 og VEGF; CD3 og EPCAM; CD40 og IL6; CD40 og IGF; CD40 og CD56; CD40 og CD70; CD40 og VEGFR1; CD40 og DR5; CD40 og DR4; CD40 og APRIL; CD40 og BCMA; CD40 og RANKL; CD28 og MAPG; CD80 og CD40; CD80 og CD30; CD80 og CD33; CD80 og CD74; CD80 og CD2; CD80 og CD3; CD80 og CD19; CD80 og CD4; CD80 og CD52; CD80 og VEGF; CD80 og DR5; CD80 og VEGFR2; CD22 og CD20; CD22 og CD80; CD22 og CD40; CD22 og CD23; CD22 og CD33; CD22 og CD74; CD22 og CD19; CD22 og DR5; CD22 og DR4; CD22 og VEGF; CD22 og CD52; CD30 og CD20; CD30 og CD22; CD30 og CD23; CD30 og CD40; CD30 og VEGF; CD30 og CD74; CD30 og CD19; CD30 og DR5; CD30 og DR4; CD30 og VEGFR2; CD30 og CD52; CD30 og CD4; CD138 og RANKL; CD33 og FTL3; CD33 og VEGF; CD33 og VEGFR2; CD33 og CD44; CD33 og DR4; CD33 og DR5; DR4 og CD137; DR4 og IGF1,2; DR4 og IGF1R; DR4 og DR5; DR5 og CD40; DR5 og CD137; DR5 og CD20; DR5 og EGFR; DR5 og IGF1,2; DR5 og IGFR, DR5 og HER-2, og EGFR og DLL4. Andre mål kombinasjoner inkluderer en eller flere medlemmer av EGF/erb-2/erb-3 familien. Andre mål (en eller flere) involvert i onkologiske sykdommer som DVD-Ig'er kan binde inkluderer, men er ikke begrenset til de valgt fra gruppen bestående av: CD52, CD20, CD19, CD3, CD4, CD8, BMP6, IL12A, IL1A, IL1B, IL2, IL24, INHA, TNF, TNFSF10, BMP6, EGF, FGF1, FGF10, FGF11, FGF12, FGF13, FGF14, FGF16, FGF17, FGF18, FGF19, FGF2, FGF20, FGF21, FGF22, FGF23, FGF3, FGF4, FGF5, FGF6, FGF7, FGF8, FGF9, GRP, IGF1, IGF2, IL12A, IL1A, IL1B, IL2, INHA, TGFA, TGFB1, TGFB2, TGFB3, VEGF, CDK2, FGF10, FGF18, FGF2, FGF4, FGF7, IGF1R, IL2, BCL2, CD164, CDKN1A, CDKN1B, CDKN1C, CDKN2A, CDKN2B, CDKN2C, CDKN3, GNRH1, IGFBP6, IL1A, IL1B, ODZ1, PAWR, PLG, TGFB1I1, AR, BRCA1, CDK3, CDK4, CDK5, CDK6, CDK7, CDK9, E2F1, EGFR, ENO1, ERBB2, ESR1, ESR2, IGFBP3, IGFBP6, IL2, INSL4, MYC, NOKS5, NR6A1, PAP, PCNA, PRKCQ, PRKD1, PRL, TP53, FGF22, FGF23, FGF9, IGFBP3, IL2, INHA, KLK6, TP53, CHGB, GNRH1, IGF1, IGF2, INHA, INSL3, INSL4, PRL, KLK6, SHBG, NR1D1, NR1H3, NR1I3, NR2F6, NR4A3, ESR1, ESR2, NR0B1, NR0B2, NR1D2, NR1H2, NR1H4, NR1I2, NR2C1, NR2C2, NR2E1, NR2E3, NR2F1, NR2F2, NR3C1, NR3C2, NR4A1, NR4A2, NR5A1, NR5A2, NR6A1, PGR, RARB, FGF1, FGF2, FGF6, KLK3, KRT1, APOC1, BRCA1, CHGA, CHGB, CLU, COL1A1, COL6A1, EGF, ERBB2, ERK8, FGF1, FGF10, FGF11, FGF13, FGF14, FGF16, FGF17, FGF18, FGF2, FGF20,

FGF21, FGF22, FGF23, FGF3, FGF4, FGF5, FGF6, FGF7, FGF8, FGF9, GNRH1, IGF1, IGF2, IGFBP3, IGFBP6, IL12A, IL1A, IL1B, IL2, IL24, INHA, INSL3, INSL4, KLK10, KLK12, KLK13, KLK14, KLK15, KLK3, KLK4, KLK5, KLK6, KLK9, MMP2, MMP9, MSMB, NTN4, ODZ1, PAP, PLAU, PRL, PSAP, SERPINA3, SHBG, TGFA, TIMP3, CD44, CDH1, CDH10, CDH19, CDH20, CDH7, CDH9, CDH1, CDH10, CDH13, CDH18, CDH19, CDH20, CDH7, CDH8, CDH9, ROBO2, CD44, ILK, ITGA1, APC, CD164, COL6A1, MTSS1, PAP, TGFB1I1, AGR2, AIG1, AKAP1, AKAP2, CANT1, CAV1, CDH12, CLDN3, CLN3, CYB5, CYC1, DAB2IP, DES, DNCL1, ELAC2, ENO2, ENO3, FASN, FLJ12584, FLJ25530, GAGEB1, GAGEC1, GGT1, GSTP1, HIP1, HUMCYT2A, IL29, K6HF, KAI1, KRT2A, MIB1, PART1, PATE, PCA3, PIAS2, PIK3CG, PPID, PR1, PSCA, SLC2A2, SLC33A1, SLC43A1, STEAP, STEAP2, TPM1, TPM2, TRPC6, ANGPT1, ANGPT2, ANPEP, ECGF1, EREG, FGF1, FGF2, FIGF, FLT1, JAG1, KDR, LAMA5, NRP1, NRP2, PGF, PLXDC1, STAB1, VEGF, VEGFC, ANGPTL3, BAI1, COL4A3, IL8, LAMA5, NRP1, NRP2, STAB1, ANGPTL4, PECAM1, PF4, PROK2, SERPINF1, TNFAIP2, CCL11, CCL2, CXCL1, CXCL10, CXCL3, CXCL5, CXCL6, CXCL9, IFNA1, IFNB1, IFNG, IL1B, IL6, MDK, EDG1, EFNA1, EFNA3, EFNB2, EGF, EFB4, FGFR3, HGF, IGF1, ITGB3, PDGFA, TEK, TGFA, TGFB1, TGFB2, TGFBR1, CCL2, CDH5, COL18A1, EDG1, ENG, ITGAV, ITGB3, THBS1, THBS2, BAD, BAG1, BCL2, CCNA1, CCNA2, CCND1, CCNE1, CCNE2, CDH1 (E-cadherin), CDKN1B (p27Kip1), CDKN2A (p16INK4a), COL6A1, CTNNB1 (b-catenin), CTSB (cathepsin B), ERBB2 (Her-2), ESR1, ESR2, F3 (TF), FOSL1 (FRA-1), GATA3, GSN (Gelsolin), IGFBP2, IL2RA, IL6, IL6R, IL6ST (glycoprotein 130), ITGA6 (a6 integrin), JUN, KLK5, KRT19, MAP2K7 (c-Jun), MKI67 (Ki-67), NGFB (NGF), NGFR, NME1 (NM23A), PGR, PLAU (uPA), PTEN, SERPINB5 (maspin), SERPINE1 (PAI-1), TGFA, THBS1 (trombospondin-1), TIE (Tie-1), TNFRSF6 (Fas), TNFSF6 (FasL), TOP2A (topoisomerase Iia), TP53, AZGP1 (sink-a-glycoprotein), BPAG1 (plectin), CDKN1A (p21Wap1/Cip1), CLDN7 (claudin-7), CLU (clusterin), ERBB2 (Her-2), FGF1, FLRT1 (fibronectin), GABRP (GABAa), GNAS1, ID2, ITGA6 (a6 integrin), ITGB4 (b 4 integrin), KLF5 (GC Boks BP), KRT19 (Keratin 19), KRTHB6 (hair-spesifikke type II keratin), MACMARCKS, MT3 (metallotionectin-III), MUC1 (mucin), PTGS2 (COKS-2), RAC2 (p21Rac2), S100A2, SCGB1D2 (lipofilin B), SCGB2A1 (mammaglobin 2), SCGB2A2 (mammaglobin 1), SPRR1B (Spr1), THBS1, THBS2, THBS4, og TNFAIP2 (B94), RON, c-Met, CD64, DLL4, PLGF, CTLA4, fofatidylserine, ROBO4, CD80, CD22, CD40, CD23, CD28, CD80, CD55, CD38, CD70, CD74, CD30, CD138, CD56, CD33, CD2, CD137, DR4, DR5, RANKL, VEGFR2, PDGFR, VEGFR1, MTSP1, MSP, EFB2, EFA1, EFA2, EpCAM, PGE2, NKG2D, LPA, SIP, APRIL, BCMA, MAPG, FLT3, PDGFR alfa, PDGFR beta, ROR1, PSMA, PSCA, SCD1, og CD59.

IV. Farmasøytiske sammensetninger

Oppfinnelsen tilveiebringer også farmasøytiske sammensetninger omfattende et bindende protein, ifølge oppfinnelsen og en farmasøytisk akseptabel bærer. De farmasøytiske sammensetningene omfattende bindende proteiner ifølge oppfinnelsen er for anvendelse i, men ikke begrenset til, å diagnosere, å detektere, eller å monitorere en forstyrrelse, i å forhindre, å behandle, å håndtere, eller å forbedre en forstyrrelse eller en eller flere symptomer derav, og/eller i forskning. I en spesifikk utførelsesform omfatter en sammensetning en eller flere bindende proteiner ifølge oppfinnelsen. I en annen utførelsesform omfatter den farmasøytiske sammensetningen en eller flere bindende proteiner ifølge oppfinnelsen og en eller flere profylaktiske eller terapeutiske midler andre enn bindende proteiner ifølge oppfinnelsen for å behandle en forstyrrelse. I en utførelsesform, de profylaktiske eller terapeutiske midler er kjent å være nyttig for eller som har blitt eller for tiden blir anvendt i forhindringen, behandling, håndtering, eller forbedring av en forstyrrelse eller en eller flere symptomer derav. I henhold til disse utførelsesformer, kan sammensetningen videre omfatte en bærer, fortynner eller eksipient.

De bindende proteinene ifølge oppfinnelsen kan bli inkorporert inn i farmasøytiske sammensetninger passende for administrasjon til et subjekt. Typisk omfatter den farmasøytiske sammensetningen et bindende protein ifølge oppfinnelsen og en farmasøytisk akseptabel bærer. Som anvendt heri, "farmasøytisk akseptabel bærer" inkluderer enhver og alle løsemidler, dispersjonsmedia, belegg, antibakteriske og antifungale midler, isotonisk og absorpsjon forsinkende midler, og lignende som er fysiologisk kompatible. Eksempler på farmasøytisk akseptable bærere inkluderer en eller flere av vann, saltløsning, Fosfatbufret saltløsning, dekstrose, glyserol, etanol og lignende, så vel som kombinasjoner derav. I noen utførelsesformer, isotoniske midler, for eksempel, sukkere, polyalkoholer slik som mannitol, sorbitol, eller natriumklorid, er inkludert i sammensetningen. Farmasøytisk akseptable bærere kan videre omfatte små mengder av hjelpestoffer slik som fuktende eller emulserende midler, konserveringsmidler eller buffere, som forbedrer holdbarheten eller effektiviteten til antistoffet eller antistoff-porsjonen.

Diverse levering systemer er kjent og kan bli anvendt for å administrere en eller flere antistoffer ifølge oppfinnelsen eller kombinasjonen av en eller flere antistoffer ifølge oppfinnelsen og et profylaktisk middel eller terapeutisk middel nyttig for forhindre, å håndtere, å behandle, eller forbedre en forstyrrelse eller en eller flere symptomer derav, f.eks., innkapsling i liposomer, mikropartikler, mikrokapsler, rekombinante celler i stand til å uttrykke antistoffet eller antistoff fragment, reseptor- mediert endocytose (se, f.eks., Wu og Wu, J. Biol. Chem. 262:4429-4432 (1987)), konstruksjon av en nukleinsyre som en del av en retroviral eller andre vektor, osv. Metoder for å administrere et profylaktisk eller terapeutisk middel ifølge oppfinnelsen inkluderer, men er ikke begrenset til, parenteral administrasjon (f.eks., intradermal, intramuskulær,

intraperitonalt, intravenøs og subkutan) , epidural-administrasjon, intratumoral administrasjon, og slimhinnel administrasjon (f.eks., intranasale og orale ruter). I tillegg, pulmonær administrasjon kan bli anvendt, f.eks., ved anvendelse av en inhalator eller forstøver, og formulering med et aerosolerende middel. Se, f.eks., U.S. Pat. Nr. 6,019,968; 5,985,320; 5,985,309; 5,934,272; 5,874,064; 5,855,913; 5,290,540; og 4,880,078; og PCT Publikasjonsnrs. WO 92/19244; WO 97/32572; WO 97/44013; WO 98/31346; og WO 99/66903. I en utførelsesform, et bindende protein ifølge oppfinnelsen, kombinasjonsterapi, eller en sammensetning ifølge oppfinnelsen er administrert ved å bruke Alkermes AIR® pulmonær legemiddel levering teknologi (Alkermes, Inc., Cambridge, Mass.). I en spesifikk utførelsesform, profylaktiske eller terapeutiske midler ifølge oppfinnelsen er administrert intramuskulært, intravenøst, intratumorert, oralt, intranasalt, pulmonært, eller subkutant. De profylaktiske eller terapeutiske midler kan bli administrert ved enhver praktisk rute, for eksempel ved infusjon eller bolus injisering, ved absorpsjon gjennom epithele eller mucokutane overflater (f.eks., oral slimhinne, rektal og intestinal slimhinne, osv.) og kan bli administrert sammen med andre biologisk aktive midler. Administrasjon kan være systemisk eller lokal.

I en utførelsesform kan spesifikk binding av antistoff-koblet karbon nanorør (CNTs) til tumorceller *in vitro*, etterfulgt av deres i høy grad spesifikke ablasjon med nær-infrarødt (NIR) lys bli anvendt for å målrette tumorceller. For eksempel kan biotinylerte polare lipider bli anvendt for å fremstille stabil, biokompatibel, noncytotoksisk CNT dispersjoner som deretter blir knyttet til en eller to forskjellige neutralite avidin-derivatisert DVD-Ig'er rettet mot en eller flere tumor antigener (f.eks., CD22) (Chakravarty, P. et al. (2008) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 105:8697-8702.

I en spesifikk utførelsesform kan det være ønskelig for å administrere de profylaktiske eller terapeutiske midler ifølge oppfinnelsen lokalt til området i behov av behandling; dette kan bli oppnådd ved, for eksempel, og ikke som en begrensning, lokal infusjon, ved injisering, eller ved hjelp av et implantat, nevnte implantat er i et porøst eller ikke-porøst material, inkludert membraner og matriser, slik som sialastiske membraner, polymerer, fibrøs matriser (f.eks., Tissuel®), eller kollagen matriser. I en utførelsesform, en effektiv mengde av en eller flere antistoffer ifølge oppfinnelsen antagonister er administrert lokalt til det påvirkede området til et subjekt for å forhindre, behandle, håndtere, og/eller forbedre en forstyrrelse eller et symptom derav. I en annen utførelsesform, en effektiv mengde av en eller flere antistoffer ifølge oppfinnelsen er administrert lokalt til det påvirkede området i kombinasjon med en effektiv mengde av en eller flere terapier (f.eks., en eller flere profylaktiske eller terapeutiske midler) andre enn et bindende protein ifølge oppfinnelsen til et subjekt for å forhindre, behandle, håndtere, og/eller forbedre en forstyrrelse eller en eller flere symptomer derav.

I en annen utførelsesform kan det profylaktiske eller terapeutiske middelet bli levert i et kontrollert frigjørelses eller vedvarende frigjørelses system. I en utførelsesform kan en pumpe bli anvendt for å oppnå kontrollert eller vedvarende frigjørelse (se Langer, supra; Sefton, 1987, CRC Crit. Ref. Biomed. Eng. 14:20; Buchwald et al., 1980, Surgery 88:507; Saudek et al., 1989, N. Engl. J. Med. 321:574). I en annen utførelsesform, polymermaterialer kan bli anvendt for å oppnå kontrollert eller vedvarende frigjørelse av terapiene ifølge oppfinnelsen (se f.eks., Medical Application of Contolled Release, Langer og Wise (eds.), CRC Pres., Boca Raton, Fla. (1974); Controlled Drug Bioavailability, Drug Product Design and Performance, Smolen og Ball (eds.), Wiley, Ny York (1984); Ranger og Peppas, 1983, J., Macromol. Sci. Rev. Macromol. Chem. 23:61; se også Levy et al., 1985, Science 228:190; I løpet av et al., 1989, Ann. Neurol. 25:351; Howard et al., 1989, J. Neurosurg. 7 1:105); U.S. Pat. Nr. 5,679,377; U.S. Pat. Nr. 5, 916,597; U. S. Pat. Nr. 5,912,015; U.S. Pat. Nr. 5,989,463; U.S. Pat. Nr. 5,128,326; PCT Publikasjonsnr. WO 99/15154; og PCT Publikasjonsnr. WO 99/20253. Eksempler på polymerer anvendt i formuleringer for vedvarende frigjørelse inkluderer, men er ikke begrenset til, poly(2-hydroksy etyl metakrylat), poly(metyl metakrylat), poly(akrylsyre), poly(etylen-co-vinyl acetat), poly(metakrylsyre), polyglykolider (PLG), polyanhydrider, poly(N- vinyl pyrrolidon), poly(vinylalkohol), polyakrylamid, poly(etylenglykol), polylaktider (PLA), poly(laktid-co-glykolider) (PLGA), og polyortoestere. I en utførelsesform er polymeren anvendt i en vedvarende frigjørelses formulering inert, fri for lekkbare urenheter, stabil ved lagring, steril, og bio-nedbrytbare. I nok en annen utførelsesform, et kontrollert eller vedvarende frigjørelses system kan bli plassert i nærhet av det profylaktiske eller terapeutiske målet, og må følgelig bare ha en del av systemisk dose (se, f.eks., Goodson, i Medical Application of Contolled Release, supra, vol. 2, pp. 115-138 (1984)).

Kontrollert frigjørelses systemer er diskutert i oversiktsartikkelen av Langer (1990, Science 249:1527-1533). Enhver teknikk kjent for fagmannen kan bli anvendt for å produsere vedvarende frigjørelse formuleringer omfattende en eller flere terapeutiske midler ifølge oppfinnelsen. Se, f.eks., U. S. Pat. Nr. 4,526, 938, PCT-publikasjon WO 91/05548, PCT-publikasjon WO 96/20698, Ning et al. , 1996, "Intratumoral Radioimmunotherapy of a Human Colon Cancer Xenograft By using a Sustained Release Gel," Radiotherapy &Oncology 39:179-189, Song et al., 1995, "Antibody-mediated Lung Targeting of Long-Circulating Emultions," PDA Journal of Pharmaceutical Science &Technology 50:372-397, Cleek et al., 1997, "Bio-degradeable Polymer Carriers for a bFGF Antibody for Cardiovascular Application," Pro. Int'l. Symp. Kontroll. Rel. Bioact. Mater. 24:853-854, og Lam et al., 1997, "Mikroencapsulation of Recombinant Humanized Monoclonal Antibody for Local Delivery," Proc. Int'l. Symp. Kontroll Rel. Bioact. Mater. 24:759- 760.

I en spesifikk utførelsesform, hvor sammensetningen ifølge oppfinnelsen er en nukleinsyre som koder for et profylaktisk eller terapeutisk middel, nukleinsyren kan bli administrert *in vivo* for å promotere uttrykking av dets kodete profylaktiske eller terapeutiske middel, ved å konstruere det som en del av en passende nukleinsyre-uttrykkingsvektor og å administrere det slik at det blir intracellulært, f.eks., ved anvendelse av en retroviral vektor (se U. S. Pat. Nr. 4,980,286), eller ved direkte injisering, eller ved anvendelse av mikropartikkelbombardering (f.eks., en genpistol; Biolistic, Dupont), eller belegging med lipider eller celleoverflate reseptorer eller transfeksjonsmidler, eller av å administrere det i sammenkobling til et homeoboks-liknende peptid som er kjent å gå inn i kjernen (se, f.eks., Joliot et al., 1991, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 88:1864-1868). Alternativt, en nukleinsyre kan bli introdusert intracellulært og inkorporert innenfor vertscelle DNA for uttrykking av homolog rekombinasjon.

En farmasøytisk sammensetning ifølge oppfinnelsen er formulert for å være kompatibel med dets tiltenkte administrasjonsform. Eksempler på adminstrasjonsformer inkluderer, men er ikke begrenset til, parenteral, f.eks., intravenøs, intradermal, subkutan, oral, intranasal (f.eks., inhalering), transdermal (f.eks., topisk), transmukosal, og rektal administrasjon. I en spesifikk utførelsesform, sammensetningen er formulert i henhold til rutinemessige prosedyrer som en farmasøytisk sammensetning tilpasset for intravenøs, subkutan, intramuskulær, oral, intranasal, eller topisk administrasjon til mennesker. Typisk, sammensetninger for intravenøs administrasjon er løsninger i steril isotonisk vandig buffer. Hvor nødvendig, kan sammensetningen inkludere også et oppløsningsmiddelog et lokalt anestetika slik som lignocamne for å lette smerte ved injiseringssetet.

Hvis sammensetningene ifølge oppfinnelsen skal bli administrert topisk kan sammensetningene bli formulert i form av en salve, krem, transdermalt plaster, lotion, gel, shampoo, spray, aerosol, løsning, emulsjon, eller andre form velkjent for en fagmann. Se, f.eks., Remingtons Pharmaceutical Sciences and Introduction to Pharmaceutical Dosage Forms, 19th ed., Mack Pub. Co., Easton, Pa. (1995). I en utførelsesform, for ikke-spraybare topiske doseformer, viskøs til halvfaste eller faste former omfattende en bærer eller en eller flere eksipienter kompatible med topisk anvendelse og som har en dynamisk viskositet større enn vann blir anvendt. Passende formuleringer inkluderer, uten begrensning, løsninger, suspensjoner, emulsjoner, kremer, ointments, pulvere, linimenter, salver, og lignende, som er, Hvis ønsket, sterilisert eller blandet med hjelpestoffer (f.eks., konserveringsmidler, stabilisatorer, fuktingsmidler, buffere, eller salter) for å påvirke diverse egenskaper, slik som, for eksempel, osmotisk trykk. Andre passende topiske doseformer inkluderer spraybare aerosol preparater hvori den aktive ingrediensen, i en utførelsesform, i kombinasjon med et fast stoff eller inert væskebærer, er pakket i en blanding med et trykksatt flyktig middel (f.eks., et drivmiddel på

gassform, slik som freon) eller i en klemmeflaske. Fuktighetsmidler eller fuktmidler kan også være tilsatt til farmasøytiske sammensetninger og doseformer hvis ønsket. Eksempler på slike ytterligere ingredienser er velkjent i teknikken.

Hvis metoden ifølge oppfinnelsen omfatter intranasal administrasjon av en sammensetning, kan sammensetningen bli formulert på en aerosol form, spray, tåke eller i form av dråper. Spesielt kan profylaktiske eller terapeutiske midler for anvendelse ifølge den foreliggende oppfinnelsen bli praktisk levert i form av en aerosolspray-presentasjon fra trykksatte beholdere eller en forstøver, med anvendelsen av et passende drivmiddel (f.eks., diklordifluormetan, triklorfluormetan, diklortetrafluoretan, karbondioksid eller annen passende gass). I tilfellet av en trykksatt aerosol kan doseenheten bli bestemt ved å tilveiebringe en ventil for å levere en oppmålt mengde. Kapsler og kassetter (bestående av, f.eks., gelatin) for anvendelse i en inhalator eller insufflator kan bli formulert inneholdende en pulverblanding av forbindelsen og en passende pulverbase slik som laktose eller stivelse.

Hvis metoden ifølge oppfinnelsen omfatter oral administrasjon, sammensetninger kan bli formulert oralt i form av tabletter, kapsler, cachets, gelcaps, løsninger, suspensjoner, og lignende. Tabletter eller kapsler kan bli fremstilt ved konvensjonelle måter med farmasøytisk akseptable eksipienter slik som bindende midler (f.eks., pregelatinert maisstivelse, polyvinylpyrrolidon, eller hydroksypropyl metylcellulose); fyllstoffer (f.eks., laktose, mikrokrystallinsk cellulose, eller kalsium hydrogen fosfat) ; smøremidler (f.eks., magnesiumstearat, talkum, eller silika); disintegreringsmidler (f.eks., potetstivelse eller natrium stivelse glykolat) ; eller fuktingsmidler (f.eks., natriumlaurylsulfat). Tablettene kan bli belagt ved metoder velkjent i teknikken. Væskepreparater for oral administrasjon kan ta form av, men ikke begrenset til, løsninger, siruper eller suspensjoner, eller de kan bli presentert som et tørt produkt for rekonstituering med vann eller andre passende vehikel før anvendelse. Slike væskepreparater kan bli fremstilt ved konvensjonelle måter med farmasøytisk akseptable tilsetningsstoffer slik som suspenderende midler (f.eks., sorbitol sirup, cellulose derivater, eller hydrogenerte spiselige fett); emulserende midler (f.eks., lecithin eller acacia); ikke-vandige vehikler (f.eks., mandelolje, oljeholdige estere, etyl alkohol, eller fraksjonerte vegetabilske oljer); og konserveringsmidler (f.eks., metyl eller propyl-p- hydroksybenzoater eller sorbinsyre). Preparatene kan også inneholde buffer salter, smaksstoffer, fargestoffer, og søtningsmidler ettersom det passer. Preparater for oral administrasjon kan bli passende formulert for treg frigjørelse, kontrollert frigjørelse, eller vedvarende frigjørelse av et profylaktisk eller terapeutisk middel(ler).

Metoden ifølge oppfinnelsen kan omfatte pulmonær administrasjon, f.eks., ved anvendelse av en inhalator eller forstøver, av en sammensetning formulert med et aerosolerende middel. Se, f.eks., U.S. Pat. Nr. 6,019,968; 5,985,320; 5,985,309; 5,934,272; 5,874,064; 5,855,913; 5,290,540; og 4,880,078; og PCT Publikasjonsnrs. WO 92/19244; WO 97/32572; WO

97/44013; WO 98/31346; og WO 99/66903. I en spesifikk utførelsesform, et bindende protein ifølge oppfinnelsen, kombinasjonsterapi, og/eller sammensetning ifølge oppfinnelsen er administrert ved å bruke Alkermes AIR® pulmonær legemiddel levering teknologi (Alkermes, Inc., Cambridge, Mass.).

Metoden ifølge oppfinnelsen kan omfatte administrasjon av en sammensetning formulert for parenteral administrasjon ved injisering (f.eks., ved bolus injisering eller kontinuerlig infusjon). Formuleringer for injisering kan bli presentert i enhetsdoseform (f.eks., i ampuller eller i multi-dose beholdere) med et tilsatt konserveringsmiddel. Sammensetningene kan ta slike former som suspensjoner, løsninger eller emulsjoner i oljeholdige eller vandige vehikler, og kan inneholde formuleringsmidler slik som suspenderende, stabiliserende og/eller dispergerende midler. Alternativt, den aktive ingrediensen kan bli i pulver form for rekonstituering med en passende vehikel (f.eks., sterilt pyrogenfritt vann) før anvendelse.

Metodene ifølge oppfinnelsen kan videre omfatte administrasjon av sammensetninger formulert som depot preparater. Slike langtvirkende formuleringer kan bli administrert ved implantering (f.eks., subkutant eller intramuskulært) eller ved intramuskulær injisering. Følgelig, for eksempel, sammensetningene kan bli formulert med passende polymere eller hydrofobe materialer (f.eks., som en emulsjon i en akseptabel olje) eller ionebytte-materiale, eller som svakt løselige derivater (f.eks., som et svakt løselig salt).

Metodene ifølge oppfinnelsen omfatter administrasjon av sammensetninger formulert som nøytrale- eller salt-former. Farmasøytisk akseptable salter inkluderer de dannet med anioner slik som de avledet fra saltsyre, fosforsyre, eddiksyre, oksalsyre, vinsyre, osv., og de dannet med kationer slik som de avledet fra natrium, kalium, ammonium, kalsium, jernhydroksider, isopropylamin, trietylamin, 2- etylamino etanol, histidin, prokain, osv.

Generelt er ingrediensene til sammensetningene levert enten hver for seg eller blandet sammen i enhetsdoseform, for eksempel, som et tørt frysetørket pulver eller vannfritt konsentrat i en hermetisk forseglet beholder slik at en ampulle eller dosepose indikerer mengden av aktivt middel. Hvor administrasjonsmodus er infusjon kan sammensetningen bli levert med en infusjonsflaske inneholdende sterilt farmasøytisk-grad vann eller saltløsning. Hvor administrasjonsmodus er ved injisering, en ampulle med sterilt vann for injisering eller saltløsning kan bli tilveiebrakt slik at ingrediensene kan bli blandet før administrasjon.

Spesielt tilveiebringer oppfinnelsen også at en eller flere av de profylaktiske eller terapeutiske midlene, eller farmasøytiske sammensetninger ifølge oppfinnelsen er pakket i en hermetisk forseglet beholder slik at en ampulle eller dosepose indikerer mengden av midlet. I en utførelsesform, en eller flere av de profylaktiske eller terapeutiske midlene, eller farmasøytiske sammensetninger ifølge oppfinnelsen er levert som et tørt sterilisert frysetørket pulver eller

vannfritt konsentrat i en hermetisk forseglet beholder og kan bli rekonstituert (f.eks., med vann eller saltløsning) til den passende konsentrasjonen for administrasjon til et subjekt. I en utførelsesform, en eller flere av de profylaktiske eller terapeutiske midler eller farmasøytiske sammensetninger ifølge oppfinnelsen er levert som et tørt sterilt frysetørket pulver i en hermetisk forseglet beholder ved en enhetsdose på minst 5 mg, minst 10 mg, minst 15 mg, minst 25 mg, minst 35 mg, minst 45 mg, minst 50 mg, minst 75 mg, eller minst 100 mg. De frysetørkede profylaktiske eller terapeutiske midler eller farmasøytiske sammensetninger ifølge oppfinnelsen bør bli lagret ved mellom 2° C. og 8° C. i dets originale beholder og de profylaktiske eller terapeutiske midlene, eller farmasøytiske sammensetninger ifølge oppfinnelsen bør bli administrert innenfor 1 uke, f.eks., innenfor 5 dager, inneni 72 timer, innenfor 48 timer, innenfor 24 timer, innenfor 12 timer, innenfor 6 timer, innenfor 5 timer, innenfor 3 timer, eller inneni 1 time etter å ha blitt rekonstituert. I en alternativ utførelsesform, en eller flere av de profylaktiske eller terapeutiske midler eller farmasøytiske sammensetninger ifølge oppfinnelsen er levert i væskeform i en hermetisk forseglet beholder som indikerer mengden og konsentrasjon av midlet. I en utførelsesform, væskeformen til den administrerte sammensetningen er levert i en hermetisk forseglet beholder minst 0.25 mg/ml, minst 0.5 mg/ml, minst 1 mg/ml, minst 2.5 mg/ml, minst 5 mg/ml, minst 8 mg/ml, minst 10 mg/ml, minst 15 mg/kg, minst 25 mg/ml, minst 50 mg/ml, minst 75 mg/ml eller minst 100 mg/ml. Væskeformen bør bli lagret ved mellom 2° C. og 8° C. i dets originale beholder.

De bindende proteinene ifølge oppfinnelsen kan bli inkorporert inn i en farmasøytisk sammensetning passende for parenteral administrasjon. I en utførelsesform, antistoffet eller antistoff-porsjoner vil bli fremstilt som en injiserbar løsning inneholdende 0.1-250 mg/ml-bindende protein. Den injiserbare løsningen kan bestå av enten en væske eller frysetørket doseform i en grå eller gul "ampulle", ampulle eller pre-fyllt sprøyte. Bufferen kan være L-histidin (1-50 mM), optimalt 5-10mM, ved pH 5.0 til 7.0 (optimalt pH 6.0). Andre passende buffere inkluderer men er ikke begrenset til, natriumsuksinat, natrium sitrat, natriumfosfat eller kaliumfosfat. Natriumklorid kan bli anvendt for å modifisere toksisiteten til løsningen ved en konsentrasjon på 0-300 mM (optimalt 150 mM for en væske dose form). Kryobeskyttelsesmidler kan bli inkludert for en frysetørket doseform, primært 0-10% sukrose (optimalt 0.5-1.0%). Andre passende kryobeskyttelsesmidler inkluderer trehalose og laktose. Fyllmidler kan bli inkludert for en frysetørket doseform, primært 1-10% mannitol (optimalt 2-4%). Stabilisatorer kan bli anvendt i både væske og frysetørket doseformer, primært 1-50 mM L-Metionine (optimalt 5-10 mM). Andre passende fyllmidler inkluderer glysin, arginin, kan bli inkludert som 0-0.05% polysorbat-80 (optimalt 0.005-0.01%). Ytterligere surfaktanter inkluderer men er ikke begrenset til polysorbat 20 og BRIJ surfaktanter. Den farmasøytiske sammensetningen omfattende de bindende proteinene ifølge oppfinnelsen fremstilt som en injiserbar løsning for parenteral

administrasjon, kan videre omfatte et middel nyttig som en adjuvant, slik som de anvendt for å øke absorpsjonen, eller dispersjonen av et terapeutisk protein (f.eks., antistoff). En spesielt nyttig adjuvant er hyaluronidase, slik som Hylenx® (rekombinant human hyaluronidase). Tilsetning av hyaluronidase i den injiserbare løsningen forbedrer human biotilgjengelighet etter parenteral administrasjon, spesielt subkutan administrasjon. Det tillater også for større volumer ved injiseringsstedet (dvs. større enn 1 ml) med mindre smerte og ubehag, og minimum tilfeller av injiseringssted-reaksjoner. (se WO2004078140, og US2006104968).

Sammensetningene ifølge denne oppfinnelsen kan være i en rekke former. Disse inkluderer, for eksempel, væske, halvfast og faste doseformer, slik som væskeløsninger (*f.eks.*, injiserbare og infusjonsbare løsninger), dispersjoner eller suspensjoner, tabletter, piller, pulvere, liposomer og stikkpiller. Den valgte formen er avhengig av den tilsiktede administrasjonsmodus og terapeutisk anvendelse. Typiske sammensetninger er i form av injiserbar eller infusjonerbare løsninger, slik som sammensetninger lignende de anvendt for passiv immunisering av mennesker med andre antistoffer. Det valgte administrasjonsmodus er parenteral (*f.eks.*, intravenøs, subkutan, intraperitonalt, intramuskulær). I en utførelsesform er antistoffet administrert ved intravenøs infusjon eller injisering. I en annen utførelsesform er antistoffet administrert ved intramuskulær eller subkutan injisering.

Terapeutiske sammensetninger må typisk være sterile og stabile under betingelsene for fremstilling og lagring. Sammensetningen kan bli formulert som en løsning, mikroemulsjon, dispersjon, liposome, eller andre ordnede strukturer passende for høy legemiddel konsentrasjon. Sterile injiserbar løsninger kan bli fremstilt ved å inkorporere den aktive forbindelsen (*dvs.*, antistoff eller antistoff-porsjonen) i den nødvendige mengden i et passende løsemiddel med en eller en kombinasjon av ingredienser listet opp heri, som nødvendig, etterfulgt av filtrert sterilisering. Generelt er dispersjoner fremstilt ved å inkorporere den aktive forbindelsen inn i en steril vehikel som inneholder et basisk dispersjonsmedium og de nødvendige andre ingredienser fra de listet opp heri. I tilfellet av sterile, frysetørkede pulvere for fremstillingen av sterile injiserbare løsninger, er fremstillingsmetodene vakuum tørking og spray-tørking som gir et pulver av den aktive ingrediensen pluss enhver ytterligere ønsket ingrediens fra en tidligere steril-filtrert løsning derav. Den riktige fluiditeten til en løsning kan bli opprettholdt, for eksempel, ved anvendelsen av et belegg slik som lecithin, ved opprettholdelsen av den nødvendige partikkelstørrelsen i tilfellet av dispersjon og ved anvendelsen av surfaktanter. Forlenget absorpsjon av injiserbare sammensetninger kan bli oppnådd ved inkludert, i sammensetningen, et middel som forsinker absorpsjon, for eksempel, monostearat-salter og gelatin.

De bindende proteinene ifølge den foreliggende oppfinnelsen kan bli administrert ved en rekke metoder kjent i teknikken, selv om det for mange terapeutiske anvendelser, i en utførelsesform, er ruten/administrasjonsmoduset subkutan injisering, intravenøs injisering eller

infusjon. Som det vil bli satt pris på av fagmannen, ruten og/eller administrasjonsmodus vil variere avhengig av de ønskede resultatene. I visse utførelsesformer, den aktive forbindelsen kan bli fremstilt med en bærer som vil beskytte forbindelsen mot rask frigjørelse, slik som en kontrollert frigjørelses formulering, inkludert implantater, transdermalt plastere, og mikroinnkapslet levering systemer. Bio-nedbrytbare, biokompatible polymerer kan bli anvendt, slik som etylen vinyl acetat, polyanhydrider, polyglykolsyre, kollagen, polyortoestere, og polymelkesyre. Mange metoder for fremstillingen av slike formuleringer er patentert eller generelt kjent for fagmannen. Se, *f.eks.*, *Sustained and Controlled Release Drug Delivery Systems*, J.R. Robinson, ed., Marcel Dekker, Inc., Ny York, 1978.

I visse utførelsesformer kan et bindende protein ifølge oppfinnelsen bli oralt administrert, for eksempel, med en inert fortynner eller en assimilerbar spiselig bærer. Forbindelsen (og andre ingredienser, hvis ønsket) kan også bli lukket inn i gelatinkapsel med hardt eller mykt skall, komprimert inn i tabletter, eller inkorporert direkte inn i subjektets diett. For oral terapeutisk administrasjon, forbindelsene kan bli inkorporert med eksipienter og anvendt i form av inntakbar tabletter, bukkal tabletter, troches, kapsler, eliksirer, suspensjoner, siruper, wafers, og lignende. For å administrere en forbindelse ifølge oppfinnelsen ved andre enn parenteral administrasjon, kan det være nødvendig å belegge forbindelsen med, eller ko-administrere forbindelsen med, et materiale for å forhindre dets inaktivering.

Supplerende aktive forbindelser kan også være inkorporert inn i sammensetningene. I visse utførelsesformer, et bindende protein ifølge oppfinnelsen er koformulert med og/eller koadministrert med en eller flere ytterligere terapeutiske midler som er nyttig for å behandle forstyrrelser med bindende protein ifølge oppfinnelsen. For eksempel, et bindende protein ifølge oppfinnelsen kan bli koformulert og/eller koadministrert med et eller flere ytterligere antistoffer som binder andre mål (*f.eks.*, antistoffer som binder andre cytokiner eller som binder celleoverflate-molekyler). Videre, en eller flere antistoffer ifølge oppfinnelsen kan bli anvendt i kombinasjon med to eller flere av de forutgående terapeutiske midler. Slike kombinasjonsterapier kan fordelaktig benytte seg av lavere doser av de administrerte terapeutiske midler, følgelig unngå mulig toksisiteter eller komplikasjoner assosiert med de forskjellige monoterapier.

I visse utførelsesformer, et bindende protein er knyttet til en halveringstid-forlengende vehikel kjent i teknikken. Slike vehikler inkluderer, men er ikke begrenset til, Fc-domenet, polyetylenglykol, og dekstran. Slike vehikler er beskrevet, f.eks., i U.S. Søknad Serienr. 09/428,082 og publisert PCT Søknad Nr. WO 99/25044.

I en spesifikk utførelsesform, nukleinsyresekvenser som koder for et bindende protein ifølge oppfinnelsen eller en annen profylaktisk eller terapeutisk middel ifølge oppfinnelsen er administrert for å behandle, forhindre, håndtere, eller forbedre en forstyrrelse eller en eller flere

symptomer derav ved hjelp av geneterapi. Geneterapi refererer til terapi utført ved administrasjonen til et subjekt av en uttrykt eller uttrykkbar nukleinsyre. I denne utførelsesformen ifølge oppfinnelsen produserer nukleinsyren deres kodete antistoff eller profylaktisk eller terapeutisk middel ifølge oppfinnelsen som medierer en profylaktisk eller terapeutisk virkning.

Enhver av metodene for geneterapi tilgjengelig i teknikken kan bli anvendt ifølge den foreliggende oppfinnelsen. For generelle oversiktsartikler om metodene for geneterapi, se Goldspiel et al., 1993, Clinical Pharmacy 12:488-505; Wu og Wu, 1991, Biotherapy 3:87-95; Tolstoshev, 1993, Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol. 32:573-596; Mulligan, Science 260:926- 932 (1993); og Morgan og Anderson, 1993, Ann. Rev. Biochem. 62:191-217; Kan, 1993, TIBTECH 11(5):155-215. Metoder vanligvis kjent i teknikken av rekombinant DNA teknologi som kan bli anvendt er beskrevet i Ausubel et al. (eds.), Current Protocolls In Molecular Biology, John Wiley &Sons, NY (1993); og Kriegler, Gene Transfer and Expression, A Laboratory Manual, Stockton Press, NY (1990). Detaljert beskrivelse av diverse metoder for geneterapi er vist i US20050042664 A1.

De bindende proteinene ifølge oppfinnelsen er nyttige i behandling av diverse sykdommer hvori målet som er gjenkjent ved de bindende proteinene er ødeleggende. Slike sykdommer inkluderer, men er ikke begrenset til, revmatoid artritt, osteoartritt, juvenil kronisk artritt, septisk artritt, Lyme artritt, psoriatisk artritt, reaktiv artritt, spondyloartropati, systemisk lupus erytematose, Crohns sykdom, ulcerativ kolitt, inflammatorisk tarmsykdom, insulin avhengig diabetes mellitus, tyroiditt, astma, allergiske sykdommer, psoriasis, dermatitt skleroderma, transplantat-mot-vert sykdom, organtransplantat-avvisning, akutt eller kronisk immunsykdom assosiert med organ-transplantasjon, sarkoidose, aterosklerose, disseminert intravaskulær koagulasjon, Kawasakis sykdom, Graves sykdom, nefrotisk syndrom, kronisk utmattelsessyndrom, Wegeners granulomatose, Henoch-Schoenlein purpurea, mikroskopisk vaskulitt av nyrene, kronisk aktiv hepatitt, uveitt, septisk sjokk, toksisk sjokk syndrom, sepsis syndrom, kakeksi, smittsomme sykdommer, parasittisk sykdommer, ervervet immunsvikt syndrom, akutt transvers myelitt, Huntingtons chorea, Parkinsons sykdom, Alzheimers sykdom, hjerneslag, primær biliær cirrhose, hemolytisk anemi, maligniteter, hjertesvikt, myokardielt infarkt, Addisons sykdom, sporadisk, polyglandulær mangel type I og polyglandulær mangel type II, Schmidts syndrom, voksen (akutt) respiratorisk distress syndrom, alopeki, alopeki areata, seronegativ artopati, artropati, Reiters sykdom, psoriatisk artropati, ulcerativ kolittisk artropati, enteropatisk synovitt, klamydia, yersinia og salmonella assosiert artropati, spondyloartopati, ateromatisk sykdom/arteriosklerose, atopisk allergi, autoimmun bulløs sykdom, pemfigus vulgaris, pemfigus foliaceus, pemfigoid, lineær IgEn sykdom, autoimmun hemolytisk anemi, Coombs positiv hemolytisk anemi, ervervet pernisiøs anemi, juvenil pernisiøs anemi, myalgisk encefalitt/Royal Fri Sykdom, kronisk mucokutan candidiasis, storcelle arteritt, primær

skleroserende hepatitt, kryptogenisk autoimmun hepatitt, Ervervet Immunsvikt Sykdom Syndrom, Ervervet Immunsvikt Beslektede Sykdommer, Hepatitt B, Hepatitt C, vanlig variabel immunsvikt (vanlig variabel hypogammaglobulinemi), dilatert kardiomyopati, kvinnelig infertilitet, eggstokksvikt, prematur eggstokksvikt, fibrotisk lungesykdom, kryptogen fibroserende alveolitt, post-inflammatorisk interstitiell lungesykdom, interstitiell pneumonitt, bindevevssykdom assosiert interstitiell lungesykdom, blandet bindevevssykdom assosiert lungesykdom, systemisk sklerose assosiert interstitiell lungesykdom, revmatoid artritt assosiert interstitiell lungesykdom, systemisk lupus erytematose assosiert lungesykdom, dermatomiositt/polymyositt assosiert lungesykdom, Sjögrens sykdom assosiert lungesykdom, ankyloserende spondylitt assosiert lungesykdom, vaskulitisk diffus lungesykdom, hemosiderose assosiert lungesykdom, legemiddelindusert interstitiell lungesykdom, fibrose, strålingsfibrose, bronkiolitt obliterans, kronisk eosinofil lungebetennelse, lymfocytisk infiltrativ lungesykdom, postsmittsom interstitiell lungesykdom, giktisk artritt, autoimmun hepatitt, type-1 autoimmun hepatitt (klassisk autoimmun eller lupoid hepatitt), type-2 autoimmun hepatitt (anti-LKM antistoff hepatitt), autoimmun mediert hypoglykemi, type B insulinresistens med acanthosis nigricans, hypoparatyroidisme, akutt immunsykdom assosiert med organ-transplantasjon, kronisk immunsykdom assosiert med organ-transplantasjon, osteoarthrose, primær skleroserende kolangitt, psoriasis type 1, psoriasis type 2, idiopatisk leukopeni, autoimmun neutropeni, nyresykdom NOS, glomerulonefritt, mikroskopisk vasulitt av nyrene, lyme sykdom, diskoid lupus erytematose, mannlig infertilitet idiopatisk eller NOS, sædcelle autoimmunitet, multippel sklerose (alle undertyper), sympatisk oftalmi, pulmonær hypertensjon sekundært til bindevevssykdom, Goodpastures syndrom, pulmonær manifestasjon av polyarteritt nodosa, akutt revmatisk feber, revmatoid spondylitt, Stills sykdom, systemisk sklerose, Sjörgrens syndrom, Takayasus sykdom/arteritt, autoimmun trombocytopeni, idiopatisk trombocytopeni, autoimmun tyroid sykdom, hypertyroidisme, goitrous autoimmun hypotyroidisme (Hashimotos sykdom), atrofisk autoimmun hypotyroidisme, primært myxoødem, facogen uveitt, primær vaskulitt, vitiligo akutt leversykdom, kroniske leversykdommer, alkoholisk cirrhose, alkohol-indusert leverskade, koleosatatis, idiosynkratisk leversykdom, Legemiddelindusert hepatitt, Ikke-alkoholisk Steatohepatitt, allergi og astma, gruppe B streptococci (GBS) infeksjon, mentale forstyrrelser (*f.eks.*, depressjon og schizofreni), Th2 Type og Th1 Type medierte sykdommer, akutt og kronisk smerte (forskjellige typer av smerte), og kreftsykdommer slik som lunge, bryst, mage, blære, tykktarm, bukspyttkjertel, eggstokk, prostata og rektal kreft og hematopoietiske maligniteter (leukemi og lymfom), Abetalipoprotemi, Acrocyanose, akutte og kroniske parasittisk eller smittsomme prosesser, akutt leukemi, akutt lymfoblastisk leukemi (ALLE), akutt myeloid leukemi (AML), akutt eller kronisk bakteriell infeksjon, akutt pancreatitt, akutt nyresvikt, adenokarsinomer, luftige ektopiske slag, AIDS demens-kompleks, alkohol-indusert hepatitt, allergisk konjunktivitt, allergisk kontaktdermatitt, allergisk rinitt, allotransplantat-avvisning, alfa-l- antitrypsin mangel, amyotrofisk lateral sklerose,

anemi, angina pectoris, fremre horncelle degenerering, anti cd3 terapi, antifosfolipid syndrom, anti-reseptor hypersensitivitetsreaksjoner, aordiske og perifere aneurismer, aortadisseksjon, arteriell hypertensjon, arteriosklerose, arteriovenøs fistula, ataksi, atriell flimmer (vedvarende eller paroksysmal), atriell flutter, atrioventrikulær blokkering, B-celle lymfom, beintransplantat avvisning, beinmargtransplantat (BMT) avvisning, "bundle branch"-blokkering, Burkitts lymfom, Brannskader, kardielle arytmier, kardiell lammelsessyndrom, kardielle tumorer, kardiomyopati, kardiopulmonær bypass inflammasjonsrespons, brusktransplantat-avvisning, cerebellære kortikale degenerasjoner, cerebellære forstyrrelser, kaotisk eller multifokal atriell takykardi, kjemoterapi-assosierte forstyrrelser, chromic myelocytisk leukemi (CML), kronisk alkoholisme, kroniske inflammatoriske patologier, kronisk lymfocytisk leukemi (CLL), kronisk obstruktiv pulmonær sykdom (COPD), kronisk salisylatforgiftning, kolorektalt karsinom, kongestiv hjertesvikt, konjunktivitt, kontaktdermatitt, cor pulmonale, koronær arteriesykdom, Creutzfeldt-Jakob sykdom, kultur-negativ sepsis, cystisk fibrose, cytokinterapi-assosierte forstyrrelser, Demens pugilistica, demyelinerende sykdommer, dengue hemoragisk feber, dermatitt, dermatologiske tilstander, diabetes, diabetes mellitus, diabetisk ateriosklerotisk sykdom, Diffus Lewy-kropp sykdom, dilatert kongestiv kardiomyopati, forstyrrelser i det basale ganglia, Downs Syndrom i middelalder, legemiddel- indusert bevegelsesforstyrrelser indusert av legemidler som blokkerer CNS dopaminreseptorer, legemiddelfølsomhet, eksem, encefalomyelitt, endokarditt, endokrinopati, epiglottitt, epstein-barr virus infeksjon, erytromelalgi, ekstrapyramidal og cerebellære forstyrrelser, familiær hematofagocytisk lymfohistiocytose, føtalt tymus implantat avvisning, Friedreichs ataksi, funksjonell perifere arterielle forstyrrelser, sopp sepsis, gass-koldbrann, mavesår, glomerulær nefritt, transplantat-avvisning av ethvert organ eller vev, gram-negativ sepsis, gram-positiv sepsis, granulomar på grunn av intracellulære organismer, hårcelle leukemi, Hallerrorden-Spatz sykdom, hashimotos tyroiditt, høyfeber, hjertetransplantasjonsavvisning, hemakromatose, hemodialyse, hemolytisk uremisk syndrom/trombolytisk trombocytopenisk purpura, blødning, hepatitt (A), "His bundle" arytmier, HIV infeksjon/HIV nevropati, Hodgkins sykdom, hyperkinetiske bevegelsesforstyrrelser, hypersensibilitetsreaksjoner, hypersensitivitet pneumonitt, hypertensjon, hypokinetiske bevegelsesforstyrrelser, hypothalamus-hypofyse-binyre-akse evaluering, idiopatisk Addisons sykdom, idiopatisk pulmonær fibrose, antistoff-mediert cytotoksisitet, Asteni, infantil spinal muskulær atrofi, inflammasjon av aorta, influensa a, ioniserende strålingseksponering, iridocyclitt/uveitt/optisk neuritt, iskemi- reperfusjon skade, iskemisk hjerneslag, juvenil revmatoid artritt, juvenil spinal muskulær atrofi, Kaposis sarkom, nyretransplantasjon avvisning, legionella, leishmaniasis, spedalskhet, lesjoner på det kortikospinale systemet, lipødem, levertransplantasjon avvisning, lymfederma, malaria, malignamt Lymfom, malignant histiocytose, malignant melanom, meningitt, meningococcemia, metabolisk/idiopatisk, migrene hodepine, mitokondriell multisystem forstyrrelse, blandet bindevevssykdom, monoklonal gammopati, multippel myelom,

multippel-systemdegenerasjoner (Mencel Dejerine- Thomas Shi-Drager og Machado-Josef), myAsteni gravis, mycobacterium avium intracellulære, mycobacterium tuberculose, myelodyplastisk syndrom, myokardielt infarkt, myokardielle iskemiske forstyrrelser, nasofaryngeal karsinom, neonatal kronisk lungesykdom, nefritt, nefrose, nevrodegenerativ sykdommer, nevrogene I muskulære atrofier , neutropen feber, ikke- hodgkins lymfom, okklusjon av den abdominale aorta og dens sidegrener, okklusive arterielle forstyrrelser, okt3 terapi, orkitt/epidydimitt, orkitt/vasektomi-reversering prosedyrer, organomegali, osteoporose, bukspyttkjertel transplantasjon avvisning, bukspyttkjertel karsinom, paraneoplastisk syndrom/hyperkalsemi av ondartethet, paratyroid transplantasjon avvisning, inflammatorisk bekken sykdom, perennial rinitt, perikardiell sykdom, perifer aterlosklerotisk sykdom, perifere vaskulære forstyrrelser, peritonitt, pernisiøs anemi, pneumocystis carinii lungebetennelse, lungebetennelse, POEMS syndrom (polynevropati, organomegali, endokrinopati, monoklonal gammopati, og hudforandringssyndrom), postperfusjonssyndrom, post pump syndrom, post-MI kardiotomi syndrom, preeklampsi, Progressiv supranukleær parese, primær pulmonær hypertensjon, strålingsterapi, Raynauds fenomen og sykdom, Raynouds sykdom, Refsums sykdom, jevnlig smal QRS takykardi, renovaskulær hypertensjon, reperfusjon skade, restriktiv kardiomyopati, sarkomer, skleroderma, senil chorea, Senil Demens av Lewy-legemer typen, seronegativ artropatier, sjokk, sigd-celle anemi, hud allotransplantat-avvisning, hudforandringssyndrom, liten tarm transplantasjon avvisning, faste tumorer, spesifikke arytmier, spinal ataksi, spinocerebellære degenerasjoner, streptokokk myositt, strukturelle lesjoner på lillehjernen, Subakutt skleroserende panencefalitt, Synkope, syfilis i det kardiovaskulære systemet, systemisk anafalaksi, systemisk inflammatorisk respons syndrom, systemisk utbrudd juvenil revmatoid artritt, T-celle eller FAB ALLE, Telangiektasi, tromboangitt obliterans, trombocytopeni, toksisitet, transplantasjoner, traumer/blødning, type III hypersensitivitetsreaksjoner, type IV hypersensitivitet, ustabil angina, uremi, urosepsis, urtikaria, valvulære hjertesykdommer, åreknuter, ,vaskulitt, venøse sykdommer, venøs trombose, ventrikulært flimmer, virale infeksjoner og soppinfeksjoner, vital encefalitt/aseptisk meningitt, vital-assosiert hemafagocytisk syndrom, Wernicke- Korsakoff syndrom, Wilsons sykdom, xenotransplantat-avvisning av ethvert organ eller vev. (se Peritt et al. PCT publikasjonsnr. WO2002097048A2, Leonard et al., PCT publikasjonsnr. WO9524918 A1, og Salfeld et al., PCT publikasjonsnr. WO00/56772A1).

DVD-Ig'ene ifølge oppfinnelsen kan også behandle en eller flere av de følgende sykdommer: Akutte koronære syndromer, Akutt Idiopatisk Polyneuritt, Akutt Inflammatorisk Demyelinerende Polyradiculonevropati, Akutt iskemi, Voksen Stills Sykdom, Alopeki areata, Anafylakse, Anti-Fosfolipid Antistoff Syndrom, Aplastisk anemi, Arteriosklerose, Atopisk eksem, Atopisk dermatitt, Autoimmun dermatitt, Autoimmun forstyrrelse assosiert med

Streptococcus infeksjon, Autoimmun hørseltap, Autoimmun Lymfoproliferativt syndrom (ALPS), Autoimmun myokarditt, autoimmun trombocytopeni (AITP), Blefaritt, Bronchiectasis, Bulløs pemfigoid, Kardiovaskulær Sykdom, Katastrofisk Antifosfolipid Syndrom, Cøliac Sykdom, Cervikal Spondylose, Kronisk iskemi, Cicatricial pemfigoid, Klinisk isolert Syndrom (CIS) med Risiko for Multippel sklerose, Konjunktivitt, Barndom Utbrudd Psykiatrisk Forstyrrelse, Kronisk obstruktiv pulmonær sykdom (COPD), Dacryocystitt, dermatomiositt, Diabetisk retinopati, Diabetes mellitus, Skiveprolaps, Skiveprolaps, Legemiddel indusert immun hemolytisk anemi, Endokarditt, Endometriose, endoftalmitt, , Episkleritt, Erytema multiforme, Erytema multiforme major, Svangerskaps pemfigoid, Guillain-Barré Syndrom (GBS), Høyfeber, Hughes Syndrom , Idiopatisk Parkinsons Sykdom, idiopatisk interstitiell lungebetennelse, IgE-mediert Allergi, Immun hemolytisk anemi, Inclusion Body Myositt, Smittsom okkulær inflammatorisk sykdom, Inflammatorisk demyelinerende sykdom, Inflammatorisk hjertesykdom, Inflammatorisk nyresykdom, IPF/UIP, Iritt, Keratitt, Keratojuntivitt sicca, Kussmaul sykdom eller Kussmaul-Meier Sykdom, Landrys Paralyse, Langerhans Celle Histiocytose, Livedo reticularis, Makulær Degenerering, maligniteter, Mikroskopisk Polyangiitt, Morbus Bechterev, Motornevron Forstyrrelser, Slimhinne pemfigoid, Multippel organsvikt, MyAsteni Gravis, Myelodysplastisk Syndrom, Myokarditt, Nerverot Forstyrrelser, Nevropati, ikke-A ikke-B Hepatitt, Optisk Neuritt, Osteolyse, Eggstokk kreft, Pauciartikulær JRA, perifer arterie okklusiv sykdom (PAOD), perifer vaskulær sykdom (PVD), perifer arterie sykdom (PAD), Flebitt, Polyarteritt nodosa (eller periarteritt nodosa), Polykondritt, Polymyalgi Revmatiska, Poliose, Polyartikulær JRA, Polyendokrin Mangel Syndrom, Polymyositt, polymyalgi revmatiska (PMR), Post-Pump Syndrom, primær parkinsonisme, prostata og rektal kreft og hematopoietiske maligniteter (leukemi og lymfom), Prostatitt, Ren rødcelle aplasi, Primær Binyrer Utilstrekkelighet, Tilbakevendende Neuromyelitt Optica, Restenose, Revmatisk hjertesykdom, SAFO (synovitt, akne, pustulose, hyperostose, og osteitt), Skleroderma, Sekundær Amyloidose, Sjokklunge, Skleritt, Isjas, Sekundær Binyrer Utilstrekkelighet, Silikonassosiert bindevevssykdom, Sneddon-Wilkinson Dermatose, spondilitt ankylosans, Stevens-Johnson Syndrom (SJS), Systemisk inflammatorisk respons syndrom, Temporær arteritt, toksoplasmisk retinitt, toksisk epidermal nekrolyse, Transvers myelitt, TRAPS (Tumornekrose-faktor Reseptor, Type 1 allergisk reaksjon, Type II Diabetes, Urtikaria, Vanlig interstitiell lungebetennelse (UIP), Vaskulitt, Vernal konjunktivitt, viral retinitt, Vogt-Koyanagi-Harada syndrom (VKH syndrom), Våt makulær degenerering, og Sårtilheling.

De bindende proteinene ifølge oppfinnelsen kan bli anvendt for å behandle mennesker som lider av autoimmunsykdommer, spesielt de assosiert med inflammasjon, inkludert, revmatoid artritt, spondylitt, allergi, autoimmun diabetes, autoimmun uveitt. I en utførelsesform, de bindende proteinene ifølge oppfinnelsen eller antigen-bindende porsjoner derav, blir anvendt for å

behandle revmatoid artritt, Crohns sykdom, multippel sklerose, insulin avhengig diabetes mellitus og psoriasis.

I en utførelsesform, sykdommer som kan bli behandlet eller diagnostisert med sammensetningene og metodene ifølge oppfinnelsen inkluderer, men er ikke begrenset til, primære og metastatiske kreftsykdommer, inkludert karsinomer i bryst, tykktarm, rektum, lunge, orofarynks, hypofarynks, øsofagus, mave, bukspyttkjertel, lever, galleblære og galleganger, tynntarmen, urinveien (inkludert nyre, blære og urothelium), kvinnelige kjønnsorgan (inkludert livmorhals, livmor og eggstokker så vel som choriokarsinom og Trofoblastisk svangerskapssykdom), manlige kjønnsorgan (inkludert prostata, sædblærer, testikler og kimcellesvulster), endokrine kjertler (inkludert skjoldbruskkjertelen, binyrene og hypofysen), og hud, så vel som hemangiomer, melanomer, sarkomer (inkludert de som stammer fra bein og myke vev så vel som Kaposis sarkom), tumorer i hjernen, nerver, øyne, og hjernehinnene (inkludert astrocytomer, gliomer, glioblastomer, retinoblastomer, nevromer, nevroblastomer, Schwannomer, og meningiomer), faste tumorer oppstående fra hematopoietiske maligniteter slik som leukemier og lymfomer (både Hodgkins og ikke-Hodgkins lymfomer).

I en utførelsesform blir antistoffene ifølge oppfinnelsen, eller antigen-bindende porsjoner derav, anvendt for å behandle kreft eller i forhindringen av metastaser fra tumorene beskrevet heri enten når anvendt alene eller i kombinasjon med radioterapi og/eller andre kjemoterapeutiske midler.

Antistoffene ifølge oppfinnelsen, eller antigen-bindende porsjoner derav, kan bli kombinert med midler som inkluderer men er ikke begrenset til, antineoplastisk midler, radioterapi, kjemoterapi slik som DNA-alkylerende midler, cisplatin, karboplatin, anti-tubulin midler, paclitaxel, docetaxel, taxol, doksorubicin, gemcitabine, gemzar, anthrasyklins, adriamycin, topoisomerase I inhibitorer, topoisomerase II inhibitorer, 5-fluoruracil (5-FU), leucovorin, irinotecan, reseptor tyrosinkinase-inhibitorer (f.eks., erlotinib, gefitinib), COKS-2 inhibitorer (f.eks., celecoxib), kinase-inhibitorer, og siRNA'er.

Et bindende protein ifølge oppfinnelsen kan også bli administrert med en eller flere ytterligere terapeutiske midler nyttige i behandlingen av diverse sykdommer.

Et bindende protein ifølge oppfinnelsen kan bli anvendt alene eller i kombinasjon for å behandle slike sykdommer. Det bør bli forstått at de bindende proteinene kan bli anvendt alene eller i kombinasjon med et ytterligere middel, f.eks., et terapeutisk middel, nevnte ytterligere middel som blir valgt av fagmannen for dets tiltenkte formål. For eksempel, det ytterligere middelet kan bli et terapeutisk middel kjent i teknikken som å være nyttig for å behandle sykdommen eller tilstand som blir behandlet av antistoffet ifølge den foreliggende oppfinnelsen.

Det ytterligere middelet kan også være et middel som formidler en nyttig egenskap til den terapeutiske sammensetningen f.eks., et middel som påvirker viskositeten til sammensetningen.

Det skal videre forstås at kombinasjonene som skal være inkludert innenfor denne oppfinnelsen er de kombinasjoner nyttig for deres påtenkte formål. Midlene angitt nedenfor er illustrerende for formål og ikke ment å være begrensende. Kombinasjonene, som er en del ifølge denne oppfinnelsen, kan være antistoffene ifølge den foreliggende oppfinnelsen og minst ett ytterligere middel valgt fra listene nedenfor. Kombinasjonen kan også inkludere mer enn ett ytterligere middel, f.eks., to eller tre ytterligere midler hvis kombinasjonen slik den er ved den dannede sammensetningen kan utføre dens tilsiktede funksjon.

Kombinasjoner for å behandle autoimmune og inflammatoriske sykdommer er ikke-steroide anti-inflammatorisk legemiddel(midler) også referert til som NSAID'er som inkluderer legemidler som ibuprofen. Andre kombinasjoner er kortikosteroider inkludert prednisolon; de velkjente bivirkningene av steroidbruk kan bli redusert eller til og med eliminert ved å trappe ned den nødvendige steroiddosen når man behandler pasienter i kombinasjon med the DVD-Ig'er ifølge denne oppfinnelsen. Ikke-begrensende eksempler på terapeutiske midler for revmatoid artritt med som et antistoff, eller antistoff-porsjonen, ifølge oppfinnelsen kan bli kombinert inkluderer de følgende: cytokin-dempende anti-inflammatorisk legemiddel(midler) (CSAIDs); antistoffer til eller antagonister ovenfor andre humane cytokiner eller vekstfaktorer, for eksempel, TNF, LT, IL-1, IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-15, IL-16, IL-18, IL-21, IL-23, interferoner, EMAP-II, GM-CSF, FGF, og PDGF. Bindende proteiner ifølge oppfinnelsen, eller antigen-bindende porsjoner derav, kan bli kombinert med antistoffer til celleoverflate-molekyler slik som CD2, CD3, CD4, CD8, CD25, CD28, CD30, CD40, CD45, CD69, CD80 (B7.1), CD86 (B7.2), CD90, CTLA eller deres ligander inkludert CD154 (gp39 eller CD40L).

Kombinasjoner av terapeutiske midler kan interferere ved forskjellige punkter i den autoimmune, og etterfølgende inflammatoriske, kaskaden; eksempler inkluderer TNF antagonister som kimeriske, humaniserte eller humane TNF antistoffer, Adalimumab, (PCT Publikasjonsnr. WO 97/29131), CA2 (Remicade™), CDP 571, og løselig p55 eller p75 TNF reseptorer, derivater derav, (p75TNFR1gG (Enbrel™) eller p55TNFR1gG (Lenercept), og også TNFα konverterende enzym (TACE) inhibitorer; tilsvarende IL-1 inhibitorer (Interleukin-1-konverterende enzym-inhibitorer, IL-1RA osv.) kan være effektive av den samme grunnen. Andre kombinasjoner inkluderer Interleukin 11. Nok en annen kombinasjon inkluderer nøkkelspillere til autoimmunresponsen som kan virke parallelt til, avhengig av eller i samarbeid med IL-12 funksjon; spesielt er IL-18 antagonister inkludert IL-18 antistoffer eller løselig IL-18 reseptorer, eller IL-18-bindende proteiner. Det har blitt vist at IL-12 og IL-18 har overlappende men distinkte funksjoner og en kombinasjon av antagonister ovenfor begge kan være mest effektivt. Nok en annen kombinasjon er ikke-uttømmende anti-CD4 inhibitorer. Ytterligere andre

kombinasjoner inkluderer antagonister ovenfor den kostimulerende signalveien CD80 (B7.1) eller CD86 (B7.2) inkludert antistoffer, løselig reseptorer eller antagonistiske ligander.

De bindende proteinene ifølge oppfinnelsen kan også bli kombinert med midler, slik som metotrexat, 6-MP, azatioprin sulfasalazin, mesalazin, olsalazin klorkinin/hydroksyklorkin, pencillamin, aurotiomalate (intramuskulær og oral), azatioprin, cochicine, kortikosteroider (oral, inhalert og lokal injisering), beta-2 adrenoreceptor agonister (salbutamol, terbutalin, salmeteral), xanthiner (teofyllin, aminofyllin), kromoglykat, nedokromil, ketotifen, ipratropium og oksitropium, syklosporin, FK506, rapamycin, mykofenolat mofetil, leflunomid, NSAID'er, for eksempel, ibuprofen, kortikosteroider slik som prednisolon, fosfodiesterase-inhibitorer, adenosin-agonister, antitrombotiske midler, komplement inhibitorer, adrenergiske midler, midler som interfererer med signalisering av proinflammatoriske cytokiner slik som TNF-αeller IL-1 (f.eks.,IRAK, NIK, IKK , p38 eller MAP kinase-inhibitorer), IL-1β konverterende enzym-inhibitorer, TNFαkonverterende enzym (TACE) inhibitorer, T-celle signalliserings-inhibitorer slik som kinase-inhibitorer, metalloproteinase inhibitorer, sulfasalazin, azatioprin, 6-merkaptopuriner, angiotensin-konverterende enzym-inhibitorer, løselige cytokin-reseptorer og derivater derav (f.eks.,løselig p55 eller p75 TNF reseptorer og derivatene p75TNFRIgG (Enbrel™ og p55TNFRIgG (Lenercept)), sIL-1RI, sIL-1RII, sIL-6R), anti-inflammatoriske cytokiner (f.eks.,IL-4, IL-10, IL-11, IL-13 og TGFβ), celecoxib, folsyre, hydroksyklorkinsulfat, rofecoxib, etanrcept, infliximab, naproksen, valdecoxib, sulfasalazin, metylprednisolon, meloksicam, metylprednisolon acetat, gull natrium tiomalat, aspirin, triamcinolon acetonid, propoksyfen napsylat/apap, folat, nabumeton, diklofenac, piroksicam, etodolac, diklofenac natrium, oksaprozin, oksycodon hcl, hydrocodon bitartrat/apap, diklofenac natrium/misoprostol, fentanyl, anakinra, human rekombinant, tramadol hcl, salsalat, sulindac, cyanocobalamin/fa/pyridoksin, acetaminofen, natrium alendronat, prednisolon, morfinsulfat, lidokain hydroklorid, indometacin, glukosamin sulf/kondroitin, amitriptylin hcl, sulfadiazin, oksycodon hcl/acetaminofen, olopatadin hcl, misoprostol, natrium naproksen, omeprazol, syklofosfamid, rituximab, IL-1 TRAP, MRA, CTLA4-IG, IL-18 BP, anti-IL-18, Anti-IL15, BIRB-796, SCIO-469, VX-702, AMG-548, VX-740, Roflumilast, IC-485, CDC-801, og Mesopram. Kombinasjoner inkluderer metotrexat eller leflunomid og i moderate eller alvorlige tilfeller av revmatoid artritt, syklosporin.

Ikke-begrensende ytterligere midler som også kan bli anvendt i kombinasjon med et bindende protein for å behandle revmatoid artritt inkluderer, men er ikke begrenset til, de følgende: ikke-steroide anti-inflammatorisk legemiddel(midler) (NSAID'er); cytokin-dempende anti-inflammatorisk legemiddel(midler) (CSAIDs); CDP-571/BAY-10-3356 (humanisert anti-TNFα antistoff; Celltech/Bayer); cA2/infliximab (kimeriske anti-TNFα antistoff; Centocor); 75 kdTNFR-IgG/etanrcept (75 kD TNF reseptor-IgG fusjonsprotein; Immunex; se *f.eks., Arthritis & Rheumatism* (1994) Vol. 37, S295; *J. Invest. Med.* (1996) Vol. 44, 235A); 55 kdTNF-IgG (55 kD

TNF reseptor-IgG fusjonsprotein; Hoffmann-LaRoche); IDEK-CE9.1/SB 210396 (ikke-uttømmende primatized anti-CD4 antistoff; IDEK/SmithKline; se *f.eks.*, *Arthritis & Rheumatism* (1995) Vol. 38, S185); DAB 486-IL-2 og/eller DAB 389-IL-2 (IL-2 fusjonsproteiner; Seragen; se *f.eks.*, *Arthritis & Rheumatism* (1993) Vol. 36, 1223); Anti-Tac (humanisert anti-IL-2Rα; Protein Design Labs/Roche); IL-4 (anti-inflammatorisk cytokin; DNAX/Schering); IL-10 (SCH 52000; rekombinant IL-10, anti-inflammatorisk cytokin; DNAX/Schering); IL-4; IL-10 og/eller IL-4 agonister (*f.eks.*, agonist antistoffer); IL-1RA (IL-1 reseptor antagonist; Synergen/Amgen); anakinra (Kineret®/Amgen); TNF-bp/s-TNF (løselig TNF-bindende protein; se *f.eks.*, *Arthritis & Rheumatism* (1996) Vol. 39, No. 9 (supplement), S284; *Amer. J. Fysiol. - Hjerte og Circulatory Fysiology* (1995) Vol. 268, pp. 37-42); R973401 (fosfodiesterase Type IV inhibitor; se *f.eks.*, *Arthritis & Rheumatism* (1996) Vol. 39, No. 9 (supplement), S282); MK-966 (COKS-2 Inhibitor; se *f.eks.*, *Arthritis & Rheumatism* (1996) Vol. 39, No. 9 (supplement), S81); Iloprost (se *f.eks.*, *Arthritis & Rheumatism* (1996) Vol. 39, No. 9 (supplement), S82); metotrexat; thalidomide (se *f.eks.*, *Arthritis & Rheumatism* (1996) Vol. 39, No. 9 (supplement), S282) og thalidomide-beslektede legemidler (*f.eks.*, Celgen); leflunomid (anti-inflammatorisk og cytokin inhibitor; se *f.eks.*, *Arthritis & Rheumatism* (1996) Vol. 39, No. 9 (supplement), S131; *Inflammation Research* (1996) Vol. 45, pp. 103-107); tranexamic syre (inhibitor av plasminogen aktivering; se *f.eks.*, *Arthritis & Rheumatism* (1996) Vol. 39, No. 9 (supplement), S284); T-614 (cytokin inhibitor; se *f.eks.*, *Arthritis & Rheumatism* (1996) Vol. 39, No. 9 (supplement), S282); prostaglandin E1 (se *f.eks.*, *Arthritis & Rheumatism* (1996) Vol. 39, No. 9 (supplement), S282); Tenidap (ikke-steroide anti-inflammatorisk legemiddel; se *f.eks.*, *Arthritis & Rheumatism* (1996) Vol. 39, No. 9 (supplement), S280); Naproksen (ikke-steroide anti-inflammatorisk legemiddel; se *f.eks.*, *Neuro Report* (1996) Vol. 7, pp. 1209-1213); Meloksicam (ikke-steroid anti-inflammatorisk legemiddel); Ibuprofen (ikke-steroid anti-inflammatorisk legemiddel); Piroksicam (ikke-steroid anti-inflammatorisk legemiddel); Diklofenac (ikke-steroid anti-inflammatorisk legemiddel); Indometacin (ikke-steroid anti-inflammatorisk legemiddel); Sulfasalazin (se *f.eks.*, *Arthritis & Rheumatism* (1996) Vol. 39, No. 9 (supplement), S281); Azatioprin (se *f.eks.*, *Arthritis & Rheumatism* (1996) Vol. 39, No. 9 (supplement), S281); ER inhibitor (inhibitor av enzymet interleukin-1β konverterende enzym); zap-70 og/eller lck inhibitor (inhibitor av the tyrosinkinase zap-70 eller lck); VEGF inhibitor og/eller VEGF-R inhibitor (inhibitorer av vaskulær endotel celle vekstfaktor eller vaskulær endotel celle vekstfaktor reseptor; inhibitorer av angiogenese); kortikosteroid anti-inflammatoriske legemidler (*f.eks.*, SB203580); TNF-convertase inhibitorer; anti-IL-12 antistoffer; anti-IL-18 antistoffer; interleukin-11 (se *f.eks.*, *Arthritis & Rheumatism* (1996) Vol. 39, No. 9 (supplement), S296); interleukin-13 (se *f.eks.*, *Arthritis & Rheumatism* (1996) Vol. 39, No. 9 (supplement), S308); interleukin -17 inhibitorer (se *f.eks.*, *Arthritis & Rheumatism* (1996) Vol. 39, No. 9 (supplement), S120); gull; penicillamin; klorkin; klorambucil;

hydroksyklorkin; syklosporin; syklofosfamid; total lymfoid bestråling; anti-thymocyte globulin; anti-CD4 antistoffer; CD5-toksiner; oralt-administrert peptider og kollagen; lobenzarit dinatrium; Cytokin Regulating Midler (CRAs) HP228 og HP466 (Houghten Pharmaceuticals, Inc.); ICAM-1 antisense fosforotioat oligo-deoksynukleotider (ISIS 2302; Isis Pharmaceuticals, Inc.); løselig komplement reseptor 1 (TP10; T Celle Sciences, Inc.); prednison; orgotein; glycosaminoglycan polysulfat; minosykline; anti-IL2R antistoffer; marine og botaniske lipider (fettsyrer fra fisk og plantefrø; se *f.eks.*, DeLuca *et al.* (1995) *Rheum. Dis. Clin. North Am.* 21:759-777); auranofin; fenylbutazone; meclofenamsyre; flufenamsyre; intravenøs immunoglobulin; zileuton; azaribin; mycofenolsyre (RS-61443); tacrolimus (FK-506); sirolimus (rapamycin); amiprilose (therafectin); cladribin (2-klordeoksyAdenosin); metotrexat; bcl-2 inhibitorer (se Bruncko, Milan et al., Journal of Medicinal Chemistry (2007), 50(4), 641-662); antiviraler og immunmodulerende midler.

I en utførelsesform, det bindende proteinet eller antigen-bindende porsjon derav, er administrert i kombinasjon med en av de følgende midler for behandlingen av revmatoid artritt: småmolekyl-inhibitor av KDR, småmolekyl-inhibitor av Tie-2; metotrexat; prednison; celecoxib; folsyre; hydroksyklorkinsulfat; rofecoxib; etanrcept; infliximab; leflunomid; naproksen; valdecoxib; sulfasalazin; metylprednisolon; ibuprofen; meloksicam; metylprednisolon acetat; gull natrium tiomalat; aspirin; azatioprin; triamcinolon acetonid; propxyfene napsylat/apap; folat; nabumeton; diklofenac; piroksicam; etodolac; diklofenac natrium; oksaprozin; oksycodon hcl; hydrocodon bitartrat/apap; diklofenac natrium/misoprostol; fentanyl; anakinra, human rekombinant; tramadol hcl; salsalat; sulindac; cyanocobalamin/fa/pyridoksin; acetaminofen; natrium alendronat; prednisolon; morfinsulfat; lidokain hydroklorid; indometacin; glukosamin sulfat/kondroitin; syklosporin; amitriptylin hcl; sulfadiazine; oksycodon hcl/acetaminofen; olopatadin hcl; misoprostol; natrium naproksen; omeprazol; mykofenolat mofetil; syklofosfamid; rituximab; IL-1 TRAP; MRA; CTLA4-IG; IL-18 BP; IL-12/23; anti-IL 18; anti-IL 15; BIRB-796; SCIO-469; VX-702; AMG-548; VX-740; Roflumilast; IC-485; CDC-801; og mesopram.

Ikke-begrensende eksempler på terapeutiske midler for inflammatorisk tarmsykdom med hvilke et bindende protein ifølge oppfinnelsen kan bli kombinert inkluderer de følgende: budenosid; epidermal vekstfaktor; kortikosteroider; syklosporin, sulfasalazin; aminosalisylater; 6-merkaptopurin; azatioprin; metronidazol; lipoksygenase inhibitorer; mesalamin; olsalazin; balsalazid; antioksidanter; tromboksan-inhibitorer; IL-1 reseptor-antagonister; anti-IL-1β mAb'er; anti-IL-6 mAb'er; vekstfaktorer; elastase inhibitorer; pyridinyl-imidazol forbindelser; antistoffer til eller antagonister ovenfor andre humane cytokiner eller vekstfaktorer, for eksempel, TNF, LT, IL-1, IL-2, IL-6, IL-7, IL-8, IL-15, IL-16, IL-17, IL-18, EMAP-II, GM-CSF, FGF, og PDGF. Antistoffer ifølge oppfinnelsen, eller antigen-bindende porsjoner derav, kan bli kombinert med antistoffer til celleoverflate-molekyler slik som CD2, CD3, CD4, CD8, CD25, CD28, CD30, CD40, CD45, CD69, CD90 eller deres ligander. Antistoffene ifølge oppfinnelsen, eller antigen-

bindende porsjoner derav, kan også bli kombinert med midler, slik som metotrexat, syklosporin, FK506, rapamycin, mykofenolat mofetil, leflunomid, NSAID'er, for eksempel, ibuprofen, kortikosteroider slik som prednisolon, fosfodiesterase-inhibitorer, Adenosin agonister, antitrombotiske midler, komplement inhibitorer, adrenergiske midler, midler som interfererer med signalisering av proinflammatoriske cytokiner slik som TNFα eller IL-1 (f.eks., IRAK, NIK, IKK, p38 eller MAP kinase-inhibitorer), IL-1β konverterende enzym-inhibitorer, TNFα konverterende enzym-inhibitorer, T-celle signalliserings-inhibitorer slik som kinase-inhibitorer, metalloproteinase inhibitorer, sulfasalazin, azatioprin, 6-merkaptopuriner, angiotensin-konverterende enzym-inhibitorer, løselige cytokin-reseptorer og derivater derav (f.eks.,løselig p55 eller p75 TNF reseptorer, sIL-1RI, sIL-1RII, sIL-6R) og anti-inflammatoriske cytokiner (f.eks., IL-4, IL-10, IL-11, IL-13 og TGFβ) og bcl-2 inhibitorer.

Eksempler på terapeutiske midler for Crohns sykdom hvori et bindende protein kan bli kombinert inkluderer de følgende: TNF antagonister, for eksempel, anti-TNF antistoffer, Adalimumab (PCT Publikasjonsnr. WO 97/29131; HUMIRA), CA2 (REMICADE), CDP 571, TNFR-Ig konstruksjoner, (p75TNFRIgG (ENBREL) og p55TNFRIgG (LENERCEPT)) inhibitorer og PDE4 inhibitorer. Antistoffer ifølge oppfinnelsen, eller antigen-bindende porsjoner derav, kan bli kombinert med kortikosteroider, for eksempel, budenosid og dexametason. Bindende proteiner ifølge oppfinnelsen eller antigen-bindende porsjoner derav, kan også bli kombinert med midler slik som sulfasalazin, 5-aminosalisylsyre og olsalazin, og midler som interfererer med syntesen eller virkningen av proinflammatoriske cytokiner slik som IL-1, for eksempel, IL-1β konverterende enzym-inhibitorer og IL-1ra. Antistoffer ifølge oppfinnelsen eller antigen-bindende porsjon derav kan også bli brukt sammen med T-celle-signaliserende inhibitorer, for eksempel, tyrosinkinase-inhibitorer 6-merkaptopuriner. Bindende proteiner ifølge oppfinnelsen, eller antigen-bindende porsjoner derav, kan bli kombinert med IL-11. Bindende proteiner ifølge oppfinnelsen, eller antigen-bindende porsjoner derav, kan bli kombinert med mesalamin, prednison, azatioprin, merkaptopurin, infliximab, metylprednisolon natriumsuksinat, difenoksylat/atrop sulfat, loperamid hydroklorid, metotrexat, omeprazol, folat, ciprofloksacin/dekstrose-vann, hydrocodon bitartrat/apap, tetrasyklin hydroklorid, fluocinonid, metronidazol, timerosal/borsyre, kolestyramin/sukrose, ciprofloksacin hydroklorid, hyoscyamin sulfat, meperidin hydroklorid, midazolam hydroklorid, oksycodon hcl/acetaminofen, prometazin hydroklorid, natriumfosfat, sulfametoksazol/trimetoprim, celecoxib, polykarbofil, propoksyfen napsylat, hydrokortison, multivitaminer, balsalazid dinatrium, kodein fosfat/apap, colesevelam hcl, cyanocobalamin, folsyre, levofloksacin, metylprednisolon, natalizumab og interferon-gamma

Ikke-begrensende eksempler på terapeutiske midler for multippel sklerose med hvilke bindende proteiner ifølge oppfinnelsen kan bli kombinert inkluderer de følgende: kortikosteroider; prednisolon; metylprednisolon; azatioprin; syklofosfamid; syklosporin; metotrexat; 4-

aminopyridin; tizanidin; interferon-β1a (AVONEX; Biogen); interferon-β1b (BETASERON; Chiron/Berlex); interferon α-n3) (Interferon Sciences/Fujimoto), interferon-α (Alfa Wassermann/J&J), interferon β1A-HVIS (Serono/Inhale Terapeutika), Peginterferon α 2b (Enzon/Schering-Plough), Kopolymer 1 (Cop-1; COPAKSON; Teva Pharmaceutical Industries, Inc.); hyperbarisk oksygen; intravenøst immunoglobulin; clabribine; antistoffer til eller antagonister ovenfor andre humane cytokiner eller vekstfaktorer og deres reseptorer, for eksempel, TNF, LT, IL-1, IL-2, IL-6, IL-7, IL-8, IL-23, IL-15, IL-16, IL-18, EMAP-II, GM-CSF, FGF, og PDGF. Bindende proteiner ifølge oppfinnelsen kan bli kombinert med antistoffer til celleoverflate-molekyler slik som CD2, CD3, CD4, CD8, CD19, CD20, CD25, CD28, CD30, CD40, CD45, CD69, CD80, CD86, CD90 eller deres ligander. Bindende proteiner ifølge oppfinnelsen, kan også bli kombinert med midler, slik som metotrexat, syklosporin, FK506, rapamycin, mykofenolat mofetil, leflunomid, NSAID'er, for eksempel, ibuprofen, kortikosteroider slik som prednisolon, fosfodiesterase-inhibitorer, adenosin-agonister, antitrombotiske midler, komplement inhibitorer, adrenergiske midler, midler som interfererer med signalisering av proinflammatoriske cytokiner slik som TNFα eller IL-1 (f.eks., IRAK, NIK, IKK, p38 eller MAP kinase-inhibitorer), IL-1β konverterende enzym-inhibitorer, TACE inhibitorer, T-celle signalisering inhibitorer slik som kinase-inhibitorer, metalloproteinase inhibitorer, sulfasalazin, azatioprin, 6-merkaptopuriner, angiotensin-konverterende enzym-inhibitorer, løselige cytokin-reseptorer og derivater derav (f.eks., løselig p55 eller p75 TNF reseptorer, sIL-1RI, sIL-1RII, sIL-6R), anti-inflammatoriske cytokiner (f.eks., IL-4, IL-10, IL-13 og TGFβ) og bcl-2 inhibitorer.

Eksempler på terapeutiske midler for multippel sklerose i hvilke bindende proteiner ifølge oppfinnelsen kan bli kombinert inkluderer interferon-β, for eksempel, IFNβ1a og IFNβ1b; copakson, kortikosteroider, kaspase-inhibitorer, for eksempel inhibitorer av kaspase-1, IL-1 inhibitorer, TNF inhibitorer, og antistoffer til CD40 ligand og CD80.

De bindende proteinene ifølge oppfinnelsen, kan også bli kombinert med midler, slik som alemtuzumab, dronabinol, Unimed, daclizumab, mitoxantron, xaliproden hydroklorid, fampridin, glatiramer acetat, natalizumab, sinnabidol, a-immunokin NNSO3, ABR-215062, AnergiX.MS, kjemokinreseptor-antagonister, BBR-2778, calagualin, CPI-1189, LEM (liposominnkapslet mitoxantron), THC.CBD (kannabinoid agonist) MBP-8298, mesopram (PDE4 inhibitor), MNA-715, anti-IL-6 reseptor antistoff, neurovax, pirfenidon allotrap 1258 (RDP-1258), sTNF-R1, talampanel, teriflunomid,TGF-beta2, tiplimotid, VLA-4 antagonister (for eksempel, TR-14035, VLA4 Ultrahaler, Antegran-ELAN/Biogen), interferon gamma antagonister, IL-4 agonister.

Ikke-begrensende eksempler på terapeutiske midler for Angina med hvilke bindende proteiner ifølge oppfinnelsen kan bli kombinert inkluderer de følgende: aspirin, nitroglyserin,

isosorbid mononitrat, metoprolol suksinat, atenolol, metoprolol tartrat, amlodipin besylat, diltiazem hydroklorid, isosorbid dinitrat, klopidogrel bisulfat, nifedipine, atorvastatin kalsium, kaliumklorid, furosemid, simvastatin, verapamil hcl, digoksin, propranolol hydroklorid, karvedilol, lisinopril, spironolakton, hydroklortiazide, enalapril maleat, nadolol, ramipril, enoksaparin natrium, heparin natrium, valsartan, sotalol hydroklorid, fenofibrate, ezetimib, bumetanid, losartan kalium, lisinopril/hydroklortiazide, felodipine, kaptopril, bisoprolol fumarat.

Ikke-begrensende eksempler på terapeutiske midler for Ankyloserende Spondylitt med hvilke bindende proteiner ifølge oppfinnelsen kan bli kombinert inkluderer de følgende: ibuprofen, diklofenac og misoprostol, naproksen, meloksicam, indometacin, diklofenac, celecoxib, rofecoxib, Sulfasalazin, Metotrexat, azatioprin, minosyklin, prednison, etanrcept, infliximab.

Ikke-begrensende eksempler på terapeutiske midler for Astma med hvilke bindende proteiner ifølge oppfinnelsen kan bli kombinert inkluderer de følgende: albuterol, salmeterol/fluticason, montelukast natrium, fluticason propionat, budesonid, prednison, salmeterol xinafoat, levalbuterol hcl, albuterol sulfat/ipratropium, prednisolon natriumfosfat, triamcinolon acetonid, beklometason dipropionat, ipratropium bromid, azithromycin, pirbuterol acetat, prednisolon, teofyllin vannfri, metylprednisolon natriumsuksinat, clarithromycin, zafirlukast, formoterol fumarat, influensa virus vaksine, metylprednisolon, amoksicillin trihydrat, flunisolid, allergi injisering, cromolyn natrium, fexofenadin hydroklorid, flunisolid/mentol, amoksicillin/clavulanat, levofloksacin, inhaleringshjelpende anordning, guaifenesin, dexametason natriumfosfat, moksifloksacin hcl, doksysyklin hyclate, guaifenesin/d-metorfan, p-efedrin/cod/klorfenir, gatifloksacin, cetirizin hydroklorid, mometason furoat, salmeterol xinafoat, benzonatat, cefalexin, pe/hydrocodon/klorfenir, cetirizin hcl/pseudoefed, fenylefrine/cod/prometazin, kodein/prometazin, cefprozil, dexametason, guaifenesin/pseudoefedrin, klorfeniramin/hydrocodon, nedokromil natrium, terbutalin sulfat, epinefrin, metylprednisolon, metaproterenol sulfat.

Ikke-begrensende eksempler på terapeutiske midler for COPD med hvilke bindende proteiner ifølge oppfinnelsen kan bli kombinert inkluderer de følgende: albuterol sulfat/ipratropium, ipratropium bromid, salmeterol/fluticason, albuterol, salmeterol xinafoat, fluticason propionat, prednison, teofyllin vannfri, metylprednisolon natriumsuksinat, montelukast natrium, budesonid, formoterol fumarat, triamcinolon acetonid, levofloksacin, guaifenesin, azithromycin, beklometason dipropionat, levalbuterol hcl, flunisolid, ceftriakson natrium, amoksicillin trihydrat, gatifloksacin, zafirlukast, amoksicillin/clavulanat, flunisolid/mentol, klorfeniramin/hydrocodon, metaproterenol sulfat, metylprednisolon, mometason furoat, p-efedrin/cod/klorfenir, pirbuterol acetat, p-efedrin/loratadin, terbutalin sulfat, tiotropium bromid, (R,R)-formoterol, TgAAT, Cilomilast, Roflumilast.

Ikke-begrensende eksempler på terapeutiske midler for HCV med hvilke bindende proteiner ifølge oppfinnelsen kan bli kombinert inkluderer de følgende: Interferon-alfa-2a, Interferon-alfa-2b, Interferon-alfa con1, Interferon-alfa-n1, Pegylert interferon-alfa-2a, Pegylert interferon-alfa-2b, ribavirin, Peginterferon alfa-2b + ribavirin, Ursodeoksycholsyre, Glycyrrhizsyre, Thymalfasin, Maxamin, VX-497 og enhver forbindelse som blir brukt for å behandle HCV gjennom intervensjon med de følgende målene: HCV polymerase, HCV protease, HCV helikase, HCV IRES (intern ribosominngangssete).

Ikke-begrensende eksempler på terapeutiske midler for Idiopatisk Pulmonær Fibrose med hvilke bindende proteiner ifølge oppfinnelsen kan bli kombinert inkluderer de følgende: prednison, azatioprin, albuterol, kolchicin, albuterol sulfat, digoksin, gamma interferon, metylprednisolon sod succ, lorazepam, furosemid, lisinopril, nitroglyserin, spironolakton, syklofosfamid, ipratropium bromid, actinomycin d, alteplase, fluticason propionat, levofloksacin, metaproterenol sulfat, morfinsulfat, oksycodon hcl, kaliumklorid, triamcinolon acetonid, tacrolimus vannfri, kalsium, interferon-alfa, metotrexat, mykofenolat mofetil, Interferon-gamma-1β.

Ikke-begrensende eksempler på terapeutiske midler for Myokardielt Infarkt med hvilke bindende proteiner ifølge oppfinnelsen kan bli kombinert inkluderer de følgende: aspirin, nitroglyserin, metoprolol tartrat, enoksaparin natrium, heparin natrium, klopidogrel bisulfat, karvedilol, atenolol, morfinsulfat, metoprolol suksinat, warfarin natrium, lisinopril, isosorbid mononitrat, digoksin, furosemid, simvastatin, ramipril, tenecteplase, enalapril maleat, torsemid, retavas, losartan kalium, quinapril hcl/mag carb, bumetanid, alteplase, enalaprilat, amiodaron hydroklorid, tirofiban hcl m-hydrat, diltiazem hydroklorid, kaptopril, irbesartan, valsartan, propranolol hydroklorid, fosinopril natrium, lidokain hydroklorid, eptifibatid, cefazolin natrium, atropin sulfat, aminoheksansyre, spironolakton, interferon, sotalol hydroklorid, kaliumklorid, docusat natrium, dobutamin hcl, alprazolam, pravastatin natrium, atorvastatin kalsium, midazolam hydroklorid, meperidin hydroklorid, isosorbid dinitrat, epinefrin, dopamin hydroklorid, bivalirudin, rosuvastatin, ezetimib/simvastatin, avasimib, cariporid.

Ikke-begrensende eksempler på terapeutiske midler for Psoriasis med hvilke bindende proteiner ifølge oppfinnelsen kan bli kombinert inkluderer de følgende: småmolekyl-inhibitor av KDR, småmolekyl-inhibitor av Tie-2, kalsipotrien, klobetasol propionat, triamcinolon acetonid, halobetasol propionat, tazaroten, metotrexat, fluocinonid, betametason diprop forsterket, fluocinolon acetonid, acitretin, tjæreshampoo, betametason valerat, mometason furoat, ketoconazol, pramoksin/fluocinolon, hydrokortison valerat, flurandrenolid, urea, betametason, klobetasol propionat/emoll, fluticason propionat, azithromycin, hydrokortison, fuktighetgivende formel, folsyre, desonid, pimecrolimus, kulltjære, diflorason diacetat, etanrcept folat, melkesyre, metokssalen, hc/vismut subgal/znoks/resor, metylprednisolon acetat, prednison, solkrem,

halcinonid, salisylsyre, anthralin, klokortolon pivalat, kullekstrakt, kulltjære/salisylsyre, kulltjære/salisylsyre/svovel, desoksimetason, diazepam, mykgjører, fluocinonid/mykgjører, mineralolje/lakserolje/na lact, mineralolje/peanøttolje, petroleum/isopropyl myristat, psoralen, salisylsyre, såpe/tribromsalan, timerosal/borsyre, celecoxib, infliximab, syklosporin, alefacept, efalizumab, tacrolimus, pimecrolimus, PUVA, UVB, sulfasalazin.

Ikke-begrensende eksempler på terapeutiske midler for Psoriatisk Artritt med hvilke bindende proteiner ifølge oppfinnelsen kan bli kombinert inkluderer de følgende: metotrexat, etanrcept, rofecoxib, celecoxib, folsyre, sulfasalazin, naproksen, leflunomid, metylprednisolon acetat, indometacin, hydroksyklorkinsulfat, prednison, sulindac, betametason diprop forsterket, infliximab, metotrexat, folat, triamcinolon acetonid, diklofenac, dimetylsulfoksid, piroksicam, diklofenac natrium, ketoprofen, meloksicam, metylprednisolon, nabumeton, tolmetin natrium, kalsipotrien, syklosporin, diklofenac natrium/misoprostol, fluocinonid, glukosamin sulfat, gull natrium tiomalat, hydrocodon bitartrat/apap, ibuprofen, natrium risedronat, sulfadiazin, tioguanin, valdecoxib, alefacept, efalizumab og bcl-2 inhibitorer.

Ikke-begrensende eksempler på terapeutiske midler for Restenose med hvilke bindende proteiner ifølge oppfinnelsen kan bli kombinert inkluderer de følgende: sirolimus, paclitaxel, everolimus, tacrolimus, Zotarolimus, acetaminofen.

Ikke-begrensende eksempler på terapeutiske midler for Isjas med hvilke bindende proteiner ifølge oppfinnelsen kan bli kombinert inkluderer de følgende: hydrocodon bitartrat/apap, rofecoxib, syklobenzaprin hcl, metylprednisolon, naproksen, ibuprofen, oksycodon hcl/acetaminofen, celecoxib, valdecoxib, metylprednisolon acetat, prednison, kodein fosfat/apap, tramadol hcl/acetaminofen, metaxalon, meloksicam, metocarbamol, lidokain hydroklorid, diklofenac natrium, gabapentin, dexametason, carisoprodol, ketorolac trometamin, indometacin, acetaminofen, diazepam, nabumeton, oksycodon hcl, tizanidin hcl, diklofenac natrium/misoprostol, propoksyfen napsylat/apap, asa/oksycod/oksycodon ter, ibuprofen/hydrocodon bit, tramadol hcl, etodolac, propoksyfen hcl, amitriptylin hcl, carisoprodol/kodein fos/asa, morfinsulfat, multivitaminer, natrium naproksen, orfenadrin sitrat, temazepam.

Eksempler på terapeutiske midler for SLE (Lupus) i hvilke bindende proteiner ifølge oppfinnelsen kan bli kombinert inkluderer de følgende: NSAID'er, for eksempel, diklofenac, naproksen, ibuprofen, piroksicam, indometacin; COX2 inhibitorer, for eksempel, Celecoxib, rofecoxib, valdecoxib; anti-malariamidler, for eksempel, hydroksyklorkin; Steroids, for eksempel, prednison, prednisolon, budenosid, dexametason; Cytotoksisks, for eksempel, azatioprin, syklofosfamid, mykofenolat mofetil, metotrexat; inhibitorer av PDE4 eller purinsyntese inhibitor, for eksempel Cellcept. Bindende proteiner ifølge oppfinnelsen, kan også bli kombinert med

midler slik som sulfasalazin, 5-aminosalisylsyre, olsalazin, Imuran og midler som interfererer med syntesen, produksjonen eller virkningen av proinflammatoriske cytokiner slik som IL-1, for eksempel, kaspase-inhibitorer like IL-1β konverterende enzym-inhibitorer og IL-1ra. Bindende proteiner ifølge oppfinnelsen kan også bli brukt sammen med T-celle-signaliserende inhibitorer, for eksempel, tyrosinkinase-inhibitorer; eller molekyler som mål T-celle aktivering molekyler, for eksempel, CTLA-4-IgG eller anti-B7 familie antistoffer, anti-PD-1 familie antistoffer. Bindende proteiner ifølge oppfinnelsen, kan bli kombinert med IL-11 eller anti-cytokin antistoffer, for eksempel, fonotolizumab (anti-IFNg antistoff), eller anti-reseptor reseptor antistoffer, for eksempel, anti-IL-6 reseptor antistoff og antistoffer til B-celleoverflate-molekyler. Antistoffer ifølge oppfinnelsen eller antigen-bindende porsjon derav kan også bli brukt sammen med LJP 394 (abetimus), midler som uttømmer eller deaktiverer B-celler, for eksempel, Rituximab (anti-CD20 antistoff), lymfostat-B (anti-BlyS antistoff), TNF antagonister, for eksempel, anti-TNF antistoffer, Adalimumab (PCT Publikasjonsnr. WO 97/29131; HUMIRA), CA2 (REMICADE), CDP 571, TNFR-Ig konstruksjoner, (p75TNFRIgG (ENBREL) og p55TNFRIgG (LENERCEPT)) og bcl-2 inhibitorer, fordi bcl-2 overekspresjon i transgen mus har blitt demonstrert å forårssake en lupus-liknende fenotype (se Marquina, Regina et al., Journal of Immunology (2004), 172(11), 7177-7185), inhibering er derfor forventet å ha terapeutisk effekt.

De farmasøytiske sammensetningene ifølge oppfinnelsen kan inkludere en "terapeutisk effektiv mengde" eller en "profylaktisk effektiv mengde" av et bindende protein ifølge oppfinnelsen. En "terapeutisk effektiv mengde" refererer til en mengde effektiv, ved doser og for tidsperioder nødvendig, for å oppnå det ønskede terapeutiske resultat. En terapeutisk effektiv mengde av det bindende proteinet kan bli bestemt av en fagmann og kan variere ifølge faktorer slik som sykdomstilstanden, alder, kjønn, og vekten til individet, og evnen til det bindende proteinet til å utløse en ønsket respons i individet. En terapeutisk effektiv mengde er også en hvori enhver toksisk eller ødeleggende virkning av antistoffet, eller antistoff-porsjonen, er oppveid ved de terapeutisk gunstige virkningene. En "profylaktisk effektiv mengde" refererer til en mengde effektiv, ved doser og for tidsperioder nødvendig, for å oppnå det ønskede profylaktiske resultat. Typisk, siden en profylaktisk dose blir anvendt i subjekter før eller ved et tidlig stadie av sykdommen, vil den profylaktisk effektive mengden være mindre enn den terapeutisk effektive mengden.

Dose-regimer kan bli justert for å tilveiebringe den optimale ønskede responsen (*f.eks.*, en terapeutisk eller profylaktisk respons). For eksempel, et enkelt bolus kan bli administrert, flere oppdelte doser kan bli administrert over tid eller dosen kan bli proporsjonalt redusert eller økt som indikert ved kravene til den terapeutiske situasjonen. Det er spesielt fordelaktig å formulere parenterale sammensetninger i doseenhetsform for enkel administrasjon og dose-enhetlighet. Doseenhetsform som anvendt heri refererer til fysisk adskilte enheter egnet som enhetsdoser for

de mammaliske subjektene som skal behandles; hver enhet inneholdende en forutbestemt mengde av aktiv forbindelse beregnet for å produsere den ønskede terapeutiske virkningen i assosiasjon med den nødvendige farmasøytiske bæreren. Spesifikasjonen for doseenhetsformene ifølge oppfinnelsen er diktert ved og direkte avhengig av (a) de unike karakteristikkene til den aktive forbindelsen og den bestemte terapeutiske eller profylaktiske virkningen som skal oppnås, og (b) begrensningene iboende i formuleringsteknikken av en slik aktiv forbindelse for behandlingen av følsomhet i individer.

Et eksempelvis, ikke-begrensende område for en terapeutisk eller profylaktisk effektiv mengde av et bindende protein ifølge oppfinnelsen er 0.1-20 mg/kg, for eksempel, 1-10 mg/kg. Det skal legges merke til at dose verdier kan variere med typen og alvorlighetsgrad av tilstanden som skal forbedres. Det skal bli videre forstått at for ethvert bestemt subjekt bør spesifikke dose-regimer bli justert over tid ifølge det individuelle behov og den profesjonelle vurderingen til personen som administrerer eller overvåker administrasjonen av sammensetningene, og at doseområdene presentert heri, bare er eksempelvise og er ikke ment for å begrense omfanget eller utøvelsen av den krevde sammensetningen.

Det vil være åpenbart for fagmannen at andre passende modifikasjoner og tilpasninger av metodene ifølge oppfinnelsen beskrevet heri er åpenbare og kan bli lagd ved å bruke passende ekvivalenter uten å gå bort ifra omfanget til oppfinnelsen eller utførelsesformene fremvist heri. Vi har nå beskrevet den foreliggende oppfinnelsen i detalj, det samme vil bli tydeligere forstått ved referanse til de følgende eksemplene, som er bare inkludert for illustrasjonsformål og er ikke ment å begrensene oppfinnelsen.

V. Diagnostikk

Beskrivelsen heri tilveiebringer også diagnostiske anvendelser. Dette er videre belyst nedenfor.

I. Assay-metode

Den foreliggende beskrivelsen tilveiebringer også en metode for å bestemme tilstedeværelsen, mengde eller konsentrasjon av en analytt (eller et fragment derav) i en testprøve ved å bruke minst et DVD-Ig som beskrevet heri. Ethvert passende assay som er kjent i teknikken kan bli anvendt i metoden. Eksempler inkluderer, men er ikke begrenset til, immunoassay, slik som sandwich immunoassay (f.eks., monoklonale, polyklonale og/eller DVD-Ig sandwich immunoassayer eller enhver variasjon derav (f.eks., monoklonale/DVD-Ig, DVD-Ig/polyklonale, osv.), inkludert radioisotop-deteksjon (radioimmunoassay (RIA)) og enzym-deteksjon (enzym immunoassay (EIA) eller enzym-linked immunosorbent assay (ELISA) (f.eks., Quantikine ELISA assayer, R&D Systems, Minneapolis, MN))), kompetitive inhiberingsimmunoassay (f.eks., forover og revers), fluorescens polarisering immunoassay (FPIA), enzym multiplisert

immunoassay teknikk (EMIT), bioluminescens resonansenergi-overføring (BRET), og homogenet kjemiluminescens assay, osv. I et SELDI-basert immunoassay, et fangstreagens som spesifikt binder en analytt (eller et fragment derav) av interesse er knyttet til overflaten av en massespektrometri probe, slik som et pre-aktivert proteinchip array. Analytten (eller et fragment derav) blir så spesifikt fanget på biochip'en, og den fangede analytten (eller et fragment derav) er detektert ved massespektrometri. Alternativt kan analytten (eller et fragment derav) bli eluert fra fangst-reagenset og detektert ved tradisjonell MALDI (matrix-assisted laser desorption/ionisering) eller av SELDI. Et kjemoluminescent mikropartikkel-immunoassay, spesielt et som anvender en ARCHITECT® automatisert analysator (Abbott Laboratories, Abbott Park, IL), er et eksempel på et foretrukket immunoassay.

Metoder velkjent i teknikken for å samle inn, håndtere og prosessere urin, blod, serum og plasma, og andre kroppsvæsker, blir anvendt i utøvelsen av den foreliggende beskrivelsen, for eksempel, når et DVD-Ig som beskrevet heri blir anvendt som et immunodiagnoserende reagens og/eller i et analytt immunoassay kit. Testprøven kan omfatte videre enheter i tillegg til analytten av interesse, slik som antistoffer, antigener, haptener, hormoner, legemidler, enzymer, reseptorer, proteiner, peptider, polypeptider, oligonukleotider og/eller polynukleotider. For eksempel kan prøven være en helt-blod prøve oppnådd fra et subjekt. Det kan være nødvendig eller ønsket at en testprøve, spesielt helt blod, blir behandlet før immunoassay som beskrevet heri, f.eks., med et forbehandlingsreagens. Selv i tilfeller hvor forbehandling ikke er nødvendig (f.eks., de fleste urinprøver), kan forbehandling valgfritt bli gjort (f.eks., som en del av et regime på en kommersiell platform).

Forbehandlingsreagenset kan være ethvert reagens passende for anvendelse med immunoassayet og kit ifølge oppfinnelsen. Forbehandlingen omfatter valgfritt: (a) en eller flere løsemidler (f.eks., metanol og etylenglykol) og valgfritt, salt, (b) en eller flere løsemidler og salt, og valgfritt, detergent, (c) detergent, eller (d) detergent og salt. Forbehandlingsreagenser er kjent i teknikken, og slike forbehandlinger kan bli anvendt, f.eks., som anvendt for assayer på Abbott TDx, AxSYM®, og ARCHITECT® analysatorer (Abbott Laboratories, Abbott Park, IL), som beskrevet i litteraturen (se, f.eks., Yatscoff et al., Abbott TDx Monoclonal Antibody Assay Evaluated for Measuring Cyclosporine in Whole Blood, Clin. Chem. 36: 1969-1973 (1990), og Wallemacq et al., Evaluation of the Novel AxSYM Cyclosporine Assay: Comparison with TDx Monoclonal Whole Blood and EMIT Cyclosporine Assays, Clin. Chem. 45: 432-435 (1999)), og/eller som kommersielt tilgjengelig. Videre kan forbehandling bli gjort som beskrevet i Abbotts U.S. Pat. Nr. 5,135,875, European Pat. Pub. No. 0 471 293, U.S Provisorisk Pat. App. 60/878,017, innlevert desember 29, 2006, og U.S. Pat. App. Pub. Nr. 2008/0020401 (inkorporert ved referanse i sin helhet for sin lære angående forbehandling). Forbehandlingsreagenset kan være et heterogent middel eller et homogent middel.

Med anvendelse av et heterogent forbehandlingsreagens, presipiterer forbehandlingsreagenset analytt-bindende protein (f.eks., protein som kan binde til en analytt eller et fragment derav) tilstede i prøven. Et slikt forbehandlingstrinn omfatter å fjerne ethvert analytt-bindende protein ved å separere fra det utfelte stoffet av analytt-bindende protein fra supernatanten til blandingen dannet ved tilsetning av forbehandlingsmiddelet til prøven. I et slik assay blir supernatanten til blandingen uten bindende protein anvendt i assayet, fortsettende direkte til antistoff-fangingstrinnet.

Med anvendelse av et homogent forbehandlingsreagens er det ikke noe slikt separasjonstrinn. Hele blandingen av test-prøve og forbehandlingsreagens blir kontaktet med en merket spesifikt bindende partner for analytten (eller et fragment derav), slik som et merket anti-analytt antistoff (eller et antigen-reaktivt fragment derav). Forbehandlingsreagenset anvendt for et slikt assay blir typisk fortynnet i den forbehandlete test-prøve blandingen, enten før eller i løpet av fangst ved den første spesifikt bindende partneren. Til tross for slik fortynning er en viss mengde av forbehandlingsreagenset fortsatt til stede (eller forblir) i testprøve-blandingen i løpet av fangst. Ifølge oppfinnelsen kan den merkede spesifikt bindende partneren være et DVD-Ig (eller et fragment, en variant, eller et fragment av en variant derav).

I et heterogent format, etter at testprøven blir oppnådd fra et subjekt, blir en første blanding fremstilt. Blandingen inneholder testprøven som blir vurdert for en analytt (eller et fragment derav) og en første spesifikt bindende partner, hvori den første spesifikt bindende partneren og enhver analytt inneholdt i testprøven danner et første spesifikt bindende partner-analytt kompleks. Fortrinnsvis er den første spesifikt bindende partneren et anti-analytt antistoff eller et fragment derav. Den første spesifikt bindende partneren kan være et DVD-Ig (eller et fragment, en variant, eller et fragment av en variant derav) som beskrevet heri. Rekkefølgen hvori testprøven og den første spesifikt bindende partneren blir tilsatt for å danne blandingen er ikke kritisk. Fortrinnsvis er den første spesifikt bindende partneren immobilisert på en fast fase. Den faste fasen anvendt i immunoassayet (for den første spesifikt bindende partneren og, valgfritt, den andre spesifikt bindende partneren) kan være enhver fast fase kjent i teknikken, slik som, men ikke begrenset til, en magnetisk partikkel, en kule, et reagensrør, en mikrotiter-plate, en kuvette, en membran, et stilasmolekyl, en film, et filterpapir, en plate og en chip.

Etter at blandingen inneholdende det første spesifikt bindende partner-analytt komplekset er dannet blir enhver ikke-bundet analytt fjernet fra komplekset ved å bruke enhver teknikk kjent i teknikken. For eksempel, den ikke-bundete analytten kan bli fjernet ved vasking. Ønsket, imidlertid, den første spesifikt bindende partneren er tilstede i overskudd i forhold til enhver analytt tilstede i testprøven, slik at all analytt som er tilstede i testprøven er bundet til den første spesifikt bindende partneren.

Etter at enhver ikke-bundet analytt er fjernet blir en andre spesifikt bindende partner tilsatt til blandingen for å danne et første spesifikt bindende partner-analytt-andre spesifikt bindende partner kompleks. Den andre spesifikt bindende partneren er fortrinnsvis et anti-analytt antistoff som binder til en epitop på analytten som er forskjellig fra epitopen på analytten som er bundet til den første spesifikt bindende partneren. Videre, også fortrinnsvis, er den andre spesifikt bindende partneren merket med eller inneholder en detekterbar markør som beskrevet over. Den andre spesifikt bindende partneren kan være et DVD-Ig (eller et fragment, en variant, eller et fragment av en variant derav) som beskrevet heri.

Enhver passende detekterbar markør som er kjent i teknikken kan bli anvendt. For eksempel kan den detekterbare markøren være en radioaktiv markør (slik som 3H, 125I, 35S, 14C, 32P, og 33P), en enzymatisk markør (slik som pepperrot peroksidase, basisk peroksidase, glukose 6-fosfat dehydrogenase, og lignende), en kjemiluminescerende markør (slik som acridinium estere, tioestere, eller sulfonamider; luminol, isoluminol, fenanthridinium estere, og lignende), et fluorescerende merkestoff (slik som fluorescein (f.eks., 5-fluorescein, 6-karboksyfluorescein, 3'6-karboksyfluorescein, 5(6)-karboksyfluorescein, 6-heksaklor-fluorescein, 6-tetraklorfluorescein, fluorescein isotiocyanat, og lignende)), rhodamin, fycobiliproteiner, R-fycoerythrin, kvanteprikker (f.eks., sinksulfid-"capped" kadmiumselenid), en termometrisk markør, eller en immuno-polymerase kjedereaksjon markør. En introduksjon til merkestoffer, merkingsprosedyrer og deteksjon av merkestoffer er funnet i Polak og Van Noorden, Introduksjon to Immunocytochemistry, 2nd ed., Springer Verlag, N.Y. (1997), og i Haugland, Handbook of Fluorescent Probes og Research Kjemikalier (1996), som er en kombinert håndbok og katalog publisert av Molecular Probes, Inc., Eugene, Oregon. Et fluorescerende merkestoff kan bli anvendt i FPIA (se, f.eks., U.S. Patentnr.. 5,593,896, 5,573,904, 5,496,925, 5,359,093, og 5,352,803). En acridinium-forbindelse kan bli anvendt som en detekterbar markør i et homogent eller heterogent kjemiluminescerende assay (se, f.eks., Adamczyk et al., Bioorg. Med. Chem. Lett. 16: 1324-1328 (2006); Adamczyk et al., Bioorg. Med. Chem. Lett. 4: 2313-2317 (2004); Adamczyk et al., Biorg. Med. Chem. Lett. 14: 3917-3921 (2004); og Adamczyk et al., Org. Lett. 5: 3779-3782 (2003)).

En foretrukket acridinium-forbindelse er et acridinium-9-karboksamid. Metoder for å fremstille acridinium 9-karboksamider er beskrevet i Mattingly, J. Biolumin. Chemilumin. 6: 107-114 (1991); Adamczyk et al., J. Org. Chem. 63: 5636-5639 (1998); Adamczyk et al., Tetrahedron 55: 10899-10914 (1999); Adamczyk et al., Org. Lett. 1: 779-781 (1999); Adamczyk et al., Bioconjugate Chem. 11: 714-724 (2000); Mattingly et al., I Luminescence Bioteknologi: Instrumenter og Søknader; Dyke, K. V. Ed.; CRC Press: Boca Raton, pp. 77–105 (2002); Adamczyk et al., Org. Lett. 5: 3779-3782 (2003); og U.S. Pat. Nr. 5,468,646, 5,543,524 og 5,783,699. En annen foretrukket acridinium-forbindelse er en acridinium-9-karboksylat arylester.

Et eksempel på en acridinium-9-karboksylat arylester er 10-metyl-9-(fenoksykarbonyl)acridinium fluorsulfonat (tilgjengelig fra Cayman Chemical, Ann Arbor, MI). Metoder for å fremstille acridinium 9-karboksylat aryl estere er beskrevet i McCapra et al., Fotochem. Fotobiol. 4: 1111-21 (1965); Razavi et al., Luminescence 15: 245-249 (2000); Razavi et al., Luminescence 15: 239-244 (2000); og U.S. Patentnr. 5,241,070. Videre detaljer angående acridinium-9-karboksylat aryl ester og dets anvendelse er vist i US 2008-0248493.

Kjemiluminescerende assayer (f.eks., ved å bruke acridinium som beskrevet over eller andre kjemiluminescerende midler) kan bli utført i henhold til metodene beskrevet i Adamczyk et al., Anal. Chim. Acta 579(1): 61-67 (2006). Mens ethvert passende assay-format kan bli anvendt, et mikroplate chemiluminometer (Mithras LB-940, Berthold Teknologier U.S.A., LLC, Oak Ridge, TN) muliggjør hurtig assay av flere prøver med lite volum.

Rekkefølgen hvori testprøven og den spesifikt bindende partneren(e) blir tilsatt for å danne blandingen for kjemiluminescerende assay er ikke kritiske. Hvis den første spesifikt bindende partneren er detekterbart merket med et kjemiluminescerende middel slik som en acridinium-forbindelse, dannes detekterbart merket første spesifikt bindende partner-analytt komplekser. Alternativt, hvis en andre spesifikt bindende partner blir anvendt og den andre spesifikt bindende partneren er detekterbart merket med et kjemiluminescerende middel slik som en acridinium-forbindelse, dannes detekterbart merket første spesifikt bindende partner-analytt-andre spesifikt bindende partner komplekser. Enhver ikke-bundet spesifikt bindende partner, enten merket eller umerket, kan bli fjernet fra blandingen ved å bruke enhver teknikk kjent i teknikken, slik som vasking.

Hydrogenperoksid kan bli fremstilt *in situ* i blandingen eller tilveiebrakt eller levert til blandingen (f.eks., kilden for hydrogenperoksidet er en eller flere buffere eller andre løsninger som er kjent å inneholde hydrogenperoksid) før, samtidig med, eller etter tilsetningen av en acridinium-forbindelse som beskrevet over. Hydrogenperoksid kan bli fremstilt *in situ* på en rekke måter som vil være åpenbare for en fagmann.

Ved den samtidige eller etterfølgende tilsetningen av minst en basisk løsning til prøven, et detekterbart signal, nemlig, et kjemiluminescerende signal, indikerende for nærværet av analytt er fremstilt. Den basiske løsningen inneholder minst en base og har en pH større enn eller lik til 10, fortrinnsvis, større enn eller lik 12. Eksempler på basiske løsninger inkluderer, men er ikke begrenset til, natriumhydroksid, kaliumhydroksid, kalsiumhydroksid, ammoniumhydroksid, magnesiumhydroksid, natriumkarbonat, natriumbikarbonat, kalsiumhydroksid, kalsiumkarbonat, og kalsiumbikarbonat. Mengden av basisk løsning tilsatt til prøven er avhengig av konsentrasjonen av den basiske løsningen. Basert på konsentrasjonen av den basiske løsningen anvendt, en fagmann kan lett bestemme mengden av basisk løsning å tilsette til prøven.

Det kjemiluminescerende signalet som er fremstilt kan bli detektert ved å bruke rutinemessige teknikker kjent for fagmannen. Basert på intensiteten av signalet fremstilt, mengden av analytt i prøven kan bli kvantifisert. Spesifikt, mengden av analytt i prøven er proporsjonal med intensiteten av signalet fremstilt. Mengden av analytt til stede kan bli kvantifisert ved å sammenligne mengden av lys fremstilt med en standardkurve for analytt eller ved sammenligning med en referansestandard. Standardkurven kan bli fremstilt ved å bruke serielle fortynninger eller løsninger med kjente konsentrasjoner av analytt ved massespektroskopi, gravimetriske metoder, og andre teknikker kjent i teknikken. Mens det overnevnte er beskrevet med vekt på anvendelse av en acridinium-forbindelse som det kjemiluminescerende middelet, kan en med vanlig ferdighet i teknikken lett tilpasse denne beskrivelsen for anvendelse av andre kjemiluminescerende midler.

Analytt immunoassayer generelt kan bli utført ved å bruke ethvert format kjent i teknikken, slik som, men ikke begrenset til, et sandwich format. Spesifikt, i et immunoassay-format, blir minst to antistoffer anvendt for å separere og kvantifisere analytt, slik som human analytt, eller et fragment derav i en prøve. Mer spesifikt, de minst to antistoffene binder to forskjellige epitoper på en analytt (eller et fragment derav) under dannelse av et immunkompleks, som er referert til som en "sandwich." Generelt, i immunoassayene en eller flere antistoffer kan bli anvendt for å fange analytten (eller et fragment derav) i testprøven (disse antistoffer er ofte referert til som et "capture" antistoff eller "capture" antistoffer) og en eller flere antistoffer kan bli anvendt for å binde en detekterbar (nemlig, kvantifiserbar) markør til sandwich'en (disse antistoffer er ofte referert til som "deteksjons-antistoffet," "deteksjons-antistoffene," "konjugatet," eller "konjugatene"). Følgelig, i sammenheng med et sandwich immunoassay-format, et DVD-Ig (eller et fragment, en variant, eller et fragment av en variant derav) som beskrevet heri kan bli anvendt som et fange-antistoff, et deteksjons-antistoff, eller begge deler. For eksempel, et DVD-Ig som har et domene som kan binde en første epitop på en analytt (eller et fragment derav) kan bli anvendt som et fange-antistoff og/eller en annen DVD-Ig som har et domene som kan binde en andre epitop på en analytt (eller et fragment derav) kan bli anvendt som et deteksjons-antistoff. I denne sammenhengen, et DVD-Ig som har et først domene som kan binde en første epitop på en analytt (eller et fragment derav) og et andre domene som kan binde en andre epitop på en analytt (eller et fragment derav) kan bli anvendt som et fange-antistoff og/eller et deteksjons-antistoff. Alternativt, et DVD-Ig som har et først domene som kan binde en epitop på en første analytt (eller et fragment derav) og et andre domene som kan binde en epitop på en andre analytt (eller et fragment derav) kan bli anvendt som et fange-antistoff og/eller et deteksjons-antistoff for å detektere, og valgfritt kvantifisere, to eller flere analytter. I det tilfellet at en analytt kan være tilstede i en prøve i mer enn en form, slik som en monomert form og en dimer/multimer form, som kan være homomerisk eller heteromerisk, et DVD-Ig som har et domene som kan binde en

epitop som er bare eksponert på den monomere formen og en annen DVD-Ig som har et domene som kan binde en epitop på en forskjellig del av en dimer/multimer form kan bli anvendt som fangst-antistoffer og/eller deteksjon-antistoffer, dermed muligjørende deteksjonen, og valgfri kvantifisering, av forskjellige former av en gitt analytt. Videre, å anvende DVD-Ig'er med forskjellige affiniteter innenfor et enkelt DVD-Ig og/eller mellom DVD-Ig'er kan tilveiebringe en aviditetsfordel. I sammenheng med immunoassayer som beskrevet heri kan det generelt være hjelpsomt eller ønsket å inkorporere en eller flere linkere innenfor strukturen til et DVD-Ig. Når til stede, bør optimalt linkeren være av tilstrekkelig lengde og strukturell fleksibilitet for å muliggjøre binding av en epitop ved de indre domenene så vel som binding av en annen epitop ved de ytre domenene. I denne sammenhengen, hvis et DVD-Ig kan binde to forskjellige analytter og en analytt er større enn den andre, er det ønsket at den større analytten er bundet ved de ytre domenene.

Generelt sagt, en prøve som blir utprøvd for (for eksempel, mistenkt å inneholde) analytt (eller et fragment derav) kan bli kontaktet med minst et fangst-antistoff (eller antistoffer) og minst et deteksjons-antistoff (som kan være et andre deteksjons-antistoff eller et tredje deteksjons-antistoff eller til og med et etterfølgende nummerert antistoff, f.eks., som når fangst- og/eller deteksjons-antistoffet omfatter flere antistoffer) enten samtidig eller sekvensielt og i enhver rekkefølge. For eksempel kan testprøven først bli kontaktet med minst et fangst-antistoff og deretter (sekvensielt) med minst et deteksjons-antistoff. Alternativt kan testprøven først bli kontaktet med minst et deteksjons-antistoff og deretter (sekvensielt) med minst et fangst-antistoff. I nok et annet alternativ kan testprøven bli kontaktet samtidig med et fange-antistoff og et deteksjons-antistoff.

I sandwich assay-formatet, en prøve mistenkt å inneholde analytt (eller et fragment derav) er først brakt i kontakt med minst et første fangst-antistoff under betingelser som tillater dannelsen av et første antistoff/analytt kompleks. Hvis mer enn et fangst-antistoff blir anvendt, et første fangst-antistoff/analytt kompleks omfattende to eller flere fangst-antistoffer er dannet. I et sandwich-assay, antistoffene, dvs., fortrinnsvis, det minst ene fangst-antistoffet, blir anvendt i molart overskudd i forhold til den maksimale mengden av analytt (eller et fragment derav) forventet i testprøven. For eksempel, fra omtrent 5 µg til omtrent 1 mg med antistoff per mL med buffer (f.eks., mikropartikkel-beleggingsbuffer) kan bli anvendt.

Kompetitive inhiberingsimmunoassayer, som er ofte anvendt for å måle små analytter fordi binding ved bare et antistoff er nødvendig, omfatter sekvensielle og klassiske formater. I et sekvensielt kompetitivt inhiberingsimmunoassay et fange-antistoff til en analytt av interesse er belagt på en brønn i en mikrotiter-plate eller annen fast støtte. Når prøven inneholdende analytten av interesse blir tilsatt til brønnen, binder analytten av interesse til fangst-antistoffet. Etter vasking blir en kjent mengde av merket (f.eks., biotin eller pepperrot peroksidase (HRP)) analytt

tilsatt til brønnen. Et substrat for en enzymatisk markør er nødvendig for å generere et signal. Et eksempel på et passende substrat for HRP er 3,3',5,5'-tetrametylbenzidine (TMB). Etter vasking, blir signalet fremstilt ved den merkede analytten målt og er inverst proporsjonalt med mengden av analytt i prøven. I et klassisk kompetitivt inhiberingsimmunoassay blir et antistoff til en analytt av interesse belagt på en fast støtte (f.eks., en brønn i en mikrotiterplate). Imidlertid, i motsetning til det sekvensielle kompetitive inhiberingsimmunoassayet, blir prøven og den merkede analytten tilsatt til brønnen samtidig. Enhver analytt i prøven konkurrerer med merket analytt for binding til fangst-antistoffet. Etter vasking, blir signalet fremstilt ved den merkede analytten målt og er inverst proporsjonalt med mengden av analytt i prøven.

Valgfritt, før man kontakter testprøven med det minst ene fangst-antistoffet (for eksempel, det første fangst-antistoffet), det minst ene fangst-antistoffet kan bli bundet til en fast støtte, som legger til rette for separeringen av det første antistoff/analytt (eller et fragment derav) komplekset fra testprøven. Substratet til hvilket fangst-antistoffet er bundet kan være enhver passende fast støtte eller fast fase som legger til rette for separering av fangst-antistoff-analytt komplekset fra prøven.

Eksempler inkluderer en brønn i en plate, slik som en mikrotiterplate, et reagensrør, en porøs gel (f.eks., silikagel, agarose, dekstran, eller gelatin), en polymerfilm (f.eks., polyakrylamid), kuler (f.eks., polystyren-kuler eller magnetiske kuler), en strimmel av et filter/membran (f.eks., nitrocellulose eller nylon), mikropartikler (f.eks., latex partikler, magnetiserbare mikropartikler (f.eks., mikropartikler som har jernoksid- eller kromoksid-kjerner og homo- eller hetero-polymer belegg og radius på omtrent 1-10 mikron). Substratet kan omfatte et passende porøst materialet med en passende overflate-affinitet for å binde antigener og tilstrekkelig porøsitet for å tillate tilgang av deteksjon-antistoffer. Et mikroporøst materiale er generelt foretrukket, selv om et gelatinøst materiale i en hydratisert tilstand kan bli anvendt. Slike porøse substrater er fortrinnsvis i form av ark som har en tykkelse på omtrent 0.01 til omtrent 0.5 mm, fortrinnsvis omtrent 0.1 mm. Mens porestørrelsen kan variere ganske mye, porestørrelsen er fortrinnsvis fra omtrent 0.025 til omtrent 15 mikron, mer fortrinnsvis fra omtrent 0.15 til omtrent 15 mikron. Overflaten av slike substrater kan bli aktivert ved kjemiske prosesser som forårsaker kovalent sammenkobling av et antistoff til substratet. Irreversibel binding, generelt ved absorbsjon gjennom hydrofobe krefter, av antigenet eller antistoffet til substratet er resultatet; alternativt, et kjemisk koblingsmiddel eller andre midler kan bli anvendt for å kovalent binde antistoffet til substratet, forutsatt at slik binding ikke interfererer med evnen til antistoffet for å binde til analytt. Alternativt, antistoffet kan bli bundet med mikropartikler, som har blitt tidligere belagt med streptavidin (f.eks., DYNAL® Magnetisk Beads, Invitrogen, Carlsbad, CA) eller biotin (f.eks., ved å bruke Power-BindTM-SA-MP streptavidin-belagt mikropartikler (Seradyn, Indianapolis, I)) eller anti-art-spesifikke monoklonale antistoffer. Hvis nødvendig kan substratet

bli derivatisert for å tillate reaktivitet med diverse funksjonelle grupper på antistoffet. Slik derivatisering krever anvendelsen av visse koblingsmidler, eksempler på som inkluderer, men er ikke begrenset til, maleinanhydrid, N-hydroksysuksinimid, og 1-etyl-3-(3-dimetylaminopropyl) karbodiimide. Hvis ønsket, en eller flere fangst-reagenser, slik som antistoffer (eller fragmenter derav), hver av hvilke er spesifikke for analytt(er) kan bli knyttet til faste faser i forskjellige fysiske eller addresserbare plasseringer (f.eks., slik som i en biochip-konfigurasjon (se, f.eks., U.S. Pat. Nr. 6,225,047; Int'l Pat. App. Pub. Nr. WO 99/51773; U.S. Pat. Nr. 6,329,209; Int'l Pat. App. Pub. Nr. WO 00/56934, og U.S. Pat. Nr. 5,242,828). Hvis fangst-reagenset er knyttet til en massespektrometri probe som den faste støtten kan mengden av analytt bundet til proben bli detektert ved laser-desorbsjonsionisering massespektrometri. Alternativt kan en enkelt kolonne bli pakket med forskjellig kuler, som er derivatisert med det ene eller flere fangst-reagenser, for dermed å fange analytten på et enkelt sted (se, antistoff-derivatisert, kule-basert teknologier, f.eks., xMAP teknologien til Luminex (Austin, TX)).

Etter at testprøven som blir analysert for analytt (eller et fragment derav) er brakt i kontakt med det minst ene fangst-antistoffet (for eksempel, det første fangst-antistoffet), blir blandingen inkubert i å muliggjøre dannelsen av et første antistoff (eller multippel antistoff)-analytt (eller et fragment derav) kompleks. Inkuberingen kan bli utført ved en pH på fra omtrent 4.5 til omtrent 10.0, ved en temperatur på fra omtrent 2°C til omtrent 45°C, og i en periode fra minst omtrent ett (1) minutt til omtrent atten (18) timer, fortrinnsvis fra omtrent 1 til omtrent 24 minutter, mest fortrinnsvis i omtrent 4 til omtrent 18 minutter. Immunoassayet beskrevet heri kan bli utført i ett trinn (dvs. testprøven, minst et fangst-antistoff og minst et deteksjons-antistoff er alle tilsatt sekvensielt eller samtidig til en reaksjonsbeholder) eller i mer enn ett trinn, slik som to trinn, tre trinn, osv.

Etter dannelse av (første eller flere) fangst-antistoff/analytt (eller et fragment derav) komplekset, blir komplekset så kontaktet med minst et deteksjons-antistoff under betingelser som tillater for dannelsen av et (første eller flere) fangst-antistoff/analytt (eller et fragment derav)/andre deteksjon-antistoff kompleks. Selv om det er benevnt det "andre" antistoff for klarhet (f.eks., andre deteksjon-antistoff), er faktum at, når flere antistoffer blir anvendt for fangst og/eller deteksjon, det minst ene deteksjons-antistoffet kan være det andre, tredje, fjerde, osv. antistoffet anvendt i immunoassayet. Hvis fangst-antistoff/analytt (eller et fragment derav) komplekset blir kontaktet med mer enn ett deteksjons-antistoff, blir deretter et (første eller flere) fangst-antistoff/analytt (eller et fragment derav)/(flere) deteksjons-antistoff kompleks dannet. Som med fangst-antistoffet (f.eks., det første fangst-antistoffet), når det minst ene (f.eks., andre og enhver etterfølgende) deteksjons-antistoffet er brakt i kontakt med fangst-antistoff/analytt (eller et fragment derav) komplekset, en periode med inkubering under betingelser lignende de beskrevet over er nødvendig for dannelsen av (første eller flere) fangst-antistoff/analytt (eller et fragment

derav)/(andre eller flere) deteksjons-antistoff komplekset. Fortrinnsvis, minst et deteksjons-antistoff inneholder en detekterbar markør. Den detekterbare markøren kan bli bundet til det minst ene deteksjons-antistoffet (f.eks., det andre deteksjon-antistoffet) før, samtidig med, eller etter dannelsen av (første eller flere) fangst-antistoff/analytt (eller et fragment derav)/(andre eller flere) deteksjons-antistoff komplekset. Enhver detekterbar markør kjent i teknikken kan bli anvendt (se diskusjon over, inkludert Polak og Van Noorden (1997) og Haugland (1996) referanser).

Den detekterbare markøren kan bli bundet til antistoffene enten direkte eller gjennom et koblingsreagens. Et eksempel på et koblingsreagens som kan bli anvendt er EDAC (1-etyl-3-(3-dimetylaminopropyl) karbodiimide, hydroklorid), som er kommersielt tilgjengelig fra Sigma-Aldrich, St. Louis, MO. Andre koblingsmidler som kan bli anvendt er kjent i teknikken. Metoder for å binde en detekterbar markør til et antistoff er kjent i teknikken. Videre, mange detekterbar merkestoffer kan bli kjøpt eller syntetisert som allerede inneholder ende-grupper som legger til rette for koblingen av den detekterbare markøren til antistoffet, slik som CPSP-Acridinium Ester (dvs., 9-[N-tosyl-N-(3-karboksypropyl)]-10-(3-sulfopropyl)acridinium karboksamid) eller SPSP-Acridinium Ester (dvs., N10-(3-sulfopropyl)-N-(3-sulfopropyl)-acridinium-9-karboksamid).

(første eller flere) fangst-antistoff/analytt/(andre eller flere) deteksjons-antistoff komplekset kan bli, men må ikke bli, separert fra resten av testprøven før kvantifisering av markøren. For eksempel, hvis det minst ene fangst-antistoffet (f.eks., det første fangst-antistoffet) er bundet til en fast støtte, slik som en brønn eller en kule, separasjon kan bli oppnådd ved å fjerne fluidet (til testprøven) fra kontakt med den faste støtten. Alternativt, hvis det minst første fangst-antistoffet er bundet til en fast støtte, kan det samtidig bli kontaktet med den analytt-inneholdende prøven og det minst en andre deteksjons-antistoffet for å danne et første (flere) antistoff/analytt/andre (flere) antistoff kompleks, etterfulgt av fjerning av fluidet (test prøve) fra kontakt med den faste støtten. Hvis det minst ene første fangst-antistoffet ikke er bundet til en fast støtte, da trenger ikke det (første eller flere) fangst-antistoff/analytt/(andre eller flere) deteksjons-antistoff komplekset å bli fjernet fra testprøven for kvantifisering av mengden av markøren.

Etter dannelse av det merkede fangst-antistoff/analytt/deteksjons-antistoff komplekset (f.eks., det første fangst-antistoffet/analytt/andre deteksjon-antistoff kompleks), blir mengden av markør i komplekset kvantifisert ved å bruke teknikker kjent i teknikken. For eksempel, hvis en enzymatisk markør blir anvendt, blir det merkede komplekset reagert med et substrat for markøren som gir en kvantifiserbar reaksjon slik som utviklingen av farge. Hvis markøren er en radioaktiv markør, markøren er kvantifisert ved å bruke passende metoder, slik som en scintilleringsteller. Hvis markøren er et fluorescerende merkestoff, markøren er kvantifisert ved å stimulere markøren med et lys av en farge (som er kjent som den "eksiterende bølgelengden") og

å detektere en annen farge (som er kjent som "emisjonsbølgelengden") som blir emittert av markøren som reaksjon på stimuleringen. Hvis markøren er en kjemiluminescerende markør, markøren er kvantifisert ved å detektere lyset som blir sendt ut enten visuellt eller ved å bruke luminometere, røntgenfilm, høyhastighets fotografisk film, et CCD kamera, osv. Når mengden av markøren i komplekset har blitt kvantifisert, konsentrasjonen av analytt eller et fragment derav i testprøven er bestemt ved passende metoder, slik som ved anvendelse av en standardkurve som har blitt fremstilt ved å bruke serielle fortynninger av analytt eller et fragment derav med kjent konsentrasjon. Foruten å bruke serielle fortynninger av analytt eller et fragment derav, standardkurven kan bli fremstilt gravimetrisk, ved massespektroskopi og ved andre teknikker kjent i teknikken.

I et kjemiluminescerende mikropartikkel assay ved bruk av ARCHITECT® analysator, bør konjugat-fortynningens pH være omtrent 6.0 +/- 0.2, mikropartikkel-beleggingsbufferen bør bli opprettholdt ved omtrent romtemperatur (dvs., ved fra omtrent 17 til omtrent 27 ðC), mikropartikkel-beleggingsbufferen pH bør være omtrent 6.5 +/- 0.2, og mikropartikkelfortynningens pH bør være omtrent 7.8 +/- 0.2. Faste stoffer er fortrinnsvis mindre enn omtrent 0.2%, slik som mindre enn omtrent 0.15%, mindre enn omtrent 0.14%, mindre enn omtrent 0.13%, mindre enn omtrent 0.12%, eller mindre enn omtrent 0.11%, slik som omtrent 0.10%.

FPIAs er basert på kompetitivt bindende immunoassay prinsipper. En fluorescerende merket forbindelse, når eksitert med et lineært polarisert lys, vil sende ut fluorescens som har en polariseringsgrad inverst proporsjonalt med dets rotasjonshastighet. Når et fluorescerende merket tracer-antistoff kompleks er eksitert med et lineært polarisert lys, forblir det utsendte lyset i høy grad polarisert fordi fluoroforen er forhindret fra å rotere mellom tiden lys er absorbert og tiden lys er sendt ut. Når en "fri" tracer-forbindelse (dvs., en forbindelse som ikke er bundet til et antistoff) blir eksitert ved lineært polarisert lys, dets rotasjon er mye raskere enn det korresponderende tracer-antistoff konjugat produsert i et kompetitivt bindende immunoassay. FPIAs er fordelaktig over RIAs av den grunn at det ikke er noen radioaktive stoffer som må ha spesiell håndtering og avhending. I tillegg er FPIAs homogene assayer som kan lett og hurtig bli utført.

I lys av det overstående, en metode for å bestemme tilstedeværelsen, mengde, eller konsentrasjon av analytt (eller et fragment derav) i en testprøve er tilveiebrakt. Metoden omfatter å analysere testprøven for en analytt (eller et fragment derav) ved et assay (i) ved å anvende (i') minst en av et antistoff, et fragment av et antistoff som kan binde til en analytt, en variant til et antistoff som kan binde til en analytt, et fragment av en variant til et antistoff som kan binde til en analytt, og et DVD-Ig (eller et fragment, en variant, eller et fragment av en variant derav) som kan binde til en analytt, og (ii') minst en detekterbar markør og (ii) omfattende å sammenligne et

signal fremstilt ved den detekterbare markøren som en direkte eller indirekte indikasjon på tilstedeværelsen, mengde eller konsentrasjon av analytt (eller et fragment derav) i testprøven til et signal fremstilt som en direkte eller indirekte indikasjon på tilstedeværelsen, mengde eller konsentrasjon av analytt (eller et fragment derav) i en kontroll eller kalibrator. Kalibratoren er valgfritt del av en serie med kalibratorer, hvori hver av kalibratorene er forskjellige fra de andre kalibratorene ved konsentrasjonen av analytt.

Metoden kan omfatte (i) å kontakte testprøven med minst en første spesifikt bindende partner for analytt (eller et fragment derav) valgt fra gruppen bestående av et antistoff, et fragment av et antistoff som kan binde til en analytt, en variant til et antistoff som kan binde til en analytt, et fragment av en variant til et antistoff som kan binde til en analytt, og et DVD-Ig (eller et fragment, en variant, eller et fragment av en variant derav) som kan binde til en analytt for å danne et første spesifikt bindende partner/analytt (eller fragment derav) kompleks, (ii) å kontakte det første spesifikt bindende partneren/analytt (eller fragment derav) kompleks med minst en andre spesifikt bindende partner for analytt (eller fragment derav) valgt fra gruppen bestående av et detekterbart merket anti-analytt antistoff, et detekterbart merket fragment av et anti-analytt antistoff som kan binde til analytt, en detekterbart merket variant av et anti-analytt antistoff som kan binde til analytt, et detekterbart merket fragment av en variant av et anti-analytt antistoff som kan binde til analytt, og et detekterbart merket DVD-Ig (eller et fragment, en variant, eller et fragment av en variant derav) for å danne et første spesifikt bindende partner/analytt (eller fragment derav)/andre spesifikt bindende partner kompleks, og (iii) å bestemme tilstedeværelsen, mengde eller konsentrasjon av analytt i testprøven ved å detektere eller måle signalet fremstilt ved den detekterbare markøren i det første spesifikt bindende partneren/analytt (eller fragment derav)/andre spesifikt bindende partner komplekset dannet i (ii). En metode hvori minst en første spesifikt bindende partner for analytt (eller et fragment derav) og/eller minst en andre spesifikt bindende partner for analytt (eller et fragment derav) er et DVD-Ig (eller et fragment, en variant, eller et fragment av en variant derav) som beskrevet heri kan bli foretrukket.

Alternativt kan metoden omfatte å kontakte testprøven med minst en første spesifikt bindende partner for analytt (eller et fragment derav) valgt fra gruppen bestående av et antistoff, et fragment av et antistoff som kan binde til en analytt, en variant til et antistoff som kan binde til en analytt, et fragment av en variant til et antistoff som kan binde til en analytt, og et DVD-Ig (eller et fragment, en variant, eller et fragment av en variant derav) og samtidig eller sekvensielt, i hvilken som helst rekkefølge, å kontakte testprøven med minst en andre spesifikt bindende partner, som kan konkurrere med analytt (eller et fragment derav) for binding til den minst en første spesifikt bindende partner og som er valgt fra gruppen bestående av en detekterbart merket analytt, et detekterbart merket fragment av analytt som kan binde til den første spesifikt bindende partneren, en detekterbart merket variant av analytt som kan binde til den første spesifikt bindende

partneren, og et detekterbart merket fragment av en variant av analytt som kan binde til den første spesifikt bindende partneren. Enhver analytt (eller et fragment derav) tilstede i testprøven og den minst en andre spesifikt bindende partner konkurrerer med hverandre for å danne henholdsvis et første spesifikt bindende partner/analytt (eller fragment derav) kompleks og en første spesifikt bindende partner/andre spesifikt bindende partner kompleks. Metoden omfatter videre å bestemme tilstedeværelsen, mengde eller konsentrasjon av analytt i testprøven ved å detektere eller måle signalet fremstilt ved den detekterbare markøren i det første spesifikt bindende partneren/andre spesifikt bindende partner komplekset dannet i (ii), hvori signalet fremstilt ved den detekterbare markøren i det første spesifikt bindende partneren/andre spesifikt bindende partner komplekset er inverst proporsjonalt med mengden eller konsentrasjon av analytt i testprøven.

Metodene over kan videre omfatte å diagnosere, prognosere, eller vurdere effekten av en terapeutisk/profylaktisk behandling av en pasient fra hvem testprøven ble oppnådd. Hvis metoden videre omfatter å vurdere effekten av en terapeutisk/profylaktisk behandling av pasienten fra hvem testprøven ble oppnådd, omfatter metoden valgfritt videre å modifisere den terapeutiske/profylaktiske behandlingen av pasienten etter behov for å forbedre effekt. Metoden kan bli tilpasset for anvendelse i et automatisert system eller et halvautomatisert system.

Med hensyn til assay-metodene (og kit for dette), kan det være mulig å anvende kommersielt tilgjengelig anti-analytt antistoffer eller metoder for produksjon av anti-analytt som beskrevet i litteraturen. Kommersielle kilder for diverse antistoffer inkluderer, men er ikke begrenset til, Santa Cruz Biotechnology Inc. (Santa Cruz, CA), GenWay Biotech, Inc. (San Diego, CA), og R&D Systems (RDS; Minneapolis, MN).

Generelt kan et forutbestemt nivå bli anvendt som en referanse for å vurdere resultater oppnådd ved å analysere en testprøve for analytt eller et fragment derav, f.eks., for å detektere sykdom eller risiko for sykdom. Generelt når man gjør en slik sammenligning, blir det forutbestemte nivå oppnådd ved å kjøre et bestemt assay et tilstrekkelig antall ganger og under passende betingelser slik at en sammenkobling eller assosiering av tilstedeværelse av analytt, mengde eller konsentrasjon med en bestemt fase av, eller slutt på, en sykdom, forstyrrelse eller tilstand eller med bestemte kliniske indisier kan bli lagd. Typisk, blir det forutbestemte nivå oppnådd med analyser av referansesubjekter (eller populasjoner av subjekter). Analytten målt kan inkludere fragmenter derav, degraderingsprodukter derav, og/eller produkter fra enzymatisk spalting derav.

Spesielt, med hensyn til et forutbestemt nivå som anvendt for å monitorere sykdomsprogresjon og/eller behandling, mengden eller konsentrasjon av analytt eller et fragment derav kan bli "uforandret," "gunstig" (eller "gunstig forandret"), eller "ugunstig" (eller "ugunstig

forandret"). "Forhøyet" eller "økt" refererer til en mengde eller en konsentrasjon i en testprøve som er høyere enn et typisk eller normalt nivå eller område (f.eks., forutbestemt nivå), eller er høyere enn et annet referansenivå eller område (f.eks., tidligere eller grunnlinje prøve). Uttrykket "senket" eller "redusert" refererer til en mengde eller en konsentrasjon i en testprøve som er lavere enn et typisk eller normalt nivå eller område (f.eks., forutbestemt nivå), eller er lavere enn et annet referansenivå eller område (f.eks., tidligere eller grunnlinje prøve). Uttrykket "forandret" refererer til en mengde eller en konsentrasjon i en prøve som er forandret (økt eller senket) over et typisk eller normalt nivå eller område (f.eks., forutbestemt nivå), eller over et annet referansenivå eller område (f.eks., tidligere eller grunnlinje prøve).

Det typiske eller normale nivå eller område for analytt er definert i henhold til standard praksis. Fordi nivåene av analytt i noen tilfeller vil være veldig lavt, et såkalt forandret nivå eller forandring kan bli ansett å ha skjedd når det er enhver netto forandring sammenlignet med det typiske eller normale nivå eller område, eller referansenivå eller område, som ikke kan bli forklart ved eksperimentell feil eller prøve-variasjon. Følgelig, nivået målt i en bestemt prøve vil bli sammenlignet med nivået eller område av nivåer bestemt i lignende prøver fra et såkalt normalt subjekt. I denne sammenhengener et "normalt subjekt" et individ uten detekterbar sykdom, for eksempel, og en "normal" (noen ganger benevnt "kontroll") pasient eller populasjon er en som ikke fremviser detekterbar sykdom, henholdsvis, for eksempel. Videre, gitt at analytt ikke er rutinemessig funnet ved et høyt nivå i mesteparten av den menneskelige befolkning, et "normalt subjekt" kan bli ansett som et individ med ingen betydelig detekterbar økt eller forhøyet mengde eller konsentrasjon av analytt, og en "normal" (noen ganger benevnt "kontroll") pasient eller populasjon er en(s) som fremvise(s) ingen betydelig detekterbar økt eller forhøyet mengde eller konsentrasjon av analytt. Et "tilsynelatende normalt subjekt" er en hvori analytt ikke ennå har blitt, eller for tiden blir, vurdert. Nivået av en analytt er nevnt å være "forhøyet" når analytten er normalt udetekterbar (f.eks., det normale nivå er null, eller innenfor et område på fra omtrent 25 til omtrent 75 percentilen for normale populasjoner), men er detektert i en testprøve, så vel som når analytten er tilstede i testprøven ved et høyere enn normalt nivå. Følgelig, inter alia, beskrivelsen tilveiebringer en screenings-metode for et subjekt som har, eller med risiko for å ha, en spesifikk sykdom, forstyrrelse, eller tilstand. Assay-metoden kan også involvere analysen av andre markører og lignende.

Følgelig kan metodene beskrevet heri også bli anvendt for å bestemme om et subjekt har eller risikerer å utvikle en gitt sykdom, forstyrrelse eller tilstand. Spesifikt kan en slik metode omfatte trinnet å:

(a) bestemme konsentrasjonen eller mengden av analytt (eller et fragment derav) i en testprøve fra et subjekt (f.eks., ved å bruke metodene beskrevet heri, eller metoder kjent i teknikken); og

(b) sammenligne konsentrasjonen eller mengden av analytt (eller et fragment derav) bestemt i trinn (a) med et forutbestemt nivå, hvori, hvis konsentrasjonen eller mengden av analytt bestemt i trinn (a) er gunstig med hensyn til et forutbestemt nivå, da er subjektet bestemt til ikke å ha eller være ved risiko for en gitt sykdom, forstyrrelse eller tilstand. Imidlertid, hvis konsentrasjonen eller mengden av analytt bestemt i trinn (a) er ugunstig med hensyn til det forutbestemte nivå, da er subjektet bestemt å ha eller være ved risiko for en gitt sykdom, forstyrrelse eller tilstand.

Videre, tilveiebrakt heri er en metode for å monitorere progresjonen av sykdom i et subjekt. Optimalt omfatter metoden trinnene å:

(a) bestemme konsentrasjonen eller mengden av analytt i en testprøve fra et subjekt;

(b) bestemme konsentrasjonen eller mengden av analytt i en senere test-prøve fra subjektet; og

(c) sammenligne konsentrasjonen eller mengden av analytt som bestemt i trinn (b) med konsentrasjonen eller mengden av analytt bestemt i trinn (a), hvori hvis konsentrasjonen eller mengden bestemt i trinn (b) er uforandret eller er ugunstig når sammenlignet med konsentrasjonen eller mengden av analytt bestemt i trinn (a), da er sykdommen i subjektet bestemt å ha fortsatt, utviklet seg eller blitt verre. Ved sammenligning, hvis konsentrasjonen eller mengden av analytt som bestemt i trinn (b) er gunstig når sammenlignet med konsentrasjonen eller mengden av analytt som bestemt i trinn (a), da er sykdommen i subjektet bestemt å ha stoppet opp, gått tilbake eller forbedret.

Valgfritt omfatter metoden videre å sammenligne konsentrasjonen eller mengden av analytt som bestemt i trinn (b), for eksempel, med et forutbestemt nivå. Videre omfatter valgfritt metoden å behandle subjektet med en eller flere farmasøytiske sammensetninger i en tid hvis sammenligningen viser at konsentrasjonen eller mengden av analytt som bestemt i trinn (b), for eksempel, er ugunstig forandret med hensyn til det forutbestemte nivå.

Fortsatt videre kan metodene bli anvendt for å overvåke behandling i et subjekt som mottar behandling med en eller flere farmasøytiske sammensetninger. Spesifikt involverer slike metoder å tilveiebringe en første test-prøve fra et subjekt før subjektet har blitt administrert en eller flere farmasøytiske sammensetninger. Så blir konsentrasjonen eller mengden av analytt i en første test-prøve fra et subjekt bestemt (f.eks., ved å bruke metodene beskrevet heri eller som kjent i teknikken). Etter at konsentrasjonen eller mengden av analytt er bestemt, valgfritt konsentrasjonen eller mengden av analytt blir så sammenlignet med et forutbestemt nivå. Hvis konsentrasjonen eller mengden av analytt som bestemt i den første test-prøven er lavere enn det forutbestemte nivå, da er subjektet ikke behandlet med en eller flere farmasøytiske sammensetninger. Imidlertid, hvis konsentrasjonen eller mengden av analytt som bestemt i den

første test-prøven er høyere enn det forutbestemte nivå, da blir subjektet behandlet med en eller flere farmasøytiske sammensetninger i en tid. Tidsperioden som subjektet blir behandlet med det ene eller flere farmasøytiske sammensetninger kan bli bestemt av en fagmann (for eksempel kan tidsperioden være fra omtrent syv (7) dager til omtrent to år, fortrinnsvis fra omtrent fjorten (14) dager til omtrent ett (1) år).

I løpet av behandlingen med det ene eller flere farmasøytiske sammensetninger, blir andre og etterfølgende test-prøver deretter oppnådd fra subjektet. Antallet test-prøver og tiden hvori nevnte test-prøver er oppnådd fra subjektet er ikke kritiske. For eksempel kunne en andre test-prøve bli oppnådd syv (7) dager etter at subjektet er først administrert det ene eller flere farmasøytiske sammensetninger, en tredje test-prøve kunne bli oppnådd to (2) uker etter at subjektet er først administrert det ene eller flere farmasøytiske sammensetninger, en fjerde test-prøve kunne bli oppnådd tre (3) uker etter at subjektet er først administrert det ene eller flere farmasøytiske sammensetninger, en femte test-prøve kunne bli oppnådd fire (4) uker etter at subjektet er først administrert det ene eller flere farmasøytiske sammensetninger, osv.

Etter hver andre eller etterfølgende test-prøve blir oppnådd fra subjektet blir konsentrasjonen eller mengden av analytt bestemt i den andre eller etterfølgende test-prøve er bestemt (f.eks., ved å bruke metodene beskrevet heri eller som kjent i teknikken). Konsentrasjonen eller mengden av analytt som bestemt i hver av den andre og etterfølgende test-prøver blir så sammenlignet med konsentrasjonen eller mengden av analytt som bestemt i den første test-prøven (f.eks., testprøven som ble opprinnelig valgfritt sammenlignet med det forutbestemte nivå). Hvis konsentrasjonen eller mengden av analytt som bestemt i trinn (c) er gunstig når sammenlignet med konsentrasjonen eller mengden av analytt som bestemt i trinn (a), da er sykdommen i subjektet bestemt å ha stoppet opp, gått tilbake eller forbedret, og subjektet should continue å være administrert the en eller farmasøytiske sammensetninger of trinn (b). Imidlertid, hvis konsentrasjonen eller mengden bestemt i trinn (c) er uforandret eller er ugunstig når sammenlignet med konsentrasjonen eller mengden av analytt som bestemt i trinn (a), da er sykdommen i subjektet bestemt å ha fortsatt, utviklet seg eller blitt verre, og subjektet bør bli behandlet med en høyere konsentrasjon av det ene eller flere farmasøytiske sammensetninger administrert til subjektet i trinn (b) eller subjektet bør bli behandlet med en eller flere farmasøytiske sammensetninger som er forskjellig fra det ene eller flere farmasøytiske sammensetninger administrert til subjektet i trinn (b). Spesifikt, subjektet kan bli behandlet med en eller flere farmasøytiske sammensetninger som er forskjellig fra det ene eller flere farmasøytiske sammensetninger som subjektet tidligere hadde mottatt for å minske eller senke nevnte subjekts analytt nivå.

Generelt, for assayer hvori gjentakende testing kan bli gjort (f.eks., å monitorere sykdomsprogresjon og/eller respons for behandling), en andre eller etterfølgende test-prøve blir

oppnådd en tid etter at den første test-prøven har blitt oppnådd fra subjektet. Spesifikt, en andre test-prøve fra subjektet kan bli oppnådd minutter, timer, dager, uker eller år etter den første test-prøven har blitt oppnådd fra subjektet. For eksempel, den andre test-prøven kan bli oppnådd fra subjektet ved en tidsperiode på omtrent 1 minutt, omtrent 5 minutter, omtrent 10 minutter, omtrent 15 minutter, omtrent 30 minutter, omtrent 45 minutter, omtrent 60 minutter, omtrent 2 timer, omtrent 3 timer, omtrent 4 timer, omtrent 5 timer, omtrent 6 timer, omtrent 7 timer, omtrent 8 timer, omtrent 9 timer, omtrent 10 timer, omtrent 11 timer, omtrent 12 timer, omtrent 13 timer, omtrent 14 timer, omtrent 15 timer, omtrent 16 timer, omtrent 17 timer, omtrent 18 timer, omtrent 19 timer, omtrent 20 timer, omtrent 21 timer, omtrent 22 timer, omtrent 23 timer, omtrent 24 timer, omtrent 2 dager, omtrent 3 dager, omtrent 4 dager, omtrent 5 dager, omtrent 6 dager, omtrent 7 dager, omtrent 2 uker, omtrent 3 uker, omtrent 4 uker, omtrent 5 uker, omtrent 6 uker, omtrent 7 uker, omtrent 8 uker, omtrent 9 uker, omtrent 10 uker, omtrent 11 uker, omtrent 12 uker, omtrent 13 uker, omtrent 14 uker, omtrent 15 uker, omtrent 16 uker, omtrent 17 uker, omtrent 18 uker, omtrent 19 uker, omtrent 20 uker, omtrent 21 uker, omtrent 22 uker, omtrent 23 uker, omtrent 24 uker, omtrent 25 uker, omtrent 26 uker, omtrent 27 uker, omtrent 28 uker, omtrent 29 uker, omtrent 30 uker, omtrent 31 uker, omtrent 32 uker, omtrent 33 uker, omtrent 34 uker, omtrent 35 uker, omtrent 36 uker, omtrent 37 uker, omtrent 38 uker, omtrent 39 uker, omtrent 40 uker, omtrent 41 uker, omtrent 42 uker, omtrent 43 uker, omtrent 44 uker, omtrent 45 uker, omtrent 46 uker, omtrent 47 uker, omtrent 48 uker, omtrent 49 uker, omtrent 50 uker, omtrent 51 uker , omtrent 52 uker, omtrent 1.5 år, omtrent 2 år, omtrent 2.5 år, omtrent 3.0 år, omtrent 3.5 år, omtrent 4.0 år, omtrent 4.5 år, omtrent 5.0 år, omtrent 5.5. år, omtrent 6.0 år, omtrent 6.5 år, omtrent 7.0 år, omtrent 7.5 år, omtrent 8.0 år, omtrent 8.5 år, omtrent 9.0 år, omtrent 9.5 år eller omtrent 10.0 år etter den første test-prøven fra subjektet blir oppnådd.

Når anvendt for å overvåke sykdomsprogresjon kan assayet over bli anvendt for å overvåke progresjonen av sykdom i subjekter som lider av akutte tilstander. Akutte tilstander, også kjent som kritiske tilstander, refererer til akutte, livstruende sykdommer eller andre kritiske medisinske tilstander som involverer, for eksempel, det kardiovaskulære systemet eller det ekskretoriske systemet. Typisk refererer kritiske tilstander til de tilstander som må ha akutt medisinsk intervensjon i sykehusomgivelser (inkludert, men ikke begrenset til, legevakten, overvåkingsenhet, traumasenter, eller andre øyeblikkelig hjelp omgivelser) eller administrasjon av ambulansepersonell eller annet ute-basert medisinsk personnel. For kritiske tilstander blir gjentakende monitorering generelt gjort innenfor en kortere tidsperiode, nemlig, minutter, timer eller dager (f.eks., omtrent 1 minutt, omtrent 5 minutter, omtrent 10 minutter, omtrent 15 minutter, omtrent 30 minutter, omtrent 45 minutter, omtrent 60 minutter, omtrent 2 timer, omtrent 3 timer, omtrent 4 timer, omtrent 5 timer, omtrent 6 timer, omtrent 7 timer, omtrent 8 timer, omtrent 9 timer, omtrent 10 timer, omtrent 11 timer, omtrent 12 timer, omtrent 13 timer, omtrent

14 timer, omtrent 15 timer, omtrent 16 timer, omtrent 17 timer, omtrent 18 timer, omtrent 19 timer, omtrent 20 timer, omtrent 21 timer, omtrent 22 timer, omtrent 23 timer, omtrent 24 timer, omtrent 2 dager, omtrent 3 dager, omtrent 4 dager, omtrent 5 dager, omtrent 6 dager eller omtrent 7 dager), og den innledende analysen blir likeledes generelt gjort innenfor en kortere tidsperiode, f.eks., omtrent minutter, timer eller dager fra utbruddet av sykdommen eller tilstanden.

Assayene kan også bli anvendt for å overvåke progresjonen av sykdom i subjekter som lider av kroniske eller ikke-akutte tilstander. Ikke-kritiske eller, ikke-akutte tilstander, refererer til andre tilstander enn akutt, livstruende sykdom eller andre kritiske medisinske tilstander som involverer, for eksempel, det kardiovaskulære systemet og/eller det ekskretoriske systemet. Typisk, ikke-akutte tilstander inkluderer de med lengre-uttrykk eller kronisk varighet. For ikke-akutte tilstander, gjentakende monitorering blir generelt gjort med en lengre tidshorisont, f.eks., timer, dager, uker, måneder eller år (f.eks., omtrent 1 time, omtrent 2 timer, omtrent 3 timer, omtrent 4 timer, omtrent 5 timer, omtrent 6 timer, omtrent 7 timer, omtrent 8 timer, omtrent 9 timer, omtrent 10 timer, omtrent 11 timer, omtrent 12 timer, omtrent 13 timer, omtrent 14 timer, omtrent 15 timer, omtrent 16 timer, omtrent 17 timer, omtrent 18 timer, omtrent 19 timer, omtrent 20 timer, omtrent 21 timer, omtrent 22 timer, omtrent 23 timer, omtrent 24 timer, omtrent 2 dager, omtrent 3 dager, omtrent 4 dager, omtrent 5 dager, omtrent 6 dager, omtrent 7 dager, omtrent 2 uker, omtrent 3 uker, omtrent 4 uker, omtrent 5 uker, omtrent 6 uker, omtrent 7 uker, omtrent 8 uker, omtrent 9 uker, omtrent 10 uker, omtrent 11 uker, omtrent 12 uker, omtrent 13 uker, omtrent 14 uker, omtrent 15 uker, omtrent 16 uker, omtrent 17 uker, omtrent 18 uker, omtrent 19 uker, omtrent 20 uker, omtrent 21 uker, omtrent 22 uker, omtrent 23 uker, omtrent 24 uker, omtrent 25 uker, omtrent 26 uker, omtrent 27 uker, omtrent 28 uker, omtrent 29 uker, omtrent 30 uker, omtrent 31 uker, omtrent 32 uker, omtrent 33 uker, omtrent 34 uker, omtrent 35 uker, omtrent 36 uker, omtrent 37 uker, omtrent 38 uker, omtrent 39 uker, omtrent 40 uker, omtrent 41 uker, omtrent 42 uker, omtrent 43 uker, omtrent 44 uker, omtrent 45 uker, omtrent 46 uker, omtrent 47 uker, omtrent 48 uker, omtrent 49 uker, omtrent 50 uker, omtrent 51 uker , omtrent 52 uker, omtrent 1.5 år, omtrent 2 år, omtrent 2.5 år, omtrent 3.0 år, omtrent 3.5 år, omtrent 4.0 år, omtrent 4.5 år, omtrent 5.0 år, omtrent 5.5. år, omtrent 6.0 år, omtrent 6.5 år, omtrent 7.0 år, omtrent 7.5 år, omtrent 8.0 år, omtrent 8.5 år, omtrent 9.0 år, omtrent 9.5 år eller omtrent 10.0 år), og den innledende analysen blir likeledes generelt gjort innenfor en lengre tidsperiode, f.eks., omtrent timer, dager, måneder eller år fra utbruddet av sykdommen eller tilstanden.

Videre kan analysene over bli utført ved å bruke en første test-prøve oppnådd fra et subjekt hvor den første test-prøven blir oppnådd fra en kilde, slik som urin, serum eller plasma. Valgfritt kan analysene over deretter bli repetert ved å bruke en andre test-prøve oppnådd fra subjektet hvor den andre test-prøven blir oppnådd fra en annen kilde. For eksempel, hvis den første test-prøven ble oppnådd fra urin, kan den andre test-prøven bli oppnådd fra serum eller

plasma. Resultatene oppnådd fra assayene ved å bruke den første test-prøven og den andre test-prøven kan bli sammenlignet. Sammenligningen kan bli anvendt for å vurdere statusen til en sykdom eller tilstand i subjektet.

Videre, den foreliggende beskrivelsen angår også metoder for å bestemme om et subjekt predisponert for eller lidende av en gitt sykdom, forstyrrelse eller tilstand vil ha nytte fra behandling. Spesielt, beskrivelsen angår analytt companion diagnostic metoder og produkter. Følgelig, metoden of "å monitorere behandlingen av sykdom i et subjekt" som beskrevet heri videre optimalt kan også omfatter å velge eller identifying kandidater for terapi.

Følgelig, spesielt utførelsesformer, beskrivelsen tilveiebringer også en metode for å bestemme om et subjekt som har, eller har risiko for, en gitt sykdom, forstyrrelse eller tilstand er en kandidat for terapi. Generelt er subjektet en som har opplevd symptom på en gitt sykdom, forstyrrelse eller tilstand eller som faktisk har blitt diagnostisert å ha, eller som er ved risiko for, en gitt sykdom, forstyrrelse eller tilstand, og/eller som demonstrerer en ugunstig konsentrasjon eller mengde av analytt eller et fragment derav, som beskrevet heri.

Metoden omfatter valgfritt et assay som beskrevet heri, hvor analytt er vurdert før og etter behandling av et subjekt med en eller flere farmasøytiske sammensetninger (f.eks., spesielt med et legemiddel relatert til en virkningsmekanisme som involverer analytt), med immunosuppressive terapi, eller av immunoabsorpsjon terapi, eller hvor analytt er vurdert etter slik behandling og konsentrasjonen eller mengden av analytt er sammenlignet mot et forutbestemt nivå. En ugunstig konsentrasjon av mengde av analytt observert etter behandling bekrefter at subjektet ikke vil nytte fra å motta videre eller fortsatt behandling, mens en gunstig konsentrasjon eller mengde av analytt observert etter behandling bekrefter at subjektet vil nytte fra å motta videre eller fortsatt behandling. Denne bekreftelsen hjelper med håndtering av kliniske studier, og gir forbedret pasientpleie.

Det er åpenbart, selvom visse utførelsesformer heri er fordelaktige når anvendt for å vurdere en gitt sykdom, forstyrrelse eller tilstand som diskutert heri kan assayene og kit'ene bli anvendt for å vurdere analytt i andre sykdommer, forstyrrelser og tilstander. Assay-metoden kan også involvere analysen av andre markører og lignende.

Assay-metoden kan også bli anvendt for å identifisere en forbindelse som forbedrer en gitt sykdom, forstyrrelse eller tilstand. For eksempel, en celle som uttrykker analytt kan bli kontaktet med en kandidat forbindelse. Nivået på uttrykking av analytt i cellen kontaktet med forbindelsen kan bli sammenlignet med som i en kontroll celle ved å bruke assay-metoden beskrevet heri.

II. Kit

Et kit for å analysere en testprøve for tilstedeværelsen, mengde eller konsentrasjon av en analytt (eller et fragment derav) i en testprøve er også tilveiebrakt. Kit'et omfatter minst en komponent for å analysere testprøven for analytten (eller et fragment derav) og instruksjoner for å analysere testprøven for analytten (eller et fragment derav). Den minst ene komponenten for å analysere testprøven for analytten (eller et fragment derav) kan inkludere en sammensetning omfattende et anti-analytt DVD-Ig (eller et fragment, en variant, eller et fragment av en variant derav), som er valgfritt immobilisert på en fast fase.

Kit'et kan omfatte minst en komponent for å analysere testprøven for en analytt ved immunoassay, f.eks., kjemiluminescerende mikropartikkel immunoassay, og instruksjoner for å analysere testprøven for en analytt ved immunoassay, f.eks., kjemiluminescerende mikropartikkel immunoassay. For eksempel kan kit'et omfatte minst en spesifikt bindende partner for en analytt, slik som et anti-analytt, monoklonalt/polyklonalt antistoff (eller et fragment derav som kan binde til analytten, en variant derav som kan binde til analytten, eller et fragment av en variant som kan binde til analytten) eller et anti-analytt DVD-Ig (eller et fragment, en variant, eller et fragment av en variant derav), hvorav begge kan være detekterbart merket. Alternativt eller videre kan kit'et omfatte detekterbart merket analytt (eller et fragment derav som kan binde til et anti-analytt, monoklonalt/polyklonalt antistoff eller et anti-analytt DVD-Ig (eller et fragment, en variant, eller et fragment av en variant derav)), som kan konkurrere med enhver analytt i en testprøve for binding til et anti-analytt, monoklonalt/polyklonalt antistoff (eller et fragment derav som kan binde til analytten, en variant derav som kan binde til analytten, eller et fragment av en variant som kan binde til analytten) eller et anti-analytt DVD-Ig (eller et fragment, en variant, eller et fragment av en variant derav), enten of som kan være immobilisert på en fast støtte. Kit'et kan omfatte en kalibrator eller kontroll, f.eks., isolert eller renset analytt. Kit'et kan omfatte minst en beholder (f.eks., rør, mikrotiterplater eller strimler, som allerede kan være belagt med en første spesifikt bindende partner, for eksempel) for å utføre assayet, og/eller en buffer, slik som en assay-buffer eller en vaskebuffer, hvorav begge kan være tilveiebrakt som en konsentrert løsning, en substrat-løsning for den detekterbare markøren (f.eks., en enzymatisk markør), eller en stoppe-løsning. Fortrinnsvis omfatter kit'et alle komponenter, dvs., reagenser, standarder, buffere, fortynnere, osv., som er nødvendig for å utføre assayet. Instruksjonene kan være på papirform eller datamaskin-lesbar form, slik som en disk, CD, DVD, eller liknende.

Hvilke som helst antistoffer, slik som et anti-analytt antistoff eller et anti-analytt DVD-Ig, eller tracer kan inkorporere en detekterbar markør som beskrevet heri, slik som en fluorofor, en radioaktiv enhet, et enzym, en biotin/avidin markør, en kromofor, en kjemiluminescerende markør, eller liknende, eller kit'et kan inkludere reagenser for å utføre detekterbar merking. Antistoffene, kalibratorer og/eller kontroller kan bli tilveiebrakt i separate beholdere eller ferdiglevert i et passende assay-format, for eksempel, i mikrotiterplater.

Valgfritt inkluderer kit'et kvalitetskontroll komponenter (for eksempel, sensitivitetspaneler, kalibratorer, og positiv kontroller). Fremstilling av kvalitetskontroll-reagenser er velkjent i teknikken og er beskrevet på vedleggsark for en rekke immunodiagnoserende produkter. Sensitivitetspanelmedlemmer blir valgfritt anvendt for å fastsette karakteristikker for ytelsen til assayet, og videre er valgfritt nyttige indikatorer for integriteten til immunoassay kit reagensene, og standardiseringen av assayer.

Kit'et kan også valgfritt inkludere andre reagenser nødvendig for å utføre et diagnostisk assay eller legger til rette for kvalitetskontroll vurderinger, slik som buffere, salter, enzymer, enzym co-faktorer, enzym substrater, deteksjonsreagenser, og lignende. Andre komponenter, slik som buffere og løsninger for isoleringen og/eller behandling av en testprøve (f.eks., forbehandlingsreagenser), kan også være inkludert i kit'et. Kit'et kan videre inkludere en eller flere andre kontroller. En eller flere av komponentene til kit'et kan bli frysetørket, i hvilket tilfelle kit'et kan videre omfatte reagenser passende for rekonstitueringen av de frysetørkede komponenter.

De forskjellige komponenter i kit'et er valgfritt tilveiebrakt i passende beholdere som nødvendig, f.eks., en mikrotiterplate. Kit'et kan videre inkludere beholdere for å oppbevare eller lagre en prøve (f.eks., en beholder eller kassett for en urinprøve). Hvor passende kan kit'et valgfritt også inneholde reaksjonsbeholder, blandingskar, og andre komponenter som legger til rette for fremstillingen av reagenser eller testprøven. Kit'et kan også inkludere en eller flere instrumenter for å hjelpe med å oppnå en testprøve, slik som en sprøyte, pipette, pinsett, måleskje, eller liknende.

Hvis den detekterbare markøren er minst en acridinium-forbindelse kan kit'et omfatte minst et acridinium-9-karboksamid, minst en acridinium-9-karboksylat aryl ester, eller enhver kombinasjon derav. Hvis den detekterbare markøren er minst en acridinium-forbindelse kan kit'et også omfatte en kilde med hydrogenperoksid, slik som en buffer, en løsning, og/eller minst en basisk løsning. Hvis ønsket kan kit'et inneholder en fast fase, slik som en magnetisk partikkel, kule, reagensglass, mikrotiterplate, kuvette, membran, stilasmolekyl, film, filterpapir, plate eller chip.

III. Tilpasning av Kit og Metode

Kit'et (eller komponenter derav), så vel som metoden for å bestemme tilstedeværelsen, mengde eller konsentrasjon av en analytt i en testprøve ved et assay, slik som et immunoassay som beskrevet heri, kan bli tilpasset for anvendelse i en rekke automatiserte og halvautomatiserte systemer (inkludert de hvori den faste fasen omfatter en mikropartikkel), som beskrevet, f.eks., i U.S. Patentnr.. 5,089,424 og 5,006,309, og som kommersielt markedsført, f.eks., ved Abbott Laboratories (Abbott Park, IL) as ARCHITECT®.

Noen av forskjellene mellom et automatisert eller halvautomatisert system sammenlignet med et ikke-automatisert system (f.eks., ELISA) inkluderer substratet til hvilket den første spesifikt bindende partneren (f.eks., et anti-analytt, monoklonalt/polyklonalt antistoff (eller et fragment derav, en variant derav, eller et fragment av en variant derav) eller et anti-analytt DVD-Ig (eller et fragment derav, en variant derav, eller et fragment av en variant derav) er knyttet til; enten vei, sandwich dannelse og analytt reaktivitet kan bli påvirket), og lengden og timingen av fangsten, deteksjon og/eller ethvert valgfritt vasketrinn. Mens et ikke-automatisert format, slik som et ELISA, kan trenge en relativt lengre inkuberingstid med prøve og fangstreagens (f.eks., omtrent 2 timer), et automatisert eller halvautomatisert format (f.eks., ARCHITECT®, Abbott Laboratories) kan ha en relativt kortere inkuberingstid (f.eks., omtrent 18 minutter for ARCHITECT®). Tilsvarende, mens et ikke-automatisert format, slik som et ELISA, kan inkubere et deteksjons-antistoff, slik som konjugatreagensene, for en relativt lengre inkuberingstid (f.eks., omtrent 2 timer), et automatisert eller halvautomatisert format (f.eks., ARCHITECT®) kan ha en relativt kortere inkuberingstid (f.eks., omtrent 4 minutter for the ARCHITECT®).

Andre platformer tilgjengelig fra Abbott Laboratories inkluderer, men er ikke begrenset til, AxSYM®, IMx® (se, f.eks., U.S. Pat. Nr. 5,294,404), PRISM®, EIA (kule), og Quantum™ II, så vel som andre platformer. Videre kan assayene, kit og kit komponenter bli anvendt i andre formater, for eksempel, på elektrokjemiske eller andre håndholdte eller point-of-care assaysystemer. Den foreliggende beskrivelsen er, for eksempel, anvendbar på det kommersielle Abbott Point of Care (i-STAT®, Abbott Laboratories) elektrokjemisk immunoassaysystem som utfører sandwich immunoassayer. Immunosensorer og deres metoder for fremstilling og bruk i engangs test-anordninger er beskrevet, for eksempel i, U.S. Patentnr. 5,063,081, U.S. Pat. App. Pub. Nr. 2003/0170881, U.S. Pat. App. Pub. Nr. 2004/0018577, U.S. Pat. App. Pub. Nr. 2005/0054078, og U.S. Pat. App. Pub. Nr. 2006/0160164.

Spesielt, med hensyn til tilpasningen av et analytt-assay til I-STAT® systemet, er konfigurasjon som følger foretrukket. En mikrofremstilt silisium-chip blir fremstilt med et par med gull amperometriske arbeidselektroder og en sølv-sølvklorid referanseelektrode. På en av arbeidselektrodene, polystyren-kuler (0.2 mm diameter) med immobilisert anti-analytt, monoklonalt/polyklonalt antistoff (eller et fragment derav, en variant derav, eller et fragment av en variant derav) eller anti-analytt DVD-Ig (eller et fragment derav, en variant derav, eller et fragment av en variant derav), blir festet til et polymerbelegg av mønstret polyvinylalkohol over elektroden. Denne chip'en blir satt sammen i en I-STAT® kassett med et fluidformat passende for immunoassay. På en del av veggen til prøveholdekammeret til kassetten er det et lag omfattende en spesifikt bindende partner for en analytt, slik som et anti-analytt, monoklonalt/polyklonalt antistoff (eller et fragment derav, en variant derav, eller et fragment av en variant derav som kan binde analytten) eller et anti-analytt DVD-Ig (eller et fragment derav, en

variant derav, eller et fragment av en variant derav som kan binde analytten), hvorav begge kan være detekterbart merket. Innenfor fluid-lommen til kassetten er et vandig reagens som inkluderer p-aminofenol fosfat.

Ved bruk, en prøve mistenkt å inneholde en analytt blir tilsatt til holde-kammeret til prøve-kassetten, og kassetten blir satt inn i I-STAT® avleseren. Etter at den spesifikt bindende partneren for en analytt har oppløst inn i prøven, tvinger et pumpe-element innenfor kassetten prøven inn i en kanal inneholdende chip'en. Her blir det ristet for å promotere dannelse av sandwich'en. I det nest-siste trinnet til assayet, bli fluid tvunget ut av lommen og inn i kanalen for å vaske prøven av chip'en og inn i et avfallskammer. I det siste trinnet til assayet reagerer den basiske fosfatase-markøren med p-aminofenol fosfat for å spalte fosfat-gruppen og tillate den frigjorte p-aminofenolen å bli elektrokjemisk oksidert ved arbeidselektroden. Basert på målt strøm er avleseren i stand til å beregne mengden av analytt i prøven ved hjelp av en innebygd algoritme og fabrikk-bestemt kalibreringskurve.

Det sier seg selv at metodene og kit som beskrevet heri nødvendigvis omfatter andre reagenser og metoder for å utføre immunoassayet. For eksempel, omfattet er diverse buffere som er kjent i teknikken og/eller som lett kan bli fremstilt eller optimalisert for anvendelse, f.eks., for vasking, som en konjugat-fortynner, mikropartikkel-fortynner, og/eller som en kalibrator-fortynner. En eksempelvis konjugat-fortynner er ARCHITECT® konjugat-fortynner anvendt i visse kit (Abbott Laboratories, Abbott Park, IL) og inneholdende 2-(N-morfolin)etansulfonsyre (MES), et salt, en protein-blokkerer, et antimikrobisk middel, og en detergent. En eksempelvis kalibrator-fortynner er ARCHITECT® human kalibrator-fortynner anvendt i visse kit (Abbott Laboratories, Abbott Park, IL), som omfatter en buffer inneholdende MES, andre salt, en protein-blokkerer, og et antimikrobisk middel. Videre, som beskrevet i U.S. Patent Søknad Nr. 61/142,048 innlevert desember 31, 2008 kan forbedret signalgenerering bli oppnådd, f.eks., i et I-Stat kassett-format, ved å bruke en nukleinsyre-sekvens knyttet til signal-antistoffet som en signalforsterker.

EKSEMPLIFISERING

Eksempel 1: Design, Konstruksjon, og Analyse av et DVD-Ig

Eksempel 1.1: Assayer Anvendt for å identifisere og Karakterisere Moderantistoffer og DVD-Ig

De etterfølgende assayer ble anvendt gjennom hele eksemplene for å identifisere og karakterisere moderantistoffer og DVD-Ig, medmindre annet er nevnt.

Eksempel 1.1.1: Assayer Anvendt For å bestemme Binding og Affinitet av Moderantistoffer og DVD-Ig for Deres Mål-Antigen(er)

Eksempel 1.1.1A: <u>Direkte bindende ELISA</u>

Enzym-sammenkoblet Immunosorbent Assayer for å screene for antistoffer som binder et ønsket mål-antigen ble utført som følger. Høyt-bindende ELISA-plater (Corning Costar # 3369, Acton, MA) ble belagt med 100µL/brønn med 10µg/ml av ønsket mål-antigen (R&D Systems, Minneapolis, MN) eller ønsket mål-antigen ekstra-cellulært domene / FC fusjonsprotein (R&D Systems, Minneapolis, MN) eller monoklonalt mus anti-polyHistidin antistoff (R&D Systems # MAB050, Minneapolis, MN) i Fosfatbufret saltløsning (10X PBS, Abbott Bioresearch Center, Media Prep# MPS-073, Worcester, MA) over natten ved 4°C. Plater ble vasket fire ganger med PBS inneholdende 0.02% Tween 20. Plater ble blokkert ved tilsetningen av 300 µL/brønn blokkeringsløsning (fettfritt tørt melkepulver, diverse forskjellige leverandører, fortynnet til 2% i PBS) i 1/2 time ved romtemperatur. Plater ble vasket fire ganger etter blokkering med PBS inneholdende 0.02% Tween 20.

Alternativt, ett hundre mikroliter per brønn med 10 µg/ml med Histidin (His) merket ønsket mål-antigen (R&D Systems, Minneapolis, MN) ble tilsatt til ELISA-plater belagt med monoklonalt mus anti-polyHistidin antistoff som beskrevet over og inkubert i 1 time ved romtemperatur. Brønner ble vasket fire ganger med PBS inneholdende 0.02% Tween 20.

Ett hundre mikroliter med antistoff eller DVD-Ig preparater fortynnet i blokkeringsløsning som beskrevet over ble tilsatt til den ønskede mål-antigen platen eller ønsket mål-antigen / FC fusjon plate eller anti-polyHistidin antistoff / His-merket ønsket mål-antigen platen fremstilt som beskrevet over og inkubert i 1 time ved romtemperatur. Brønner ble vasket fire ganger med PBS inneholdende 0.02% Tween 20.

Ett hundre mikroliter med 10ng/mL geit anti-humant IgG –FC spesifikt HRP konjugert antistoff (Southern Biotech # 2040-05, Birmingham, AL) ble tilsatt til hver brønn av den ønskede mål-antigen platen eller anti-polyHistidine antistoff / Histidin-merket ønsket mål-antigen plate. Alternativt, ett hundre mikroliter med 10 ng/mL geit anti-humant IgG –kappa lettkjede spesifikt HRP konjugert antistoff (Southern Biotech # 2060-05 Birmingham, AL) ble tilsatt til hver brønn av ønsket mål-antigen / FC fusjon platen og inkubert i 1 time ved romtemperatur. Plater ble vasket 4 ganger med PBS inneholdende 0.02% Tween 20.

Ett hundre mikroliter med forbedret TMB-løsning (Neogen Corp. #308177, K Blue, Lexington, KY) ble tilsatt til hver brønn og inkubert i 10 minutter ved romtemperatur. Reaksjonen ble stoppet ved tilsetningen av 50 µL 1N svovelsyre. Plater ble avlest spektrofotometrisk ved en bølgelengde på 450 nm.

Tabell 3 inneholder en liste med antigenene anvendt i direkte-bindingsassayet.

Tabell 4 inneholder bindingsdata uttrykt som EC50 i nM for de antistoffer og DVD-Ig-konstruksjoner utprøvd i det direkte bindende ELISA-assayet.

I det direkte bindende ELISA ble binding noen ganger ikke observert, sannsynligvis fordi det antistoff-bindende setet på mål-antigenet ble enten "maskert" eller antigenet blir "fordreid" når belagt på plastoverflaten. Den manglende evnen til et DVD-Ig for å binde dets mål kan også være på grunn av sterisk begrensning påtvunget DVD-Ig ved det direkte bindende ELISA format. Moder-antistoffene og DVD-Ig'er som ikke bandt i det direkte bindende ELISA format bandt til mål-antigen i andre ELISA-formater, slik som FACS, Biacore eller bioassay. Ikke-binding av et DVD-Ig ble også gjenvunnet ved å justere linker-lengden mellom de to variable domenene til DVD-Ig'et, som vist tidligere.

Tabell 3: Antigener Anvendt i Direkte bindende ELISA

Assay	Antigen	Forhandler Benevnelse	Forhandler	Katalog #
TNFα	TNFα	TNFα/TNFSF1A	R&D	210-TA
RANK L	RANK L	TRANCE/RANKL/ECD	R&D	390-TN
NGF	NGF	β–NGF	R&D	256-GF
SOST	SOST	SOST/His	R&D	1406-ST
DKK	DKK	DKK-1/His	R&D	1096-DK
IL-4	IL-4	IL-4	R&D	204-IL
IL-17A	IL-17A	IL-17A	R&D	317-IL
IL-1β	IL-1β	IL-1β	R&D	201-LB
IL-6	IL-6	IL-6	R&D	206-IL
IL-13	IL-13	IL-13	R&D	213-IL
IgE	IgE	IgE, Myelom	Calbiochem	401152
IL-6R	IL-6R	IL-6sR	R&D	227-SR
VEGF	VEGF	VEGF165	R&D	293-VE
IL-1α	IL-1α	IL-1α	R&D	200-LA

/CD = Ekstracellulær Domene
/His = Histidin merket

Tabell 4: Direkte-bindende ELISA av Moder-antistoffer og DVD Konstruksjoner

Moderantistoff eller DVD ID	N-terminal Variable Domene	C-terminal Variable Domene	Direkte bindende ELISA N-terminal VD EC50 (nM)	Direkte bindende ELISA C-terminal VD EC50 (nM)
AB017	TNF		0.44	
AB029	IL-17A		0.94	
DVD051	TNF	IL-17A	0.3	31.95
DVD052	IL-17A	TNF	1.31	17.45
AB017	TNF		0.14	
AB018	RANKL		0.08	
DVD053	TNF	RANKL	0.12	0.93
DVD054	RANKL	TNF	0.15	2.37
AB017	TNF		0.43	
AB014	VEGF		2.02	
DVD055	TNF	VEGF	0.44	18.52
DVD056	VEGF	TNF	6.16	21.41
AB017	TNF		0.14	
AB020	NGF		9	
DVD059	TNF	NGF	0.32	976.26
DVD060	NGF	TNF	2.21	5.33
AB017	TNF		0.43	
AB022	SOST (seq1)		0.66	
DVD063	TNF	SOST (seq1)	0.52	661.01
DVD064	SOST (seq1)	TNF	0.54	59.22
AB017	TNF		0.14	

Moderantistoff eller DVD ID	N-terminal Variable Domene	C-terminal Variable Domene	Direkte bindende ELISA N-terminal VD EC50 (nM)	Direkte bindende ELISA C-terminal VD EC50 (nM)
AB023	DKK		6.83	
DVD065	TNF	DKK	0.09	1202.93
DVD066	DKK	TNF	3.76	45.41
AB017	TNF		0.39	
DVD067	TNF	alfaVbeta3	0.31	
DVD068	alfaVbeta3	TNF		2.72
AB053	IgE		0.01	
AB027	IL-4		5.81	
DVD109	IgE	IL-4	0.01	2519.71
DVD110	IL-4	IgE	3.66	39.83
AB032	IL-1b		2.61	
AB029	IL-17A		0.57	
DVD121	IL-1b	IL-17A	9.78	12.16
DVD122	IL-17A	IL-1b	0.58	1197.13
AB032	IL-1b		2.61	
AB014	VEGF		2.02	
DVD123	IL-1b	VEGF	8.2	131.3
DVD124	VEGF	IL-1b	3.49	458.95
AB032	IL-1b		5.27	
AB018	RANKL		0.45	
DVD125	IL-1b	RANKL	4.36	2.89
DVD126	RANKL	IL-1b	0.4	4464.03
AB054	IL-6R		1.24	
AB018	RANKL		0.22	
DVD129	IL-6R	RANKL	0.96	0.53
DVD130	RANKL	IL-6R	0.17	363.75
AB054	IL-6R		1.31	
AB014	VEGF		2.02	
DVD145	IL-6R	VEGF	0.96	14.5
DVD146	VEGF	IL-6R	0.68	123.58
AB054	IL-6R		1.42	
AB029	IL-17A		0.94	
DVD147	IL-6R	IL-17A	1.75	41.03
DVD148	IL-17A	IL-6R	1.37	748.53
AB029	RANKL		0.08	
DVD165	CD-20	RANKL		0.32
DVD166	RANKL	CD-20	0.12	
AB017	TNF		0.22	
DVD187	TNF	IL-6	0.16	
AB051	IL-13		5.49	
AB027	IL-4		5.81	
DVD267	IL-13	IL-4	5.89	748.47
DVD268	IL-4	IL-13	3.13	583.27
AB051	IL-13		31.1	

Moderantistoff eller DVD ID	N-terminal Variable Domene	C-terminal Variable Domene	Direkte bindende ELISA N-terminal VD EC50 (nM)	Direkte bindende ELISA C-terminal VD EC50 (nM)
AB053	IgE		0.01	
DVD273	IL-13	IgE	14.51	1.07
DVD274	IgE	IL-13	0.11	1737.63
AB017	TNF		0.27	
AB050	SOST (seq2)		1.22	
DVD277	TNF	SOST (seq2)	0.18	169.05
DVD278	SOST (seq2)	TNF	1.06	24.96
AB017	TNF		0.44	
AB054	IL-6R		1.42	
DVD279	TNF	IL-6R	0.4	211.9
DVD280	IL-6R	TNF	1.24	4.02
AB053	IgE		0.01	
DVD281	IL-9 (seq 2)	IgE		0.48
DVD282	IgE	IL-9 (seq 2)	0.12	
AB051	IL-13		6.79	
DVD285	IL-9 (seq 2)	IL-13		492.5
DVD286	IL-13	IL-9 (seq 2)	5.57	
AB017	TNF		0.27	
DVD287	TNF	CD-20	0.18	
DVD288	CD-20	TNF		0.77

Binding av alle DVD konstruksjoner ble holdt og sammenlignbar med moderantistoffer. Alle N-terminal variable domener bandt med en lignende høy affinitet som moder-antistoffet så vel som de C-terminal variable domener til DVD konstruksjonene DVD055, DVD068, DVD125, DVD129, DVD145, DVD165, DVD280 og DVD288.

Tables 5 og 6 inneholder Direkte bindende ELISA data for DVD-Ig-konstruksjoner målrette IL-1α og IL-1β sekvenser.

Tabell 5: IL-1α Direkte-bindende ELISA of IL-1α & IL-1β DVD-Ig-konstruksjoner med Diverse Sekvenser og Linkere

DVD-Ig ID	Sekvens ID	Orientation	HC linker	LC linker	Andre DVD-Ig Variabelt domene	DVD-Ig IL-1α EC50 (nM)
DVD374	IL-1α	C-uttrykk.	Lang	Lang	IL-1β(sekv. 1)	8.78
DVD377	IL-1α	N-uttrykk.	Lang	Kort	IL-1β (sekv. 1)	142.95
DVD378	IL-1α	C-uttrykk.	Lang	Kort	IL-1β(sekv. 1)	2.86
DVD379	IL-1α	N-uttrykk.	Lang	Kort	IL-1β(sekv. 2)	1,686.52
DVD380	IL-1α	C-uttrykk.	Lang	Kort	IL-1β(sekv. 2)	>10,000
DVD381	IL-1α	N-uttrykk.	Kort	Lang	IL-1β(sekv. 1)	965.29
DVD382	IL-1α	C-uttrykk.	Kort	Lang	IL-1β(sekv. 1)	4.61
DVD383	IL-1α	N-uttrykk.	Kort	Lang	IL-1β(sekv. 2)	126.47

Tabell 6: IL-1β Direkte-bindende ELISA of IL-1α & IL-1β DVD-Ig-konstruksjoner med Diverse Sekvenser og Linkere

DVD-Ig ID	Sekvens ID	Orient-ation	HC linker	LC linker	Andre DVD-Ig Variabel t domene	DVD-Ig IL-1β EC50 (nM)	Ref. Ab. ID	Ref. Ab. EC50 (nM)
DVD374	IL-1β(sekv. 1)	N-uttrykk.	Lang	Lang	IL-1α	6.47	AB032	0.91
DVD377	IL-1β(sekv. 1)	C-uttrykk.	Lang	Kort	IL-1α	165.39	AB032	0.91
DVD378	IL-1β(sekv. 1)	N-uttrykk.	Lang	Kort	IL-1α	1.89	AB032	0.91
DVD381	IL-1β(sekv. 1)	C-uttrykk.	Lang	Kort	IL-1α	499.9	AB032	0.91
DVD382	IL-1β(sekv. 1)	N-uttrykk.	Lang	Kort	IL-1α	6.52	AB032	0.91
DVD379	IL-1β(sekv. 2)	C-uttrykk.	Kort	Lang	IL-1α	150.47	AB066	2.65
DVD380	IL-1β(sekv. 2)	N-uttrykk.	Kort	Lang	IL-1α	>10,000	AB066	2.65
DVD383	IL-1β(sekv. 2)	C-uttrykk.	Kort	Lang	IL-1α	2,617.55	AB066	2.65

Eksempel 1.1.1.B: Fangst-ELISA

ELISA-plater (Nunc, MaxiSorp, Rochester, NY) blir inkubert over natten ved 4°C med anti-human Fc antistoff (5 μ g/ml i PBS, Jackson Immunoresearch, West Grove, PA). Plater blir vasket tre ganger i vaskebuffer (PBS inneholdende 0.05% Tween 20), og blokkert i 1 time ved 25°C i blokkeringsbuffer (PBS inneholdende 1% BSA). Brønner blir vasket tre ganger, og serielle fortynninger av hvert antistoff eller DVD-Ig i PBS inneholdende 0.1% BSA blir tilsatt til brønnene og inkubert ved 25°C i 1 time. Brønnene blir vasket tre ganger, og biotinylert antigen (2nM) blir tilsatt til platene og inkubert i 1 time ved 25°C. Brønnene blir vasket tre ganger og inkubert i 1 time ved 25°C med streptavidin-HRP (KPL #474-3000, Gaithersburg, MD). Brønnene blir vasket tre ganger, og 100 μ l ULTRA-TMB ELISA (Pierce, Rockford, IL) blir tilsatt per brønn. Etter fargeutviklingsreaksjonen er stoppet med 1N HCL og absorbans ved 450nM er målt.

Eksempel 1.1.1.C: Affinitets-bestemmelse Ved å bruke BIACORE Teknologi

Tabell 7: Reagens Anvendt i Biacore Analyser

Assay	Antigen	Forhandler Benevnelse	Forhandler	Katalog #
	IL-1β	Recombinant Human IL-1β	R&D systemer	201-LB
	IL-4	Recombinant Human IL-4	R&D systemer	204-IL
	IL-17	Recombinant Human IL-17	R&D systemer	317-IL
	VEGF	Recombinant Human VEGF	R&D systemer	293-VE

Assay	Antigen	Forhandler Benevnelse	Forhandler	Katalog #
	RANKL	Recombinant Human TRANCE/RANKL/TNFSF11	R&D systemer	390-TN
	IL-6R	Recombinant Human IL-6 sR	R&D systemer	227-SR
	IL-15	Recombinant Human IL-15	R&D systemer	247-IL
	NGF	Recombinant Human β-NGF	R&D systemer	256-GF
	IL-13	Recombinant Human IL-13	R&D systemer	213-IL
	IL-9	Recombinant Human IL-9	R&D systemer	209-IL
	IgE	Human IgE, Myelom	Calbiochem	401152
	TNFα	Recombinant Human TNF-α/TNFSF1A	R&D systemer	210-TA
	SOST	Recombinant Human SOST	R&D systemer	1406-ST
	DKK	Recombinant Human Dkk-1	R&D systemer	1096-DK
	IL-6	Recombinant Human IL-6	R&D systemer	206-IL
	EGFR	Recombinant Human EGF Reseptor	R&D systemer	1095-ER

ECD = Ekstracellulær Domene
/FC = antigen/IgG FC domene fusjonsprotein

BIACORE Metoder:

BIACORE-assayet (Biacore, Inc, Piscataway, NJ) bestemmer affiniteten til antistoffer eller DVD-Ig med kinetiske målinger av på-hastighet og av-hastighetskonstanter. Binding av antistoffer eller DVD-Ig til et mål-antigen (for eksempel, et renset rekombinant mål-antigen) er bestemt ved overflate-plasmonresonans-baserte målinger med et Biacore® 1000 eller 3000 instrument (Biacore® AB, Uppsala, Sweden) ved å bruke rennende HBS-EP (10 mM HEPES [pH 7.4], 150 mM NaCl, 3 mM EDTA, og 0.005% surfaktant P20) ved 25° C. Alle kjemikalier er oppnådd fra Biacore® AB (Uppsala, Sweden) eller ellers fra en forskjellig kilde som beskrevet i teksten. For eksempel, omtrent 5000 RU med geit anti-mus IgG, (Fcγ), fragment spesifikke polyklonale antistoff (Pierce Bioteknologi Inc, Rockford, IL) fortynnet i 10 mM natriumacetat (pH 4.5) er direkte immobilisert over en CM5 forskningsstandard biosensor chip ved å bruke et standard aminkoblings-kit ifølge produsentens instruksjoner og prosedyrer ved 25 µg/ml. Ureagerte enheter på biosensor-overflaten er blokkert med etanolamin. Modifisert karboksymetyl dekstran overflate i strømningscelle 2 og 4 blir anvendt som en reaksjonsoverflate. Ikke-modifisert karboksymetyl dekstran uten geit anti-mus IgG i strømningscelle 1 og 3 blir anvendt som referanseoverflaten. For kinetisk analyse, hastighetsligninger avledet fra 1:1 Langmuir-binding modellen er tilpasset samtidig til assosiasjons- og dissosiasjonsfasene til alle åtte injiseringer (ved å bruke global fit analyse) med anvendelsen av Biaevaluation 4.0.1 programvare. Rensede antistoffer eller DVD-Ig er fortynnet i HEPES-bufret saltløsning for fangst over geit

anti-mus IgG spesifikke reaksjonsoverflater. Antistoffer eller DVD-Ig som skal fanges som en ligand (25 µg/ml) er injisert over reaksjonsmatriser ved en strømningshastighet på 5 µl/min. Assosiasjons- og dissosiasjonshastighetskonstantene, k_{on} ($M^{-1}s^{-1}$) og k_{off} (s^{-1}) er bestemt under en kontinuerlig strømningshastighet på 25 µl/min. Hastighetskonstanter er avledet ved å lage kinetiske bindingsmålinger ved forskjellig antigen konsentrasjoner varierende fra 10 – 200 nM. Likevektsdissosiasjonskonstanten (M) til reaksjonen mellom antistoffer eller DVD-Ig'er og mål-antigenet blir så beregnet fra de kinetiske hastighetskonstantene ved den etterfølgende formelen: $K_D = k_{off}/k_{on}$. Binding blir målt som en funksjon av tid og kinetiske hastighetskonstanter blir beregnet. I dette assayet, på-hastigheter så raske som $10^6 M^{-1}s^{-1}$ og av-hastigheter så trege som $10^{-6} s^{-1}$ kan bli målt.

Tabell 8: <u>BIACORE Analyse av Moder-antistoffer og DVD Konstruksjoner</u>

Moderantistoff eller DVD-Ig ID	N-Terminal Variabelt domene (VD)	C-Terminal Variabelt domene (VD)	k_{on} (M-1s-1)	k_{off} (s-1)	K_D (M)
AB017	TNF		3.37E+06	9.57E-05	2.84E-11
AB029	Il-17A		5.27E+05	1.08E-05	2.06E-11
DVD051	TNF		7.03E+06	1.34E-04	1.91E-11
DVD051		Il-17A	5.43E+04	2.66E-04	4.89E-09
DVD052	Il-17A		1.89E+05	3.26E-05	1.72E-10
DVD052		TNF	6.12E+04	1.19E-04	1.95E-09
AB017	TNF		3.37E+06	9.57E-05	2.84E-11
AB018	RANK L		1.07E+05	<1E-06	<9.35E-12
DVD053		RANKL	4.99E+04	<1E-06	<2.00E-11
DVD054	RANKL		1.63E+05	<1E-06	<6.13E-12
DVD054		TNF	4.28E+04	1.97E-04	4.60E-09
AB017	TNF		3.37E+06	9.57E-05	2.84E-11
AB014	VEGF		3.76E+05	<1E-06	<2.66E-12
DVD055	TNF		5.09E+06	1.27E-04	2.50E-11
AB017	TNF		3.37E+06	9.57E-05	2.84E-11
AB020	NGF		1.08E+06	<1E-06	<9.26E-13
DVD059	TNF		2.66E+06	1.47E-04	5.52E-11
DVD059		NGF	7.53E+04	4.45E-04	5.91E-09
AB017	TNF		3.37E+06	9.57E-05	2.84E-11
AB022	SOST (SEQ1)		6.42E+05	2.44E-05	3.79E-11
DVD063	TNF		9.02E+06	1.97E-04	2.18E-11
DVD063		SOST (SEQ1)	7.05E+04	4.33E-03	6.13E-08
DVD064	SOST (SEQ1)		>1E+07	>1E-02	1.00E-09
DVD064		TNF	2.04E+05	4.70E-04	2.31E-09
AB017	TNF		3.37E+06	9.57E-05	2.84E-11
AB023	DKK		>1E+07	8.70E-05	<8.70E-12
DVD065	TNF		>1E+07	1.68E-04	<1.68E-11
DVD065		DKK	4.02E+06	1.49E-03	3.71E-10
DVD066		TNF	5.82E+04	1.65E-04	2.83E-09
AB017	TNF		3.37E+06	9.57E-05	2.84E-11
AB017	TNF		3.37E+06	9.57E-05	2.84E-11

Moderantistoff eller DVD-Ig ID	N-Terminal Variabelt domene (VD)	C-Terminal Variabelt domene (VD)	k_{on} (M-1s-1)	k_{off} (s-1)	K_D (M)
AB017	TNF		3.37E+06	9.57E-05	2.84E-11
AB050	SOST (SEQ2)		6.47E+05	7.71E-05	1.19E-10
DVD277	TNF		1.05E+07	2.05E-04	1.95E-11
DVD277		SOST (SEQ2)	2.89E+05	1.99E-04	6.90E-10
DVD278	SOST (SEQ2)		6.99E+05	1.03E-04	1.48E-10
DVD278		TNF	5.70E+04	1.94E-04	3.40E-09
AB017	TNF		3.37E+06	9.57E-05	2.84E-11
DVD287	TNF		3.28E+06	5.38E-05	1.64E-11
DVD288		TNF	1.71E+05	7.39E-05	4.32E-10
AB027	IL-4		5.92E+06	1.30E-04	2.19E-11
AB053	IgE		1.72E+05	3.38E-03	1.96E-08
DVD109	IgE		3.97E+05	4.29E-03	1.08E-08
DVD109		IL-4	4.52E+04	5.03E-04	1.11E-08
DVD110	IL-4		8.82E+06	7.72E-05	7.34E-04
DVD110		IgE	3.05E+04	2.24E-02	1.08E-08
AB027	IL-4		5.92E+06	1.30E-04	2.19E-11
AB053	IL-13		2.14E+06	1.15E-04	5.37E-11
DVD267	IL-13		1.75E+06	8.69E-05	4.97E-11
DVD267		IL-4	7.06E+04	3.43E-04	4.86E-09
DVD268	IL-4		2.33E+05	1.31E-03	5.63E-08
DVD268		IL-13	7.57E+05	4.46E-04	5.89E-10
AB051	IL-13		2.14E+06	1.15E-04	5.37E-11
AB053	IgE		1.72E+05	3.38E-03	1.96E-08
DVD273	IL-13		1.35E+06	1.22E-04	1.66E-10
DVD273		IgE	1.27E+04	5.10E-03	4.01E-07
DVD274	IgE		3.81E+05	3.72E-03	9.76E-09
DVD274		IL-13	1.19E+05	9.44E-05	7.92E-10
AB051	IL-13		7.57E+05	4.46E-04	5.89E-10
AB056	IL-9 (SEQ2)		5.66E+06	5.62E-05	9.93E-12
DVD285	IL-9 (SEQ2)		4.51E+06	7.50E-05	1.67E-11
DVD285		IL-13	1.03E+05	1.05E-04	1.02E-09
DVD286	IL-13		1.33E+06	1.77E-04	1.33E-10
AB029	IL-17		1.43E+05	1.14E-04	7.98E-10
AB032	IL-1B		1.32E+06	1.73E-05	1.31E-11
DVD121	IL-1B		1.22E+06	7.52E-05	6.19E-11
DVD122	IL-17		2.17E+05	6.66E-05	3.07E-10
AB029	IL-17		1.43E+05	1.14E-04	7.98E-10
AB054	IL-6R		3.36E+05	2.06E-04	6.14E-10
DVD147	IL-6R		7.09E+05	1.87E-04	2.63E-10
DVD147		IL-17	3.46E+04	2.00E-03	5.58E-08
DVD148	IL-17		2.06E+05	4.18E-05	2.03E-10
DVD148		IL-6R	8.46E+04	3.52E-04	4.16E-09
AB032	IL-1B		1.32E+06	1.73E-05	1.31E-11
AB014	VEGF		3.06E+05	3.99E-06	1.30E-11
DVD123	IL-1B		1.25E+06	4.21E-05	3.38E-11
DVD123		VEGF	3.70E+04	3.71E-05	1.00E-09
DVD124	VEGF		8.63E+05	4.03E-05	4.67E-11

Moderantistoff eller DVD-Ig ID	N-Terminal Variabelt domene (VD)	C-Terminal Variabelt domene (VD)	k_{on} (M-1s-1)	k_{off} (s-1)	K_D (M)
DVD124		IL-1B	6.60E+04	9.32E-05	1.41E-09
AB032	IL-1B		1.32E+06	1.73E-05	1.31E-11
AB018	RANKL		1.18E+05	<1E-06	<8.4E-12
DVD125	IL-1B		1.29E+06	1.07E-04	8.29E-11
DVD125		RANKL	2.12E+04	7.45E-05	3.50E-09
DVD126	RANKL		1.14E+05	<1E-06	<8.77E-12
DVD126		IL-1B	8.52E+03	<1E-06	<1.17E-10

Binding av alle DVD-Ig-konstruksjoner karakterisert ved Biacore teknologi ble holdt og sammenlignbar med den til moderantistoffer. N-terminal variabelt domener bundet med en lignende høy affinitet som moder-antistoffet.

Eksempel 1.1.2: <u>Assayer Anvendt For å bestemme funksjonell Aktivitet Av Moderantistoffer Og DVD-Ig</u>

Eksempel 1.1.2.A: <u>Cytokin Bioassay</u>

Evnen til et anti-cytokin eller et anti-vekstfaktor moderantistoff eller DVD-Ig inneholdende anti-cytokin eller anti-vekstfaktor sekvenser til å inhibere eller nøytralisere et mål cytokin eller vekstfaktor bioaktivitet er analysert ved å bestemme det inhiberende potensialet til antistoffet eller DVD-Ig. For eksempel, evnen til et anti-IL-4 antistoff for å inhibere IL-4 mediert IgE produksjon kan bli anvendt. For eksempel, humane naive B-celler er isolert fra perifert blod, henholdsvis, bufferbelegg ved Ficoll-paque tetthetssentrifugering, etterfulgt av magnetisk separasjon med MACS kuler (Miltenyi Biotec, Bergisch Gladbach, Germany) spesifikke for human sIgD FITC merket geit F(ab)2 antistoffer etterfulgt av anti-FITC MACS kuler. Magnetisk sorterte naive B-celler er justert til 3 x 10^5 celler per ml i XV15 og utplatet i 100 µl per brønn i 96-brønn plater i en 6 x 6 array i i sentrum av platen, omringet ved PBS-fyllte brønner i løpet av de 10 dagene med dyrking ved 37° C i nærværet av 5% CO_2. En plate hver er fremstilt per antistoff som skal testes, bestående av 3 brønner hver av ikke-induserte og induserte kontrollere og quintuplicate repetisjoner av antistoff-titreringer startende ved 7µg/ml og kjørende i 3-gangs fortynning ned til 29 ng/ml sluttkonsentrasjoner tilsatt i 50µl fire ganger konsentrert pre-fortynning. For å indusere IgE produksjon, rhIL-4 ved 20 ng/ml pluss anti-CD40 monoklonale antistoff (Novartis, Basel, Switzerland) ved 0.5 µg/ml sluttkonsentrasjoner i 50 µl hver blir tilsatt til hver brønn, og IgE konsentrasjoner er bestemt på slutten av dyrkingsperioden ved en standard sandwich ELISA-metode.

Eksempel 1.1.2.B: <u>Cytokinfrigjøringsassay</u>

Evnen til et moderantistoff eller DVD-Ig for å forårssake cytokinfrigjøring er analysert. perifert blod blir trukket fra tre friske donorer ved venepunktur inn i hepariserte vakutainer rør.

Helt blod blir fortynnet 1:5 med RPMI-1640 medium og plassert i 24-brønn vevskultur plater ved 0.5 mL per brønn. Anti-cytokin-antistoffene (f.eks., anti-IL-4) er fortynnet inn i RPMI-1640 og plassert i platene ved 0.5 mL/brønn for å gi sluttkonsentrasjoner på 200, 100, 50, 10, og 1 μg/mL. Den siste fortynningen av helt blod i dyrkingsplatene er 1:10. LPS og FA blir tilsatt til separate brønner ved 2μg/mL og 5μg/mL sluttkonsentrasjon som en positiv kontroll for cytokinfrigjøring. Polyklonalt humant IgG er anvendt som negativ kontroll antistoff. Eksperimentet blir utført i duplikat. Plater blir inkubert ved 37°C ved 5% CO_2. Tjuefire timer senere innholdet av brønnene er overført til reagensrør og spunnet i 5 minutter ved 1200 rpm. Celle-frie supernatanter er samlet og fryst for cytokin assayer. Celler igjen på platene og i reagensrørene blir lysert med 0.5 mL med lyseringsløsning, og plassert ved –20°C og tint. 0.5 mL med medium blir tilsatt (for å bringe volumet til det samme nivået som de celle-frie supernatantprøvene) og celle-preparatene er samlet og fryst for cytokin assayer. Celle-frie supernatanter og cellelysater er analysert for cytokin nivåer ved ELISA, for eksempel, for nivåer av IL-8, IL-6, IL-1β, IL-1RA, eller TNF-α.

Eksempel 1.1.2.C: <u>Cytokin Kryssreaktivitetsstudie</u>

Evnen til et anti-cytokin moderantistoff eller DVD-Ig rettet mot et cytokin av interesse å kryss-reagere med andre cytokiner er analysert. Moderantistoffer eller DVD-Ig er immobilisert på en Biacore biosensor matrix. Et anti-human Fc mAb er kovalent bundet via frie amin-grupper til dekstran-matrisen ved først å aktivere karboksyl-grupper på matrisen med 100mM N-hydroksysuksinimid(NHS) og 400mM N-Etyl-N'-(3-dimetylaminopropyl)-karbodiimide hydroklorid (EDC). Omtrent 50μL av hvert antistoff eller DVD-Ig preparat ved en konsentrasjon på 25μg/mL, fortynnet i natriumacetat, pH 4.5, er injisert over den aktiverte biosensoren og frie aminer på proteinet er bundet direkte til de aktiverte karboksyl-gruppene. Typisk, 5000 Resonance Enheter (RU's) er immobilisert. Ureagert matrix EDC-estere er deaktivert ved en injisering av 1 M etanolamin. En andre strømningscelle er fremstilt som en referansestandard ved å immobilisere human IgG1/K ved å bruke standard aminkobling kit. SPR målinger blir utført ved å bruke CM biosensor-chip'en. Alle antigener å være analysert på biosensor-overflaten er fortynnet i HBS-EP running buffer inneholdende 0.01% P20.

For å undersøke cytokin-bindingsspesifisiteten, overskudd cytokin av interesse (100nM, f.eks., løselig rekombinant human) er injisert over anti-cytokin moderantistoffet eller DVD-Ig immobilisert biosensor overflate (5 minutters kontakttid). Før injisering av cytokinet av interesse og umiddelbart etterpå, HBS-EP buffer alene strømmer gjennom hver strømningscelle. Netto-forskjellen i signalene mellom grunnlinjen og punktet tilsvarende til omtrent 30 sekunder etter fullføring av cytokin-injisering er tatt for å representere den endelige bindingsverdien. Igjen, responsen er målt i Resonance Enheter. Biosensor matriser er regenerert ved å bruke 10mM HCl før injisering av den neste prøven hvor en bindingshendelse er observert, ellers ble renningsbuffer injisert over matrisene. Humane cytokiner (f.eks., IL-1α, IL-1β, IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7,

IL-8, IL-9, IL-10, IL-11, IL-12, IL-13, IL-15, IL-16, IL-17, IL-18, IL-19, IL-20, IL-22, IL-23, IL-27, TNF-α, TNF-β, og IFN-γ, for eksempel) er også samtidig injisert over den immobilisert mus IgG1/K referanseoverflaten for å måle enhver ikke-spesifikk-bindende bakgrunn. Ved fremstilling av en referanse og reaksjonsoverflate, Biacore kan automatisk trekke fra referanseoverflatedata fra reaksjonsoverflatedata for å eliminere mesteparten av forandringen i den refraktive indeks og injiseringsstøy. Følgelig er det mulig å fastslå den virkelige bindingsresponsen tillagt en anti-cytokin antistoff eller DVD-Ig-bindende reaksjon.

Når et cytokin av interesse er injisert over immobilisert anti-cytokin antistoff, betydelig binding er observert. 10mM HCl regenerering fjerner helt alle ikke-kovalent assosierte proteiner. Undersøkelse av sensorgrammet viser at ved immobilisert anti-cytokin antistoff eller DVD-Ig-binding til løselig cytokin er sterk og robust. Etter å ha bekreftet det forventede resultatet med cytokinet av interesse, panelet med gjenværende rekombinant humane cytokiner er utprøvd, for hvert antistoff eller DVD-Ig hver for seg. Mengden av anti-cytokin antistoff eller DVD-Ig bundet eller ikke-bundet cytokin for hver injiseringssyklus er målt. Resultatene fra tre uavhengige eksperimenter blir anvendt for å bestemme spesifisitetsprofilen av hvert antistoff eller DVD-Ig. Antistoffer eller DVD-Ig med den forventede bindingen til cytokinet av interesse og ingen binding til ethvert annet cytokin er selektert.

Eksempel 1.1.2.D: <u>Kryssreaktivitet for vev</u>

Studier av kryssreaktivitet for vev er gjort i tre trinn, med det første trinnet inkluderende kryoseksjoner av 32 vev, andre trinn inkludert opp til 38 vev, og the 3rd trinn inkludert ytterligere vev fra 3 ikke-beslektede voksne som beskrevet nedenfor. Studier blir typisk utført ved to dose nivåer.

Trinn 1: Kryoseksjoner (omtrent 5 μm) med humant vev (32 vev (typisk: Binyrene, Gastrointestinalkanalen, Prostata, Blære, Hjerte, Skjelettmuskulaturen, Blodceller, Nyre, Hud, Beinmarg, Lever, Ryggmarg, Bryst, Lunge, Milten, Cerebellum, Lymfekjertler, Testikler, Hjernebarken, Eggstokker, Thymus, Tykktarm, Bukspyttkjertel, Tyroid, Endothelium, Paratyroid, Urinleder, Øye, Hypofyse, Livmor, Eggleder og Placenta) fra en menneskelig donor oppnådd ved obduksjon eller biopsi) blir fiksert og tørket på objektglass. Peroksidase-flekkfargingen av vev-seksjoner blir utført, ved å bruke avidin-biotin systemet.

Trinn 2: Kryoseksjoner (omtrent 5 μm) med humant vev 38 vev (inkludert binyrer, blod, blodkar, beinmarg, cerebellum, cerebrum, cervix, øsofagus, øye, hjerte, nyre, tykktarm, lever, lunge, lymfekjertler, melkekjertler fra bryst, eggstokker, oviduct, bukspyttkjertel, paratyroid, perifere nerver, hypofyse, placenta, prostata, spyttkjertel, hud, tynntarmen, ryggmarg, milten, mave, tverrstripet muskulatur, testikler, thymus, tyroid, mandel, urinleder, urinblære, og livmor) fra 3 ikke-beslektede voksne oppnådd ved obduksjon eller biopsi) blir fiksert og tørket på

objektglass. Peroksidase-flekkfargingen av vev-seksjoner blir utført, ved å bruke avidin-biotin systemet.

Trinn 3: Kryoseksjoner (omtrent 5 μm) av cynomolgus-apekatter vev (38 vev (inkludert binyrer, blod, blodkar, beinmarg, cerebellum, cerebrum, cervix, øsofagus, øye, hjerte, nyre, tykktarm, lever, lunge, lymfekjertler, melkekjertler fra bryst, eggstokker, oviduct, bukspyttkjertel, paratyroid, perifere nerver, hypofyse, placenta, prostata, spyttkjertel, hud, tynntarmen, ryggmarg, milten, mave, tverrstripet muskulatur, testikler, thymus, tyroid, mandel, urinleder, urinblære, og livmor) fra 3 ikke-beslektede voksen apekatts oppnådd ved obduksjon eller biopsi) blir fiksert og tørket på objektglass. Peroksidase-flekkfargingen av vev-seksjoner blir utført, ved å bruke avidin-biotin systemet.

Antistoffet eller DVD-Ig er inkubert med det sekundære biotinylerte anti-humane IgG og utviklet til immunkompleks. Immunkomplekset ved sluttkonsentrasjonene på 2 og 10 μg/mL med antistoff eller DVD-Ig blir tilsatt på vevseksjoner på objektglass og deretter vevseksjonene blir reagert i 30 minutter med et avidin-biotin-peroksidase kit. Deretter, DAB (3,3'-diaminobenzidine), et substrat for peroksidase-reaksjonen, er anvendt i 4 minutter for flekkfarging av vev. Antigen-Sefarose kuler blir anvendt som positive kontroll-vevseksjoner. Mål-antigen og humant serum blokkeringsstudier gjøre tjeneste som ytterligere kontroller. Immunkomplekset ved sluttkonsentrasjonene på 2 og 10 μg/mL med antistoff eller DVD-Ig er pre-inkubert med mål-antigen (sluttkonsentrasjon av 100 μg/ml) eller humant serum (sluttkonsentrasjon 10%) i 30 minutter, og deretter tilsatt på vevseksjonene på objektglass og deretter vevseksjonene blir reagert i 30 minutter med et avidin-biotin-peroksidase kit. Deretter, DAB (3,3'-diaminobenzidine), et substrat for peroksidase-reaksjonen, er anvendt i 4 minutter for flekkfarging av vev.

Enhver spesifikk flekkfarging blir vurdert å være enten en forventet (f.eks., konsistent med antigen-uttrykking) eller uventet reaktivitet basert på kjent uttrykking av det gjeldende mål-antigenet. Enhver flekkfarging som blir vurdert spesifikk blir poengsatt for intensitet og hyppighet. Flekkfargingen av vev mellom trinn 2 (humant vev) og trinn 3 (cynomolgus-apekatter vev) er enten vurdert å være lignende eller forskjellig.

Eksempel 1.1.2.E: Inhibering av HUVEC Proliferering/Overlevelse ved VEGF Moderantistoff og DVD-Ig-konstruksjoner

Før plating for assayet blir normale humane vaskulære endotelceller fra navlestreng eller HUVEC (avsnitt 2-6) bevart i EBM-2 (Lonza-Clonetics, Walkersville, MD) supplementert med EGM-2 SingleQuots (Lonza-Clonetics, Walkersville, MD, #CC-4176). HUVEC celler blir platet med 10,000 celler/brønn på kollagen-belagte svarte 96-brønn plater i (100µl) EMB-2 med 0.1% FBS i fraværet av vekstfaktorer. Dagen etter blir mediet byttet ut med 0.1% FBS i fraværet av vekstfaktorer. Dagen etter blir mediet byttet ut med 100µl of EMB-2 (uten vekstfaktorer eller serum) og inkubert i fire timer før tilsetningen av VEGF og antistoffer/DVD-Ig'er. Anti-VEGF monoklonale antistoffer eller DVD-Ig'er (ved sluttkonsentrasjoner på 67 nM, 6.7 nM og 0.67 nM) er fortynnet i EMB-2 med 0.1% BSA og er pre-inkubert med rekombinant human $VEGF_{165}$ (50ng/ml) i 1 time ved 25°C i 50µl. Antistoff/DVD-Ig og VEGF blandinger blir deretter tilsatt til cellene (50µl), og platene ble inkubert ved 37 °C i en fuktet, 5% $C0_2$ atmosfære i 72 timer. Celle overlevelse/proliferering er målt indirekte ved å vurdere ATP-nivåer ved å bruke et ATPlite kit (Perkin Elmer, Waltham, MA) ifølge produsentens instruksjoner.

Eksempel 1.1.2.F: IL-13 Bioassay og Nøytraliseringsassay

A549 celler ble platet ved 1.5-2 x 10^5 celler per brønn i en 100 µL volum og inkubert over natten ved 37°C, 5% CO_2. Etter en 16-20 timer over natten inkubering, the original 100 µl media seeding volum ble fjernet og byttet ut med 100 µL opH 400 ng/mL (2x konsentrert) rhTNF-α. Recombinant TNF-α ble tilsatt til alle brønner. Platene ble plassert ved 37°C , 5% CO_2 til tilsetningen av IL-13 og antistoff. En 20 µg/mL arbeidsstandard med antistoff (4x konsentrert) ble fremstilt i komplett F12 medium. En åtte-punkts seriell fortynning ble utført (5 µg/mL-0.0003 µg/mL) i komplett F12 i Marsh fortynningsplater. Sixty uL /brønn med hver antistoff-fortynning ble tilsatt i fire eksemplarer til en 96-brønn v-bunn (Costar# 3894) plate og 60 µL av en 4x konsentrert (20 ng/mL) løsning med IL-13 ble tilsatt til antistoff og kontrollbrønner Kontrollbrønner mottok 60 µL (IL-13 kontroll) eller 120 µL (TNF celle kontroll) med media Etter en 1 time inkubering, 100 µL av Ab/Ag-blandingen ble tilsatt til the A549 celler. Alle brønn-volumer ble lik 200 µL. Sluttkonsentrasjonen av rekombinant IL-13 ble 5 ng/mL og rhTNF-α ble 200 ng/mL. Alle plate reagenser ble deretter 1x konsentrert. Etter en 16-20 timer inkubering, brønn-innholdet (200 µL) ble overført til en 96-brønn rund-bunnet plate (Costar# 3799) og plassert i en –20°C fryser. Supernatantene ble utprøvd for hTARC nivåer ved ElISA i assayet Lab. Nøytraliseringsstyrke ble bestemt ved å beregne prosent inhibering i forhold til 5 ng/mL IL-13 alene kontrollverdien. Rapportert IC_{50} verdier (sigmoidal curve dose responses) ble beregnet ved å bruke GrafPad Prism (Tabell 9).

Tabell 9: IL-13 Nøytraliseringsassay Med IL-13 Moderantistoff og DVD-Ig-konstruksjoner

Moderantistoff eller DVD-Ig ID	N-terminal Variabelt domene (VD)	C-terminal Variabelt domene (VD)	N-terminal VD IL-13 NøytraliseringAssay EC50 nM	C-terminal VD IL-13 NøytraliseringAssayEC50 nM
AB051	IL-13		0.1	
DVD267	IL-13	IL-4	0.09	
DVD268	IL-4	IL-13		0.9
DVD273	IL-13	IgE	0.04	
DVD274	IgE	IL-13		1.4
DVD285	IL-9 (seq 2)	IL-13		0.2
DVD286	IL-13	IL-9 (seq 2)	0.2	

Alle DVD-Ig'er inneholdende VDs fra AB051 i enten den N-terminale eller C-terminale posisjon viste nøytralisering i A549 IL-13 nøytraliseringsassay.

Eksempel 1.1.2.G: IL-4 Bioassay og Nøytraliseringsassay

A549 celler ble platet ved 1.5-2 x 10^5 celler per brønn i en 100 µL volum og inkubert over natten ved 37^{0}C, 5% CO_2. Etter en 16-20 timer over natten inkubering, the original 100 µl media seeding volum ble fjernet og byttet ut med 100 µL of 200 ng/mL .rhTNF-α. Recombinant TNF-α ble tilsatt til alle brønner. Platene ble plassert ved 37^{0}C , 5% CO_2 i 2 timer før tilsetningen av IL-4 og antistoff. en 20 µg/mL arbeidsstandard med antistoff (4x konsentrert) ble fremstilt i komplett F12 medium. En åtte-punkts seriell fortynning ble utført (5 µg/mL-0.0003 µg/mL) i komplett F12 i Marsh fortynningsplater. Sekstifem uL /brønn med hver antistoff-fortynning ble tilsatt i fire eksemplarer til en 96-brønn v-bunn (Costar# 3894) plate og 65 µL av en 4x konsentrert (20 ng/mL) løsning med IL-4 ble tilsatt til antistoff og kontrollbrønner Kontrollbrønner mottok 65 µL (IL-4 kontroll) eller 130 µL (TNF celle kontroll) med media Etter en 1 time inkubering, 100 µL av Ab/Ag-blandingen ble tilsatt til the A549 celler. Alle brønn-volumer ble lik 200 µL. Sluttkonsentrasjonen av rekombinant IL-4 ble 5 ng/mL og rhTNF-α ble 100 ng/mL. Alle plate reagenser ble deretter 1x konsentrert. Etter en 16-20 timer inkubering, brønn-innholdet (200 µL) ble overført til en 96-brønn rund-bunnet plate (Costar# 3799) og plassert i en –20^{0}C fryser. Supernatantene ble utprøvd for hTARC nivåer ved å bruke et humant TARC ELISA kit (R&D Systems, Minneapolis, MN) eller MSD hTARC (kjemiluminescens kit). Nøytraliseringsstyrke ble bestemt ved å beregne prosent inhibering i forhold til 5 ng/mL IL-4 alene kontrollverdien (Tabell 10).

Tabell 10: IL-4 Nøytraliseringsassay Med IL-4 Moderantistoff og DVD-Ig-konstruksjoner

Moderantistoff eller DVD-Ig ID	N-terminal Variabelt domene (VD)	C-terminal Variabelt domene (VD)	N-terminal VD IL-4 NøytraliseringAssay EC50 nM	C-terminal VD IL-4 NøytraliseringAssayEC50 nM
AB027	IL-4		0.21	
DVD267	IL-13	IL-4		0.09
DVD268	IL-4	IL-13	0.73	
DVD110	IL-4	IgE	0.42	

Alle DVD-Ig'er inneholdende VDs fra AB027 i enten den N-terminale eller C-terminale posisjon viste nøytralisering i A549 IL-4 nøytraliseringsassay.

Eksempel 1.1.2.H: IL-1α/β Bioassay og Nøytraliseringsassay

MRC5 celler ble platet ved 1.5-2 x 10^4 celler per brønn i en 100 µL volum og inkubert over natten ved 37^{0}C, 5% CO_2. En 20 µg/mL arbeidsstandard med antistoff (4x konsentrert) ble fremstilt i komplett MEM medium. En åtte-punkts seriell fortynning ble utført (5 µg/mL-0.0003 µg/mL) i komplett MEM i Marsh fortynningsplater. Sekstifem uL /brønn med hver antistoff-fortynning ble tilsatt i fire eksemplarer til en 96-brønn v-bunn (Costar# 3894) plate og 65 µL av en 200 pg/mL løsning med IL-1α eller IL-1β eller 65 µL av en blandet løsning inneholdende en 50 pg/mL løsning med både IL-1 α og IL-1β. Kontrollbrønner mottok 65 µL 200 pg/ml med IL-1α eller IL-1β eller 50 pg/mL blandet IL-1α/β (4x konsentrert) pluss 65 µL MEM media og medie-kontrollbrønner mottok 130 µL med media . Etter en 1 time inkubering, 100 µL av Ab/Ag-blandingen ble tilsatt til MRC5-cellene. Alle brønn-volumer ble lik 200 µL. Alle plate reagenser ble deretter 1x konsentrert. Etter en 16-20 timer inkubering, brønn-innholdet (150 µL) ble overført til en 96-brønn rund-bunnet plate (Costar# 3799) og plassert i en –20^{0}C fryser. Supernatantene ble utprøvd for hIL-8 nivåer ved å bruke et humant IL-8 ELISA kit (R&D Systems, Minneapolis, MN) eller MSD hIL-8 (kjemiluminescens kit). Nøytraliseringsstyrke ble bestemt ved å beregne prosent inhibering i forhold til IL-1α, IL-1β, eller the IL-1α/β alene kontrollverdien (Tabell 11).

Tabell 11: IL-1βNøytraliseringsassay Med IL-1β Moderantistoff og DVD-Ig-konstruksjoner

Moderantistoff eller DVD-Ig ID	N-terminal Variabelt domene (VD)	C-terminal Variabelt domene (VD)	N-terminal VD IL-1β NøytraliseringAssay EC50 nM	C-terminal VD IL-1β NøytraliseringAssayEC50 nM
AB032	IL-1β		0.05	
DVD121	IL-1β	IL-17	0.04	
DVD122	IL-17	IL-1β		28
DVD123	IL-1β	VEGF	0.023	
DVD124	VEGF	IL-1β		3.63
DVD125	IL-1β	RANKL	0.043	
DVD126	RANKL	IL-1β		4.29

Alle DVD-Ig'er inneholdende VDs fra AB032 i enten den N-terminale eller C-terminale posisjon viste nøytralisering i MRC5 IL-1Iα/β nøytraliseringsassay.

Eksempel 1.1.2.I: IL-6 indusert pSTAT3 Assay

TF-1 celler ble dyrket i DMEM med 2 mM l-glutamin, 10 mM HEPES, 100 U/mL Pen/strep, 1.5g/L natriumbikarbonat, 4.5 g/L glukose, 1 mM natrium pyruvate, 10% FBS, og 2 ng/mL GM-CSF. TF-1 celler ble platet ved 1.5-2 x 10^5 celler per brønn i en 10 µL volum og inkubert over natten ved 37^{0}C, 5% CO_2 i assay-medium. (komplett DMEM minus GM-CSF). Celler ble platet inn i en 96 ½ brønn hvit assay-plate. En 500 µg/mL arbeidsstandard med antistoff (4x konsentrert) ble fremstilt i PBS. Antistoffer og DVD-Ig'er er seriellt fortynnet 1:5 i assay-medium i Marsh fortynningsplater. Fem uL /brønn med hver antistoff-fortynning ble tilsatt i triplikat til den 96 ½ brønn hvit assay-platen inneholdende cellene. Celler og antistoffer eller DVD-Ig'er ble pre-inkubert i 30 minutter. IL-6 ble fremstilt ved 10µg/mL standardløsning i endotoksin-fri D-PBS (0.1% BSA) og en arbeidsstandard med 100 ng/mL (4x konsentrasjon) fremstilt med assaymedia. Fem µL/brønn med 100 ng/mL IL-6 ble tilsatt til hver brønn. Plater ble inkubert i 30 minutter ved 37^{0}C. Celler ble lysert ved å tilsette 5µL med 5X cellelyseringsbuffer til alle brønner og platene ble ristet i 10 minutter ved romtemperatur. Plater ble fryst ved -20^{0}C og pSTAT3 SureFire Assayet ble kjørt (Perkin Elmer).

Platen ble tint ved romtemperatur og 30 µL/ brønn med reaksjonsbuffer pluss Aktiveringsbuffer-blanding inneholdende Alfa Screen Akseptor Beeds (40 deler reaksjonsbuffer, 10 deler aktivering buffer og 1 del akseptor beeds) ble tilsatt til hver brønn. Platen ble forseglet med foil to beskytte det fra lys og ble ristet forsiktig i 2 timer ved 37^{0}C. Fortynningsbuffer (12.5µL/ brønn) inneholdende Alfa Screen Donorkuler (20 deler fortynningsbuffer til 1 del donorkuler) ble tilsatt til hver brønn. Platen ble forseglet med foil og ristet forsiktig i 2 timer ved 37^{0}C. Platen ble brakt til romtemperatur og avlest på Alfa Screen plateavleseren (Tabell 12).

Tabell 12: IL-6 Inhibering Assay Med IL-6R Moderantistoff og DVD-Ig-konstruksjoner

Moderantistoff eller DVD-Ig ID	N-terminal Variabelt domene (VD)	C-terminal Variabelt domene (VD)	N-terminal VD IL-1β NøytraliseringAssay EC50 nM	C-terminal VD IL-1β NøytraliseringAssayEC50 nM
AB054	IL-6R		0.070	
DVD129	IL-6R	RANKL	0.160	
DVD147	IL_6R	IL-17	0.109	
DVD148	IL-17	IL-6R		0.850

Alle DVD-Ig'er inneholdende VDs fra AB054 i enten den N-terminale eller C-terminale posisjon viste nøytralisering i IL-6 inhbition assay.

Eksempel 1.1.2.J: IL-17 Bioassay og Nøytraliseringsassay

The human HS27 cellelinje (ATCC #CRL-1634) secretes IL-6 som reaksjon på IL-17. The IL-17-indusert IL-6 utsondring blir inhibert ved nøytraliserende anti-IL-17 antistoffer (Se, f.eks., J. Immunol. 155:5483-5486, 1995 eller Cytokin 9:794-800, 1997).

HS27 celler blir bevart i assay-medium (DMEM høy glukose medium (Gibco #11965) med 10% føtalt kalveserum (Gibco#26140), 4 mM L- glutamin, 1 mM natrium pyruvate, penicillin G (100 U/500 ml) og streptomicin (100 µg/500 ml)). Celler er dyrket i T150 kolber til de er omtrent 80-90% confluent på the dag til assayet. Human IL-17 (R&D Systems, #317-IL/CF) ble rekonstituert i steril PBS uten Ca^{2+} og Mg^{2+} lagret fryst, freshly tint for anvendelse og fortynnet til 40 ng/ml (4X) i assay-medium. Serielle fortynninger av antistoffer ble made i en separate plate (4X konsentrasjoner), blandet med lik volum opH 40ng/ml (4X) of hu IL-17 og inkubert ved 37°C i 1 time. HS27 celler (typisk omtrent 20,000 celler i 50 µl assay-medium) ble tilsatt til hver brønn av en 96-brønn flat-bottom vevskultur plate (Costar #3599), etterfulgt av tilsetningen av 50 µl of the pre-inkubert antistoff pluss IL-17 blanding. Sluttkonsentrasjonen av IL-17 er 10ng/ml. Celler ble inkubert i omtrent 24 timer ved 37°C. Mediet supernatanter ble deretter samlet. Nivået of IL- 17 nøytralisering ble målt ved å bestemme mengden av IL-6 i the supernatant ved å bruke en commercial Meso Scale Discovery kit ifølge produsentens instruction. IC50 verdier ble oppnådd ved å bruke logarithm of antistoff vs. IL-6 mengde variable slope fit (Tabell 13).

Tabell 13: IL-17 Nøytraliseringsassay Med IL-17 Moderantistoff og DVD-Ig-konstruksjoner

Moderantistoff eller DVD-Ig ID	N-terminal Variabelt domene (VD)	C-terminal Variabelt domene (VD)	N-terminal VD IL-17 NøytraliseringAssay EC50 nM	C-terminal VD IL-17 NøytraliseringAssayEC50 nM

Moderantistoff eller DVD-Ig ID	N-terminal Variabelt domene (VD)	C-terminal Variabelt domene (VD)	N-terminal VD IL-17 NøytraliseringAssay EC50 nM	C-terminal VD IL-17 NøytraliseringAssayEC50 nM
AB029	IL-17		0.4	
DVD051	TNF	IL-17		5.25
DVD052	IL-17	TNF	0.58	
DVD121	IL-1β	IL-17		14.95
DVD122	IL-17	IL-1β	0.54	
DVD147	IL-6R	IL-17		6.7
DVD148	IL-17	IL-6R	0.51	

Alle DVD-Ig'er inneholdende VDs fra AB029 i enten den N-terminale eller C-terminale posisjon viste nøytralisering i IL-17 nøytraliseringsassay.

Eksempel 1.1.2.K: <u>Nøytralisering av huTNFα</u>

L929 celler ble dyrket til en halv-konfluent tetthet og høstet ved å bruke 0.05% tryspin (Gibco#25300). Cellene ble vasket med PBS, tellet og resuspendert ved 1E6 celler/mL i assaymedia inneholdende 4 μg/mL actinomycin D. Cellene ble sådd i en 96-brønn plate (Costar#3599) ved et volum på 50 μL og 5E4 celler/brønn. DVD-Ig'et™ og kontroll IgG ble fortynnet til en 4x konsentrasjon i assaymedia og seriell 1:3 fortynninger ble fremstilt. HuTNFα ble fortynnet til 400 pg/mL i assaymedia. Et antistoff prøve (200 μL) ble tilsatt til huTNFα (200 μL) i et 1:2 fortynningsskjema og latt inkubere i 0.5 time ved romtemperatur.

DVD-Ig'et™ / huTNFα løsning ble tilsatt til de platede cellene ved 100 μL for en sluttkonsentrasjon på 100 pg/mL huTNFα og 25 nM – 0.00014 nM DVD-Ig™. Platene ble inkubert i 20 timer ved 37°C, 5 % CO_2. For å kvantifisere viabiliteten, 100 μL ble fjernet fra brønnene og 10 μL of WST-1 reagens (Roche cat# 11644807001) ble tilsatt. Plater ble inkubert under assay-betingelser i 3.5 timer, sentrifugert ved 500 xg og 75 μL supernatant overført til en ELISA plate (Costar cat#3369). Platene ble avlest ved OD 420-600 nm på en Spectromax 190 ELISA plateavleser. En gjennomsnitlig EC50 fra flere assayer er inkludert i Tabell 14.

Tabell 14: HuTNFα Nøytraliseringsassay Med huTNFα Moderantistoff og DVD-Ig-konstruksjoner

Moderant istoff eller DVD-Ig ID	N-terminal Variabelt domene (VD)	C-terminal Variabelt domene (VD)	N-terminal VD TNFα Nøytralisering Assay EC50 nM	C-terminal VD TNFα NøytraliseringAssay EC50 nM
AB017	TNF		0.077 (0.143, 0.050, 0.0368)*	
DVD051	TNF	IL-17	0.091	
DVD052	IL-17	TNF		3.37
DVD053	TNF	RANKL	0.044	
DVD054	RANKL	TNF		3.546
DVD055	TNF	VEGF	0.081	
DVD059	TNF	NGF	0.343	
DVD063	TNF	SOST (SEQ1)	0.049	
DVD064	SOST (SEQ1)	TNF		0.698
DVD065	TNF	DKK	0.053	
DVD067	TNF	AlfaVBeta3	0.192	
DVD068	AlfaVBeta3	TNF		3.78
DVD187	TNF	IL-6	0.075	
DVD277	TNF	SOST(seq2)	0.042	
DVD287	TNF	CD-20	0.03	
DVD288	CD-20	TNF		2.10

Alle DVD-Ig'er inneholdende VDs fra AB017 i enten den N-terminale eller C-terminale posisjon viste nøytralisering i TNFα nøytraliseringsassay.

Eksempel 1.1.2.L: Vekst Inhiberende Virkning av en Tumorreseptor Monoklonalt Antistoff eller DVD-Ig'er *In vitro*

Tumorreseptor monoklonale antistoffer eller DVD-Ig'er fortynnet i D-PBS-BSA (Dulbeccos Fosfatbufret saltløsning med 0.1%BSA) 20μL blir tilsatt til humane tumorceller ved sluttkonsentrasjoner på 0.01 μg/mL-100 μg/mL i 180uL. Platene blir inkubert ved 37 °C i en fuktet, 5% CO_2 atmosfære i 3 dager. Antallet levende celler i hver brønn er kvantifisert ved å bruke MTS reagenser ifølge produsentens instruksjoner (Promega, Madison, WI) for å bestemme prosent tumorvekst inhibering. Brønner uten antistoff-behandlingen blir anvendt som kontroller for 0% inhibering mens brønner uten celler er ansett å vise 100% inhibering.

Eksempel 1.1.2.M: Tumoricidal Virkning av en Moder eller DVD-Ig Antistoff *In vitro*

Moderantistoffer eller DVD-Ig som binder to mål-antigener på tumorceller kan bli analysert for tumoricidal aktivitet. Kort fortalt, moderantistoffer eller DVD-Ig er fortynnet i D-PBS-BSA (Dulbeccos Fosfatbufret saltløsning med 0.1%BSA) og tilsatt til humane tumorceller ved sluttkonsentrasjoner på 0.01 µg/mL til 100 µg/mL 200µL. Platene blir inkubert ved 37 °C i en fuktet, 5% CO_2 atmosfære i 3 dager. Antallet levende celler i hver brønn er kvantifisert ved å bruke MTS reagenser ifølge produsentens instruksjoner (Promega, Madison, WI) for å bestemme prosent tumorvekst inhibering. Brønner uten antistoff-behandlingen blir anvendt som kontroller for 0% inhibering mens brønner uten celler ble vurdert til å vise 100% inhibering.

For vurdering av apoptose, kaspase-3 aktivering er bestemt ved den etterfølgende protokollen: antistoff-behandlede celler i 96-brønn plater blir lysert i 120 µl of 1x lyseringsbuffer (1.67mM Hepes, pH 7.4, 7mM KCl, 0.83mM $MgCl_2$, 0.11mM EDTA, 0.11mM EGTA, 0.57% CHAPS, 1mM DTT, 1x protease-inhibitor cocktail tablet; EDTA-fri; Roche Pharmaceuticals, Nutley, NJ) ved romtemperatur med risting i 20 minutter. Etter celle-lysering, 80 µl av en kaspase-3 reaksjonsbuffer (48mM Hepes, pH 7.5, 252mM sukrose, 0.1% CHAPS, 4mM DTT, og 20 µM Ac-DEVD-AMC substrat; Biomol Research Labs, Inc., Plymouth Meeting, PA) blir tilsatt og platene blir inkubert i 2 timer ved 37^{0}C. Platene blir avlest på en 1420 VICTOR Multilabel Counter (Perkin Elmer Life Sciences, Downers Grove, IL) ved å bruke de etterfølgende innstillingene: eksitering= 360/40, emisjon= 460/40. En økning av fluorescens enheter fra antistoff-behandlede celler i forhold til isotype antistoff kontroll-behandlet celler er indikerende for apoptose.

Eksempel 1.1.2.N: Inhibering av Celle-proliferering ved Moderantistoff og DVD-Ig-konstruksjoner

U87-MG humane glioma tumorceller blir platet med 2,000 celler/brønn i 100 µl i 96-brønn plater i RPMI medium supplementert med 5% føtalt kalveserum, og inkubert ved 37°C, 5% CO_2 over natten. Dagen etter blir cellene behandlet med serielle fortynninger av antistoff eller DVD-Ig'er (0.013 nM til 133 nM dose område), og inkubert ved 37 °C i en fuktet, 5% CO_2 atmosfære for 5 dager. Celle overlevelse/proliferering er målt indirekte ved å vurdere ATP-nivåer ved å bruke et ATPlite kit (Perkin Elmer, Waltham, MA) ifølge produsentens instruksjoner.

Eksempel 1.1.2.O: VEGF Moderantistoff og DVD-Ig-konstruksjoner Forhindre $VEGF_{165}$ Interaksjon med VEGFR1

ELISA-plater (Nunc, MaxiSorp, Rochester, NY) blir inkubert over natten ved 4°C med 100 µl PBS inneholdende rekombinant VEGFR1 ekstra-cellulær domene-Fc fusjonsprotein (5µg/ml, R&D systemer, Minneapolis, MN). Plater blir vasket tre ganger i vaskebuffer (PBS

inneholdende 0.05% Tween 20), og blokkert i 1 time ved 25°C i blokkeringsbuffer (PBS inneholdende 1% BSA). Serielle fortynninger av hver antistoff/DVD-Ig i PBS inneholdende 0.1% BSA blir inkubert med 50µl med 2nM biotinylert VEGF i 1 time ved 25°C. Antistoffet/DVD-Ig-biotinylert VEGF blandinger (100µl) blir deretter tilsatt til de VEGFR1-Fc belagte brønnene og inkubert ved 25°C i 10 minutter. Brønnene blir vasket tre ganger, og deretter inkubert i 1 time ved 25°C med 100µl streptavidin-HRP (KPL #474-3000, Gaithersburg, MD). Brønnene blir vasket tre ganger, og 100µl ULTRA-TMB ELISA (Pierce, Rockford, IL) blir tilsatt per brønn. Etter fargeutviklingsreaksjonen er stoppet med 1N HCL og absorbans ved 450nM er målt.

Eksempel 1.1.2.P: <u>Inhibering av Reseptor Fosforylering ved Moderantistoffer eller DVD-Ig-konstruksjoner *In vitro*</u>

Humane karsinom celler er platet i 96-brønn plater ved 40,000 celler/brønn i 180µl serum-fri medium (DMEM+ 0.1% BSA), og inkubert over natten ved 37°C, 5% CO_2. Costar EIA plater (Lowell, MA) er belagt med 100 µl/brønn med reseptorfangst-Ab (4µg/ml sluttkonsentrasjon), og inkubert over natten ved romtemperatur under risting. Dagen etter, reseptor antistoff-belagt ELISA-plater blir vasket (tre ganger med PBST = 0.05% Tween 20 i PBS, pH 7.2 - 7.4), og 200µl blokkeringsløsning blir tilsatt (1% BSA, 0.05% NaN3 i PBS, pH 7.2 - 7.4.) for å blokkere i 2 timer ved romtemperatur på en vuggemaskin. Humane tumorceller er ko-inkubert med antistoffer eller DVD-Ig'er og ligand. Monoklonale antistoffer eller DVD-Ig'er fortynnet i D-PBS-BSA (Dulbeccos Fosfatbufret saltløsning med 0.1%BSA) blir tilsatt til Humane karsinom celler ved sluttkonsentrasjoner på 0.01 µg/mL-100 µg/mL. Vekstfaktorer er samtidig tilsatt til cellene ved konsentrasjoner av 1-100ng/mL (200µL), og celler blir inkubert ved 37°C i en fuktet, 5% CO_2 atmosfære i 1 time. Celler blir lysert i 120µl/brønn med kald celle-ekstraksjonsbuffer (10 mM Tris, pH 7.4, 100 mM NaCl, 1 mM EDTA, 1 mM EGTA, 1 mM NaF, 1 mM natrium orthovanadate, 1% Triton X-100, 10% Glyserol, 0.1% SDS, og protease-inhibitor cocktail), og inkubert ved 4°C i 20 minutter med risting. Cellelysater (100µl) blir tilsatt til ELISA-platen, og inkubert over natten ved 4°C med forsiktig risting. Dagen etter, ELISA-plater blir vasket, og 100 µl/brønn med pTyr-HRP deteksjons-Ab blir tilsatt (p-IGF1R ELISA kit, R&D System # DYC1770, Minneapolis, MN), og plater blir inkubert i 2 timer ved 25°C i mørket. Plater er utviklet for å bestemme fosforylering per produsentens instruksjoner. **Eksempel 1.1.2.Q: <u>Inhibering av VEGFR2 (KDR) Fosforylering Ved VEGF Moderantistoff Og DVD-Ig-konstruksjoner</u>**

NIH3T3-celler som uttrykker humant VEGFR2 (KDR) blir platet med 20,000 celler/brønn (100µl) i 96-brønn plater i DMEM supplementert med 10% FBS. Dagen etter, cellene blir vasket to ganger med DMEM og serum-sultet i tre timer i DMEM uten FBS. Anti-

VEGF moderantistoff eller DVD-Ig'er (ved sluttkonsentrasjoner på 67 nM, 6.7 nM og 0.67 nM) fortynnet i DMEM med 0.1%BSA er pre-inkubert med rekombinant human $VEGF_{165}$ (50ng/ml) i 1 time ved 25°C. Disse antistoff/DVD-Ig og VEGF blandinger blir deretter tilsatt til cellene, og platene blir inkubert ved 37°C i en fuktet, 5% CO_2 atmosfære i 10 minutter. Celler blir vasket to ganger med er kald PBS og lysert ved tilsetning av 100µl/ brønn med cellelyseringsbuffer (Cell Signaling, Boston, MA) supplementert med 0.1% NP40. Duplikat prøver er samlet og 170µl blir tilsatt til brønner av ELISA-plater tidligere belagt med anti-VEGFR2 antistoff (R&D systemer, AF357, Minneapolis, MN) og inkubert ved 25°C med forsiktig risting i to timer. Brønnene blir vasket fem ganger med vaskebuffer (PBS inneholdende 0.05% Tween 20), og inkubert med 50µl of of 1:2000 fortynning av biotinylert anti-fosfotyrosine antistoff (4G10; Millipore, Billerica, MA) i 1 time ved 25°C. Brønnene blir vasket fem ganger med PBS inneholdende 0.05% Tween 20, og deretter inkubert i 1 time ved 25°C med streptavidin-HRP (KPL #474-3000, Gaithersburg, MD). Brønnene blir vasket tre ganger med streptavidin-HRP (KPL #474-3000, Gaithersburg, MD)). Brønnene blir vasket tre ganger med PBS inneholdende 0.05% Tween 20, og 100µl ULTRA-TMB ELISA (Pierce, Rockford, IL) blir tilsatt per brønn. Etter fargeutviklingsreaksjonen er stoppet med 1N HCL og absorbans ved 450nM ble målt. **Eksempel 1.1.2.R: <u>Effekt av et DVD-Ig På The Vekst Of Human Karsinom Subkutan Flank Xenografts</u>**

A-431 humane epidermoide karsinom celler er dyrket *in vitro* til 99% viabillitet, 85% konfluens i vevsdyrkingsflasker. SCID hunkjønnede mus (Charles Rivers Labs, Wilmington, MA) ved 19-25 gram er injisert subkutant inn i høyre flanke med 1 x 10^6 humane tumorceller (1:1 matrigel) på studiedag 0. Administrasjon (IP, QD, 3x/ uke) med human IgG kontroll eller DVD-Ig ble igangsatt etter at mus er størrelse-matchet inn i grupper av mus med gjennomsnittlige tumorvolumer på omtrent 200 to 320 mm^3. Tumorene er målt to ganger i uken med start på omtrent dag 10 etter tumorcelle-injisering.

Eksempel 1.1.2.S: Binding av <u>Monoklonale Antistoffer til overflaten av Humane tumorcelle-linjer som vurdert ved"flow cytometry"</u>

Stabile celle-linjer som overuttrykker et celleoverflate-antigen av interesse eller humane tumorcelle-linjer ble høstet fra vevdyrkingsflasker og resuspendert i Fosfatbufret saltløsning (PBS) inneholdende 5% føtalt kalveserum (PBS/FBS). Før flekkfarging, humane tumorceller ble inkubert med (100µl) humant IgG ved 5µg/ml i PBS/FCS. 1-5 x10^5 celler ble inkubert med antistoff eller DVD-Ig (2 µg/mL) i PBS/FBS i 30-60 minutter. Celler ble vasket to ganger og 100µl of F(ab')2 geit anti human IgG, Fcγ- fycoerythrin (1:200 fortynning i PBS) (Jackson ImmunoResearch, West Grove, PA, Cat.#109-116-170) ble tilsatt. Etter 30 minutter inkubering, celler ble vasket to ganger og resuspendert i PBS/FBS. Fluorescens ble målt ved å bruke en Becton Dickinson FACSCalibur (Becton Dickinson, San Jose, CA).

Tabell 15 viser FACS data for DVD-Ig'et konstruksjoner. Det geometriske gjennomsnitt er n-roten til multipliseringsproduktet av n fluorescerende signaler (a1 x a2 x a3....an). Med log-transformert data det geometriske gjennomsnitt blir anvendt for å normalisere vektingen av data-fordelingen. Den etterstående tabellen inneholder FACS geometriske gjennomsnittet for moderantistoffer og DVD-Ig-konstruksjoner.

Tabell 15: Fluorescent Aktivert Celle-sortering av DVD-Ig-konstruksjoner

Moderantistoff eller DVD-Ig ID	N-terminal Variabelt domene (VD)	C-terminal Variabelt domene (VD)	FACS Geometric Mean N-terminal	FACS Geometric Mean C-terminal
AB024	AlfaVbeta3		20.19	
DVD067	TNF	AlfaVbeta3		0.44
DVD068	AlfaVbeta3	TNF	0.48	
AB054	IL-6R		5.94	
DVD129	IL-6R	RANKL	8.43	
DVD130	RANKL	IL-6R		0.82
AB054	IL-6R		5.94	
DVD145	IL-6R	VEGF	8.23	
DVD146	VEGF	IL-6R		0.22
AB054	IL-6R		5.94	
DVD147	IL-6R	IL-17A(NOV)	10.13	
DVD148	IL-17A (NOV)	IL-6R		0.07
AB001	CD20		1353	
DVD165	CD20	RANKL	1893	
DVD166	RANKL	CD20		1.64
AB054	IL-6R		5.94	
DVD280	IL-6R	TNF	8.93	
AB001	CD20		1353	
DVD287	TNF	CD20		0.34
DVD288	CD20	TNF	1132	

Alle DVD'er viste binding til deres celleoverflate-mål. De N-terminale domenene til DVD'er bandt deres mål på celleoverflaten så godt som eller bedre enn moder-antistoffet. Binding kan bli gjenvunnet eller forbedret ved å justere linker-lengde.

Eksempel 1.1.2.T: Binding av Moder Reseptor Antistoff og DVD-Ig-konstruksjoner til overflaten av Humane tumorcelle-linjer som vurdert ved"flow cytometry"

Stabile celle-linjer som overuttrykker celleoverflate reseptorer eller humane tumorcelle-linjer er høstet fra vevdyrkingsflasker og resuspendert i Dulbeccos Fosfatbufret saltløsning (DPBS) inneholdende 1% føtalt kalveserum (DPBS/FCS). 1-5 x10^5 celler blir inkubert med 100µL antistoffer eller DVD-Ig'er (10ug/mL) i DPBS/FCS i 30-60 minutter. Celler blir vasket to ganger og 50µl geit anti-human IgG-fycoerythrin (1:50 fortynning i DPBS/BSA) (Southern Biotech Associates, Birmingham, AL cat#2040-09) blir tilsatt. Etter 30-45 minutter inkubering,

celler blir vasket to ganger og resuspendert i 125uL/brønn 1% formaldehyd i DPBS/FCS. Fluorescens ble målt ved å bruke en Becton Dickinson LSRII (Becton Dickinson, San Jose, CA).

Eksempel 1.2: Generering av Monoklonale moderantistoffer til et humant Antigen av interesse

Murine moder-mAb'er i stand til å binde til og nøytralisere et humant antigen av interesse og en variant derav er oppnådd som følger:

Eksempel 1.2.A: Immunisering av Mus Med et humant Antigen av interesse

Tyve mikrogram med rekombinant renset human antigen (f.eks., IGF1,2) blandet med komplett Freunds adjuvant eller Immunoeasy adjuvant (Qiagen, Valencia, CA) er injisert subkutant inn i fem 6-8 uker-gamle Balb/C, fem C57B/6 mus, og fem AJ mus på Dag 1. På dager 24, 38, og 49, tyve mikrogram med rekombinant renset human antigen variant blandet med ikke-komplett Freunds adjuvant eller Immunoeasy adjuvant er injisert subkutant inn i de samme mus. På dag 84 eller dag 112 eller dag 144, mus er injisert intravenøst med 1 μg rekombinant renset human antigen av interesse.

Eksempel 1.2.B: Generering av en Hybridoma

Splenocytter oppnådd fra de immuniserte musene beskrevet i Eksempel 1.2.A er fusjonert med SP2/O-Ag-14 celler ved en forhold på 5:1 ifølge den etablerte metoden beskrevet i Kohler, G. og Milstein (1975) Nature, 256:495 for å generere hybridomas. Fusjons-produkter er platet i seleksjons-media inneholdende azaserine og hypoksanthine i 96-brønn plater ved en tetthet på $2.5x10^6$ milt-celler per brønn. Syv til ti dager etter fusjon, makroskopiske hybridoma kolonier er observert. Supernatant fra hver brønn inneholdende hybridoma kolonier er utprøvd ved ELISA for nærværet av antistoff til antigenet av interesse (som beskrevet i Eksempel 1.1.1.A). Supernatanter som viser antigen-spesifikk aktivitet blir deretter utprøvd for aktivitet (som beskrevet i assayene i Eksempel 1.1.2), for eksempel, evnen til å nøytralisere antigenet av interesse i et bioassay slik som som beskrevet i Eksempel 1.1.2.I).

Eksempel 1.2.C: Identifisering Og Karakterisering av Monoklonale moderantistoffer til et humant mål-antigen av interesse

Eksempel 1.2.C.1: Analysering av nøytraliserende aktivitet hos monoklonale moderrantistoff

Hybridoma supernatanter er analysert for nærværet av moderantistoffer som binder et antigen av interesse, fremstilt ifølge Eksempler 1.2.A og 1.2.B, og er også i stand til å binde en variant av antigenet av interesse ("antigen variant"). Supernatanter med antistoffer positive i begge assayer blir deretter utprøvd for deres antigen nøytraliseringsstyrke, for eksempel, i cytokin-bioassayet fra Eksempel 1.1.2.I. Hybridomene som produserer antistoffer med IC_{50}

verdier i bioassayet mindre enn 1000pM, i en utførelsesform, mindre enn 100pM er oppskalert og klonet ved begrenset fortynning. Hybridom-cellene er ekspandert inn i media inneholdende 10% lav IgG føtalt kalveserum (Hyclone #SH30151, Logan, UT). I gjennomsnitt, 250 mL av hver hybridoma supernatant (avledet fra en klonepopulasjon) er høstet, konsentrert og renset ved protein-affinitetskromatografi, som beskrevet i Harlow, E. og Lane, D. 1988 "Antibodies: A Laboratory Manual". Evnen til rensede mAb'er for å inhibere aktiviteten til dets målantigen er bestemt, for eksempel, ved å bruke cytokin-bioassayet som beskrevet i Eksempel 1.1.2.I.

Eksempel 1.2.C.2: Analyse av Moder Monoklonale Antistoff Kryssreaktivitet for Cynomolgus mål-antigen av interesse

For å bestemme om de valgte mAb'ene beskrevet heri kjenner igjen cynomolgus-antigen av interesse blir BIACORE analyse utført som beskrevet heri (Eksempel 1.1.1.G) ved å bruke rekombinant cynomolgus mål-antigen. I tillegg kan også nøytraliseringsstyrken til mAb'er mot rekombinant cynomolgus-antigen av interesse bli målt i cytokin-bioassayet (Eksempel 1.1.2.I). MAb'er med god cyno-kryssreaktivitet (I en utførelsesform, innenfor 5-ganger reaktiviteten for humant antigen) er selektert for future karakterisering.

Eksempel 1.2.D: Bestemmelse av Aminosyre-sekvensen til Den variable regionen For Hvert Murint Anti-Humant Monoklonalt Antistoff

Isolering av cDNA'ene, uttrykking og karakterisering av de rekombinante anti-human murine mAb'ene er utført som følger. For hver aminosyresekvens-bestemmelse, omtrent 1 x 10^6 hybridom-celler er isolert ved sentrifugering og prosessert for å isolere total RNA med Trizol (Gibco BRL/Invitrogen, Carlsbad, CA.) etter produsentens instruksjoner. Total RNA er utsatt for første-streng DNA-syntese ved å bruke "SuperScript First-Strand Synthesis"-Systemet (Invitrogen, Carlsbad, CA) per produsentens instruksjoner. Oligo(dT) blir anvendt for å prime først-streng syntesen for å velge for poly(A)+ RNA. Første-streng cDNEt-produktet blir så amplifisert ved PCR med primere utformet for amplifisering av murine immunoglobulin variable regioner (Ig-Primer Sets, Novagen, Madison, WI). PCR-produkter er oppløst på en agarose gel, kuttet ut, renset, og deretter sub-klonet med TOPO Klonings-kit inn i pCR2.1-TOPO vektor (Invitrogen, Carlsbad, CA) og transformet til TOP10 kjemisk kompetent E. coli (Invitrogen, Carlsbad, CA). Koloni-PCR blir utført på transformantene for å identifisere kloner inneholdende "insert". Plasmid-DNA er isolert fra kloner inneholdende "insert" ved å bruke et QIAprep Miniprep kit (Qiagen, Valencia, CA). "inserts" i plasmidene er sekvenser på begge strengene for å bestemme de variable tung- eller variable lettkjede DNA-sekvensene ved å bruke M13 forover og M13 revers primere (Fermentas Life Sciences, Hanover MD). Variable tung og variable lettkjede sekvenser hos mAb'ene blir identifisert. I en utførelsesform, seleksjonskriteriene for et panel med kandidat mAb'er for neste trinns utvikling (humanisering) inkluderer det følgende:

- Antistoffet inneholder ikke noe/noen N-linkede glykosyleringsseter (NXS), bortsett fra standard en i CH2
- Antistoffet inneholder ikke noe/noen ekstra cysteiner i tillegg til de vanlige cysteinene i alle antistoff
- Antistoff-sekvensen er på linje med de nærmeste humane kimlinje-sekvensene for VH og VL og enhver uvanlig aminosyre bør bli sjekket for forekomst i andre naturlige humane antistoffer
- N-terminal Glutamin (Q) er forandret til Glutaminsyre (E) hvis det ikke påvirker aktiviteten til antistoffet. Dette vil redusere heterogenitet på grunn av syklisering av Q
- Effektiv signalsekvens spalting er bekreftet ved Masse-spektrofotometri. Dette kan bli gjort med COS celle- eller 293 celle-materiale
- Proteinsekvensen er kontrollert for risikoen for deamidering av Asn som kunne resultere i tap av aktivitet
- Antistoffet har et lavt nivå av aggregering
- Antistoffet har løselighet >5-10 mg/ml (i forskningsfase); >25 mg/ml
- Antistoffet har en normal størrelse (5-6 nm) ved Dynamisk Lysspredning (DLS)
- Antistoffet har en lav ladningsheterogenitet
- Antistoffet mangler cytokinfrigjøring (se Eksempel 1.1.2.B)
- Antistoffet har spesifisitet for det tiltenkte cytokinet (se Eksempel 1.1.2.C)
- Antistoffet mangler uventet kryssreaktivitet for vev (se Eksempel 1.1.2.D)
- Antistoffet har likhet mellom human og cynomolgus kryssreaktivitet for vev (se Eksempel 1.1.2.D)

Eksempel 1.2.2: Rekombinante Humaniserte Moderantistoffer

Eksempel 1.2.2.1: Konstruksjon Og Uttrykking av Rekombinante Kimeriske Anti-Human Moderantistoffer

DNA'et som koder for Tungkjede konstant regionen i murine anti-human moder-mAb'er er byttet ut med et cDNEt-fragment som koder for den humane IgG1-konstantregionen inneholdende 2 hengselregion aminosyre-mutasjoner ved homolog rekombinasjon i bakterier. Disse mutasjoner er en leucine til alanine forandring ved posisjon 234 (EU nummerering) og en leucine til alanine forandring ved posisjon 235 (Lund et al., 1991, J. Immunol., 147:2657). Lettkjede konstant regionen av hver av disse antistoffer er byttet ut med en human kappa konstantregion. Fullengde kimeriske antistoffer er forbigående uttrykt i COS-celler ved ko-transfeksjon av kimeriske tung og lettkjede cDNAs ligert inn i pBOS-uttrykkingsplasmidet (Mizushima og Nagata, Nucleic Acid Research 1990, Vol 18, pg 5322). Cellesupernatanter inneholdende rekombinant kimerisk antistoff er renset ved Protein A Sepharose kromatografi og bundet antistoff er eluert ved tilsetning av syre buffer. Antistoffer er nøytralisert og dialysert inn i PBS.

Tungkjedet cDNA som koder for et kimerisk mAb er co-transfektert med dets kimeriske lettkjede cDNA (begge ligert i pBOS-vektoren) inn i COS-celler. Celle supernatant inneholdende rekombinant kimerisk antistoff blir renset ved Protein A Sepharose kromatografi og bundet antistoff er eluert ved tilsetning av syre buffer. Antistoffer er nøytralisert og dialysert inn i PBS.

De rensede kimeriske anti-human moder-mAb'ene blir deretter utprøvd for deres evne til å binde (ved Biacore) og for funksjonell aktivitet, f.eks., for å inhibere den cytokin-induserte produksjonen av IgE som beskrevet i Eksempler 1.1.1.G og 1.1.2.B. Kimeriske mAb'er som opprettholde aktiviteten til moder hybridoma mAb'ene er selektert for senere utvikling.

Eksempel 1.2.2.2: Konstruksjon Og Uttrykking av Humanisert Anti Human Moderantistoffer

Eksempel 1.2.2.2.A: Seleksjon av Humant antistoff-rammeverk

Hver murine variable tung og variable lettkjede gen-sekvens er hver for seg innrettet mot 44 humant immunoglobulin kimlinje variable tungkjede eller 46 kimlinje variable lettkjede sekvenser (avledet fra NCBI Ig Blast website ved http://www.ncbi.nlm.nih.gov/igblast/retrieveig.html.) ved å bruke Vektor NTI programvare.

Humanisering er basert på aminosyresekvens homology, CDR-klynge analyse, hyppighet av anvendelse blant uttrykte humane antistoffer, og tilgjengelig informasjon på krystallstrukturene av humane antistoffer. Med hensyn til mulig virkninger på antistoff binding, VH- VL parring, og andre faktorer, blir murine residuer mutert til humane residuer hvor murine og humane

rammeverk-residuer er forskjellig, med noen få unntak. Ytterligere humaniserings-strategier er utformet basert på en analyse av human kimlinje antistoff sekvenser, eller en undergruppe derav, som innehar en høy grad av homologi, dvs., sekvens-likhet, med den faktiske aminosyresekvens til de murine antistoff variable regioner.

Homologi-modellering blir anvendt for å identifisere residuer unike for de murine antistoff-sekvensene som er forutsagt å være kritiske for strukturen til antistoffet kombinere sete, CDR'ene. Homologi-modellering er en beregningsmetode hvormed omtrentlige tredimensjonale koordinater er fremstilt for et protein. Kilden for innledende koordinater og veiledning for deres videre forfining er et andre protein, referanseproteinet, for hvilket de tredimensjonale koordinatene er kjent og viss sekvens er relatert til sekvensen til det første proteinet. Forholdet mellom sekvensene til de to proteinene blir anvendt for å generere et samsvar mellom referanseproteinet og proteinet for hvilket koordinater er ønsket, mål-proteinet. De primære sekvensene til referanse- og mål-proteinene er innrettet med koordinater for identiske porsjoner av de to proteinene overført direkte fra referanseproteinet til mål-proteinet. Koordinater for ikke-samsvarende porsjoner av de to proteinene, f.eks., fra residu-mutasjoner, innsettinger, eller slettelser, er konstruert fra generiske struktur-templater og energi-forfinet for å sikre samsvar med de allerede overført modell-koordinater. Denne beregnede proteinstrukturen kan videre bli forfinet eller anvendt direkte i modellerings-studier. Kvaliteten til modellstrukturen er bestemt ved nøyaktigheten av påstanden at referanse- og mål-proteinene er beslektede og presisjonen med hvilken sekvensinnrettingen er konstruert.

For de murine mAb'ene blir en kombinasjon av BLAST-søking og visuell inspeksjon anvendt for å identifisere passende referansestrukturer. Sekvensidentitet på 25% mellom referanse- og mål-aminosyresekvensene er ansett som minimum nødvendig for å forsøke en homologi-modelleringsøvelse. Sekvensinnrettinger er konstruert manuelt og modellkoordinater er fremstilt med programmet Jackal (se Petrey, D. et al. (2003) Proteins 53 (Suppl. 6): 430–435).

De primære sekvensene til de murine og humane rammeverk-regionene til de valgte antistoffene deler betydelig identitet. Residu-posisjoner som varierer er kandidater for inklusjon av det murine residuet i den humaniserte sekvensen for å beholde den observerte bindingsstyrken til det murine antistoffet. En liste med rammeverk-residuer som varierer mellom de humane og murine sekvensene er konstruert manuelt. Tabell 16 viser rammeverk-sekvensene valg for dette studiet.

Tabell 16: Sekvenser til Menneskelig IgG-tungkjede Konstant Domene Og Lettkjede Konstant Domene

Protein	SEKV ID NR	Sekvens
		123456789012345678901234567890123456789 01

Vill-type hIgG1 konstant region	72	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSW NSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYI CNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPE**LL**GGPSV FLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDG VEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK VSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQV SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP GK
Mutant hIgG1 konstant region	73	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSW NSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYI CNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPE**AA**GGPSV FLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDG VEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK VSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQV SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP GK
Ig **k**appa konstant region	74	TVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWK VDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHK VYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
Ig Lambda konstant region	75	QPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAW KADSSPVKAGVETTTPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHR SYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS

Sannsynligheten for at en gitt rammeverk-residu ville påvirke bindings-egenskapene til antistoffet er avhengig av dets nærhet til CDR-residuene. Derfor, ved å bruke modellstrukturene, residuene som varierer mellom de murine og humane sekvensene er rangert ifølge deres avstand fra ethvert atom i CDR'ene. De residuer som faller innenfor 4.5 Å av ethvert CDR-atom blir identifisert som mest viktig og er anbefalt å være kandidater for retensjon av det murine residuet i det humaniserte antistoffetet (dvs., tilbake-mutasjon).

I silico konstruert humaniserte antistoffer er konstruert ved å bruke oligonukleotider. For hver variable region cDNA, 6 oligonukleotider av 60-80 nukleotider hver er utformet for å overlappe hverandre ved 20 nukleotider ved 5' og/eller 3' enden av hver oligonukleotid. I en "annealing" reaksjon, alle 6 oligonukleotider er kombinert, kokt, og sammensmeltet i nærværet av dNTPs. DNEn polymerase I, Stort (Klenow) fragment (Ny England Biolabs #M0210, Beverley, MA.) blir tilsatt for å fylle inn de omtrent 40bp hullene mellom de overlappende oligonukleotidene. PCR blir utført for å amplifisere hele variable region genet ved å bruke to ytterste primere inneholdende overhengende sekvenser komplementære til de multiple kloningssetene i en modifisert pBOS vektor (Mizushima, S. og Nagata, S. (1990) Nucleic Acids Res. 18: 17). PCR-produktene avledet fra hver cDNA sammensetning blir separert på en agarose gel og båndet tilsvarende den forutsagte variable region cDNA størrelsen er kuttet ut og renset. Den variable tung regionen blir satt inn iet cDNEt-fragment som koder for den humane IgG1-konstantregionen inneholdende 2 hengselregion aminosyre-mutasjoner ved homolog rekombinasjon i bakterier. Disse mutasjoner er en leucine til alanine forandring ved posisjon 234 (EU nummerering) og en leucine til alanine forandring ved posisjon 235 (Lund et al. (1991) J.

Immunol. 147:2657). Det variable lettkjedet region er satt sammen med den humane kappa konstant regionen ved homolog rekombinasjon. Bakteriell kolonier er isolert og Plasmid-DNA ekstrahert. cDNA "inserts" er sekvensert i deres helhet. Riktig humanisert tung- og lettkjeder tilsvarende hvert antistoff er co-transfektert inn i COS-celler to forbigående produsere fullengde humanisert anti-human antistoffer. Cellesupernatanter inneholdende rekombinant kimerisk antistoff er renset ved Protein A Sepharose kromatografi og bundet antistoff er eluert ved tilsetning av syre buffer. Antistoffer er nøytralisert og dialysert inn i PBS.

Eksempel 1.2.2.3: Karakterisering av Humaniserte antistoffer

Evnen til renset humaniserte antistoffer til å inhibere en funksjonell aktivitet er bestemt, f.eks., ved å bruke cytokin-bioassayet som beskrevet i Eksempler 1.1.2.A. Bindingsaffinitetene til de humaniserte antistoffene til rekombinant humant antigen er bestemt ved å bruke overflate-plasmonresonans (Biacore®) måling som beskrevet i Eksempel 1.1.1.B. IC50 verdiene fra bioassayene og affiniteten til de humaniserte antistoffene er rangert. De humaniserte mAb'ene som fullt opprettholder aktiviteten til moder hybridoma mAb'ene er selektert som kandidater for senere utvikling. De topp 2-3 mest gunstige humaniserte mAb'ene er videre karakterisert.

Eksempel 1.2.2.3.A: Farmakokinetikk Analyse av Humaniserte antistoffer

Farmakokinetikk studier er utført i Sprague-Dawley rotter og cynomolgus-apekatter. Hannkjønnede og hunkjønnede rotter og cynomolgus-apekatter er dosert intravenøst eller subkutant med en enkelt dose på 4mg/kg mAb og prøver er analysert ved å bruke antigen fangst-ELISA, og farmakokinetikk parametere er bestemt ved ikke-kompartmental analyse. Kort fortalt, ELISA-plater er belagt med geit anti-biotin antistoff (5 mg/ml, 4°C, over natten), blokkert med Superblock (Pierce), og inkubert med biotinylert human antigen ved 50 ng/ml i 10% Superblock TTBS ved romtemperatur i 2 timer. Serum prøver er serielt fortynnet (0.5% serum, 10% Superblock i TTBS) og inkubert på platen i 30 minutter ved romtemperatur. Deteksjon er utført med HRP-merket geit anti humant antistoff og konsentrasjoner er bestemt med hjelp av standardkurver ved å bruke fire parameter logistisk tilpasning. Verdier for farmakokinetikk-parametrene er bestemt ved ikke-kompartmental modell ved å bruke WinNonlin programvare (Farsight Corporation, Mountain View, CA). Humanisert mAb'er med god farmakokinetikkprofil (T1/2 er 8-13 dager eller bedre, med lav klaring og utmerket biotilgjengelighet 50-100%) er selektert.

Eksempel 1.2.2.3.B: Fysikokjemiske Og *In vitro* Stabillitet Analyse av Humanisert Monoklonale Antistoffer

Størrelseseksklusjons-kromatografi

Antistoffer er fortynnet til 2.5 mg/mL med vann og 20 mL er analysert på et Shimadzu HPLC-system ved å bruke en TSK gel G3000 SWXL kolonne (Tosoh Bioscience, cat# k5539-05k). Prøver er eluert fra kolonnen med 211 mM natriumsulfat, 92 mM natriumfosfat, pH 7.0, ved en strømningshastighet på 0.3 mL/minutter. HPLC-systemets operasjonsbetingelser er som følger:

Mobilfase: 211 mM Na_2SO_4, 92 mM $Na_2HPO_4*7H_2O$, pH 7.0

Gradient: Isokratisk

Strømningshastighet: 0.3 mL/minutt

Detektor bølgelengde: 280 nm

Autosampler kjølertemp: 4°C

Kolonne-ovn temperatur: Ambient

Kjøretid: 50 minutter

Tabell 17 inneholder renhetsdata for moderantistoffer og DVD-Ig-konstruksjoner uttrykt som prosent monomer (uaggregert protein med forventet molekylvekt) som bestemt ved protokollen over.

Tabell 17: Renhet av Moderantistoffer og DVD-Ig-konstruksjoner som bestemt ved Størrelseseksklusjons-kromatografi

Moderantistoff eller DVD-Ig ID	**N-Terminal Variabelt domene (VD)**	**C-Terminal Variabelt domene (VD)**	**% Monomer (renhet)**
AB017	TNF		95.9
AB029	IL-17A		97.9
DVD051	TNF	IL-17A	93.3
DVD052	IL-17A	TNF	98.2
AB017	TNF		95.9
AB018	RANKL		96.1
DVD053	TNF	RANKL	95.2
DVD054	RANKL	TNF	90.4
AB017	TNF		95.9
AB014	VEGF		98.5
DVD055	TNF	VEGF	88.5
AB017	TNF		95.9
AB020	NGF		90.0
DVD059	TNF	NGF	100
AB017	TNF		95.9
AB022	SOST (SEQ 1)		94
DVD063	TNF	SOST (SEQ1)	80.8
DVD064	SOST (SEQ1)	TNF	97.6
AB017	TNF		95.9
AB023	DKK		98
DVD065	TNF	DKK	94.3

Moderantistoff eller DVD-Ig ID	**N-Terminal Variabelt domene (VD)**	**C-Terminal Variabelt domene (VD)**	**% Monomer (renhet)**
DVD066	DKK	TNF	91.8
AB017	TNF		95.9
DVD067	TNF	AlfaVBeta3	96
DVD068	AlfaVBeta3	TNF	86.7
AB017	TNF		95.9
DVD187	TNF	IL-6	88.8
AB017	TNF		95.9
AB050	SOST (SEQ 2)		100
DVD277	TNF	SOST (SEQ2)	84.3
DVD278	SOST (SEQ2)	TNF	95.3
AB017	TNF		95.9
AB001	CD20		97.7
DVD287	TNF	CD20	84.3
DVD288	CD20	TNF	86.3
AB027	IL-4		97.7
AB053	IgE		100
DVD109	IgE	IL-4	97
DVD110	IL-4	IgE	92.6
AB027	IL-4		97.7
AB051	IL-13		100
DVD267	IL-13	IL-4	88.7
DVD268	IL-4	IL-13	100
AB051	IL-13		100
AB053	IgE		100
DVD273	IL-13	IgE	92.9
DVD274	IgE	IL-13	100
AB051	IL-13		100
AB056	IL-9 (SEQ2)		97.6
DVD285	IL-9 (SEQ2)	IL-13	81.3
DVD286	IL-13	IL-9 (SEQ2)	79.3
AB029	IL-17		97.9
AB032	IL-1B		100
DVD121	IL-1B	IL-17	97.6
DVD122	IL-17	IL-1B	94.5
AB029	IL-17		97.9
AB054	IL-6R		97.3
DVD147	IL-6R	IL-17	86.5
DVD148	1L-17	IL-6R	93.1
AB032	IL1B		100
AB014	VEGF		98.5
DVD123	IL-1B	VEGF	79.7
DVD124	VEGF	IL-1B	100
AB032	IL-1B		100
AB018	RANKL		96.1
DVD125	IL-1B	RANKL	93.7
DVD126	RANKL	IL-1B	96.5

DVD-Ig'er viste en utmerket SEC-profil med mest DVD-Ig visende >90% monomer. Denne DVD-Ig profilen er lignende de observert for moderantistoffer.

SDS-PAGE

Antistoffer er analysert ved natrium dodekyl sulfat - polyakrylamid gel elektroforese (SDS-PAGE) under både reduserende og ikke-reduserende betingelser. Adalimumab lot AFP04C blir anvendt som en kontroll. For reduserende betingelser, prøvene blir blandet 1:1 med 2X tris glysin SDS-PAGE prøve buffer (Invitrogen, cat# LC2676, lot# 1323208) med 100 mM DTT, og varmet ved 60°C i 30 minutter. For ikke-reduserende betingelser, prøvene blir blandet 1:1 med prøve buffer og varmet ved 100°C i 5 minutter. De reduserte prøvene (10 mg per bane) blir satt på en 12% forstøpt tris-glysin gel (Invitrogen, cat# EC6005boks, lot# 6111021), og de ikke-reduserte prøvene (10 mg per bane) blir satt på en 8%-16% forstøpt tris-glysin gel (Invitrogen, cat# EC6045boks, lot# 6111021). SeeBlue Pluss 2 (Invitrogen, cat#LC5925, lot# 1351542) blir anvendt som en molekylvekt markør. Gelene blir kjørt i en XCell SureLock mini celle gel boks (Invitrogen, cat# EI0001) og proteinene blir separert ved først å sette på en spenning på 75 for å stable prøvene i gelen, etterfulgt av en konstant spenning på 125 til fargefronten nådde bunnen av gelen. Kjøre-bufferen anvendt er 1X tris glysin SDS buffer, fremstilt fra en 10X tris glysin SDS buffer (ABC, MPS-79-080106)). Gelene er flekkfarget over natten med kolloidal blå flekkfarge (Invitrogen cat# 46-7015, 46-7016) og avfarget med Milli-Q vann til bakgrunnen er klarert. De flekkfargede gelene blir deretter skannet ved å bruke en Epson Uttrykkings-skanner (modell 1680, S/N DASX003641).

Sedimenteringshastighet Analyse

Antistoffer blir satt inn i prøvekammeret til hver av tre standard to-sektors karbon epon senterstykke. Disse senterstykkene har en 1.2 cm optisk-veilengde og er bygd med safir-vinduer. PBS blir anvendt for en referanse buffer og hvert kammer inneholdt 140 µL. Alle prøver er undersøkt samtidig ved å bruke en 4-hulls (AN-60Ti) rotor i en Beckman ProteomeLab XL-I analytisk ultrasentrifuge (seriell # PL106C01).

Kjøre-betingelser er programmert og sentrifuge-kontroll blir utført ved å bruke ProteomeLab (v5.6). Prøvene og rotor blir latt termisk ekvilibrere en tid før analyse (20.0 ± 0.1 °C). Bekreftelse av riktig cellefylling blir utført ved 3000 rpm og et enkelt skann er målt for hver celle. Sedimenteringshastighets-betingelsene er som følger:

Prøve-celle Volum: 420 mL
Referanse-celle Volum: 420 mL
Temperatur: 20°C
Rotorhastighet: 35,000 rpm
Tid: 8:00 timer

UV Bølgelengde: 280 nm

Radiell Trinn Størrelse: 0.003 cm

Datainnsamling: Et datapunkt per trinn uten signalgjennomsnitt.

Totalt antall skann: 100

LC-MS molekylvekt måling av intakte antistoffer

Molekylvekt av intakte antistoffer er analysert ved LC-MS. Hvert antistoff blir fortynnet til omtrent 1 mg/mL med vann. Et 1100 HPLC (Agilent) system med en protein mikrofelle (Michrom Bioresources, Inc, cat# 004/25109/03) blir anvendt for å avsalte og introdusere 5 mg av prøven inn i et API Qstar pulsar i massespektrometer (Applied Biosystems). En kort gradient blir anvendt for å eluere prøvene. Gradienten blir kjørt med mobilfase en (0.08% FA, 0.02% TFA i HPLC vann) og mobilfase B (0.08% FA og 0.02% TFA i acetonitril) ved en strømningshastighet på 50 mL/minutt. Massespektrometeret blir operert ved 4.5 kvolts spray-spenning med et skann-område fra 2000 til 3500 masse til ladningsforhold.

LC-MS molekylvekt måling av antistoff lys og tungkjeder

Molekylvekt måling av antistoff lettkjede (LC), tungkjede (HC) og deglykosylert HC er analysert ved LC-MS. Et antistoff blir fortynnet til 1 mg/mL med vann og prøven er redusert til LC og HC med en sluttkonsentrasjon på 10 mM DTT i 30 minutter ved 37°C. For å deglykosylere antistoffet, 100 mg til antistoffet er inkubert med 2 mL med PNGase F, 5 mL med 10% N-oktylglukosid i et totalvolum på 100 mL over natten ved 37 °C. Etter deglykosylering prøven er redusert med en sluttkonsentrasjon på 10 mM DTT i 30 minutter ved 37°C. Et Agilent 1100 HPLC system med en C4 kolonne (Vydac, cat# 214TP5115, S/N 060206537204069) blir anvendt for å avsalte og introdusere prøven (5 mg) inn i et API Qstar pulsar i massespektrometer (Applied Biosystems). En kort gradient blir anvendt for å eluere prøven. Gradienten blir kjørt med mobilfase en (0.08% FA, 0.02% TFA i HPLC vann) og mobilfase B (0.08% FA og 0.02% TFA i acetonitril) ved en strømningshastighet på 50 mL/minutt. Massespektrometeret blir operert ved 4.5 kvolts spray-spenning med et skann-område fra 800 til 3500 masse til ladningsforhold.

Peptidkartlegging

Antistoff er denaturert i 15 minutter ved romtemperatur med en sluttkonsentrasjon på 6 M guanidin hydroklorid i 75 mM ammoniumbikarbonat. De denaturerte prøvene er redusert med en sluttkonsentrasjon på 10 mM DTT ved 37°C i 60 minutter, etterfulgt av alkylering med 50 mM jodeddiksyre (IAA) i mørket ved 37°C i 30 minutter. Etter alkylering, prøven er dialysert over natten mot fire liter med 10 mM ammoniumbikarbonat ved 4°C. Den dialyserte prøven blir fortynnet til 1 mg/mL med 10 mM ammoniumbikarbonat, pH 7.8 og 100 mg of antistoff er enten fordøyd med trypsin (Promega, cat# V5111) eller Lys-C (Roche, cat# 11 047 825 001) ved en 1:20 (w/w) trypsin/Lys-C:antistoff ratio ved 37°C i 4 hrs. Det fordøyde produktet er "quenchet"

med 1 mL med 1 N HCl. For peptidkartlegging med massespektrometer deteksjon, 40 mL med det fordøyde produktet blir separert ved omvendt-fase høytrykks væskekromatografi (RFPLC) på en C18 kolonne (Vydac, cat# 218TP51, S/N NE9606 10.3.5) med et Agilent 1100 HPLC system. Peptid-separasjonen blir kjørt med en gradient ved å bruke mobilfase en (0.02% TFA og 0.08% FA i HPLC-kvalitet vann) og mobilfase B (0.02% TFA og 0.08% FA i acetonitril) ved en strømningshastighet på 50 mL/minutter. API QSTAR Pulsar massespektrometeret blir operert i positivt modus ved 4.5 kvolts spray-spenning og et skann-område fra 800 til 2500 masse til ladningsforhold.

Disulfid Bindingskartlegging

For å denaturere antistoffet, 100 mL til antistoffet er blandet med 300 mL med 8 M guanidin HCl i 100 mM ammoniumbikarbonat. pH'en er kontrollert for å forsikre at den er mellom 7 og 8 og prøvene er denaturert i 15 minutter ved romtemperatur i en sluttkonsentrasjon på 6 M guanidin HCl. En del av den denaturerte prøven (100 mL) blir fortynnet til 600 mL med Milli-Q vann for å gi en endelig guanidin-HCl konsentrasjon av 1 M. Prøven (220 mg) er fordøyd med enten trypsin (Promega, cat # V5111, lot# 22265901) eller Lys-C (Roche, cat# 11047825001, lot# 12808000) ved en 1:50 trypsin eller 1:50 Lys-C: antistoff (w/w) forhold (4.4 mg enzym: 220 mg prøve) ved 37°C i omtrent 16 timer. En ytterligere 5 mg med trypsin eller Lys-C blir tilsatt til prøvene og fordøying er latt fortsette for en ytterligere 2 timer ved 37°C. Fordøyingene blir stoppet ved å tilsette 1 mL med TFA til hver prøve. Fordøyde prøver blir separert ved RFPLC ved å bruke en C18 kolonne (Vydac, cat# 218TP51 S/N NE020630-4-1A) på et Agilent HPLC system. Separasjonen blir kjørt med den samme gradienten anvendt for peptidkartlegging ved å bruke mobilfase en (0.02% TFA og 0.08% FA i HPLC-kvalitet vann) og mobilfase B (0.02% TFA og 0.08% FA i acetonitril) ved en strømningshastighet på 50 mL/minutt. HPLC-operasjonsbetingelsene er de samme som de anvendt for peptidkartlegging. API QSTAR Pulsar massespektrometeret blir operert i positivt modus ved 4.5 kvolts spray-spenning og et skann-område fra 800 til 2500 masse til ladningsforhold. Disulfid-bindinger blir tilordnet ved å matche de observerte MW'ene til peptider med de forutsagte MW'ene til tryptisk eller Lys-C peptider knyttet sammen ved disulfid-bindinger.

Fri sulfhydryl bestemmelse

Metoden anvendt for å kvantifisere frie cysteiner i et antistoff er basert på reaksjonen til Ellmans reagens, 5,5¢- ditio-bis (2-nitrobenzosyre) (DTNB), med sulfhydryl grupper (SH) som gir opphav til et karakteristisk kromofort produkt, 5-tio-(2-nitrobenzosyre) (TNB). Reaksjonen er illustrert i formelen:

DTNB + RSH ® RS-TNB + TNB- + H+

Absorbansen til TNB- er målt ved 412 nm ved å bruke et Cary 50 spectrofotometer. En absorbanskurve er plottet ved å bruke fortynninger av 2 mercaptoetanol (b-ME) som den frie SH-standarden og konsentrasjonene av de frie sulfhydryl-gruppene i proteinet er bestemt fra absorbans ved 412 nm av prøven.

B-ME-standardløsningen er fremstilt ved en seriell fortynning av 14.2 M b-ME med HPLC-kvalitet vann til en sluttkonsentrasjon på 0.142 mM. Deretter standarder i triplikat for hver konsentrasjon er fremstilt. Antistoff blir konsentrert til 10 mg/mL ved å bruke et amicon ultra 10,000 MWCO sentrifuge-filter (Millipore, cat# UFC801096, lot# L3KN5251) og bufferen er forandret til formuleringsbufferen anvendt for adalimumab (5.57 mM natriumfosfat monobasisk, 8.69 mM natriumfosfat dibasisk, 106.69 mM NaCl, 1.07 mM natrium sitrat, 6.45 mM sitronsyre, 66.68 mM mannitol, pH 5.2, 0.1% (w/v) Tween). Prøvene blir blandet på en ristemaskin ved romtemperatur i 20 minutter. Deretter 180 mL med 100 mM Tris buffer, pH 8.1 blir tilsatt til hver prøve og standard etterfulgt av tilsetningen av 300 mL med 2 mM DTNB i 10 mM fosfatbuffer, pH 8.1. Etter grundig blanding, prøvene og standarder er målt for absorpsjon ved 412 nm på et Cary 50 spectrofotometer. Standardkurven blir oppnådd ved å plotte mengden av fri SH og OD_{412} nm til b-ME standardene. Fri SH-innhold av prøver er beregnet basert på denne kurven etter subtraksjon av blinprøven.

Svak Kationeutbyttingskromatografi

Antistoff blir fortynnet til 1 mg/mL med 10 mM natriumfosfat, pH 6.0. Ladningsheterogenitet er analysert ved å bruke et Shimadzu HPLC-system med en WCX-10 ProPac analytisk kolonne (Dionex, cat# 054993, S/N 02722). Prøvene blir satt på kolonnen i 80% mobilfase en (10 mM natriumfosfat, pH 6.0) og 20% mobilfase B (10 mM natriumfosfat, 500 mM NaCl, pH 6.0) og eluert ved en strømningshastighet på 1.0 mL/minutt.

Oligosakkarid-profilering

Oligosakkarider frigjort etter PNGase F behandling av antistoff er derivatisert med 2-aminobenzamid (2-AB) merking reagens. De fluorescent-merkede oligosakkaridene blir separert ved normal fase høy-hastighetsvæskekromatografi (NFPLC) og de forskjellige former av oligosakkarider er karakterisert basert på retensjonstid sammenligning med kjente standarder.

Antistoffet er først fordøyd med PNGaseF for å spalte N-linkede oligosakkarider fra Fc-porsjonen av tungkjedet. Antistoffet (200 mg) er plassert i et 500 mL Eppendorf-rør sammen med 2 mL PNGase F og 3 mL med 10% N-oktylglukosid. Fosfatbufret saltløsning blir tilsatt for å bringe det endelige volumet til 60 mL. Prøven er inkubert over natten ved 37°C i en Eppendorf termoblander satt til 700 RPM. Adalimumab lot AFP04C er også fordøyd med PNGase F som en kontroll.

Etter PNGase F behandling, prøvene blir inkubert ved 95°C i 5 minutter i en Eppendorf termoblander satt til 750 RPM for å felle ut proteinene, deretter prøvene er plassert i en Eppendorf sentrifuge i 2 minutter ved 10,000 RPM for å spinne ned de utfelte proteinene. Supernatanten inneholdende oligosakkaridene blir overført til et 500 mL Eppendorf-rør og tørket i en speed-vac ved 65°C.

Oligosakkaridene er merket med 2AB ved å bruke et 2AB merkings-kit kjøpt fra Prozyme (cat# GKK-404, lot# 132026). Merkingsreagenset er fremstilt ifølge produsentens instruksjoner. Eddiksyre (150 mL, tilveiebrakt i kit) blir tilsatt til DMSO-ampullen (tilveiebrakt i kit) og blandet ved å pipettere løsningen opp og ned flere ganger. Eddiksyre/DMSO blandingen (100 mL) er overført til en ampulle med 2-AB fargestoff (rett før anvendelse) og blandet til fargestoffet er helt oppløst. Fargestoff-løsningen blir så tilsatt til en ampulle med reduktanter (tilveiebrakt i kit) og blandet godt (merking reagens). Merkingsreagenset (5 mL) blir tilsatt til hver tørket oligosakkarid prøve ampulle, og blandet grundig. Reaksjonsampullene er plassert i en Eppendorf termoblander satt til 65°C og 700-800 RPM i 2 timer med reaksjon.

Etter merkings-reaksjonen, overskuddet fluorescent fargestoff blir fjernet ved å bruke GlycoClean S Kassetter fra Prozyme (cat# GKI-4726). Før tilsetting av prøvene, kassettene blir vasket med 1 mL med milli-Q vann fulgt av 5 vaskinger med 1 mL 30% eddiksyre løsning. Rett før tilsetting av prøvene, 1 mL med acetonitril (Burdick og Jackson, cat# AH015-4) blir tilsatt til kassettene.

Etter at all acetonitrilen har passert gjennom kassetten, prøven er satt på i sentrum av den nylig vaskede platen og latt absorbere på platen i 10 minutter. Platen blir vasket med 1 mL med acetonitril etterfulgt av fem vaskinger med 1 mL med 96% acetonitril. Kassettene er plassert over en 1.5 mL Eppendorf rør og de 2-AB merkede oligosakkaridene er eluert med 3 vaskinger (400 mL hver vasking) med milli Q vann.

Oligosakkaridene blir separert ved å bruke en Glycosep N HPLC (cat# GKI-4728) kolonne koblet til et Shimadzu HPLC-system. Shimadzu HPLC-systemet besto av en system kontroller, degasser, binære pumper, autosampler med en prøvekjøler, og en fluorescens detektor.

Stabillitet ved forhøyet temperaturer

Bufferen med antistoff er enten 5.57 mM natriumfosfat monobasisk, 8.69 mM natriumfosfat dibasisk, 106.69 mM NaCl, 1.07 mM natrium sitrat, 6.45 mM sitronsyre, 66.68 mM mannitol, 0.1% (w/v) Tween, pH 5.2; eller 10 mM histidin, 10 mM metionine, 4% mannitol, pH 5.9 ved å bruke Amicon ultra sentrifugal-filtere. Sluttkonsentrasjonen av antistoffene er justert til 2 mg/mL med de passende buffere. Antistoffløsningene blir deretter filter-sterilisert og 0.25 mL porsjoner er fremstilt under sterile betingelser. Porsjonene blir latt stå ved enten -80°C, 5°C,

25°C, eller 40°C i 1, 2 eller 3 uker. På slutten av inkuberingsperioden, prøvene er analysert ved størrelseseksklusjons-kromatografi og SDS-PAGE.

Stabilitetsprøvene er analysert ved SDS-PAGE under både reduserende og ikke-reduserende betingelser. Prosedyren anvendt er den samme som beskrevet heri. Gelene er flekkfarget over natten med kolloidal blå flekkfarge (Invitrogen cat# 46-7015, 46-7016) og avfarget med Milli-Q vann til bakgrunnen er klarert. De flekkfargede gelene blir deretter skannet ved å bruke en Epson Uttrykkings-skanner (modell 1680, S/N DASX003641). For å oppnå mer sensitivitet, de samme geler er sølv-flekkfarget ved å bruke sølv-flekkfarging kit (Owl Scientific) og de anbefalte prosedyrene gitt ved produsenten blir anvendt.

Eksempel 1.2.2.3.C: <u>Effekt av Et humanisert Monoklonalt Antistoff Alene Eller I Kombinasjon Med Kjemoterapi På Veksten av Humane Karsinom Xenografter</u>

Humane kreftceller er dyrket *in vitro* til 99% viabillitet, 85% konfluens i vevsdyrkingsflasker. SCID hunkjønn eller hankjønn mus (Charles Rivers Labs) ved 19-25 gram, er øremerket og barbert. Mus blir deretter inokulert subkutant inn i høyre flanke med 0.2 ml of 2 x 10^6 humane tumorceller (1:1 matrigel) på studiedag 0. Administrasjon (IP, Q3D/ uke) av vehikel (PBS), humanisert antistoff, og/eller kjemoterapi er initiert etter at mus er størrelse-matchet inn i separate bur av mus med gjennomsnittlige tumorvolumer på omtrent 150 til 200 mm^3. Tumorene er målt ved et par med pinsetter to ganger hver uke startende på omtrent dag 10 etter inokulering og tumor-volumene beregnet ifølge formelen $V = L \times W^2/2$ (V: volum, mm^3; L: lengde, mm; W: bredde, mm). Reduksjon i tumorvolum er sett i dyr behandlet med mAb alene eller i kombinasjon med kjemoterapi i forhold til tumorer i dyr som mottok bare vehikel eller en isotype kontroll mAb.

Eksempel 1.2.2.3.D: <u>FACS Basert Redirigert Cytotoksisitet (rCTL) Assay</u>

Humane CD3+ T-celler ble isolert fra tidligere fryst isolert perifert blod mononukleære celler (PBMC) med en negativ-seleksjon berikende kolonne (R&D Systems, Minneapolis, MN; Cat.#HTCC-525). T-celler ble stimulerte i 4 dager i kolber (vent cap, Corning, Acton, MA) belagt med 10μg/mL anti-CD3 (OKT-3, eBioscience, Inc., San Diego, CA) og 2μg/mL anti-CD28 (CD28.2, eBioscience, Inc., San Diego, CA) i D-PBS (Invitrogen, Carlsbad, CA) og dyrket i 30U/mL IL-2 (Roche) i komplett RPMI 1640 media (Invitrogen, Carlsbad, CA) med L-glutamin, 55mM β-ME, Pen/Strep, 10% FBS). T-celler ble deretter hvilt over natten i 30U/mL IL-2 før ved å bruke i assay. DoHH2 eller Raji mål-celler ble merket med PKH26 (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO) ifølge produsentens instruksjoner. RPMI 1640 media (uten fenol, Invitrogen, Carlsbad, CA) inneholdende L-glutamin og 10% FBS (Hyclone, Logan, UT) ble anvendt gjennom hele rCTL-assayet. (Se Dreier *et al.* (2002) Int J Cancer 100:690).

Effektor T-celler (E) og mål (T) ble platet ved en endelig celle-konsentrasjon på 10^5 og 10^4 celler/brønn i 96-brønn plater (Costar #3799, Acton, MA), henholdsvis for å gi et E:T forhold på 10:1. DVD-Ig-molekyler ble fortynnet for å oppnå konsentrasjon-avhengig titreringskurver. Etter inkubering over natten blir cellene pelletert og vasket med D-PBS en gang før resuspensjon i FACS buffer inneholdende 0.1% BSA (Invitrogen, Carlsbad, CA), 0.1% natriumazid og 0.5µg/mL propidium jodid (BD) i D-PBS. FACS data ble samlet på en FACS Canto II maskin (Becton Dickinson, San Jose, CA) og analysert i Flowjo (Treestar). Prosenten av mål i live i DVD-Ig'et behandlede prøver delt på prosenten av totale mål (kontroll, ingen behandling) ble beregnet for å bestemme prosent spesifikk lysering. IC50s ble beregnet i Prism (Grafpad).

Et CD3 / CD20 DVD-Ig ble utprøvd for redirigert toksisitet og viste *in vitro* tumor-dreping med en IC50 = 325pM. Sekvensen av dette CD3 / CD20 DVD-Ig ble fremvist i US Patent Søknad Serienr. 20070071675.

Eksempel 1.4: <u>Generering av et DVD-Ig</u>

DVD-Ig-molekyler i stand til å binde to antigener er konstruert ved å bruke to monoklonale moderantistoffer, en mot human antigen A, og det andre mot human antigen B, valgt som beskrevet heri.

Eksempel 1.4.1: <u>Generering av et DVD-Ig Som har To Linker-lengder</u>

En konstant region inneholdende µ1 Fc med mutasjoner ved 234, og 235 for å eliminere ADCC/CDC effektorfunksjoner blir anvendt. Fire forskjellig anti-A/B DVD-Ig-konstruksjoner er fremstilt: 2 med kort linker og 2 med lang linker, hver i to forskjellige domene orienteringer: V_A-V_B-C og V_B-V_A-C (se Tabell 18). Linker-sekvensene, avledet fra den N-terminale sekvensen til humant Cl/Ck eller CH1 domene, er som følger:

For DVDAB konstruksjoner:

lettkjede (hvis anti-A har λ):Kort linker: QPKAAP (SEKV ID NR: 15); Lang linker: QPKAAPSVTLFPP (SEKV ID NR: 16)

lettkjede (hvis anti-A har κ):Kort linker: TVAAP (SEKV ID NR: 13); Lang linker: TVAAPSVFIFPP (SEKV ID NR: 14)

tungkjede (γ1): Kort linker: ASTKGP (SEKV ID NR: 21); Lang linker: ASTKGPSVFPLAP (SEKV ID NR: 22)

For DVDBA konstruksjoner:

lettkjede (hvis anti-B har λ):Kort linker: QPKAAP (SEKV ID NR: 15); Lang linker: QPKAAPSVTLFPP (SEKV ID NR: 16)

lettkjede (hvis anti-B har k):Kort linker: TVAAP (SEKV ID NR: 13); Lang linker: TVAAPSVFIFPP (SEKV ID NR: 14)

tungkjede (γ1): Kort linker: ASTKGP (SEKV ID NR: 21); Lang linker: ASTKGPSVFPLAP (SEKV ID NR: 22)

Tung og lettkjede konstruksjoner er sub-klonet inn i pBOS-uttrykkingsvektoren, og uttrykt i COS-celler, etterfulgt av rensing ved Protein A kromatografi. de rensede materialene er utsatt for SDS-PAGE og SEC analyse.

Tabell 18 beskriver tungkjedet og lettkjede konstruksjoner anvendt for å uttrykke hvert anti-A/B DVD-Ig protein.

Tabell 18: Anti-A/B DVD-Ig-konstruksjoner

DVD-Ig protein	Tungkjede konstruksjon	Lettkjede konstruksjon
DVDABSL	DVDABHC-SL	DVDABLC-SL
DVDABLL	DVDABHC-LL	DVDABLC-LL
DVDBASL	DVDBAHC-SL	DVDBALC-SL
DVDBALL	DVDBAHC-LL	DVDBALC-LL

Eksempel 1.4.2: Molekylær kloning av DNA konstruksjoner for DVDABSL og DVDABLL

For å generere tungkjede konstruksjoner DVDABHC-LL og DVDABHC-SL, VH domene av et antistoff er PCR amplifisert ved å bruke spesifikke primere (3' primere inneholder kort/lang liner-sekvens for SL/LL konstruksjoner, henholdsvis); mens VH domene til B antistoff er amplifisert ved å bruke spesifikke primere (5' primere inneholder kort/lang liner-sekvens for SL/LL konstruksjoner, henholdsvis). Begge PCR-reaksjonene blir utført ifølge standard PCR teknikker og prosedyrer. De to PCR produktene er gel-renset, og anvendt sammen som overlappende templat for den etterfølgende overlappende PCR-reaksjonen. De overlappende PCR-produktene er sub-klonet inn i Srf I og Sal I dobbelt-fordøyd pBOS-hCγ1,z ikke-mammalsk uttykkingsvektor (Abbott) ved å bruke standard homolog rekombinasjon fremgangsmåte.

For å generere lettkjede konstruksjoner DVDABLC-LL og DVDABLC-SL, VL domene av et antistoff er PCR amplifisert ved å bruke spesifikke primere (3' primere inneholder kort/lang liner-sekvens for SL/LL konstruksjoner, henholdsvis); mens VL domene of B antistoff er amplifisert ved å bruke spesifikke primere (5' primere inneholder kort/lang liner-sekvens for SL/LL konstruksjoner, henholdsvis). Begge PCR-reaksjonene blir utført ifølge standard PCR teknikker og prosedyrer. De to PCR produktene er gel-renset, og anvendt sammen som overlappende templat for den etterfølgende overlappende PCR-reaksjonen ved å bruke standard PCR tilstander. De overlappende PCR-produktene er sub-klonet inn i Srf I og Ikke I dobbelt-

fordøyd pBOS-hCk mammaliske uttrykking vektor (Abbott) ved å bruke standard homolog rekombinasjon fremgangsmåte. Lignende tilnærming har blitt anvendt for å generere DVDBASL og DVDBALL som beskrevet nedenfor:

Eksempel 1.4.3: Molekylær kloning av DNA konstruksjoner for DVDBASL og DVDBALL

For å generere tungkjede konstruksjoner DVDBAHC-LL og DVDBAHC-SL, VH domenet til antistoff B er PCR amplifisert ved å bruke spesifikke primere (3' primere inneholder kort/lang liner-sekvens for SL/LL konstruksjoner, henholdsvis); mens VH domenet til antistoff A er amplifisert ved å bruke spesifikke primere (5' primere inneholder kort/lang liner-sekvens for SL/LL konstruksjoner, henholdsvis). Begge PCR-reaksjonene blir utført ifølge standard PCR teknikker og prosedyrer. De to PCR produktene er gel-renset, og anvendt sammen som overlappende templat for den etterfølgende overlappende PCR-reaksjonen ved å bruke standard PCR tilstander. De overlappende PCR-produktene er sub-klonet inn i Srf I og Sal I dobbelt-fordøyd pBOS-hCγ1,z ikke-mammalsk uttykkingsvektor (Abbott) ved å bruke standard homolog rekombinasjon fremgangsmåte.

For å generere lettkjede konstruksjoner DVDBALC-LL og DVDBALC-SL, VL domenet til antistoff B er PCR amplifisert ved å bruke spesifikke primere (3' primere inneholder kort/lang liner-sekvens for SL/LL konstruksjoner, henholdsvis); mens VL domenet til antistoff A er amplifisert ved å bruke spesifikke primere (5' primere inneholder kort/lang liner-sekvens for SL/LL konstruksjoner, henholdsvis). Begge PCR-reaksjonene blir utført ifølge standard PCR teknikker og prosedyrer. De to PCR produktene er gel-renset, og anvendt sammen som overlappende templat for den etterfølgende overlappende PCR-reaksjonen ved å bruke standard PCR tilstander. De overlappende PCR-produktene er sub-klonet inn i Srf I og Ikke I dobbelt-fordøyd pBOS-hCk mammaliske uttrykking vektor (Abbott) ved å bruke standard homolog rekombinasjon fremgangsmåte.

Eksempel 1.4.4: Konstruksjon og Uttrykking av Ytterligere DVD-Ig

Eksempel 1.4.4.1: Fremstilling av DVD-Ig vektor konstruksjoner

Moderantistoff aminosyresekvenser for spesifikke antistoffer, som kjenner igjen spesifikke antigener eller epitoper derav, for inkorporering i et DVD-Ig kan bli oppnådd ved fremstilling av hybridomas som beskrevet over eller kan bli oppnådd ved å sekvensere kjente antistoff-proteiner eller nukleinsyrer. I tillegg kan kjente sekvenser bli oppnådd fra litteraturen. Sekvensene kan bli anvendt for å syntetisere nukleinsyrer ved å bruke standard DNA syntese eller amplikasjonsteknologier og å sette sammen de ønskede antistoff-fragmentene inn i uttrykkingsvektorer, ved å bruke standard rekombinant DNA teknologi, for uttrykking i celler.

For eksempel, nukleinsyre kodoner ble bestemt fra aminosyre-sekvenser og oligonukleotid DNA ble syntetisert ved Blue Heron Biotechnology, Inc. (www.blueheronbio.com) Bothell, WA USA. Oligonukleotidene ble satt sammen inn i 300-2,000 base par dobbelttrådede DNA-fragmenter, klonet inn i en plasmid-vektor og sekvens-verifisert. Klonede fragmenter ble satt sammen ved å bruke en enzymatisk prosess for å gi det komplette genet og sub-klonet inn i en uttrykkingsvektor. (Se 7,306,914; 7,297,541; 7,279,159; 7,150,969; 20080115243; 20080102475; 20080081379; 20080075690; 20080063780; 20080050506; 20080038777; 20080022422; 20070289033; 20070287170; 20070254338; 20070243194; 20070225227; 20070207171; 20070150976; 20070135620; 20070128190; 20070104722; 20070092484; 20070037196; 20070028321; 20060172404; 20060162026; 20060153791; 20030215458; 20030157643).

En gruppe av fybE vektorer (US Patent Søknad Serienr. 61/021,282) ble anvendt for moderantistoff og DVD-Ig kloning. V1, avledet fra pJP183; fybE-hCg1,z,non-a V2, ble anvendt for kloning av antistoff og DVD tungkjeder med en vill-type konstant region. V2, avledet fra pJP191; fybE-hCk V2, ble anvendt for kloning av antistoff og DVD lettkjeder med en kappa konstant region. V3, avledet fra pJP192; fybE-hCl V2, ble anvendt for kloning av antistoff og DVD'er lettkjeder med en lambda konstant region. V4, bygd med et lambda signal peptid og en kappa konstant region, ble anvendt for kloning av DVD lettkjeder med en lambda-kappa hybrid V domene. V5, bygd med et kappa signal peptid og en lambda konstant region, ble anvendt for kloning av DVD lettkjeder med en kappa-lambda hybrid V domene. V7, avledet fra pJP183; fybE-hCg1,z,non-a V2, ble anvendt for kloning av antistoff og DVD tungkjeder med en (234,235 AA) mutant konstant region.

Med referanse til Tabell 19, en rekke vektorer ble anvendt i kloningen av moder-antistoffene og DVD-Ig VH og VL kjeder .

Tabell 19: Vektorer Anvendt for å Klone Moderantistoffer og DVD-Ig'er

ID	Tungkjede vektor	Lettkjede vektor
AB001	V1	V2
AB014	V1	V2
AB017	V1	V2
AB018	V1	V2
AB020	V1	V2
AB022	V1	V2
AB023	V1	V2
AB024	V1	V2
AB026	V1	V2
AB027	V1	V2
AB028	V1	V2
AB029	V1	V2

ID	Tungkjede vektor	Lettkjede vektor
AB032	V1	V2
AB038	V1	V2
AB040	V1	V2
AB050	V1	V2
AB051	V1	V2
AB053	V1	V2
AB054	V1	V2
AB056	V1	V2
AB065	V7	V2
AB066	V1	V2
DVD051	V1	V2
DVD052	V1	V2
DVD053	V1	V2
DVD054	V1	V2
DVD055	V1	V2
DVD056	V1	V2
DVD059	V1	V2
DVD060	V1	V2
DVD063	V1	V2
DVD064	V1	V2
DVD065	V1	V2
DVD066	V1	V2
DVD067	V1	V2
DVD068	V1	V2
DVD071	V1	V2
DVD072	V1	V2
DVD109	V1	V2
DVD110	V1	V2
DVD111	V1	V2
DVD112	V1	V2
DVD115	V1	V2
DVD116	V1	V2
DVD117	V1	V2
DVD118	V1	V2
DVD121	V1	V2
DVD122	V1	V2
DVD123	V1	V2
DVD124	V1	V2
DVD125	V1	V2
DVD126	V1	V2
DVD129	V1	V2
DVD130	V1	V2
DVD145	V1	V2
DVD146	V1	V2
DVD147	V1	V2
DVD148	V1	V2
DVD165	V1	V2

ID	Tungkjede vektor	Lettkjede vektor
DVD166	V1	V2
DVD183	V1	V2
DVD184	V1	V2
DVD185	V1	V2
DVD186	V1	V2
DVD187	V1	V2
DVD188	V1	V2
DVD265	V1	V2
DVD266	V1	V2
DVD267	V1	V2
DVD268	V1	V2
DVD273	V1	V2
DVD274	V1	V2
DVD275	V1	V2
DVD276	V1	V2
DVD277	V1	V2
DVD278	V1	V2
DVD279	V1	V2
DVD280	V1	V2
DVD281	V1	V2
DVD282	V1	V2
DVD283	V1	V2
DVD284	V1	V2
DVD285	V1	V2
DVD286	V1	V2
DVD287	V1	V2
DVD288	V1	V2
DVD369	V1	V2
DVD370	V1	V2
DVD371	V1	V2
DVD372	V1	V2
DVD373	V1	V2
DVD374	V1	V2
DVD375	V1	V2
DVD376	V1	V2
DVD377	V1	V2
DVD378	V1	V2
DVD379	V1	V2
DVD380	V1	V2
DVD381	V1	V2
DVD382	V1	V2
DVD383	V1	V2
DVD384	V1	V2

Eksempel 1.4.4.2: <u>Transfeksjon Og Uttrykking I 293 Celler</u>

Uttrykking av referanse-antistoffene og DVD-Ig'er ble oppnådd ved å forbigående kotransfektere HEK293 (EBNA) celler med plasmid inneholdende de korresponderende lettkjede (LC) og tungkjede (HC) nukleinsyrene. HEK293 (EBNA) celler ble propagert i Freestyle 293 media (Invitrogen, Carlsbad CA) i en 0.5L-skala i kolber (2L Corning Cat# 431198) risting i en CO_2 inkubator (8% CO_2, 125 RPM, 37°C). Når dyrkingene nådde en tetthet på $1x10^6$ celler/ml, ble celler transfektert med transfeksjonskompleks. Transfeksjonskomplekset ble fremstilt ved først å blande 150µg LC-plasmid og 100µg HC-plasmid sammen i 25ml med Freestyle media, etterfulgt av tilsetningen av 500ul PEI standardløsning [standardløsning: 1 mg/ml (pH 7.0) Lineær 25kDa PEI, Polysciences Cat# 23966]. Transfeksjonskomplekset ble blandet ved inversjon og latt inkubere ved romtemperatur i 10 minutter før det blir tilsatt til cellekulturen. Etter transfeksjonen fortsatte kulturene å bli dyrket i CO_2-inkubatoren (8% CO_2, 125 RPM, 37°C). Tjuefire timer etter transfeksjon, ble dyrkingen supplementert med 25ml av en 10% Tryptone N1 løsning (Organo Technie, La Courneuve France Cat# 19553). Ni dager etter transfeksjon ble celler fjernet fra dyrkingene ved sentrifugering (16,000 g, 10 minutter), og den tilbakeholdte supernatanten ble sterilt filtrert (Millipore HV Durapore Stericup, 0.45um) og plassert ved 4°C til initiering av rensetrinnet.

Hvert antistoff eller DVD-Ig ble individuelt renset ved å bruke en engangs 1ml pakket kolonne (pakket ved Orochem Teknologier) inneholdende MAb'erelect SuRe resin (GE Healthcare). Kolonner ble for-ekvilibrert i PBS og deretter satt med de høstede 0.55L prøver over natten (15 timer) ved 1 ml/minutt med gjennomstrøming som blir resirkulert tilbake inn i forsyning-beholderen. Etter pålastingstrinnet, ble kolonner vasket med 20ml PBS og protein ble eluert ved å tilføre elueringsbuffer [50mM Sitronsyre pH 3.5] ved 4 ml/min og å samle fraksjoner (1 ml) i rør allerede inneholdende 0.2ml med 1.5M Tris pH 8.2 (bringer den endelige pH til omtrent 6.0). Fraksjoner inneholdende antistoff ble samlet basert på kromatogrammene og dialysert inn i den endelige lagringsbuffer [10mM sitronsyre, 10mM Na_2HPO_4, pH 6.0]. Etter dialyse, ble prøver filtrert gjennom en 0.22um Steriflip (Millipore) og proteinkonsentrasjonen ble bestemt ved absorbans [Hewlett Packard 8453 diode array spectrofotometer]. SDS-PAGE analyse ble utført på analytiske prøver (både redusert og ikke-redusert) for å vurdere endelig renhet, verifisere nærværet av passende størrelse tung- og lett-kjede bånd, og bekrefte fraværet av betydelige mengder av fri (f.eks., ukompleksert) lettkjede (i de ikke-reduserte prøvene).

Tabell 20 inneholder utbyttedata for moderantistoffer eller DVD-Ig-konstruksjoner uttrykt som milligram per liter i 293 celler.

Tabell 20: Transient Uttrykking i Utbytter av Moderantistoffer og DVD-Ig-konstruksjoner i 293 Celler

Moderantistoff eller DVD-Ig ID	N-terminal Variabelt domene (VD)	C-terminal Variabelt domene (VD)	Uttrykkingsutbytte (mg/L)
AB017	TNF		123.2
AB018	RANKL		101.2
DVD053	TNF	RANKL	65.4
DVD054	RANKL	TNF	54.6
AB017	TNF		123.2
AB014	VEGF		52.4
DVD055	TNF	VEGF	6.4
DVD056	VEGF	TNF	0.2
AB017	TNF		123.2
AB020	NGF		28
DVD059	TNF	NGF	22.2
DVD060	NGF	TNF	2.2
AB017	TNF		123.2
AB022	SOST (SEQ1)		85.6
DVD063	TNF	SOST (SEQ1)	40.2
DVD064	SOST (SEQ1)	TNF	18.2
AB017	TNF		123.2
AB023	DKK		100.2
DVD065	TNF	DKK	99.8
DVD066	DKK	TNF	114
AB017	TNF		123.2
AB024	AlfaVBeta3		103.2
DVD067	TNF	AlfaVBeta3	37.8
DVD068	AlfaVBeta3	TNF	21.4
AB053	IgE		29
AB053	IgE		29
AB027	IL-4		91.4
DVD109	IgE	IL-4	28.2
DVD110	IL-4	IgE	87.4
AB053	IgE		29
AB027	IL-4		91.4
AB032	IL-1B		27
AB029	IL-17A		66.8
DVD121	IL-1B	IL-17A	2.2
DVD122	IL-17A	IL-1B	3.8
AB032	IL-1B		27
AB014	VEGF		52.4
DVD123	IL-1B	VEGF	2
DVD124	VEGF	IL-1B	0.8
AB032	IL-1B		27
AB018	RANKL		101.2
DVD125	IL-1B	RANKL	1.2

Moderantistoff eller DVD-Ig ID	**N-terminal Variabelt domene (VD)**	**C-terminal Variabelt domene (VD)**	**Uttrykkingsutbytte (mg/L)**
DVD126	RANKL	IL-1B	3.8
AB054	IL-6R		103.6
AB018	RANKL		101.2
DVD129	IL-6R	RANKL	14.6
DVD130	RANKL	IL-6R	36.8
AB054	IL-6R		103.6
AB014	VEGF		52.4
DVD145	IL-6R	VEGF	2.2
DVD146	VEGF	IL-6R	5.0
AB054	IL-6R		103.6
AB029	IL-17A		66.8
DVD147	IL-6R	IL-17A	24
DVD148	IL-17A	IL-6R	31.4
AB001	CD-20		90.2
AB018	RANKL		101.2
DVD165	CD-20	RANKL	31.6
DVD166	RANKL	CD-20	37.4
AB017	TNF		123.2
AB017	TNF		123.2
AB040	IL-6		25.8
DVD187	TNF	IL-6	36.2
AB051	IL-13		103.8
AB051	IL-13		103.8
AB027	IL-4		91.4
DVD267	IL-13	IL-4	23.6
DVD268	IL-4	IL-13	17.8
AB051	IL-13		103.8
AB053	IgE		29
DVD273	IL-13	IgE	56.2
DVD274	IgE	IL-13	7
AB051	IL-13 (SEQ2)		103.8
AB017	TNF		123.2
AB050	SOST (SEQ2)		77.8
DVD277	TNF	SOST (SEQ2)	65
DVD278	SOST (SEQ2)	TNF	58.8
AB017	TNF		123.2
AB054	IL-6R		103.6
DVD279	TNF	IL-6R	54.2
DVD280	IL-6R	TNF	30.0
AB056	IL-9(SEQ2)		37.6
AB053	IgE		29
DVD281	IL-9(SEQ2)	IgE	2.8
DVD282	IgE	IL-9(SEQ2)	67.2
AB056	IL-9(SEQ2)		37.6
AB056	IL-9(SEQ2)		37.6

Moderantistoff eller DVD-Ig ID	**N-terminal Variabelt domene (VD)**	**C-terminal Variabelt domene (VD)**	**Uttrykkingsutbytte (mg/L)**
AB051	IL-13 (SEQ2)		103.8
DVD285	IL-9(SEQ2)	IL-13 (SEQ2)	0.6
DVD286	IL-13 (SEQ2)	IL-9(SEQ2)	4
AB017	TNF		123.2
AB001	CD-20		90.2
DVD287	TNF	CD-20	26.8
DVD288	CD-20	TNF	4.2
DVD374	IL-1 beta (seq1)	IL-1alfa	0.36
DVD377	IL-1alfa	IL-1beta (seq1)	0.04
DVD378	IL-1 beta (seq1)	IL-1alfa	0.24
DVD379	IL-1alfa	IL-1beta (seq2)	0.04
DVD380	IL-1 beta (seq2)	IL-1alfa	0.02
DVD381	IL-1alfa	IL-1beta (seq1)	0.12
DVD382	IL-1 beta (seq1)	IL-1alfa	0.38
DVD383	IL-1alfa	IL-1beta (seq2)	0.22
AB017	TNF		123.2
AB029	IL-17A		66.8
DVD051	TNF	IL-17A	74.4
DVD052	IL-17A	TNF	11

Alle DVD'er uttrykt godt i 293 celler. DVD'er kunne lett bli renset over en protein A kolonne. I de fleste tilfeller >5 mg/L renset DVD-Ig kunne lett bli oppnådd fra supernatanter av 293 celler.

Eksempel 1.4.5: <u>Karakterisering og Kandidat-seleksjon av A/B DVD-Ig'er</u>

Bindingsaffinitetene til anti-A/B DVD-Ig'er er analysert på Biacore mot både protein A og protein B. De tetravalente egenskapene til DVD-Ig'et er undersøkt ved multippel-bindende studier på Biacore. Mens, nøytraliseringsstyrken til DVD-Ig'ene for protein A og protein B blir vurdert ved bioassayer, henholdsvis, som beskrevet heri. DVD-Ig-molekylene som best beholder affiniteten og styrken til de opprinnelige moder-mAb'ene er selektert for grundige fysikokjemiske og bio-analytisk (rotte PK) karakteriseringer som beskrevet heri for hver mAb. Basert på samlingen av analyser, det endelige kandidat-DVD-Ig'et er kjørt videre inn i CHO stabil cellelinje utvikling, og det CHO-avledete materialet blir anvendt i stabillitet, farmakokinetikk og effekt studier i cynomolgus-apekatter, og preformuleringsaktiviteter.

Eksempel 2: <u>Generering og Karakterisering av Immunoglobuliner med to variable domener (DVD-Ig)</u>

Immunoglobuliner med to variable domener (DVD-Ig) ble fremstilt ved å bruke moderantistoffer med kjente aminosyresekvenser ved å syntetisere polynukleotid fragmenter som koder for DVD-Ig variable tung og DVD-Ig variable lettkjede sekvenser og å klone fragmentene inn i en fybC-D2 vektor ifølge Eksempel 1.4.4.1. DVD-Ig-konstruksjonene ble klonet inn i og uttrykt i 293-celler som beskrevet i Eksempel 1,4.4.2. DVD-Ig-proteinet ble renset ifølge standardmetoder. Funksjons-karakteristikker ble bestemt ifølge metodene beskrevet i Eksempel 1.1.1 og 1.1.2 som indikert. DVD-Ig VH og VL kjeder for DVD-Ig'ene ifølge oppfinnelsen er tilveiebrakt nedenfor.

Eksempel 2.1: <u>Generering av TNF og IL-17A</u>

Tabell 21

SEQ ID NO	DVD Variabelt domene Navn	Ytre Variabelt domene Navn	Inner Variabelt domene Navn	Sekvens 12345678901234567890123456789012345
76	**DVD051H**	AB017VH	AB029VH	EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAM HWVRQAPGKGLEWVSAITWNSGHIDYADSVEGRF TISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKVSYL STASSLDYWGQGTLVTVSS**ASTKGP**EVQLVESGG GLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYWMNWVRQAPGK GLEWVAAINQDGSEKYYVGSVKGRFTISRDNAKN SLYLQMNSLRVEDTAVYYCVRDYYDILTDYYIHY WYFDLWGRGTLVTVSS
77	**DVD051L**	AB017VL	AB029VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGIRNYLA WYQQKPGKAPKLLIYAASTLQSGVPSRFSGSGSG TDFTLTISSLQPEDVATYYCQRYNRAPYTFGQGT KVEIKR**TVAAP**EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC RASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRAT GIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQ YGSSPCTFGQGTRLEIKR
78	**DVD052H**	AB029VH	AB017VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYWM NWVRQAPGKGLEWVAAINQDGSEKYYVGSVKGRF TISRDNAKNSLYLQMNSLRVEDTAVYYCVRDYYD ILTDYYIHYWYFDLWGRGTLVTVSS**ASTKGP**EVQ LVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWV RQAPGKGLEWVSAITWNSGHIDYADSVEGRFTIS RDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKVSYLSTA SSLDYWGQGTLVTVSS
79	**DVD052L**	AB029VL	AB017VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYL AWYQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGS GTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPCTFGQG TRLEIKR**TVAAP**DIQMTQSPSSLSASVGDRVTIT CRASQGIRNYLAWYQQKPGKAPKLLIYAASTLQS GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDVATYYCQR YNRAPYTFGQGTKVEIKR

Eksempel 2.2: <u>Generering av TNF og RANKL DVD-Ig'er</u>

Tabell 22

SEQ ID NO	DVD Variabelt domene Navn	Ytre Variabelt domene Navn	Inner Variabelt domene Navn	Sekvens 12345678901234567890123456789012345
80	**DVD053H**	AB017VH	AB018VH	EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMH WVRQAPGKGLEWVSAITWNSGHIDYADSVEGRFTI SRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKVSYLSTA SSLDYWGQGTLVTVSS**ASTKGP**EVQLLESGGGLVQ PGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWV SGITGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQM NSLRAEDTAVYYCAKDPGTTVIMSWFDPWGQGTLV TVSS
81	**DVD053L**	AB017VL	AB018VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGIRNYLAW YQQKPGKAPKLLIYAASTLQSGVPSRFSGSGSGTD FTLTISSLQPEDVATYYCQRYNRAPYTFGQGTKVE IKR**TVAAP**EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQ SVRGRYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDR FSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVFYCQQYGSSPR TFGQGTKVEIKR
82	**DVD054H**	AB018VH	AB017VH	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMS WVRQAPGKGLEWVSGITGSGGSTYYADSVKGRFTI SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKDPGTTVI MSWFDPWGQGTLVTVSS**ASTKGP**EVQLVESGGGLV QPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEW VSAITWNSGHIDYADSVEGRFTISRDNAKNSLYLQ MNSLRAEDTAVYYCAKVSYLSTASSLDYWGQGTLV TVSS
83	**DVD054L**	AB018VL	AB017VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVRGRYLA WYQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGT DFTLTISRLEPEDFAVFYCQQYGSSPRTFGQGTKV EIKR**TVAAP**DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRAS QGIRNYLAWYQQKPGKAPKLLIYAASTLQSGVPSR FSGSGSGTDFTLTISSLQPEDVATYYCQRYNRAPY TFGQGTKVEIKR

Eksempel 2.3: **Generering av TNF og VEGF DVD-Ig'er**

Tabell 23

SEQ ID NO	DVD Variabelt domene Navn	Ytre Variabelt domene Navn	Inner Variabelt domene Navn	Sekvens 12345678901234567890123456789012345
84	**DVD055H**	AB017VH	AB014VH	EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMH WVRQAPGKGLEWVSAITWNSGHIDYADSVEGRFTI SRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKVSYLSTA SSLDYWGQGTLVTVSS**ASTKGP**EVQLVESGGGLVQ PGGSLRLSCAASGYTFTNYGMNWVRQAPGKGLEWV GWINTYTGEPTYAADFKRRFTFSLDTSKSTAYLQM NSLRAEDTAVYYCAKYFYYGSSHWYFDVWGQGTLV TVSS
85	**DVD055L**	AB017VL	AB014VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGIRNYLAW YQQKPGKAPKLLIYAASTLQSGVPSRFSGSGSGTD FTLTISSLQPEDVATYYCQRYNRAPYTFGQGTKVE IKR**TVAAP**DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCSASQ DISNYLNWYQQKPGKAPKVLIYFTSSLHSGVPSRF SGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYSTVPWT FGQGTKVEIKR
86	**DVD056H**	AB014VH	AB017VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYTFTNYGMN WVRQAPGKGLEWVGWINTYTGEPTYAADFKRRFTF SLDTSKSTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAKYFYYGSS HWYFDVWGQGTLVTVSS**ASTKGP**EVQLVESGGGLV QPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEW VSAITWNSGHIDYADSVEGRFTISRDNAKNSLYLQ MNSLRAEDTAVYYCAKVSYLSTASSLDYWGQGTLV TVSS
87	**DVD056L**	AB014VL	AB017VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCSASQDISNYLNW YQQKPGKAPKVLIYFTSSLHSGVPSRFSGSGSGTD FTLTISSLQPEDFATYYCQQYSTVPWTFGQGTKVE IKR**TVAAP**DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQ GIRNYLAWYQQKPGKAPKLLIYAASTLQSGVPSRF SGSGSGTDFTLTISSLQPEDVATYYCQRYNRAPYT FGQGTKVEIKR

Eksempel 2.4: **Generering av TNF og SOST (sekv. 1) DVD-Ig'er**

Tabell 24

SEQ ID NO	DVD Variabelt domene Navn	Ytre Variabelt domene Navn	Inner Variabelt domene Navn	Sekvens 12345678901234567890123456789012345
88	**DVD063H**	AB017VH	AB022VH	EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMH WVRQAPGKGLEWVSAITWNSGHIDYADSVEGRFTI SRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKVSYLSTA SSLDYWGQGTLVTVSS**ASTKGP**EVQLQQSGPELVT PGASVKISCKASGYTFTDHYMSWVKQSHGKSLEWI GDINPYSGETTYNQKFKGTATLTVDKSSSIAYMEI RGLTSEDSAVYYCARDDYDASPFAYWGQGTLVTVS A
89	**DVD063L**	AB017VL	AB022VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGIRNYLAW YQQKPGKAPKLLIYAASTLQSGVPSRFSGSGSGTD FTLTISSLQPEDVATYYCQRYNRAPYTFGQGTKVE IKR**TVAAP**DVQMIQSPSSLSASLGDIVTMTCQASQ GTSINLNWFQQKPGKAPKLLIYGSSNLEDGVPSRF SGSRYGTDFTLTISSLEDEDLATYFCLQHSYLPYT FGGGTKLEIKR
90	**DVD064H**	AB022VH	AB017VH	EVQLQQSGPELVTPGASVKISCKASGYTFTDHYMS WVKQSHGKSLEWIGDINPYSGETTYNQKFKGTATL TVDKSSSIAYMEIRGLTSEDSAVYYCARDDYDASP FAYWGQGTLVTVSA**ASTKGP**EVQLVESGGGLVQPG RSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSA ITWNSGHIDYADSVEGRFTISRDNAKNSLYLQMNS LRAEDTAVYYCAKVSYLSTASSLDYWGQGTLVTVS S
91	**DVD064L**	AB022VL	AB017VL	DVQMIQSPSSLSASLGDIVTMTCQASQGTSINLNW FQQKPGKAPKLLIYGSSNLEDGVPSRFSGSRYGTD FTLTISSLEDEDLATYFCLQHSYLPYTFGGGTKLE IKR**TVAAP**DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQ GIRNYLAWYQQKPGKAPKLLIYAASTLQSGVPSRF SGSGSGTDFTLTISSLQPEDVATYYCQRYNRAPYT FGQGTKVEIKR

Eksempel 2.5: Generering av TNF og DKK DVD-Ig'er

Tabell 25

SEQ ID NO	DVD Variabelt domene Navn	Ytre Variabelt domene Navn	Inner Variabelt domene Navn	Sekvens 12345678901234567890123456789012345
92	**DVD065H**	AB017VH	AB023VH	EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMH WVRQAPGKGLEWVSAITWNSGHIDYADSVEGRFTI SRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKVSYLSTA SSLDYWGQGTLVTVSS**ASTKGP**EVQLVESGGGLVQ PANSLKLSCAASGFTFSDYAMAWVRQSPKKGLEWV ATIIYDGSSTYYRDSVKGRFTISRDNAKSTLYLQM DSLRSEDTATYYCATGLGIATDYFDYWGQGVLVTV SS
93	**DVD065L**	AB017VL	AB023VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGIRNYLAW YQQKPGKAPKLLIYAASTLQSGVPSRFSGSGSGTD FTLTISSLQPEDVATYYCQRYNRAPYTFGQGTKVE IKR**TVAAP**DIRMTQSPASLSASLGETVNIECLASE DIYSDLAWYQQKPGKSPQLLIYNANSLQNGVPSRF SGSGSGTQYSLKINSLQSEDVATYFCQQYNNYPPT FGGGTKLELKR
94	**DVD066H**	AB023VH	AB017VH	EVQLVESGGGLVQPANSLKLSCAASGFTFSDYAMA WVRQSPKKGLEWVATIIYDGSSTYYRDSVKGRFTI SRDNAKSTLYLQMDSLRSEDTATYYCATGLGIATD YFDYWGQGVLVTVSS**ASTKGP**EVQLVESGGGLVQP GRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWVS AITWNSGHIDYADSVEGRFTISRDNAKNSLYLQMN SLRAEDTAVYYCAKVSYLSTASSLDYWGQGTLVTV SS
95	**DVD066L**	AB023VL	AB017VL	DIRMTQSPASLSASLGETVNIECLASEDIYSDLAW YQQKPGKSPQLLIYNANSLQNGVPSRFSGSGSGTQ YSLKINSLQSEDVATYFCQQYNNYPPTFGGGTKLE LKR**TVAAP**DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQ GIRNYLAWYQQKPGKAPKLLIYAASTLQSGVPSRF SGSGSGTDFTLTISSLQPEDVATYYCQRYNRAPYT FGQGTKVEIKR

Eksempel 2.6: <u>Generering av TNF og alfaVbeta3 DVD-Ig'er</u>

Tabell 26

SEQ ID NO	DVD Variabelt domene Navn	Ytre Variabelt domene Navn	Inner Variabelt domene Navn	Sekvens 12345678901234567890123456789012345
96	**DVD067H**	AB017VH	AB024VH	EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMH WVRQAPGKGLEWVSAITWNSGHIDYADSVEGRFTI SRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKVSYLSTA SSLDYWGQGTLVTVSS**ASTKGP**QVQLVESGGGVVQ PGRSLRLSCAASGFTFSSYDMSWVRQAPGKGLEWV AKVSSGGGSTYYLDTVQGRFTISRDNSKNTLYLQM NSLRAEDTAVYYCARHNYGSFAYWGQGTTVTVSS
97	**DVD067L**	AB017VL	AB024VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGIRNYLAW YQQKPGKAPKLLIYAASTLQSGVPSRFSGSGSGTD FTLTISSLQPEDVATYYCQRYNRAPYTFGQGTKVE IKR**TVAAP**EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCQASQ SISNHLHWYQQRPGQAPRLLIKYRSQSISGIPARF SGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQSGSWFTF GGGTKVEIKR
98	**DVD068H**	AB024VH	AB017VH	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYDMS WVRQAPGKGLEWVAKVSSGGGSTYYLDTVQGRFTI SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARHNYGSFA YWGQGTTVTVSS**ASTKGP**EVQLVESGGGLVQPGRS LRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSAIT WNSGHIDYADSVEGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLR AEDTAVYYCAKVSYLSTASSLDYWGQGTLVTVSS
99	**DVD068L**	AB024VL	AB017VL	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCQASQSISNHLHW YQQRPGQAPRLLIKYRSQSISGIPARFSGSGSGTD FTLTISSLEPEDFAVYYCQQSGSWFTFGGGTKVEI KR**TVAAP**DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQG IRNYLAWYQQKPGKAPKLLIYAASTLQSGVPSRFS GSGSGTDFTLTISSLQPEDVATYYCQRYNRAPYTF GQGTKVEIKR

Eksempel 2.7: Generering av TNF og NGF DVD-Ig'er

Tabell 27

SEQ ID NO	DVD Variabelt domene Navn	Ytre Variabelt domene Navn	Inner Variabelt domene Navn	Sekvens 12345678901234567890123456789012345
100	**DVD059H**	AB017VH	AB020VH	EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMH WVRQAPGKGLEWVSAITWNSGHIDYADSVEGRFTI SRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKVSYLSTA SSLDYWGQGTLVTVSS**ASTKGP**QVQLQESGPGLVK PSETLSLTCTVSGFSLIGYDLNWIRQPPGKGLEWI GIIWGDGTTDYNSAVKSRVTISKDTSKNQFSLKLS SVTAADTAVYYCARGGYWYATSYYFDYWGQGTLVT VSS
101	**DVD059L**	AB017VL	AB020VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGIRNYLAW YQQKPGKAPKLLIYAASTLQSGVPSRFSGSGSGTD FTLTISSLQPEDVATYYCQRYNRAPYTFGQGTKVE IKR**TVAAP**DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQ SISNNLNWYQQKPGKAPKLLIYYTSRFHSGVPSRF SGSGSGTDFTFTISSLQPEDIATYYCQQEHTLPYT FGQGTKLEIKR
102	**DVD060H**	AB020VH	AB017VH	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGFSLIGYDLN WIRQPPGKGLEWIGIIWGDGTTDYNSAVKSRVTIS KDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARGGYWYATS YYFDYWGQGTLVTVSS**ASTKGP**EVQLVESGGGLVQ PGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWV SAITWNSGHIDYADSVEGRFTISRDNAKNSLYLQM NSLRAEDTAVYYCAKVSYLSTASSLDYWGQGTLVT VSS
103	**DVD060L**	AB020VL	AB017VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISNNLNW YQQKPGKAPKLLIYYTSRFHSGVPSRFSGSGSGTD FTFTISSLQPEDIATYYCQQEHTLPYTFGQGTKLE IKR**TVAAP**DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQ GIRNYLAWYQQKPGKAPKLLIYAASTLQSGVPSRF SGSGSGTDFTLTISSLQPEDVATYYCQRYNRAPYT FGQGTKVEIKR

Eksempel 2.8: **Generering av TNF og IL-23 p19 DVD-Ig'er**

Tabell 28

SEQ ID NO	DVD Variabelt domene Navn	Ytre Variabelt domene Navn	Inner Variabelt domene Navn	Sekvens 12345678901234567890123456789012345
104	**DVD184H**	AB017VH	AB038VH	EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMH WVRQAPGKGLEWVSAITWNSGHIDYADSVEGRFTI SRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKVSYLSTA SSLDYWGQGTLVTVSS**ASTKGP**DVNLVESGGGLVK PGGSLKLSCAASGFTFSSYTMSWVRQTPEKRLEWV ATISSGGTYTYYPDSVKGRFTISRDNAKNTLYLQM SSLKSEDTAMFYCTRDNHAYDRGPFFDYWGQGATL TVSS
105	**DVD184L**	AB017VL	AB038VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGIRNYLAW YQQKPGKAPKLLIYAASTLQSGVPSRFSGSGSGTD FTLTISSLQPEDVATYYCQRYNRAPYTFGQGTKVE IKR**TVAAP**DIVMSQSPSSLVVSVGEKVTMSCKSSQ NLFYRSNQKNHLAWYQQKPGQSPTLLIYWTSTRES GVPDRFTGSGSGTDFTLTISRVKAEDLAVYYCQQY YSYPPTFGGGTKLEIKR
106	**DVD183H**	AB038VH	AB017VH	DVNLVESGGGLVKPGGSLKLSCAASGFTFSSYTMS WVRQTPEKRLEWVATISSGGTYTYYPDSVKGRFTI SRDNAKNTLYLQMSSLKSEDTAMFYCTRDNHAYDR GPFFDYWGQGATLTVSS**ASTKGP**EVQLVESGGGLV QPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEW VSAITWNSGHIDYADSVEGRFTISRDNAKNSLYLQ MNSLRAEDTAVYYCAKVSYLSTASSLDYWGQGTLV TVSS
107	**DVD183L**	AB038VL	AB017VL	DIVMSQSPSSLVVSVGEKVTMSCKSSQNLFYRSNQ KNHLAWYQQKPGQSPTLLIYWTSTRESGVPDRFTG SGSGTDFTLTISRVKAEDLAVYYCQQYYSYPPTFG GGTKLEIKR**TVAAP**DIQMTQSPSSLSASVGDRVTI TCRASQGIRNYLAWYQQKPGKAPKLLIYAASTLQS GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDVATYYCQRY NRAPYTFGQGTKVEIKR

Eksempel 2.9: **Generering av TNF og IL-6 DVD-Ig'er**

Tabell 29

SEQ ID NO	DVD Variabelt domene Navn	Ytre Variabelt domene Navn	Inner Variabelt domene Navn	Sekvens 12345678901234567890123456789012345
108	**DVD187H**	AB017VH	AB040VH	EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMH WVRQAPGKGLEWVSAITWNSGHIDYADSVEGRFTI SRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKVSYLSTA SSLDYWGQGTLVTVSS**ASTKGP**QVTLKESGPGILQ PSQTLSLTCSFSGFSLSTNGMGVSWIRQPSGKGLE WLAHIYWDEDKRYNPSLKSRLTISKDTSNNQVFLK ITNVDTADTATYYCARRRIIYDVEDYFDYWGQGTT LTVSS
109	**DVD187L**	AB017VL	AB040VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGIRNYLAW YQQKPGKAPKLLIYAASTLQSGVPSRFSGSGSGTD FTLTISSLQPEDVATYYCQRYNRAPYTFGQGTKVE IKR**TVAAP**QIVLIQSPAIMSASPGEKVTMTCSASS SVSYMYWYQQKPGSSPRLLIYDTSNLASGVPVRFS GSGSGTSYSLTISRMEAEDAATYYCQQWSGYPYTF GGGTKLEIKR
110	**DVD188H**	AB040VH	AB017VH	QVTLKESGPGILQPSQTLSLTCSFSGFSLSTNGMG VSWIRQPSGKGLEWLAHIYWDEDKRYNPSLKSRLT ISKDTSNNQVFLKITNVDTADTATYYCARRRIIYD VEDYFDYWGQGTTLTVSS**ASTKGP**EVQLVESGGGL VQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLE WVSAITWNSGHIDYADSVEGRFTISRDNAKNSLYL QMNSLRAEDTAVYYCAKVSYLSTASSLDYWGQGTL VTVSS
111	**DVD188L**	AB040VL	AB017VL	QIVLIQSPAIMSASPGEKVTMTCSASSSVSYMYWY QQKPGSSPRLLIYDTSNLASGVPVRFSGSGSGTSY SLTISRMEAEDAATYYCQQWSGYPYTFGGGTKLEI KR**TVAAP**DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQG IRNYLAWYQQKPGKAPKLLIYAASTLQSGVPSRFS GSGSGTDFTLTISSLQPEDVATYYCQRYNRAPYTF GQGTKVEIKR

Eksempel 2.10: **Generering av TNF og SOST (sekv. 2) DVD-Ig'er**

Tabell 30

SEQ ID NO	DVD Variabelt domene Navn	Ytre Variabelt domene Navn	Inner Variabelt domene Navn	Sekvens 12345678901234567890123456789012345
112	**DVD277H**	AB017VH	AB050VH	EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMH WVRQAPGKGLEWVSAITWNSGHIDYADSVEGRFTI SRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKVSYLSTA SSLDYWGQGTLVTVSS**ASTKGP**EVQLQQSGPELMK PGASVKMSCKASGYTFTDYNMHWMKQNQGKSLEWI GEINPNSGGSGYNQKFKGKATLTVDKSSSTAYMEL RSLTSEDSAVYYCARLGYYGNYEDWYFDVWGAGTT VTVSS
113	**DVD277L**	AB017VL	AB050VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGIRNYLAW YQQKPGKAPKLLIYAASTLQSGVPSRFSGSGSGTD FTLTISSLQPEDVATYYCQRYNRAPYTFGQGTKVE IKR**TVAAP**DLQMTQTTSSLSASLGDRVTISCRASQ DISNYLNWYQQKPDGTVKLLIFYTSTLQSGVPSRF SGSGSGTNYSLTITNLEQDDAATYFCQQGDTLPYT FGGGTKLEIKR
114	**DVD278H**	AB050VH	AB017VH	EVQLQQSGPELMKPGASVKMSCKASGYTFTDYNMH WMKQNQGKSLEWIGEINPNSGGSGYNQKFKGKATL TVDKSSSTAYMELRSLTSEDSAVYYCARLGYYGNY EDWYFDVWGAGTTVTVSS**ASTKGP**EVQLVESGGGL VQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLE WVSAITWNSGHIDYADSVEGRFTISRDNAKNSLYL QMNSLRAEDTAVYYCAKVSYLSTASSLDYWGQGTL VTVSS
115	**DVD278L**	AB050VL	AB017VL	DLQMTQTTSSLSASLGDRVTISCRASQDISNYLNW YQQKPDGTVKLLIFYTSTLQSGVPSRFSGSGSGTN YSLTITNLEQDDAATYFCQQGDTLPYTFGGGTKLE IKR**TVAAP**DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQ GIRNYLAWYQQKPGKAPKLLIYAASTLQSGVPSRF SGSGSGTDFTLTISSLQPEDVATYYCQRYNRAPYT FGQGTKVEIKR

Eksempel 2.11: Generering av TNF og IL-6R DVD-Ig'er

Tabell 31

SEQ ID NO	DVD Variabelt domene Navn	Ytre Variabelt domene Navn	Inner Variabelt domene Navn	Sekvens 12345678901234567890123456789012345
116	**DVD279H**	AB017VH	AB054VH	EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMH WVRQAPGKGLEWVSAITWNSGHIDYADSVEGRFTI SRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKVSYLSTA SSLDYWGQGTLVTVSS**ASTKGP**EVQLQESGPGLVR PSQTLSLTCTVSGYSITSDHAWSWVRQPPGRGLEW IGYISYSGITTYNPSLKSRVTMLRDTSKNQFSLRL SSVTAADTAVYYCARSLARTTAMDYWGQGSLVTVS S
117	**DVD279L**	AB017VL	AB054VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGIRNYLAW YQQKPGKAPKLLIYAASTLQSGVPSRFSGSGSGTD FTLTISSLQPEDVATYYCQRYNRAPYTFGQGTKVE IKR**TVAAP**DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQ DISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYYTSRLHSGVPSRF SGSGSGTDFTFTISSLQPEDIATYYCQQGNTLPYT FGQGTKVEIKR
118	**DVD280H**	AB054VH	AB017VH	EVQLQESGPGLVRPSQTLSLTCTVSGYSITSDHAW SWVRQPPGRGLEWIGYISYSGITTYNPSLKSRVTM LRDTSKNQFSLRLSSVTAADTAVYYCARSLARTTA MDYWGQGSLVTVSS**ASTKGP**EVQLVESGGGLVQPG RSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSA ITWNSGHIDYADSVEGRFTISRDNAKNSLYLQMNS LRAEDTAVYYCAKVSYLSTASSLDYWGQGTLVTVS S
119	**DVD280L**	AB054VL	AB017VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISSYLNW YQQKPGKAPKLLIYYTSRLHSGVPSRFSGSGSGTD FTFTISSLQPEDIATYYCQQGNTLPYTFGQGTKVE IKR**TVAAP**DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQ GIRNYLAWYQQKPGKAPKLLIYAASTLQSGVPSRF SGSGSGTDFTLTISSLQPEDVATYYCQRYNRAPYT FGQGTKVEIKR

Eksempel 2.12: **Generering av TNF og CD-20 DVD-Ig'er**

Tabell 32

SEQ ID NO	DVD Variabelt domene Navn	Ytre Variabelt domene Navn	Inner Variabelt domene Navn	Sekvens 12345678901234567890123456789012345
120	**DVD287H**	AB017VH	AB001VH	EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMH WVRQAPGKGLEWVSAITWNSGHIDYADSVEGRFTI SRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKVSYLSTA SSLDYWGQGTLVTVSS**ASTKGP**QVQLQQPGAELVK PGASVKMSCKASGYTFTSYNMHWVKQTPGRGLEWI GAIYPGNGDTSYNQKFKGKATLTADKSSSTAYMQL SSLTSEDSAVYYCARSTYYGGDWYFNVWGAGTTVT VSA
121	**DVD287L**	AB017VL	AB001VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGIRNYLAW YQQKPGKAPKLLIYAASTLQSGVPSRFSGSGSGTD FTLTISSLQPEDVATYYCQRYNRAPYTFGQGTKVE IKR**TVAAP**QIVLSQSPAILSPSPGEKVTMTCRASS SVSYIHWFQQKPGSSPKPWIYATSNLASGVPVRFS GSGSGTSYSLTISRVEAEDAATYYCQQWTSNPPTF GGGTKLEIKR
122	**DVD288H**	AB001VH	AB017VH	QVQLQQPGAELVKPGASVKMSCKASGYTFTSYNMH WVKQTPGRGLEWIGAIYPGNGDTSYNQKFKGKATL TADKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYYCARSTYYGGD WYFNVWGAGTTVTVSA**ASTKGP**EVQLVESGGGLVQ PGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWV SAITWNSGHIDYADSVEGRFTISRDNAKNSLYLQM NSLRAEDTAVYYCAKVSYLSTASSLDYWGQGTLVT VSS
123	**DVD288L**	AB001VL	AB017VL	QIVLSQSPAILSPSPGEKVTMTCRASSSVSYIHWF QQKPGSSPKPWIYATSNLASGVPVRFSGSGSGTSY SLTISRVEAEDAATYYCQQWTSNPPTFGGGTKLEI KR**TVAAP**DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQG IRNYLAWYQQKPGKAPKLLIYAASTLQSGVPSRFS GSGSGTDFTLTISSLQPEDVATYYCQRYNRAPYTF GQGTKVEIKR

Eksempel 2.13: **Generering av IgE og IL-13 (sekv. 1) DVD-Ig'er**

Tabell 33

SEQ ID NO	DVD Variabelt domene Navn	Ytre Variabelt domene Navn	Inner Variabelt domene Navn	Sekvens 12345678901234567890123456789012345
124	**DVD071H**	AB053VH	AB026VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGYSITSGYSW NWIRQAPGKGLEWVASITYDGSTNYNPSVKGRITT RDDSKNTFYLQMNSLRAEDTAVYYCARGSHYFGHW HFAVWGQGTLVTVSS**ASTKGP**EVTLRESGPGLVKP TQTLTLTCTLYGFSLSTSDMGVDWIRQPPGKGLEW LAHIWWDDVKRYNPALKSRLTISKDTSKNQVVLKL TSVDPVDTATYYCARTVSSGYIYYAMDYWGQGTLV TVSS
125	**DVD071L**	AB053VL	AB026VL	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSVDYDGDS YMNWYQQKPGKAPKLLIYAASYLESGVPSRFSGSG SGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSHEDPYTFGQG TKVEIKR**TVAAP**DIQMTQSPSSLSASVGDRVTISC RASQDIRNYLNWYQQKPGKAPKLLIFYTSKLHSGV PSRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDIATYYCQQGNT LPLTFGGGTKVEIKR
126	**DVD072H**	AB026VH	AB053VH	EVTLRESGPGLVKPTQTLTLTCTLYGFSLSTSDMG VDWIRQPPGKGLEWLAHIWWDDVKRYNPALKSRLT ISKDTSKNQVVLKLTSVDPVDTATYYCARTVSSGY IYYAMDYWGQGTLVTVSS**ASTKGP**EVQLVESGGGL VQPGGSLRLSCAVSGYSITSGYSWNWIRQAPGKGL EWVASITYDGSTNYNPSVKGRITTRDDSKNTFYLQ MNSLRAEDTAVYYCARGSHYFGHWHFAVWGQGTLV TVSS
127	**DVD072L**	AB026VL	AB053VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTISCRASQDIRNYLNW YQQKPGKAPKLLIFYTSKLHSGVPSRFSGSGSGTD YTLTISSLQPEDIATYYCQQGNTLPLTFGGGTKVE IKR**TVAAP**DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQ SVDYDGDSYMNWYQQKPGKAPKLLIYAASYLESGV PSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSHE DPYTFGQGTKVEIKR

Eksempel 2.14: **Generering av IL-13 (sekv. 1) og IL-23 p19 DVD-Ig'er**

Tabell 34

SEQ ID NO	DVD Variabelt domene Navn	Ytre Variabelt domene Navn	Inner Variabelt domene Navn	Sekvens 12345678901234567890123456789012345
128	**DVD186H**	AB026VH	AB038VH	EVTLRESGPGLVKPTQTLTLTCTLYGFSLSTSDMG VDWIRQPPGKGLEWLAHIWWDDVKRYNPALKSRLT ISKDTSKNQVVLKLTSVDPVDTATYYCARTVSSGY IYYAMDYWGQGTLVTVSS**ASTKGP**DVNLVESGGGL VKPGGSLKLSCAASGFTFSSYTMSWVRQTPEKRLE WVATISSGGTYTYYPDSVKGRFTISRDNAKNTLYL QMSSLKSEDTAMFYCTRDNHAYDRGPFFDYWGQGA TLTVSS
129	**DVD186L**	AB026VL	AB038VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTISCRASQDIRNYLNW YQQKPGKAPKLLIFYTSKLHSGVPSRFSGSGSGTD YTLTISSLQPEDIATYYCQQGNTLPLTFGGGTKVE IKR**TVAAP**DIVMSQSPSSLVVSVGEKVTMSCKSSQ NLFYRSNQKNHLAWYQQKPGQSPTLLIYWTSTRES GVPDRFTGSGSGTDFTLTISRVKAEDLAVYYCQQY YSYPPTFGGGTKLEIKR
130	**DVD185H**	AB038VH	AB026VH	DVNLVESGGGLVKPGGSLKLSCAASGFTFSSYTMS WVRQTPEKRLEWVATISSGGTYTYYPDSVKGRFTI SRDNAKNTLYLQMSSLKSEDTAMFYCTRDNHAYDR GPFFDYWGQGATLTVSS**ASTKGP**EVTLRESGPGLV KPTQTLTLTCTLYGFSLSTSDMGVDWIRQPPGKGL EWLAHIWWDDVKRYNPALKSRLTISKDTSKNQVVL KLTSVDPVDTATYYCARTVSSGYIYYAMDYWGQGT LVTVSS
131	**DVD185L**	AB038VL	AB026VL	DIVMSQSPSSLVVSVGEKVTMSCKSSQNLFYRSNQ KNHLAWYQQKPGQSPTLLIYWTSTRESGVPDRFTG SGSGTDFTLTISRVKAEDLAVYYCQQYYSYPPTFG GGTKLEIKR**TVAAP**DIQMTQSPSSLSASVGDRVTI SCRASQDIRNYLNWYQQKPGKAPKLLIFYTSKLHS GVPSRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDIATYYCQQG NTLPLTFGGGTKVEIKR

Eksempel 2.15: **Generering av IgE og IL-4 DVD-Ig'er**

Tabell 35

SEQ ID NO	DVD Variabelt domene Navn	Ytre Variabelt domene Navn	Inner Variabelt domene Navn	Sekvens 12345678901234567890123456789012345
132	**DVD109H**	AB053VH	AB027VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGYSITSGYSW NWIRQAPGKGLEWVASITYDGSTNYNPSVKGRITT RDDSKNTFYLQMNSLRAEDTAVYYCARGSHYFGHW HFAVWGQGTLVTVSS**ASTKGP**QVTLRESGPALVKP TQTLTLTCTFSGFSLSTSGMGVSWIRQPPGKGLEW LAHIYWDDDKRYNPSLKSRLTISKDTSRNQVVLTM TNMDPVDTATYYCARRETVFYWYFDVWGRGTPVTV SS
133	**DVD109L**	AB053VL	AB027VL	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSVDYDGDS YMNWYQQKPGKAPKLLIYAASYLESGVPSRFSGSG SGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSHEDPYTFGQG TKVEIKR**TVAAP**DIVLTQSPSSLSASVGDRVTITC KASQSVDYDGDSYMNWYQQKPGKAPKLLIYAASNL ESGIPSRFSGSGSGTDFTFTISSLQPEDIATYYCQ QSNEDPPTFGQGTKVEIKR
134	**DVD110H**	AB027VH	AB053VH	QVTLRESGPALVKPTQTLTLTCTFSGFSLSTSGMG VSWIRQPPGKGLEWLAHIYWDDDKRYNPSLKSRLT ISKDTSRNQVVLTMTNMDPVDTATYYCARRETVFY WYFDVWGRGTPVTVSS**ASTKGP**EVQLVESGGGLVQ PGGSLRLSCAVSGYSITSGYSWNWIRQAPGKGLEW VASITYDGSTNYNPSVKGRITTRDDSKNTFYLQMN SLRAEDTAVYYCARGSHYFGHWHFAVWGQGTLVTV SS
135	**DVD110L**	AB027VL	AB053VL	DIVLTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQSVDYDGDS YMNWYQQKPGKAPKLLIYAASNLESGIPSRFSGSG SGTDFTFTISSLQPEDIATYYCQQSNEDPPTFGQG TKVEIKR**TVAAP**DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITC RASQSVDYDGDSYMNWYQQKPGKAPKLLIYAASYL ESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQ QSHEDPYTFGQGTKVEIKR

Eksempel 2.16: **Generering av IgE og IL-9 (sekv. 1) DVD-Ig'er**

Tabell 36

SEQ ID NO	DVD Variabelt domene Navn	Ytre Variabelt domene Navn	Inner Variabelt domene Navn	Sekvens 12345678901234567890123456789012345
136	**DVD111H**	AB053VH	AB028VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGYSITSGYSW NWIRQAPGKGLEWVASITYDGSTNYNPSVKGRITT RDDSKNTFYLQMNSLRAEDTAVYYCARGSHYFGHW HFAVWGQGTLVTVSS**ASTKGP**QVQLVQSGAEVKKP GASVKSCKASGYTFTGYWIEWVRQAPGQLEWMGEI LPGSTTNYNEKFKGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLR SEDTAVYYCARADYYGSDYVKFDYWGQGTLVTSS
137	**DVD111L**	AB053VL	AB028VL	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSVDYDGDS YMNWYQQKPGKAPKLLIYAASYLESGVPSRFSGSG SGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSHEDPYTFGQG TKVEIKR**TVAAP**DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC KASQHVGTHVTWYQQKPGKAPKLLIYSTSYRYSGV PSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQHFYS YPLTFGGGTKVEIKR
138	**DVD112H**	AB028VH	AB053VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKSCKASGYTFTGYWIEW VRQAPGQLEWMGEILPGSTTNYNEKFKGRVTMTRD TSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARADYYGSDYVK FDYWGQGTLVTSS**ASTKGP**EVQLVESGGGLVQPGG SLRLSCAVSGYSITSGYSWNWIRQAPGKGLEWVAS ITYDGSTNYNPSVKGRITTRDDSKNTFYLQMNSLR AEDTAVYYCARGSHYFGHWHFAVWGQGTLVTVSS
139	**VD112L**	AB028VL	AB053VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQHVGTHVTW YQQKPGKAPKLLIYSTSYRYSGVPSRFSGSGSGTD FTLTISSLQPEDFATYYCQHFYSYPLTFGGGTKVE IKR**TVAAP**DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQ SVDYDGDSYMNWYQQKPGKAPKLLIYAASYLESGV PSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSHE DPYTFGQGTKVEIKR

Eksempel 2.17: Generering av IgE og IL-9 (sekv. 2) DVD-Ig'er

Tabell 37

SEQ ID NO	DVD Variabelt domene Navn	Ytre Variabelt domene Navn	Inner Variabelt domene Navn	Sekvens 12345678901234567890123456789012345
140	**DVD282H**	AB053VH	AB056VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGYSITSGYSW NWIRQAPGKGLEWVASITYDGSTNYNPSVKGRITT RDDSKNTFYLQMNSLRAEDTAVYYCARGSHYFGHW HFAVWGQGTLVTVSS**ASTKGP**QVQLQQSGAELMKP GASVKLSCKATGYTFTGSWIEWIKQRPGHGLEWIG QILPGSGSAYYNEKFKGKATFTADTSSKTVYIQLI SLTTEDSAIYYCAREDNYGSSSLAYWGQGTLLTVS A
141	**DVD282L**	AB053VL	AB056VL	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSVDYDGDS YMNWYQQKPGKAPKLLIYAASYLESGVPSRFSGSG SGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSHEDPYTFGQG TKVEIKR**TVAAP**DILLTQSPAILSVSPGERVSFSC RASQSIGTNIHWYQQRTNGSPRLLIKYASESISGI PSRFSGGGSGTDFTLSINSVESEDIADYYCQQSNN WPLTFGAGTKLELKR
142	**DVD281H**	AB056VH	AB053VH	QVQLQQSGAELMKPGASVKLSCKATGYTFTGSWIE WIKQRPGHGLEWIGQILPGSGSAYYNEKFKGKATF TADTSSKTVYIQLISLTTEDSAIYYCAREDNYGSS SLAYWGQGTLLTVSA**ASTKGP**EVQLVESGGGLVQP GGSLRLSCAVSGYSITSGYSWNWIRQAPGKGLEWV ASITYDGSTNYNPSVKGRITTRDDSKNTFYLQMNS LRAEDTAVYYCARGSHYFGHWHFAVWGQGTLVTVS S
143	**DVD281L**	AB056VL	AB053VL	DILLTQSPAILSVSPGERVSFSCRASQSIGTNIHW YQQRTNGSPRLLIKYASESISGIPSRFSGGGSGTD FTLSINSVESEDIADYYCQQSNNWPLTFGAGTKLE LKR**TVAAP**DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQ SVDYDGDSYMNWYQQKPGKAPKLLIYAASYLESGV PSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSHE DPYTFGQGTKVEIKR

Eksempel 2.18: **Generering av IgE og IL-13 (sekv. 2) DVD-Ig'er**

Tabell 38

SEQ ID NO	DVD Variabelt domene Navn	Ytre Variabelt domene Navn	Inner Variabelt domene Navn	Sekvens 12345678901234567890123456789012345
144	**DVD274H**	AB053VH	AB051VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGYSITSGYSW NWIRQAPGKGLEWVASITYDGSTNYNPSVKGRITT RDDSKNTFYLQMNSLRAEDTAVYYCARGSHYFGHW HFAVWGQGTLVTVSS**ASTKGP**EVTLRESGPGLVKP TQTLTLTCTLYGFSLSTSDMGVDWIRQPPGKGLEW LAHIWWDDVKRYNPALKSRLTISKDTSKNQVVLKL TSVDPVDTATYYCARTVSSGYIYYAMDYWGQGTLV TVSS
145	**DVD274L**	AB053VL	AB051VL	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSVDYDGDS YMNWYQQKPGKAPKLLIYAASYLESGVPSRFSGSG SGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSHEDPYTFGQG TKVEIKR**TVAAP**DIQMTQSPSSLSASVGDRVTISC RASQDIRNYLNWYQQKPGKAPKLLIFYTSKLHSGV PSRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDIATYYCQQGLT PPLTFGGGTKVEIKR
146	**DVD273H**	AB051VH	AB053VH	EVTLRESGPGLVKPTQTLTLTCTLYGFSLSTSDMG VDWIRQPPGKGLEWLAHIWWDDVKRYNPALKSRLT ISKDTSKNQVVLKLTSVDPVDTATYYCARTVSSGY IYYAMDYWGQGTLVTVSS**ASTKGP**EVQLVESGGGL VQPGGSLRLSCAVSGYSITSGYSWNWIRQAPGKGL EWVASITYDGSTNYNPSVKGRITTRDDSKNTFYLQ MNSLRAEDTAVYYCARGSHYFGHWHFAVWGQGTLV TVSS
147	**DVD273L**	AB051VL	AB053VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTISCRASQDIRNYLNW YQQKPGKAPKLLIFYTSKLHSGVPSRFSGSGSGTD YTLTISSLQPEDIATYYCQQGLTPPLTFGGGTKVE IKR**TVAAP**DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQ SVDYDGDSYMNWYQQKPGKAPKLLIYAASYLESGV PSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSHE DPYTFGQGTKVEIKR

Eksempel 2.19: **Generering av IL-13 (sekv. 1) og IL-9 (sekv. 1) DVD-Ig'er**

Tabell 39

SEQ ID NO	DVD Variabelt domene Navn	Ytre Variabelt domene Navn	Inner Variabelt domene Navn	Sekvens 12345678901234567890123456789012345
148	**DVD115H**	AB026VH	AB028VH	EVTLRESGPGLVKPTQTLTLTCTLYGFSLSTSDMG VDWIRQPPGKGLEWLAHIWWDDVKRYNPALKSRLT ISKDTSKNQVVLKLTSVDPVDTATYYCARTVSSGY IYYAMDYWGQGTLVTVSS**ASTKGP**QVQLVQSGAEV KKPGASVKSCKASGYTFTGYWIEWVRQAPGQLEWM GEILPGSTTNYNEKFKGRVTMTRDTSTSTVYMELS SLRSEDTAVYYCARADYYGSDYVKFDYWGQGTLVT SS
149	**DVD115L**	AB026VL	AB028VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTISCRASQDIRNYLNW YQQKPGKAPKLLIFYTSKLHSGVPSRFSGSGSGTD YTLTISSLQPEDIATYYCQQGNTLPLTFGGGTKVE IKR**TVAAP**DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQ HVGTHVTWYQQKPGKAPKLLIYSTSYRYSGVPSRF SGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQHFYSYPLT FGGGTKVEIKR
150	**DVD116H**	AB028VH	AB026VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKSCKASGYTFTGYWIEW VRQAPGQLEWMGEILPGSTTNYNEKFKGRVTMTRD TSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARADYYGSDYVK FDYWGQGTLVTSS**ASTKGP**EVTLRESGPGLVKPTQ TLTLTCTLYGFSLSTSDMGVDWIRQPPGKGLEWLA HIWWDDVKRYNPALKSRLTISKDTSKNQVVLKLTS VDPVDTATYYCARTVSSGYIYYAMDYWGQGTLVTV SS
151	**DVD116L**	AB028VL	AB026VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQHVGTHVTW YQQKPGKAPKLLIYSTSYRYSGVPSRFSGSGSGTD FTLTISSLQPEDFATYYCQHFYSYPLTFGGGTKVE IKR**TVAAP**DIQMTQSPSSLSASVGDRVTISCRASQ DIRNYLNWYQQKPGKAPKLLIFYTSKLHSGVPSRF SGSGSGTDYTLTISSLQPEDIATYYCQQGNTLPLT FGGGTKVEIKR

Eksempel 2.20: **Generering av IL-13 (sekv. 1) og IL-4 DVD-Ig'er**

Tabell 40

SEQ ID NO	DVD Variabelt domene Navn	Ytre Variabelt domene Navn	Inner Variabelt domene Navn	Sekvens 12345678901234567890123456789012345
152	**DVD117H**	AB026VH	AB027VH	EVTLRESGPGLVKPTQTLTLTCTLYGFSLSTSDMG VDWIRQPPGKGLEWLAHIWWDDVKRYNPALKSRLT ISKDTSKNQVVLKLTSVDPVDTATYYCARTVSSGY IYYAMDYWGQGTLVTVSS**ASTKGP**QVTLRESGPAL VKPTQTLTLTCTFSGFSLSTSGMGVSWIRQPPGKG LEWLAHIYWDDDKRYNPSLKSRLTISKDTSRNQVV LTMTNMDPVDTATYYCARRETVFYWYFDVWGRGTP VTVSS
153	**DVD117L**	AB026VL	AB027VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTISCRASQDIRNYLNW YQQKPGKAPKLLIFYTSKLHSGVPSRFSGSGSGTD YTLTISSLQPEDIATYYCQQGNTLPLTFGGGTKVE IKR**TVAAP**DIVLTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQ SVDYDGDSYMNWYQQKPGKAPKLLIYAASNLESGI PSRFSGSGSGTDFTFTISSLQPEDIATYYCQQSNE DPPTFGQGTKVEIKR
154	**DVD118H**	AB027VH	AB026VH	QVTLRESGPALVKPTQTLTLTCTFSGFSLSTSGMG VSWIRQPPGKGLEWLAHIYWDDDKRYNPSLKSRLT ISKDTSRNQVVLTMTNMDPVDTATYYCARRETVFY WYFDVWGRGTPVTVSS**ASTKGP**EVTLRESGPGLVK PTQTLTLTCTLYGFSLSTSDMGVDWIRQPPGKGLE WLAHIWWDDVKRYNPALKSRLTISKDTSKNQVVLK LTSVDPVDTATYYCARTVSSGYIYYAMDYWGQGTL VTVSS
155	**DVD118L**	AB027VL	AB026VL	DIVLTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQSVDYDGDS YMNWYQQKPGKAPKLLIYAASNLESGIPSRFSGSG SGTDFTFTISSLQPEDIATYYCQQSNEDPPTFGQG TKVEIKR**TVAAP**DIQMTQSPSSLSASVGDRVTISC RASQDIRNYLNWYQQKPGKAPKLLIFYTSKLHSGV PSRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDIATYYCQQGNT LPLTFGGGTKVEIKR

Eksempel 2.21: **Generering av IL-13 (sekv. 1) og IL-9 (sekv. 2) DVD-Ig'er**

Tabell 41

SEQ ID NO	DVD Variabelt domene Navn	Ytre Variabelt domene Navn	Inner Variabelt domene Navn	Sekvens 12345678901234567890123456789012345
156	**DVD284H**	AB026VH	AB056VH	EVTLRESGPGLVKPTQTLTLTCTLYGFSLSTSDMG VDWIRQPPGKGLEWLAHIWWDDVKRYNPALKSRLT ISKDTSKNQVVLKLTSVDPVDTATYYCARTVSSGY IYYAMDYWGQGTLVTVSS**ASTKGP**QVQLQQSGAEL MKPGASVKLSCKATGYTFTGSWIEWIKQRPGHGLE WIGQILPGSGSAYYNEKFKGKATFTADTSSKTVYI QLISLTTEDSAIYYCAREDNYGSSSLAYWGQGTLL TVSA
157	**DVD284L**	AB026VL	AB056VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTISCRASQDIRNYLNW YQQKPGKAPKLLIFYTSKLHSGVPSRFSGSGSGTD YTLTISSLQPEDIATYYCQQGNTLPLTFGGGTKVE IKR**TVAAP**DILLTQSPAILSVSPGERVSFSCRASQ SIGTNIHWYQQRTNGSPRLLIKYASESISGIPSRF SGGGSGTDFTLSINSVESEDIADYYCQQSNNWPLT FGAGTKLELKR
158	**DVD283H**	AB056VH	AB026VH	QVQLQQSGAELMKPGASVKLSCKATGYTFTGSWIE WIKQRPGHGLEWIGQILPGSGSAYYNEKFKGKATF TADTSSKTVYIQLISLTTEDSAIYYCAREDNYGSS SLAYWGQGTLLTVSA**ASTKGP**EVTLRESGPGLVKP TQTLTLTCTLYGFSLSTSDMGVDWIRQPPGKGLEW LAHIWWDDVKRYNPALKSRLTISKDTSKNQVVLKL TSVDPVDTATYYCARTVSSGYIYYAMDYWGQGTLV TVSS
159	**DVD283L**	AB056VL	AB026VL	DILLTQSPAILSVSPGERVSFSCRASQSIGTNIHW YQQRTNGSPRLLIKYASESISGIPSRFSGGGSGTD FTLSINSVESEDIADYYCQQSNNWPLTFGAGTKLE LKR**TVAAP**DIQMTQSPSSLSASVGDRVTISCRASQ DIRNYLNWYQQKPGKAPKLLIFYTSKLHSGVPSRF SGSGSGTDYTLTISSLQPEDIATYYCQQGNTLPLT FGGGTKVEIKR

Eksempel 2.22: **Generering av IL-13 (sekv. 2) og IL-9 (sekv. 1) DVD-Ig'er**

Tabell 42

SEQ ID NO	DVD Variabelt domene Navn	Ytre Variabelt domene Navn	Inner Variabelt domene Navn	Sekvens 12345678901234567890123456789012345
160	**DVD265H**	AB051VH	AB028VH	EVTLRESGPGLVKPTQTLTLTCTLYGFSLSTSDMG VDWIRQPPGKGLEWLAHIWWDDVKRYNPALKSRLT ISKDTSKNQVVLKLTSVDPVDTATYYCARTVSSGY IYYAMDYWGQGTLVTVSS**ASTKGP**QVQLVQSGAEV KKPGASVKSCKASGYTFTGYWIEWVRQAPGQLEWM GEILPGSTTNYNEKFKGRVTMTRDTSTSTVYMELS SLRSEDTAVYYCARADYYGSDYVKFDYWGQGTLVT SS
161	**DVD265L**	AB051VL	AB028VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTISCRASQDIRNYLNW YQQKPGKAPKLLIFYTSKLHSGVPSRFSGSGSGTD YTLTISSLQPEDIATYYCQQGLTPPLTFGGGTKVE IKR**TVAAP**DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQ HVGTHVTWYQQKPGKAPKLLIYSTSYRYSGVPSRF SGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQHFYSYPLT FGGGTKVEIKR
162	**DVD266H**	AB028VH	AB051VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKSCKASGYTFTGYWIEW VRQAPGQLEWMGEILPGSTTNYNEKFKGRVTMTRD TSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARADYYGSDYVK FDYWGQGTLVTSS**ASTKGP**EVTLRESGPGLVKPTQ TLTLTCTLYGFSLSTSDMGVDWIRQPPGKGLEWLA HIWWDDVKRYNPALKSRLTISKDTSKNQVVLKLTS VDPVDTATYYCARTVSSGYIYYAMDYWGQGTLVTV SS
163	**DVD266L**	AB028VL	AB051VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQHVGTHVTW YQQKPGKAPKLLIYSTSYRYSGVPSRFSGSGSGTD FTLTISSLQPEDFATYYCQHFYSYPLTFGGGTKVE IKR**TVAAP**DIQMTQSPSSLSASVGDRVTISCRASQ DIRNYLNWYQQKPGKAPKLLIFYTSKLHSGVPSRF SGSGSGTDYTLTISSLQPEDIATYYCQQGLTPPLT FGGGTKVEIKR

Eksempel 2.23: **Generering av IL-13 (sekv. 2) og IL-4 DVD-Ig'er**

Tabell 43

SEQ ID NO	DVD Variabelt domene Navn	Ytre Variabelt domene Navn	Inner Variabelt domene Navn	Sekvens 12345678901234567890123456789012345
164	**DVD267H**	AB051VH	AB027VH	EVTLRESGPGLVKPTQTLTLTCTLYGFSLSTSDMG VDWIRQPPGKGLEWLAHIWWDDVKRYNPALKSRLT ISKDTSKNQVVLKLTSVDPVDTATYYCARTVSSGY IYYAMDYWGQGTLVTVSS**ASTKGP**QVTLRESGPAL VKPTQTLTLTCTFSGFSLSTSGMGVSWIRQPPGKG LEWLAHIYWDDDKRYNPSLKSRLTISKDTSRNQVV LTMTNMDPVDTATYYCARRETVFYWYFDVWGRGTP VTVSS
165	**DVD267L**	AB051VL	AB027VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTISCRASQDIRNYLNW YQQKPGKAPKLLIFYTSKLHSGVPSRFSGSGSGTD YTLTISSLQPEDIATYYCQQGLTPPLTFGGGTKVE IKR**TVAAP**DIVLTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQ SVDYDGDSYMNWYQQKPGKAPKLLIYAASNLESGI PSRFSGSGSGTDFTFTISSLQPEDIATYYCQQSNE DPPTFGQGTKVEIKR
166	**DVD268H**	AB027VH	AB051VH	QVTLRESGPALVKPTQTLTLTCTFSGFSLSTSGMG VSWIRQPPGKGLEWLAHIYWDDDKRYNPSLKSRLT ISKDTSRNQVVLTMTNMDPVDTATYYCARRETVFY WYFDVWGRGTPVTVSS**ASTKGP**EVTLRESGPGLVK PTQTLTLTCTLYGFSLSTSDMGVDWIRQPPGKGLE WLAHIWWDDVKRYNPALKSRLTISKDTSKNQVVLK LTSVDPVDTATYYCARTVSSGYIYYAMDYWGQGTL VTVSS
167	**DVD268L**	AB027VL	AB051VL	DIVLTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQSVDYDGDS YMNWYQQKPGKAPKLLIYAASNLESGIPSRFSGSG SGTDFTFTISSLQPEDIATYYCQQSNEDPPTFGQG TKVEIKR**TVAAP**DIQMTQSPSSLSASVGDRVTISC RASQDIRNYLNWYQQKPGKAPKLLIFYTSKLHSGV PSRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDIATYYCQQGLT PPLTFGGGTKVEIKR

Eksempel 2.24: **Generering av IL-13 (sekv. 2) og IL-23 p19 DVD-Ig'er**

Tabell 44

SEQ ID NO	DVD Variabelt domene Navn	Ytre Variabelt domene Navn	Inner Variabelt domene Navn	Sekvens 12345678901234567890123456789012345
168	DVD275H	AB051VH	AB038VH	EVTLRESGPGLVKPTQTLTLTCTLYGFSLSTSDMG VDWIRQPPGKGLEWLAHIWWDDVKRYNPALKSRLT ISKDTSKNQVVLKLTSVDPVDTATYYCARTVSSGY IYYAMDYWGQGTLVTVSS**ASTKGP**DVNLVESGGGL VKPGGSLKLSCAASGFTFSSYTMSWVRQTPEKRLE WVATISSGGTYTYYPDSVKGRFTISRDNAKNTLYL QMSSLKSEDTAMFYCTRDNHAYDRGPFFDYWGQGA TLTVSS
169	DVD275L	AB051VL	AB038VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTISCRASQDIRNYLNW YQQKPGKAPKLLIFYTSKLHSGVPSRFSGSGSGTD YTLTISSLQPEDIATYYCQQGLTPPLTFGGGTKVE IKR**TVAAP**DIVMSQSPSSLVVSVGEKVTMSCKSSQ NLFYRSNQKNHLAWYQQKPGQSPTLLIYWTSTRES GVPDRFTGSGSGTDFTLTISRVKAEDLAVYYCQQY YSYPPTFGGGTKLEIKR
170	DVD276H	AB038VH	AB051VH	DVNLVESGGGLVKPGGSLKLSCAASGFTFSSYTMS WVRQTPEKRLEWVATISSGGTYTYYPDSVKGRFTI SRDNAKNTLYLQMSSLKSEDTAMFYCTRDNHAYDR GPFFDYWGQGATLTVSS**ASTKGP**EVTLRESGPGLV KPTQTLTLTCTLYGFSLSTSDMGVDWIRQPPGKGL EWLAHIWWDDVKRYNPALKSRLTISKDTSKNQVVL KLTSVDPVDTATYYCARTVSSGYIYYAMDYWGQGT LVTVSS
171	DVD276L	AB038VL	AB051VL	DIVMSQSPSSLVVSVGEKVTMSCKSSQNLFYRSNQ KNHLAWYQQKPGQSPTLLIYWTSTRESGVPDRFTG SGSGTDFTLTISRVKAEDLAVYYCQQYYSYPPTFG GGTKLEIKR**TVAAP**DIQMTQSPSSLSASVGDRVTI SCRASQDIRNYLNWYQQKPGKAPKLLIFYTSKLHS GVPSRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDIATYYCQQG LTPPLTFGGGTKVEIKR

Eksempel 2.25: **Generering av IL-13 (sekv. 2) og IL-9 (sekv. 2) DVD-Ig'er**

Tabell 45

SEQ ID NO	DVD Variabelt domene Navn	Ytre Variabelt domene Navn	Inner Variabelt domene Navn	Sekvens 12345678901234567890123456789012345
172	**DVD286H**	AB051VH	AB056VH	EVTLRESGPGLVKPTQTLTLTCTLYGFSLSTSDMG VDWIRQPPGKGLEWLAHIWWDDVKRYNPALKSRLT ISKDTSKNQVVLKLTSVDPVDTATYYCARTVSSGY IYYAMDYWGQGTLVTVSS**ASTKGP**QVQLQQSGAEL MKPGASVKLSCKATGYTFTGSWIEWIKQRPGHGLE WIGQILPGSGSAYYNEKFKGKATFTADTSSKTVYI QLISLTTEDSAIYYCAREDNYGSSSLAYWGQGTLL TVSA
173	**DVD286L**	AB051VL	AB056VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTISCRASQDIRNYLNW YQQKPGKAPKLLIFYTSKLHSGVPSRFSGSGSGTD YTLTISSLQPEDIATYYCQQGLTPPLTFGGGTKVE IKR**TVAAP**DILLTQSPAILSVSPGERVSFSCRASQ SIGTNIHWYQQRTNGSPRLLIKYASESISGIPSRF SGGGSGTDFTLSINSVESEDIADYYCQQSNNWPLT FGAGTKLELKR
174	**DVD285H**	AB056VH	AB051VH	QVQLQQSGAELMKPGASVKLSCKATGYTFTGSWIE WIKQRPGHGLEWIGQILPGSGSAYYNEKFKGKATF TADTSSKTVYIQLISLTTEDSAIYYCAREDNYGSS SLAYWGQGTLLTVSA**ASTKGP**EVTLRESGPGLVKP TQTLTLTCTLYGFSLSTSDMGVDWIRQPPGKGLEW LAHIWWDDVKRYNPALKSRLTISKDTSKNQVVLKL TSVDPVDTATYYCARTVSSGYIYYAMDYWGQGTLV TVSS
175	**DVD285L**	AB056VL	AB051VL	DILLTQSPAILSVSPGERVSFSCRASQSIGTNIHW YQQRTNGSPRLLIKYASESISGIPSRFSGGGSGTD FTLSINSVESEDIADYYCQQSNNWPLTFGAGTKLE LKR**TVAAP**DIQMTQSPSSLSASVGDRVTISCRASQ DIRNYLNWYQQKPGKAPKLLIFYTSKLHSGVPSRF SGSGSGTDYTLTISSLQPEDIATYYCQQGLTPPLT FGGGTKVEIKR

Eksempel 2.26: Generering av IL-6R og VEGF DVD-Ig'er

Tabell 46

SEQ ID NO	DVD Variabelt domene Navn	Ytre Variabelt domene Navn	Inner Variabelt domene Navn	Sekvens 12345678901234567890123456789012345
176	**DVD145H**	AB054VH	AB014VH	EVQLQESGPGLVRPSQTLSLTCTVSGYSITSDHAW SWVRQPPGRGLEWIGYISYSGITTYNPSLKSRVTM LRDTSKNQFSLRLSSVTAADTAVYYCARSLARTTA MDYWGQGSLVTVSS**ASTKGP**EVQLVESGGGLVQPG GSLRLSCAASGYTFTNYGMNWVRQAPGKGLEWVGW INTYTGEPTYAADFKRRFTFSLDTSKSTAYLQMNS LRAEDTAVYYCAKYFYYGSSHWYFDVWGQGTLVTV SS
177	**DVD145L**	AB054VL	AB014VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISSYLNW YQQKPGKAPKLLIYYTSRLHSGVPSRFSGSGSGTD FTFTISSLQPEDIATYYCQQGNTLPYTFGQGTKVE IKR**TVAAP**DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCSASQ DISNYLNWYQQKPGKAPKVLIYFTSSLHSGVPSRF SGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYSTVPWT FGQGTKVEIKR
178	**DVD146H**	AB014VH	AB054VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYTFTNYGMN WVRQAPGKGLEWVGWINTYTGEPTYAADFKRRFTF SLDTSKSTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAKYFYYGSS HWYFDVWGQGTLVTVSS**ASTKGP**EVQLQESGPGLV RPSQTLSLTCTVSGYSITSDHAWSWVRQPPGRGLE WIGYISYSGITTYNPSLKSRVTMLRDTSKNQFSLR LSSVTAADTAVYYCARSLARTTAMDYWGQGSLVTV SS
179	**DVD146L**	AB014VL	AB054VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCSASQDISNYLNW YQQKPGKAPKVLIYFTSSLHSGVPSRFSGSGSGTD FTLTISSLQPEDFATYYCQQYSTVPWTFGQGTKVE IKR**TVAAP**DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQ DISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYYTSRLHSGVPSRF SGSGSGTDFTFTISSLQPEDIATYYCQQGNTLPYT FGQGTKVEIKR

Eksempel 2.27: <u>Generering av IL-6R og IL-17En DVD-Ig'er</u>

Tabell 47

SEQ ID NO	DVD Variabelt domene Navn	Ytre Variabelt domene Navn	Inner Variabelt domene Navn	Sekvens 12345678901234567890123456789012345
180	**DVD147H**	AB054VH	AB029VH	EVQLQESGPGLVRPSQTLSLTCTVSGYSITSDHAW SWVRQPPGRGLEWIGYISYSGITTYNPSLKSRVTM LRDTSKNQFSLRLSSVTAADTAVYYCARSLARTTA MDYWGQGSLVTVSS**ASTKGP**EVQLVESGGGLVQPG GSLRLSCAASGFTFSNYWMNWVRQAPGKGLEWVAA INQDGSEKYYVGSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNS LRVEDTAVYYCVRDYYDILTDYYIHYWYFDLWGRG TLVTVSS
181	**DVD147L**	AB054VL	AB029VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISSYLNW YQQKPGKAPKLLIYYTSRLHSGVPSRFSGSGSGTD FTFTISSLQPEDIATYYCQQGNTLPYTFGQGTKVE IKR**TVAAP**EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQ SVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDR FSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPC TFGQGTRLEIKR
182	**DVD148H**	AB029VH	AB054VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYWMN WVRQAPGKGLEWVAAINQDGSEKYYVGSVKGRFTI SRDNAKNSLYLQMNSLRVEDTAVYYCVRDYYDILT DYYIHYWYFDLWGRGTLVTVSS**ASTKGP**EVQLQES GPGLVRPSQTLSLTCTVSGYSITSDHAWSWVRQPP GRGLEWIGYISYSGITTYNPSLKSRVTMLRDTSKN QFSLRLSSVTAADTAVYYCARSLARTTAMDYWGQG SLVTVSS
183	**DVD148L**	AB029VL	AB054VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLA WYQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGT DFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPCTFGQGTRL EIKR**TVAAP**DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRAS QDISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYYTSRLHSGVPSR FSGSGSGTDFTFTISSLQPEDIATYYCQQGNTLPY TFGQGTKVEIKR

Eksempel 2.28: **Generering av IL-6R og RANKL DVD-Ig'er**

Tabell 48

SEQ ID NO	DVD Variabelt domene Navn	Ytre Variabelt domene Navn	Inner Variabelt domene Navn	Sekvens 12345678901234567890123456789012345
184	DVD129H	AB054VH	AB018VH	EVQLQESGPGLVRPSQTLSLTCTVSGYSITSDHAW SWVRQPPGRGLEWIGYISYSGITTYNPSLKSRVTM LRDTSKNQFSLRLSSVTAADTAVYYCARSLARTTA MDYWGQGSLVTVSS**ASTKGP**EVQLLESGGGLVQPG GSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSG ITGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNS LRAEDTAVYYCAKDPGTTVIMSWFDPWGQGTLVTV SS
185	DVD129L	AB054VL	AB018VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISSYLNW YQQKPGKAPKLLIYYTSRLHSGVPSRFSGSGSGTD FTFTISSLQPEDIATYYCQQGNTLPYTFGQGTKVE IKR**TVAAP**EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQ SVRGRYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDR FSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVFYCQQYGSSPR TFGQGTKVEIKR
186	DVD130H	AB018VH	AB054VH	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMS WVRQAPGKGLEWVSGITGSGGSTYYADSVKGRFTI SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKDPGTTVI MSWFDPWGQGTLVTVSS**ASTKGP**EVQLQESGPGLV RPSQTLSLTCTVSGYSITSDHAWSWVRQPPGRGLE WIGYISYSGITTYNPSLKSRVTMLRDTSKNQFSLR LSSVTAADTAVYYCARSLARTTAMDYWGQGSLVTV SS
187	DVD130L	AB018VL	AB054VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVRGRYLA WYQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGT DFTLTISRLEPEDFAVFYCQQYGSSPRTFGQGTKV EIKR**TVAAP**DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRAS QDISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYYTSRLHSGVPSR FSGSGSGTDFTFTISSLQPEDIATYYCQQGNTLPY TFGQGTKVEIKR

Eksempel 2.29: **Generering av IL-17A og IL-1beten DVD-Ig'er**

Tabell 49

SEQ ID NO	DVD Variabelt domene Navn	Ytre Variabelt domene Navn	Inner Variabelt domene Navn	Sekvens 12345678901234567890123456789012345
188	DVD121H	AB032VH	AB029VH	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSVYGMN WVRQAPGKGLEWVAIIWYDGDNQYYADSVKGRFTI SRDNSKNTLYLQMNGLRAEDTAVYYCARDLRTGPF DYWGQGTLVTVSS**ASTKGP**EVQLVESGGGLVQPGG SLRLSCAASGFTFSNYWMNWVRQAPGKGLEWVAAI NQDGSEKYYVGSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSL RVEDTAVYYCVRDYYDILTDYYIHYWYFDLWGRGT LVTVSS
189	DVD121L	AB032VL	AB029VL	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQSIGSSLHW YQQKPDQSPKLLIKYASQSFSGVPSRFSGSGSGTD FTLTINSLEAEDAAAYYCHQSSSLPFTFGPGTKVD IKR**TVAAP**EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQ SVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDR FSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPC TFGQGTRLEIKR
190	DVD122H	AB029VH	AB032VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYWMN WVRQAPGKGLEWVAAINQDGSEKYYVGSVKGRFTI SRDNAKNSLYLQMNSLRVEDTAVYYCVRDYYDILT DYYIHYWYFDLWGRGTLVTVSS**ASTKGP**QVQLVES GGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSVYGMNWVRQAPG KGLEWVAIIWYDGDNQYYADSVKGRFTISRDNSKN TLYLQMNGLRAEDTAVYYCARDLRTGPFDYWGQGT LVTVSS
191	DVD122L	AB029VL	AB032VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLA WYQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGT DFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPCTFGQGTRL EIKR**TVAAP**EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRAS QSIGSSLHWYQQKPDQSPKLLIKYASQSFSGVPSR FSGSGSGTDFTLTINSLEAEDAAAYYCHQSSSLPF TFGPGTKVDIKR

Eksempel 2.30: **Generering av IL-1beta og RANKL DVD-Ig'er**

Tabell 50

SEQ ID NO	DVD Variabelt domene Navn	Ytre Variabelt domene Navn	Inner Variabelt domene Navn	Sekvens 12345678901234567890123456789012345
192	**DVD125H**	AB032VH	AB018VH	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSVYGMN WVRQAPGKGLEWVAIIWYDGDNQYYADSVKGRFTI SRDNSKNTLYLQMNGLRAEDTAVYYCARDLRTGPF DYWGQGTLVTVSS**ASTKGP**EVQLLESGGGLVQPGG SLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSGI TGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSL RAEDTAVYYCAKDPGTTVIMSWFDPWGQGTLVTVS S
193	**DVD125L**	AB032VL	AB018VL	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQSIGSSLHW YQQKPDQSPKLLIKYASQSFSGVPSRFSGSGSGTD FTLTINSLEAEDAAAYYCHQSSSLPFTFGPGTKVD IKR**TVAAP**EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQ SVRGRYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDR FSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVFYCQQYGSSPR TFGQGTKVEIKR
194	**DVD126H**	AB018VH	AB032VH	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMS WVRQAPGKGLEWVSGITGSGGSTYYADSVKGRFTI SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKDPGTTVI MSWFDPWGQGTLVTVSS**ASTKGP**QVQLVESGGGVV QPGRSLRLSCAASGFTFSVYGMNWVRQAPGKGLEW VAIIWYDGDNQYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQ MNGLRAEDTAVYYCARDLRTGPFDYWGQGTLVTVS S
195	**DVD126L**	AB018VL	AB032VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVRGRYLA WYQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGT DFTLTISRLEPEDFAVFYCQQYGSSPRTFGQGTKV EIKR**TVAAP**EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRAS QSIGSSLHWYQQKPDQSPKLLIKYASQSFSGVPSR FSGSGSGTDFTLTINSLEAEDAAAYYCHQSSSLPF TFGPGTKVDIKR

Eksempel 2.31: **Generering av IL-1beta og VEGF DVD-Ig'er**

Tabell 51

SEQ ID NO	DVD Variabelt domene Navn	Ytre Variabelt domene Navn	Inner Variabelt domene Navn	Sekvens 12345678901234567890123456789012345
196	DVD123H	AB032VH	AB014VH	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSVYGMN WVRQAPGKGLEWVAIIWYDGDNQYYADSVKGRFTI SRDNSKNTLYLQMNGLRAEDTAVYYCARDLRTGPF DYWGQGTLVTVSS**ASTKGP**EVQLVESGGGLVQPGG SLRLSCAASGYTFTNYGMNWVRQAPGKGLEWVGWI NTYTGEPTYAADFKRRFTFSLDTSKSTAYLQMNSL RAEDTAVYYCAKYFYYGSSHWYFDVWGQGTLVTVS S
197	DVD123L	AB032VL	AB014VL	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQSIGSSLHW YQQKPDQSPKLLIKYASQSFSGVPSRFSGSGSGTD FTLTINSLEAEDAAAYYCHQSSSLPFTFGPGTKVD IKR**TVAAP**DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCSASQ DISNYLNWYQQKPGKAPKVLIYFTSSLHSGVPSRF SGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYSTVPWT FGQGTKVEIKR
198	DVD124H	AB014VH	AB032VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYTFTNYGMN WVRQAPGKGLEWVGWINTYTGEPTYAADFKRRFTF SLDTSKSTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAKYFYYGSS HWYFDVWGQGTLVTVSS**ASTKGP**QVQLVESGGGVV QPGRSLRLSCAASGFTFSVYGMNWVRQAPGKGLEW VAIIWYDGDNQYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQ MNGLRAEDTAVYYCARDLRTGPFDYWGQGTLVTVS S
199	DVD124L	AB014VL	AB032VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCSASQDISNYLNW YQQKPGKAPKVLIYFTSSLHSGVPSRFSGSGSGTD FTLTISSLQPEDFATYYCQQYSTVPWTFGQGTKVE IKR**TVAAP**EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQ SIGSSLHWYQQKPDQSPKLLIKYASQSFSGVPSRF SGSGSGTDFTLTINSLEAEDAAAYYCHQSSSLPFT FGPGTKVDIKR

Eksempel 2.32: **Generering av RANKL og CD-20 DVD-Ig'er**

Tabell 52

SEQ ID NO	DVD Variabelt domene Navn	Ytre Variabelt domene Navn	Inner Variabelt domene Navn	Sekvens 12345678901234567890123456789012345
200	**DVD166H**	AB018VH	AB001VH	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMS WVRQAPGKGLEWVSGITGSGGSTYYADSVKGRFTI SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKDPGTTVI MSWFDPWGQGTLVTVSS**ASTKGP**QVQLQQPGAELV KPGASVKMSCKASGYTFTSYNMHWVKQTPGRGLEW IGAIYPGNGDTSYNQKFKGKATLTADKSSSTAYMQ LSSLTSEDSAVYYCARSTYYGGDWYFNVWGAGTTV TVSA
201	**DVD166L**	AB018VL	AB001VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVRGRYLA WYQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGT DFTLTISRLEPEDFAVFYCQQYGSSPRTFGQGTKV EIKR**TVAAP**QIVLSQSPAILSPSPGEKVTMTCRAS SSVSYIHWFQQKPGSSPKPWIYATSNLASGVPVRF SGSGSGTSYSLTISRVEAEDAATYYCQQWTSNPPT FGGGTKLEIKR
202	**DVD165H**	AB001VH	AB018VH	QVQLQQPGAELVKPGASVKMSCKASGYTFTSYNMH WVKQTPGRGLEWIGAIYPGNGDTSYNQKFKGKATL TADKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYYCARSTYYGGD WYFNVWGAGTTVTVSA**ASTKGP**EVQLLESGGGLVQ PGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWV SGITGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQM NSLRAEDTAVYYCAKDPGTTVIMSWFDPWGQGTLV TVSS
203	**DVD165L**	AB001VL	AB018VL	QIVLSQSPAILSPSPGEKVTMTCRASSSVSYIHWF QQKPGSSPKPWIYATSNLASGVPVRFSGSGSGTSY SLTISRVEAEDAATYYCQQWTSNPPTFGGGTKLEI KR**TVAAP**EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQS VRGRYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRF SGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVFYCQQYGSSPRT FGQGTKVEIKR

Eksempel 2.33: **Generering av IL-1alfa og IL-1beta (sekv. 1) DVD-Ig'er med Linker Set 1**

Tabell 53

SEQ ID NO	DVD Variabelt domene Navn	Ytre Variabelt domene Navn	Inner Variabelt domene Navn	Sekvens 12345678901234567890123456789012345
204	DVD369H	AB065	AB032	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCTASGFTFSMFGVH WVRQAPGKGLEWVAAVSYDGSNKYYAESVKGRFTI SRDNSKNILFLQMDSLRLEDTAVYYCARGRPKVVI PAPLAHWGQGTLVTFSS**ASTKGP**QVQLVESGGGVV QPGRSLRLSCAASGFTFSVYGMNWVRQAPGKGLEW VAIIWYDGDNQYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQ MNGLRAEDTAVYYCARDLRTGPFDYWGQGTLVTVS S
205	DVD369L	AB065	AB032	DIQMTQSPSSVSASVGDRVTITCRASQGISSWLAW YQQKPGKAPKLLIYEASNLETGVPSRFSGSGSGSD FTLTISSLQPEDFATYYCQQTSSFLLSFGGGTKVE HKR**TVAAP**EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQ SIGSSLHWYQQKPDQSPKLLIKYASQSFSGVPSRF SGSGSGTDFTLTINSLEAEDAAAYYCHQSSSLPFT FGPGTKVDIKR
206	DVD370H	AB032	AB065	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSVYGMN WVRQAPGKGLEWVAIIWYDGDNQYYADSVKGRFTI SRDNSKNTLYLQMNGLRAEDTAVYYCARDLRTGPF DYWGQGTLVTVSS**ASTKGP**QVQLVESGGGVVQPGR SLRLSCTASGFTFSMFGVHWVRQAPGKGLEWVAAV SYDGSNKYYAESVKGRFTISRDNSKNILFLQMDSL RLEDTAVYYCARGRPKVVIPAPLAHWGQGTLVTFS S
207	DVD370L	AB032	AB065	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQSIGSSLHW YQQKPDQSPKLLIKYASQSFSGVPSRFSGSGSGTD FTLTINSLEAEDAAAYYCHQSSSLPFTFGPGTKVD IKR**TVAAP**DIQMTQSPSSVSASVGDRVTITCRASQ GISSWLAWYQQKPGKAPKLLIYEASNLETGVPSRF SGSGSGSDFTLTISSLQPEDFATYYCQQTSSFLLS FGGGTKVEHKR

Eksempel 2.34: **Generering av IL-1alfa og IL-1beta (sekv. 1) DVD-Ig'er med Linker Set 2**

Tabell 54

SEQ ID NO	DVD Variabelt domene Navn	Ytre Variabelt domene Navn	Inner Variabelt domene Navn	Sekvens 12345678901234567890123456789012345
208	DVD373H	AB065	AB032	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCTASGFTFSMFGVH WVRQAPGKGLEWVAAVSYDGSNKYYAESVKGRFTI SRDNSKNILFLQMDSLRLEDTAVYYCARGRPKVVI PAPLAHWGQGTLVTFSS**ASTKGPSVFPLAP**QVQLV ESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSVYGMNWVRQA PGKGLEWVAIIWYDGDNQYYADSVKGRFTISRDNS KNTLYLQMNGLRAEDTAVYYCARDLRTGPFDYWGQ GTLVTVSS
209	DVD373L	AB065	AB032	DIQMTQSPSSVSASVGDRVTITCRASQGISSWLAW YQQKPGKAPKLLIYEASNLETGVPSRFSGSGSGSD FTLTISSLQPEDFATYYCQQTSSFLLSFGGGTKVE HKR**TVAAPSVFIFPP**EIVLTQSPDFQSVTPKEKVT ITCRASQSIGSSLHWYQQKPDQSPKLLIKYASQSF SGVPSRFSGSGSGTDFTLTINSLEAEDAAAYYCHQ SSSLPFTFGPGTKVDIKR
210	DVD374H	AB032	AB065	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSVYGMN WVRQAPGKGLEWVAIIWYDGDNQYYADSVKGRFTI SRDNSKNTLYLQMNGLRAEDTAVYYCARDLRTGPF DYWGQGTLVTVSS**ASTKGPSVFPLAP**QVQLVESGG GVVQPGRSLRLSCTASGFTFSMFGVHWVRQAPGKG LEWVAAVSYDGSNKYYAESVKGRFTISRDNSKNIL FLQMDSLRLEDTAVYYCARGRPKVVIPAPLAHWGQ GTLVTFSS
211	DVD374L	AB032	AB065	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQSIGSSLHW YQQKPDQSPKLLIKYASQSFSGVPSRFSGSGSGTD FTLTINSLEAEDAAAYYCHQSSSLPFTFGPGTKVD IKR**TVAAPSVFIFPP**DIQMTQSPSSVSASVGDRVT ITCRASQGISSWLAWYQQKPGKAPKLLIYEASNLE TGVPSRFSGSGSGSDFTLTISSLQPEDFATYYCQQ TSSFLLSFGGGTKVEHKR

Eksempel 2.35: **Generering av IL-1alfa og IL-1beta (sekv. 1) DVD-Ig'er med Linker Set 3**

Tabell 55

SEQ ID NO	DVD Variabelt domene Navn	Ytre Variabelt domene Navn	Inner Variabelt domene Navn	Sekvens 12345678901234567890123456789012345
212	DVD377H	AB065	AB032	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCTASGFTFSMFGVH WVRQAPGKGLEWVAAVSYDGSNKYYAESVKGRFTI SRDNSKNILFLQMDSLRLEDTAVYYCARGRPKVVI PAPLAHWGQGTLVTFSS**ASTKGPSVFPLAP**QVQLV ESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSVYGMNWVRQA PGKGLEWVAIIWYDGDNQYYADSVKGRFTISRDNS KNTLYLQMNGLRAEDTAVYYCARDLRTGPFDYWGQ GTLVTVSS
213	DVD377L	AB065	AB032	DIQMTQSPSSVSASVGDRVTITCRASQGISSWLAW YQQKPGKAPKLLIYEASNLETGVPSRFSGSGSGSD FTLTISSLQPEDFATYYCQQTSSFLLSFGGGTKVE HKR**TVAAP**EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQ SIGSSLHWYQQKPDQSPKLLIKYASQSFSGVPSRF SGSGSGTDFTLTINSLEAEDAAAYYCHQSSSLPFT FGPGTKVDIKR
214	DVD378H	AB032	AB065	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSVYGMN WVRQAPGKGLEWVAIIWYDGDNQYYADSVKGRFTI SRDNSKNTLYLQMNGLRAEDTAVYYCARDLRTGPF DYWGQGTLVTVSS**ASTKGPSVFPLAP**QVQLVESGG GVVQPGRSLRLSCTASGFTFSMFGVHWVRQAPGKG LEWVAAVSYDGSNKYYAESVKGRFTISRDNSKNIL FLQMDSLRLEDTAVYYCARGRPKVVIPAPLAHWGQ GTLVTFSS
215	DVD378L	AB032	AB065	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQSIGSSLHW YQQKPDQSPKLLIKYASQSFSGVPSRFSGSGSGTD FTLTINSLEAEDAAAYYCHQSSSLPFTFGPGTKVD IKR**TVAAP**DIQMTQSPSSVSASVGDRVTITCRASQ GISSWLAWYQQKPGKAPKLLIYEASNLETGVPSRF SGSGSGSDFTLTISSLQPEDFATYYCQQTSSFLLS FGGGTKVEHKR

Eksempel 2.36: <u>Generering av IL-1alfa og IL-1beta (sekv. 1) DVD-Ig'er med Linker Set 4</u>

Tabell 56

SEQ ID NO	DVD Variabelt domene Navn	Ytre Variabelt domene Navn	Inner Variabelt domene Navn	Sekvens 12345678901234567890123456789012345
216	DVD381H	AB065	AB032	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCTASGFTFSMFGVH WVRQAPGKGLEWVAAVSYDGSNKYYAESVKGRFTI SRDNSKNILFLQMDSLRLEDTAVYYCARGRPKVVI PAPLAHWGQGTLVTFSS**ASTKGP**QVQLVESGGGVV QPGRSLRLSCAASGFTFSVYGMNWVRQAPGKGLEW VAIIWYDGDNQYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQ MNGLRAEDTAVYYCARDLRTGPFDYWGQGTLVTVS S
217	DVD381L	AB065	AB032	DIQMTQSPSSVSASVGDRVTITCRASQGISSWLAW YQQKPGKAPKLLIYEASNLETGVPSRFSGSGSGSD FTLTISSLQPEDFATYYCQQTSSFLLSFGGGTKVE HKR**TVAAPSVFIFPP**EIVLTQSPDFQSVTPKEKVT ITCRASQSIGSSLHWYQQKPDQSPKLLIKYASQSF SGVPSRFSGSGSGTDFTLTINSLEAEDAAAYYCHQ SSSLPFTFGPGTKVDIKR
218	DVD382H	AB032	AB065	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSVYGMN WVRQAPGKGLEWVAIIWYDGDNQYYADSVKGRFTI SRDNSKNTLYLQMNGLRAEDTAVYYCARDLRTGPF DYWGQGTLVTVSS**ASTKGP**QVQLVESGGGVVQPGR SLRLSCTASGFTFSMFGVHWVRQAPGKGLEWVAAV SYDGSNKYYAESVKGRFTISRDNSKNILFLQMDSL RLEDTAVYYCARGRPKVVIPAPLAHWGQGTLVTFS S
219	DVD382L	AB032	AB065	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQSIGSSLHW YQQKPDQSPKLLIKYASQSFSGVPSRFSGSGSGTD FTLTINSLEAEDAAAYYCHQSSSLPFTFGPGTKVD IKR**TVAAPSVFIFPP**DIQMTQSPSSVSASVGDRVT ITCRASQGISSWLAWYQQKPGKAPKLLIYEASNLE TGVPSRFSGSGSGSDFTLTISSLQPEDFATYYCQQ TSSFLLSFGGGTKVEHKR

Eksempel 2.37: <u>Generering av IL-1alfa og IL-1beta (sekv. 2) DVD-Ig'er med Linker Set 1</u>

Tabell 57

SEQ ID NO	DVD Variabelt domene Navn	Ytre Variabelt domene Navn	Inner Variabelt domene Navn	Sekvens 12345678901234567890123456789012345
220	**DVD371H**	AB065	AB066	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCTASGFTFSMFGVH WVRQAPGKGLEWVAAVSYDGSNKYYAESVKGRFTI SRDNSKNILFLQMDSLRLEDTAVYYCARGRPKVVI PAPLAHWGQGTLVTFSS**ASTKGP**EVQLVESGGGVV QPGRSLRLSCSSSGFIFSSYDMSWVRQAPGKGLEW VAYISSGGGGTYYPDTVKGRFTISRDNSKNTLFLQ MDSLRPEDTGVYFCARGGVTKGYFDVWGQGTPVTV SS
221	**DVD371L**	AB065	AB066	DIQMTQSPSSVSASVGDRVTITCRASQGISSWLAW YQQKPGKAPKLLIYEASNLETGVPSRFSGSGSGSD FTLTISSLQPEDFATYYCQQTSSFLLSFGGGTKVE HKR**TVAAP**DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASG NIHNYLTWYQQTPGKAPKLLIYNAKTLADGVPSRF SGSGSGTDYTFTISSLQPEDIATYYCQHFWSIPYT FGQGTKLQIT
222	**DVD372H**	AB066	AB065	EVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCSSSGFIFSSYDMS WVRQAPGKGLEWVAYISSGGGGTYYPDTVKGRFTI SRDNSKNTLFLQMDSLRPEDTGVYFCARGGVTKGY FDVWGQGTPVTVSS**ASTKGP**QVQLVESGGGVVQPG RSLRLSCTASGFTFSMFGVHWVRQAPGKGLEWVAA VSYDGSNKYYAESVKGRFTISRDNSKNILFLQMDS LRLEDTAVYYCARGRPKVVIPAPLAHWGQGTLVTF SS
223	**DVD372L**	AB066	AB065	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASGNIHNYLTW YQQTPGKAPKLLIYNAKTLADGVPSRFSGSGSGTD YTFTISSLQPEDIATYYCQHFWSIPYTFGQGTKLQ IT**TVAAP**DIQMTQSPSSVSASVGDRVTITCRASQG ISSWLAWYQQKPGKAPKLLIYEASNLETGVPSRFS GSGSGSDFTLTISSLQPEDFATYYCQQTSSFLLSF GGGTKVEHKR

Eksempel 2.38: Generering av IL-1alfa og IL-1beta (sekv. 2) DVD-Ig'er med Linker Set 2

Tabell 58

SEQ ID NO	DVD Variabelt domene Navn	Ytre Variabelt domene Navn	Inner Variabelt domene Navn	Sekvens 12345678901234567890123456789012345
224	DVD375H	AB065	AB066	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCTASGFTFSMFGVH WVRQAPGKGLEWVAAVSYDGSNKYYAESVKGRFTI SRDNSKNILFLQMDSLRLEDTAVYYCARGRPKVVI PAPLAHWGQGTLVTFSS**ASTKGPSVFPLAP**EVQLV ESGGGVVQPGRSLRLSCSSSGFIFSSYDMSWVRQA PGKGLEWVAYISSGGGGTYYPDTVKGRFTISRDNS KNTLFLQMDSLRPEDTGVYFCARGGVTKGYFDVWG QGTPVTVSS
225	DVD375L	AB065	AB066	DIQMTQSPSSVSASVGDRVTITCRASQGISSWLAW YQQKPGKAPKLLIYEASNLETGVPSRFSGSGSGSD FTLTISSLQPEDFATYYCQQTSSFLLSFGGGTKVE HKR**TVAAPSVFIFPP**DIQMTQSPSSLSASVGDRVT ITCRASGNIHNYLTWYQQTPGKAPKLLIYNAKTLA DGVPSRFSGSGSGTDYTFTISSLQPEDIATYYCQH FWSIPYTFGQGTKLQIT
226	DVD376H	AB066	AB065	EVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCSSSGFIFSSYDMS WVRQAPGKGLEWVAYISSGGGGTYYPDTVKGRFTI SRDNSKNTLFLQMDSLRPEDTGVYFCARGGVTKGY FDVWGQGTPVTVSS**ASTKGPSVFPLAP**QVQLVESG GGVVQPGRSLRLSCTASGFTFSMFGVHWVRQAPGK GLEWVAAVSYDGSNKYYAESVKGRFTISRDNSKNI LFLQMDSLRLEDTAVYYCARGRPKVVIPAPLAHWG QGTLVTFSS
227	DVD376L	AB066	AB065	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASGNIHNYLTW YQQTPGKAPKLLIYNAKTLADGVPSRFSGSGSGTD YTFTISSLQPEDIATYYCQHFWSIPYTFGQGTKLQ IT**TVAAPSVFIFPP**DIQMTQSPSSVSASVGDRVTI TCRASQGISSWLAWYQQKPGKAPKLLIYEASNLET GVPSRFSGSGSGSDFTLTISSLQPEDFATYYCQQT SSFLLSFGGGTKVEHKR

Eksempel 2.39: **Generering av IL-1alfa og IL-1beta (sekv. 2) DVD-Ig'er med Linker Set 3**

Tabell 59

SEQ ID NO	DVD Variabelt domene Navn	Ytre Variabelt domene Navn	Inner Variabelt domene Navn	Sekvens 12345678901234567890123456789012345
228	DVD379H	AB065	AB066	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCTASGFTFSMFGVH WVRQAPGKGLEWVAAVSYDGSNKYYAESVKGRFTI SRDNSKNILFLQMDSLRLEDTAVYYCARGRPKVVI PAPLAHWGQGTLVTFSS**ASTKGPSVFPLAP**EVQLV ESGGGVVQPGRSLRLSCSSSGFIFSSYDMSWVRQA PGKGLEWVAYISSGGGGTYYPDTVKGRFTISRDNS KNTLFLQMDSLRPEDTGVYFCARGGVTKGYFDVWG QGTPVTVSS
229	DVD379L	AB065	AB066	DIQMTQSPSSVSASVGDRVTITCRASQGISSWLAW YQQKPGKAPKLLIYEASNLETGVPSRFSGSGSGSD FTLTISSLQPEDFATYYCQQTSSFLLSFGGGTKVE HKR**TVAAP**DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASG NIHNYLTWYQQTPGKAPKLLIYNAKTLADGVPSRF SGSGSGTDYTFTISSLQPEDIATYYCQHFWSIPYT FGQGTKLQIT
230	DVD380H	AB066	AB065	EVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCSSSGFIFSSYDMS WVRQAPGKGLEWVAYISSGGGGTYYPDTVKGRFTI SRDNSKNTLFLQMDSLRPEDTGVYFCARGGVTKGY FDVWGQGTPVTVSS**ASTKGPSVFPLAP**QVQLVESG GGVVQPGRSLRLSCTASGFTFSMFGVHWVRQAPGK GLEWVAAVSYDGSNKYYAESVKGRFTISRDNSKNI LFLQMDSLRLEDTAVYYCARGRPKVVIPAPLAHWG QGTLVTFSS
231	DVD380L	AB066	AB065	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASGNIHNYLTW YQQTPGKAPKLLIYNAKTLADGVPSRFSGSGSGTD YTFTISSLQPEDIATYYCQHFWSIPYTFGQGTKLQ IT**TVAAP**DIQMTQSPSSVSASVGDRVTITCRASQG ISSWLAWYQQKPGKAPKLLIYEASNLETGVPSRFS GSGSGSDFTLTISSLQPEDFATYYCQQTSSFLLSF GGGTKVEHKR

Eksempel 2.40: **Generering av IL-1alfa og IL-1beta (sekv. 2) DVD-Ig'er med Linker Set 4**

Tabell 60

SEQ ID NO	DVD Variabelt domene Navn	Ytre Variabelt domene Navn	Inner Variabelt domene Navn	Sekvens 12345678901234567890123456789012345
232	DVD383H	AB065	AB066	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCTASGFTFSMFGVH WVRQAPGKGLEWVAAVSYDGSNKYYAESVKGRFTI SRDNSKNILFLQMDSLRLEDTAVYYCARGRPKVVI PAPLAHWGQGTLVTFSS**ASTKGP**EVQLVESGGGVV QPGRSLRLSCSSSGFIFSSYDMSWVRQAPGKGLEW VAYISSGGGGTYYPDTVKGRFTISRDNSKNTLFLQ MDSLRPEDTGVYFCARGGVTKGYFDVWGQGTPVTV SS
233	DVD383L	AB065	AB066	DIQMTQSPSSVSASVGDRVTITCRASQGISSWLAW YQQKPGKAPKLLIYEASNLETGVPSRFSGSGSGSD FTLTISSLQPEDFATYYCQQTSSFLLSFGGGTKVE HKR**TVAAPSVFIFPP**DIQMTQSPSSLSASVGDRVT ITCRASGNIHNYLTWYQQTPGKAPKLLIYNAKTLA DGVPSRFSGSGSGTDYTFTISSLQPEDIATYYCQH FWSIPYTFGQGTKLQIT
234	DVD384H	AB066	AB065	EVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCSSSGFIFSSYDMS WVRQAPGKGLEWVAYISSGGGGTYYPDTVKGRFTI SRDNSKNTLFLQMDSLRPEDTGVYFCARGGVTKGY FDVWGQGTPVTVSS**ASTKGP**QVQLVESGGGVVQPG RSLRLSCTASGFTFSMFGVHWVRQAPGKGLEWVAA VSYDGSNKYYAESVKGRFTISRDNSKNILFLQMDS LRLEDTAVYYCARGRPKVVIPAPLAHWGQGTLVTF SS
235	DVD384L	AB066	AB065	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASGNIHNYLTW YQQTPGKAPKLLIYNAKTLADGVPSRFSGSGSGTD YTFTISSLQPEDIATYYCQHFWSIPYTFGQGTKLQ IT**TVAAPSVFIFPP**DIQMTQSPSSVSASVGDRVTI TCRASQGISSWLAWYQQKPGKAPKLLIYEASNLET GVPSRFSGSGSGSDFTLTISSLQPEDFATYYCQQT SSFLLSFGGGTKVEHKR

Eksempel 2.41: Kloningsvektor-sekvenser Anvendt for å Klone Moderantistoff og DVD-Ig Sekvenser

Tabell 61

SEKV ID NR	Vektor navn	Nukleotidsekvenser 12345678901234567890123456789012345678901234567890
236	V1	GCGTCGACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCTCCTCCAAGAGC ACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCC GAACCGGTGACGGTGTCGTGGAACTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCAC ACCTTCCCGGCTGTCCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTG GTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTG AATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAAAGTTGAGCCCAAATCT TGTGACAAAACTCACACATGCCCACCGTGCCCAGCACCTGAACTCCTGGGG GGACCGTCAGTCTTCCTCTTCCCCCCAAAACCCAAGGACACCCTCATGATC TCCCGGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGAC CCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCC AAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGC GTCCTCACCGTCCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGC AAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAA GCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCCATCCCGC GAGGAGATGACCAAGAACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTC TATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAAC AACTACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCCTC TACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTC TCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGC CTCTCCCTGTCTCCGGGTAAATGAGCGGCCGCTCGAGGCCGGCAAGGCCGG ATCCCCCGACCTCGACCTCTGGCTAATAAAGGAAATTTATTTTCATTGCAA TAGTGTGTTGGAATTTTTTGTGTCTCTCACTCGGAAGGACATATGGGAGGG CAAATCATTTGGTCGAGATCCCTCGGAGATCTCTAGCTAGAGGATCGATCC CCGCCCCGGACGAACTAAACCTGACTACGACATCTCTGCCCCTTCTTCGCG GGGCAGTGCATGTAATCCCTTCAGTTGGTTGGTACAACTTGCCAACTGGGC CCTGTTCCACATGTGACACGGGGGGGGACCAAACACAAAGGGGTTCTCTGA CTGTAGTTGACATCCTTATAAATGGATGTGCACATTTGCCAACACTGAGTG GCTTTCATCCTGGAGCAGACTTTGCAGTCTGTGGACTGCAACACAACATTG CCTTTATGTGTAACTCTTGGCTGAAGCTCTTACACCAATGCTGGGGGACAT GTACCTCCCAGGGGCCCAGGAAGACTACGGGAGGCTACACCAACGTCAATC AGAGGGGCCTGTGTAGCTACCGATAAGCGGACCCTCAAGAGGGCATTAGCA ATAGTGTTTATAAGGCCCCCTTGTTAACCCTAAACGGGTAGCATATGCTTC CCGGGTAGTAGTATATACTATCCAGACTAACCCTAATTCAATAGCATATGT TACCCAACGGGAAGCATATGCTATCGAATTAGGGTTAGTAAAAGGGTCCTA AGGAACAGCGATATCTCCCACCCCATGAGCTGTCACGGTTTTATTTACATG GGGTCAGGATTCCACGAGGGTAGTGAACCATTTTAGTCACAAGGGCAGTGG CTGAAGATCAAGGAGCGGGCAGTGAACTCTCCTGAATCTTCGCCTGCTTCT TCATTCTCCTTCGTTTAGCTAATAGAATAACTGCTGAGTTGTGAACAGTAA GGTGTATGTGAGGTGCTCGAAAACAAGGTTTCAGGTGACGCCCCCAGAATA AAATTTGGACGGGGGGTTCAGTGGTGGCATTGTGCTATGACACCAATATAA CCCTCACAAACCCCTTGGGCAATAAATACTAGTGTAGGAATGAAACATTCT GAATATCTTTAACAATAGAAATCCATGGGGTGGGGACAAGCCGTAAAGACT GGATGTCCATCTCACACGAATTTATGGCTATGGGCAACACATAATCCTAGT GCAATATGATACTGGGGTTATTAAGATGTGTCCCAGGCAGGGACCAAGACA GGTGAACCATGTTGTTACACTCTATTTGTAACAAGGGGAAAGAGAGTGGAC GCCGACAGCAGCGGACTCCACTGGTTGTCTCTAACACCCCCGAAAATTAAA CGGGGCTCCACGCCAATGGGGCCCATAAACAAAGACAAGTGGCCACTCTTT TTTTTGAAATTGTGGAGTGGGGGCACGCGTCAGCCCCCACACGCCGCCCTG CGGTTTTGGACTGTAAAATAAGGGTGTAATAACTTGGCTGATTGTAACCCC GCTAACCACTGCGGTCAAACCACTTGCCCACAAAACCACTAATGGCACCCC GGGGAATACCTGCATAAGTAGGTGGGCGGGCCAAGATAGGGGCGCGATTGC TGCGATCTGGAGGACAAATTACACACACTTGCGCCTGAGCGCCAAGCACAG GGTTGTTGGTCCTCATATTCACGAGGTCGCTGAGAGCACGGTGGGCTAATG

5

SEKV ID NR	Vektor navn	Nukleotidsekvenser 12345678901234567890123456789012345678901
		TTGCCATGGGTAGCATATACTACCCAAATATCTGGATAGCATATGCTATCC TAATCTATATCTGGGTAGCATAGGCTATCCTAATCTATATCTGGGTAGCAT ATGCTATCCTAATCTATATCTGGGTAGTATATGCTATCCTAATTTATATCT GGGTAGCATAGGCTATCCTAATCTATATCTGGGTAGCATATGCTATCCTAA TCTATATCTGGGTAGTATATGCTATCCTAATCTGTATCCGGGTAGCATATG CTATCCTAATAGAGATTAGGGTAGTATATGCTATCCTAATTTATATCTGGG TAGCATATACTACCCAAATATCTGGATAGCATATGCTATCCTAATCTATAT CTGGGTAGCATATGCTATCCTAATCTATATCTGGGTAGCATAGGCTATCCT AATCTATATCTGGGTAGCATATGCTATCCTAATCTATATCTGGGTAGTATA TGCTATCCTAATTTATATCTGGGTAGCATAGGCTATCCTAATCTATATCTG GGTAGCATATGCTATCCTAATCTATATCTGGGTAGTATATGCTATCCTAAT CTGTATCCGGGTAGCATATGCTATCCTCATGATAAGCTGTCAAACATGAGA ATTTTCTTGAAGACGAAAGGGCCTCGTGATACGCCTATTTTTATAGGTTAA TGTCATGATAATAATGGTTTCTTAGACGTCAGGTGGCACTTTTCGGGGAAA TGTGCGCGGAACCCCTATTTGTTTATTTTTCTAAATACATTCAAATATGTA TCCGCTCATGAGACAATAACCCTGATAAATGCTTCAATAATATTGAAAAAG GAAGAGTATGAGTATTCAACATTTCCGTGTCGCCCTTATTCCCTTTTTTGC GGCATTTTGCCTTCCTGTTTTTGCTCACCCAGAAACGCTGGTGAAAGTAAA AGATGCTGAAGATCAGTTGGGTGCACGAGTGGGTTACATCGAACTGGATCT CAACAGCGGTAAGATCCTTGAGAGTTTTCGCCCCGAAGAACGTTTTCCAAT GATGAGCACTTTTAAAGTTCTGCTATGTGGCGCGGTATTATCCCGTGTTGA CGCCGGGCAAGAGCAACTCGGTCGCCGCATACACTATTCTCAGAATGACTT GGTTGAGTACTCACCAGTCACAGAAAAGCATCTTACGGATGGCATGACAGT AAGAGAATTATGCAGTGCTGCCATAACCATGAGTGATAACACTGCGGCCAA CTTACTTCTGACAACGATCGGAGGACCGAAGGAGCTAACCGCTTTTTTGCA CAACATGGGGGATCATGTAACTCGCCTTGATCGTTGGGAACCGGAGCTGAA TGAAGCCATACCAAACGACGAGCGTGACACCACGATGCCTGCAGCAATGGC AACAACGTTGCGCAAACTATTAACTGGCGAACTACTTACTCTAGCTTCCCG GCAACAATTAATAGACTGGATGGAGGCGGATAAAGTTGCAGGACCACTTCT GCGCTCGGCCCTTCCGGCTGGCTGGTTTATTGCTGATAAATCTGGAGCCGG TGAGCGTGGGTCTCGCGGTATCATTGCAGCACTGGGGCCAGATGGTAAGCC CTCCCGTATCGTAGTTATCTACACGACGGGGAGTCAGGCAACTATGGATGA ACGAAATAGACAGATCGCTGAGATAGGTGCCTCACTGATTAAGCATTGGTA ACTGTCAGACCAAGTTTACTCATATATACTTTAGATTGATTTAAAACTTCA TTTTTAATTTAAAAGGATCTAGGTGAAGATCCTTTTTGATAATCTCATGAC CAAAATCCCTTAACGTGAGTTTTCGTTCCACTGAGCGTCAGACCCCGTAGA AAAGATCAAAGGATCTTCTTGAGATCCTTTTTTTCTGCGCGTAATCTGCTG CTTGCAAACAAAAAAACCACCGCTACCAGCGGTGGTTTGTTTGCCGGATCA AGAGCTACCAACTCTTTTTCCGAAGGTAACTGGCTTCAGCAGAGCGCAGAT ACCAAATACTGTTCTTCTAGTGTAGCCGTAGTTAGGCCACCACTTCAAGAA CTCTGTAGCACCGCCTACATACCTCGCTCTGCTAATCCTGTTACCAGTGGC TGCTGCCAGTGGCGATAAGTCGTGTCTTACCGGGTTGGACTCAAGACGATA GTTACCGGATAAGGCGCAGCGGTCGGGCTGAACGGGGGGTTCGTGCACACA GCCCAGCTTGGAGCGAACGACCTACACCGAACTGAGATACCTACAGCGTGA GCTATGAGAAAGCGCCACGCTTCCCGAAGGGAGAAAGGCGGACAGGTATCC GGTAAGCGGCAGGGTCGGAACAGGAGAGCGCACGAGGGAGCTTCCAGGGGG AAACGCCTGGTATCTTTATAGTCCTGTCGGGTTTCGCCACCTCTGACTTGA GCGTCGATTTTTGTGATGCTCGTCAGGGGGGCGGAGCCTATGGAAAAACGC CAGCAACGCGGCCTTTTTACGGTTCCTGGCCTTTTGCTGGCCTTTTGCTCA CATGTTCTTTCCTGCGTTATCCCCTGATTCTGTGGATAACCGTATTACCGC CTTTGAGTGAGCTGATACCGCTCGCCGCAGCCGAACGACCGAGCGCAGCGA GTCAGTGAGCGAGGAAGCGGAAGAGCGCCCAATACGCAAACCGCCTCTCCC CGCGCGTTGGCCGATTCATTAATGCAGCTGGCACGACAGGTTTCCCGACTG GAAAGCGGGCAGTGAGCGCAACGCAATTAATGTGAGTTAGCTCACTCATTA GGCACCCCAGGCTTTACACTTTATGCTTCCGGCTCGTATGTTGTGTGGAAT TGTGAGCGGATAACAATTTCACACAGGAAACAGCTATGACCATGATTACGC CAAGCTCTAGCTAGAGGTCGAGTCCCTCCCCAGCAGGCAGAAGTATGCAAA GCATGCATCTCAATTAGTCAGCAACCATAGTCCCGCCCCTAACTCCGCCCA TCCCGCCCCTAACTCCGCCCAGTTCCGCCCATTCTCCGCCCCATGGCTGAC

SEKV ID NR	**Vektor navn**	**Nukleotidsekvenser** 12345678901234567890123456789012345678901234567890 1
		TAATTTTTTTTATTTATGCAGAGGCCGAGGCCGCCTCGGCCTCTGAGCTAT TCCAGAAGTAGTGAGGAGGCTTTTTTGGAGGCCTAGGCTTTTGCAAAAAGC TTTGCAAAGATGGATAAAGTTTTAAACAGAGAGGAATCTTTGCAGCTAATG GACCTTCTAGGTCTTGAAAGGAGTGGGAATTGGCTCCGGTGCCCGTCAGTG GGCAGAGCGCACATCGCCCACAGTCCCCGAGAAGTTGGGGGGAGGGGTCGG CAATTGAACCGGTGCCTAGAGAAGGTGGCGCGGGGTAAACTGGGAAAGTGA TGTCGTGTACTGGCTCCGCCTTTTTCCCGAGGGTGGGGGAGAACCGTATAT AAGTGCAGTAGTCGCCGTGAACGTTCTTTTTCGCAACGGGTTTGCCGCCAG AACACAGGTAAGTGCCGTGTGTGGTTCCCGCGGGCCTGGCCTCTTTACGGG TTATGGCCCTTGCGTGCCTTGAATTACTTCCACCTGGCTGCAGTACGTGAT TCTTGATCCCGAGCTTCGGGTTGGAAGTGGGTGGGAGAGTTCGAGGCCTTG CGCTTAAGGAGCCCCTTCGCCTCGTGCTTGAGTTGAGGCCTGGCCTGGGCG CTGGGGCCGCCGCGTGCGAATCTGGTGGCACCTTCGCGCCTGTCTCGCTGC TTTCGATAAGTCTCTAGCCATTTAAAATTTTTGATGACCTGCTGCGACGCT TTTTTTCTGGCAAGATAGTCTTGTAAATGCGGGCCAAGATCTGCACACTGG TATTTCGGTTTTTGGGGCCGCGGGCGGCGACGGGGCCCGTGCGTCCCAGCG CACATGTTCGGCGAGGCGGGGCCTGCGAGCGCGGCCACCGAGAATCGGACG GGGGTAGTCTCAAGCTGGCCGGCCTGCTCTGGTGCCTGGCCTCGCGCCGCC GTGTATCGCCCCGCCCTGGGCGGCAAGGCTGGCCCGGTCGGCACCAGTTGC GTGAGCGGAAAGATGGCCGCTTCCCGGCCCTGCTGCAGGGAGCTCAAAATG GAGGACGCGGCGCTCGGGAGAGCGGGCGGGTGAGTCACCCACACAAAGGAA AAGGGCCTTTCCGTCCTCAGCCGTCGCTTCATGTGACTCCACGGAGTACCG GGCGCCGTCCAGGCACCTCGATTAGTTCTCGAGCTTTTGGAGTACGTCGTC TTTAGGTTGGGGGGAGGGGTTTTATGCGATGGAGTTTCCCCACACTGAGTG GGTGGAGACTGAAGTTAGGCCAGCTTGGCACTTGATGTAATTCTCCTTGGA ATTTGCCCTTTTTGAGTTTGGATCTTGGTTCATTCTCAAGCCTCAGACAGT GGTTCAAAGTTTTTTTCTTCCATTTCAGGTGTCGTGAGGAATTCTCTAGAG ATCCCTCGACCTCGAGATCCATTGTGCCCGGGCGCCACCATGGAGTTTGGG CTGAGCTGGCTTTTTCTTGTCGCGATTTTAAAAGGTGTCCAGTGC
237	V2	ACGGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTG AAATCTGGAACTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGA GAGGCCAAAGTACAGTGGAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAACTCC CAGGAGAGTGTCACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGC AGCACCCTGACGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCC TGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAAC AGGGGAGAGTGTTGAGCGGCCGCTCGAGGCCGGCAAGGCCGGATCCCCCGA CCTCGACCTCTGGCTAATAAAGGAAATTTATTTTCATTGCAATAGTGTGTT GGAATTTTTTGTGTCTCTCACTCGGAAGGACATATGGGAGGGCAAATCATT TGGTCGAGATCCCTCGGAGATCTCTAGCTAGAGGATCGATCCCCGCCCCGG ACGAACTAAACCTGACTACGACATCTCTGCCCCTTCTTCGCGGGGCAGTGC ATGTAATCCCTTCAGTTGGTTGGTACAACTTGCCAACTGGGCCCTGTTCCA CATGTGACACGGGGGGGGACCAAACACAAAGGGGTTCTCTGACTGTAGTTG ACATCCTTATAAATGGATGTGCACATTTGCCAACACTGAGTGGCTTTCATC CTGGAGCAGACTTTGCAGTCTGTGGACTGCAACACAACATTGCCTTTATGT GTAACTCTTGGCTGAAGCTCTTACACCAATGCTGGGGGACATGTACCTCCC AGGGGCCCAGGAAGACTACGGGAGGCTACACCAACGTCAATCAGAGGGGCC TGTGTAGCTACCGATAAGCGGACCCTCAAGAGGGCATTAGCAATAGTGTTT ATAAGGCCCCCTTGTTAACCCTAAACGGGTAGCATATGCTTCCCGGGTAGT AGTATATACTATCCAGACTAACCCTAATTCAATAGCATATGTTACCCAACG GGAAGCATATGCTATCGAATTAGGGTTAGTAAAAGGGTCCTAAGGAACAGC GATATCTCCCACCCCATGAGCTGTCACGGTTTTATTTACATGGGGTCAGGA TTCCACGAGGGTAGTGAACCATTTTAGTCACAAGGGCAGTGGCTGAAGATC AAGGAGCGGGCAGTGAACTCTCCTGAATCTTCGCCTGCTTCTTCATTCTCC TTCGTTTAGCTAATAGAATAACTGCTGAGTTGTGAACAGTAAGGTGTATGT GAGGTGCTCGAAAACAAGGTTTCAGGTGACGCCCCCAGAATAAAATTTGGA CGGGGGGTTCAGTGGTGGCATTGTGCTATGACACCAATATAACCCTCACAA ACCCCTTGGGCAATAAATACTAGTGTAGGAATGAAACATTCTGAATATCTT TAACAATAGAAATCCATGGGGTGGGGACAAGCCGTAAAGACTGGATGTCCA TCTCACACGAATTTATGGCTATGGGCAACACATAATCCTAGTGCAATATGA

SEKV ID NR	Vektor navn	Nukleotidsekvenser 12345678901234567890123456789012345678901234567890 1
		TACTGGGGTTATTAAGATGTGTCCCAGGCAGGGACCAAGACAGGTGAACCA TGTTGTTACACTCTATTTGTAACAAGGGGAAAGAGAGTGGACGCCGACAGC AGCGGACTCCACTGGTTGTCTCTAACACCCCCGAAAATTAAACGGGGCTCC ACGCCAATGGGGCCCATAAACAAAGACAAGTGGCCACTCTTTTTTTTGAAA TTGTGGAGTGGGGGCACGCGTCAGCCCCCACACGCCGCCCTGCGGTTTTGG ACTGTAAAATAAGGGTGTAATAACTTGGCTGATTGTAACCCCGCTAACCAC TGCGGTCAAACCACTTGCCCACAAAACCACTAATGGCACCCCGGGGAATAC CTGCATAAGTAGGTGGGCGGGCCAAGATAGGGGCGCGATTGCTGCGATCTG GAGGACAAATTACACACACTTGCGCCTGAGCGCCAAGCACAGGGTTGTTGG TCCTCATATTCACGAGGTCGCTGAGAGCACGGTGGGCTAATGTTGCCATGG GTAGCATATACTACCCAAATATCTGGATAGCATATGCTATCCTAATCTATA TCTGGGTAGCATAGGCTATCCTAATCTATATCTGGGTAGCATATGCTATCC TAATCTATATCTGGGTAGTATATGCTATCCTAATTTATATCTGGGTAGCAT AGGCTATCCTAATCTATATCTGGGTAGCATATGCTATCCTAATCTATATCT GGGTAGTATATGCTATCCTAATCTGTATCCGGGTAGCATATGCTATCCTAA TAGAGATTAGGGTAGTATATGCTATCCTAATTTATATCTGGGTAGCATATA CTACCCAAATATCTGGATAGCATATGCTATCCTAATCTATATCTGGGTAGC ATATGCTATCCTAATCTATATCTGGGTAGCATAGGCTATCCTAATCTATAT CTGGGTAGCATATGCTATCCTAATCTATATCTGGGTAGTATATGCTATCCT AATTTATATCTGGGTAGCATAGGCTATCCTAATCTATATCTGGGTAGCATA TGCTATCCTAATCTATATCTGGGTAGTATATGCTATCCTAATCTGTATCCG GGTAGCATATGCTATCCTCATGATAAGCTGTCAAACATGAGAATTTTCTTG AAGACGAAAGGGCCTCGTGATACGCCTATTTTTATAGGTTAATGTCATGAT AATAATGGTTTCTTAGACGTCAGGTGGCACTTTTCGGGGAAATGTGCGCGG AACCCCTATTTGTTTATTTTTCTAAATACATTCAAATATGTATCCGCTCAT GAGACAATAACCCTGATAAATGCTTCAATAATATTGAAAAAGGAAGAGTAT GAGTATTCAACATTTCCGTGTCGCCCTTATTCCCTTTTTTGCGGCATTTTG CCTTCCTGTTTTTGCTCACCCAGAAACGCTGGTGAAAGTAAAAGATGCTGA AGATCAGTTGGGTGCACGAGTGGGTTACATCGAACTGGATCTCAACAGCGG TAAGATCCTTGAGAGTTTTCGCCCCGAAGAACGTTTTCCAATGATGAGCAC TTTTAAAGTTCTGCTATGTGGCGCGGTATTATCCCGTGTTGACGCCGGGCA AGAGCAACTCGGTCGCCGCATACACTATTCTCAGAATGACTTGGTTGAGTA CTCACCAGTCACAGAAAAGCATCTTACGGATGGCATGACAGTAAGAGAATT ATGCAGTGCTGCCATAACCATGAGTGATAACACTGCGGCCAACTTACTTCT GACAACGATCGGAGGACCGAAGGAGCTAACCGCTTTTTTGCACAACATGGG GGATCATGTAACTCGCCTTGATCGTTGGGAACCGGAGCTGAATGAAGCCAT ACCAAACGACGAGCGTGACACCACGATGCCTGCAGCAATGGCAACAACGTT GCGCAAACTATTAACTGGCGAACTACTTACTCTAGCTTCCCGGCAACAATT AATAGACTGGATGGAGGCGGATAAAGTTGCAGGACCACTTCTGCGCTCGGC CCTTCCGGCTGGCTGGTTTATTGCTGATAAATCTGGAGCCGGTGAGCGTGG GTCTCGCGGTATCATTGCAGCACTGGGGCCAGATGGTAAGCCCTCCCGTAT CGTAGTTATCTACACGACGGGGAGTCAGGCAACTATGGATGAACGAAATAG ACAGATCGCTGAGATAGGTGCCTCACTGATTAAGCATTGGTAACTGTCAGA CCAAGTTTACTCATATATACTTTAGATTGATTTAAAACTTCATTTTTAATT TAAAAGGATCTAGGTGAAGATCCTTTTTGATAATCTCATGACCAAAATCCC TTAACGTGAGTTTTCGTTCCACTGAGCGTCAGACCCCGTAGAAAAGATCAA AGGATCTTCTTGAGATCCTTTTTTTCTGCGCGTAATCTGCTGCTTGCAAAC AAAAAAACCACCGCTACCAGCGGTGGTTTGTTTGCCGGATCAAGAGCTACC AACTCTTTTTCCGAAGGTAACTGGCTTCAGCAGAGCGCAGATACCAAATAC TGTTCTTCTAGTGTAGCCGTAGTTAGGCCACCACTTCAAGAACTCTGTAGC ACCGCCTACATACCTCGCTCTGCTAATCCTGTTACCAGTGGCTGCTGCCAG TGGCGATAAGTCGTGTCTTACCGGGTTGGACTCAAGACGATAGTTACCGGA TAAGGCGCAGCGGTCGGGCTGAACGGGGGGTTCGTGCACACAGCCCAGCTT GGAGCGAACGACCTACACCGAACTGAGATACCTACAGCGTGAGCTATGAGA AAGCGCCACGCTTCCCGAAGGGAGAAAGGCGGACAGGTATCCGGTAAGCGG CAGGGTCGGAACAGGAGAGCGCACGAGGGAGCTTCCAGGGGGAAACGCCTG GTATCTTTATAGTCCTGTCGGGTTTCGCCACCTCTGACTTGAGCGTCGATT TTTGTGATGCTCGTCAGGGGGGCGGAGCCTATGGAAAAACGCCAGCAACGC GGCCTTTTTACGGTTCCTGGCCTTTTGCTGGCCTTTTGCTCACATGTTCTT

SEKV ID NR	Vektor navn	Nukleotidsekvenser 12345678901234567890123456789012345678901
		TCCTGCGTTATCCCCTGATTCTGTGGATAACCGTATTACCGCCTTTGAGTG AGCTGATACCGCTCGCCGCAGCCGAACGACCGAGCGCAGCGAGTCAGTGAG CGAGGAAGCGGAAGAGCGCCCAATACGCAAACCGCCTCTCCCCGCGCGTTG GCCGATTCATTAATGCAGCTGGCACGACAGGTTTCCCGACTGGAAAGCGGG CAGTGAGCGCAACGCAATTAATGTGAGTTAGCTCACTCATTAGGCACCCCA GGCTTTACACTTTATGCTTCCGGCTCGTATGTTGTGTGGAATTGTGAGCGG ATAACAATTTCACACAGGAAACAGCTATGACCATGATTACGCCAAGCTCTA GCTAGAGGTCGAGTCCCTCCCCAGCAGGCAGAAGTATGCAAAGCATGCATC TCAATTAGTCAGCAACCATAGTCCCGCCCCTAACTCCGCCCATCCCGCCCC TAACTCCGCCCAGTTCCGCCCATTCTCCGCCCCATGGCTGACTAATTTTTT TTATTTATGCAGAGGCCGAGGCCGCCTCGGCCTCTGAGCTATTCCAGAAGT AGTGAGGAGGCTTTTTTGGAGGCCTAGGCTTTTGCAAAAAGCTTTGCAAAG ATGGATAAAGTTTTAAACAGAGAGGAATCTTTGCAGCTAATGGACCTTCTA GGTCTTGAAAGGAGTGGGAATTGGCTCCGGTGCCCGTCAGTGGGCAGAGCG CACATCGCCCACAGTCCCCGAGAAGTTGGGGGGAGGGGTCGGCAATTGAAC CGGTGCCTAGAGAAGGTGGCGCGGGGTAAACTGGGAAAGTGATGTCGTGTA CTGGCTCCGCCTTTTTCCCGAGGGTGGGGGAGAACCGTATATAAGTGCAGT AGTCGCCGTGAACGTTCTTTTTCGCAACGGGTTTGCCGCCAGAACACAGGT AAGTGCCGTGTGTGGTTCCCGCGGGCCTGGCCTCTTTACGGGTTATGGCCC TTGCGTGCCTTGAATTACTTCCACCTGGCTGCAGTACGTGATTCTTGATCC CGAGCTTCGGGTTGGAAGTGGGTGGGAGAGTTCGAGGCCTTGCGCTTAAGG AGCCCCTTCGCCTCGTGCTTGAGTTGAGGCCTGGCCTGGGCGCTGGGGCCG CCGCGTGCGAATCTGGTGGCACCTTCGCGCCTGTCTCGCTGCTTTCGATAA GTCTCTAGCCATTTAAAATTTTTGATGACCTGCTGCGACGCTTTTTTTCTG GCAAGATAGTCTTGTAAATGCGGGCCAAGATCTGCACACTGGTATTTCGGT TTTTGGGGCCGCGGGCGGCGACGGGGCCCGTGCGTCCCAGCGCACATGTTC GGCGAGGCGGGGCCTGCGAGCGCGGCCACCGAGAATCGGACGGGGGTAGTC TCAAGCTGGCCGGCCTGCTCTGGTGCCTGGCCTCGCGCCGCCGTGTATCGC CCCGCCCTGGGCGGCAAGGCTGGCCCGGTCGGCACCAGTTGCGTGAGCGGA AAGATGGCCGCTTCCCGGCCCTGCTGCAGGGAGCTCAAAATGGAGGACGCG GCGCTCGGGAGAGCGGGCGGGTGAGTCACCCACACAAAGGAAAAGGGCCTT TCCGTCCTCAGCCGTCGCTTCATGTGACTCCACGGAGTACCGGGCGCCGTC CAGGCACCTCGATTAGTTCTCGAGCTTTTGGAGTACGTCGTCTTTAGGTTG GGGGGAGGGGTTTTATGCGATGGAGTTTCCCCACACTGAGTGGGTGGAGAC TGAAGTTAGGCCAGCTTGGCACTTGATGTAATTCTCCTTGGAATTTGCCCT TTTTGAGTTTGGATCTTGGTTCATTCTCAAGCCTCAGACAGTGGTTCAAAG TTTTTTTCTTCCATTTCAGGTGTCGTGAGGAATTCTCTAGAGATCCCTCGA CCTCGAGATCCATTGTGCCCGGGCGCACCATGGACATGCGCGTGCCCGCCC AGCTGCTGGGCCTGCTGCTGCTGTGGTTCCCCGGCTCGCGATGC
238	V3	CAACCCAAGGCTGCCCCCTCGGTCACTCTGTTCCCGCCCTCCTCTGAGGAG CTTCAAGCCAACAAGGCCACACTGGTGTGTCTCATAAGTGACTTCTACCCG GGAGCCGTGACAGTGGCCTGGAAGGCAGATAGCAGCCCCGTCAAGGCGGGA GTGGAGACCACCACACCCTCCAAACAAAGCAACAACAAGTACGCGGCCAGC AGCTACCTGAGCCTGACGCCTGAGCAGTGGAAGTCCCACAGAAGCTACAGC TGCCAGGTCACGCATGAAGGGAGCACCGTGGAGAAGACAGTGGCCCCTACA GAATGTTCATGAGCGGCCGCTCGAGGCCGGCAAGGCCGGATCCCCCGACCT CGACCTCTGGCTAATAAAGGAAATTTATTTTCATTGCAATAGTGTGTTGGA ATTTTTTGTGTCTCTCACTCGGAAGGACATATGGGAGGGCAAATCATTTGG TCGAGATCCCTCGGAGATCTCTAGCTAGAGGATCGATCCCCGCCCCGGACG AACTAAACCTGACTACGACATCTCTGCCCCTTCTTCGCGGGGCAGTGCATG TAATCCCTTCAGTTGGTTGGTACAACTTGCCAACTGGGCCCTGTTCCACAT GTGACACGGGGGGGGACCAAACACAAAGGGGTTCTCTGACTGTAGTTGACA TCCTTATAAATGGATGTGCACATTTGCCAACACTGAGTGGCTTTCATCCTG GAGCAGACTTTGCAGTCTGTGGACTGCAACACAACATTGCCTTTATGTGTA ACTCTTGGCTGAAGCTCTTACACCAATGCTGGGGGACATGTACCTCCCAGG GGCCCAGGAAGACTACGGGAGGCTACACCAACGTCAATCAGAGGGGCCTGT GTAGCTACCGATAAGCGGACCCTCAAGAGGGCATTAGCAATAGTGTTTATA AGGCCCCCTTGTTAACCCTAAACGGGTAGCATATGCTTCCCGGGTAGTAGT ATATACTATCCAGACTAACCCTAATTCAATAGCATATGTTACCCAACGGGA

SEKV ID NR	Vektor navn	Nukleotidsekvenser 12345678901234567890123456789012345678901234567890 AGCATATGCTATCGAATTAGGGTTAGTAAAAGGGTCCTAAGGAACAGCGAT ATCTCCCACCCCATGAGCTGTCACGGTTTTATTTACATGGGGTCAGGATTC CACGAGGGTAGTGAACCATTTTAGTCACAAGGGCAGTGGCTGAAGATCAAG GAGCGGGCAGTGAACTCTCCTGAATCTTCGCCTGCTTCTTCATTCTCCTTC GTTTAGCTAATAGAATAACTGCTGAGTTGTGAACAGTAAGGTGTATGTGAG GTGCTCGAAAACAAGGTTTCAGGTGACGCCCCCAGAATAAAATTTGGACGG GGGGTTCAGTGGTGGCATTGTGCTATGACACCAATATAACCCTCACAAACC CCTTGGGCAATAAATACTAGTGTAGGAATGAAACATTCTGAATATCTTTAA CAATAGAAATCCATGGGGTGGGGACAAGCCGTAAAGACTGGATGTCCATCT CACACGAATTTATGGCTATGGGCAACACATAATCCTAGTGCAATATGATAC TGGGGTTATTAAGATGTGTCCCAGGCAGGGACCAAGACAGGTGAACCATGT TGTTACACTCTATTTGTAACAAGGGGAAAGAGAGTGGACGCCGACAGCAGC GGACTCCACTGGTTGTCTCTAACACCCCCGAAAATTAAACGGGGCTCCACG CCAATGGGGCCCATAAACAAAGACAAGTGGCCACTCTTTTTTTTGAAATTG TGGAGTGGGGGCACGCGTCAGCCCCCACACGCCGCCCTGCGGTTTTGGACT GTAAAATAAGGGTGTAATAACTTGGCTGATTGTAACCCCGCTAACCACTGC GGTCAAACCACTTGCCCACAAAACCACTAATGGCACCCCGGGGAATACCTG CATAAGTAGGTGGGCGGGCCAAGATAGGGGCGCGATTGCTGCGATCTGGAG GACAAATTACACACACTTGCGCCTGAGCGCCAAGCACAGGGTTGTTGGTCC TCATATTCACGAGGTCGCTGAGAGCACGGTGGGCTAATGTTGCCATGGGTA GCATATACTACCCAAATATCTGGATAGCATATGCTATCCTAATCTATATCT GGGTAGCATAGGCTATCCTAATCTATATCTGGGTAGCATATGCTATCCTAA TCTATATCTGGGTAGTATATGCTATCCTAATTTATATCTGGGTAGCATAGG CTATCCTAATCTATATCTGGGTAGCATATGCTATCCTAATCTATATCTGGG TAGTATATGCTATCCTAATCTGTATCCGGGTAGCATATGCTATCCTAATAG AGATTAGGGTAGTATATGCTATCCTAATTTATATCTGGGTAGCATATACTA CCCAAATATCTGGATAGCATATGCTATCCTAATCTATATCTGGGTAGCATA TGCTATCCTAATCTATATCTGGGTAGCATAGGCTATCCTAATCTATATCTG GGTAGCATATGCTATCCTAATCTATATCTGGGTAGTATATGCTATCCTAAT TTATATCTGGGTAGCATAGGCTATCCTAATCTATATCTGGGTAGCATATGC TATCCTAATCTATATCTGGGTAGTATATGCTATCCTAATCTGTATCCGGGT AGCATATGCTATCCTCATGATAAGCTGTCAAACATGAGAATTTTCTTGAAG ACGAAAGGGCCTCGTGATACGCCTATTTTTATAGGTTAATGTCATGATAAT AATGGTTTCTTAGACGTCAGGTGGCACTTTTCGGGGAAATGTGCGCGGAAC CCCTATTTGTTTATTTTTCTAAATACATTCAAATATGTATCCGCTCATGAG ACAATAACCCTGATAAATGCTTCAATAATATTGAAAAAGGAAGAGTATGAG TATTCAACATTTCCGTGTCGCCCTTATTCCCTTTTTTGCGGCATTTTGCCT TCCTGTTTTTGCTCACCCAGAAACGCTGGTGAAAGTAAAAGATGCTGAAGA TCAGTTGGGTGCACGAGTGGGTTACATCGAACTGGATCTCAACAGCGGTAA GATCCTTGAGAGTTTTCGCCCCGAAGAACGTTTTCCAATGATGAGCACTTT TAAAGTTCTGCTATGTGGCGCGGTATTATCCCGTGTTGACGCCGGGCAAGA GCAACTCGGTCGCCGCATACACTATTCTCAGAATGACTTGGTTGAGTACTC ACCAGTCACAGAAAAGCATCTTACGGATGGCATGACAGTAAGAGAATTATG CAGTGCTGCCATAACCATGAGTGATAACACTGCGGCCAACTTACTTCTGAC AACGATCGGAGGACCGAAGGAGCTAACCGCTTTTTTGCACAACATGGGGGA TCATGTAACTCGCCTTGATCGTTGGGAACCGGAGCTGAATGAAGCCATACC AAACGACGAGCGTGACACCACGATGCCTGCAGCAATGGCAACAACGTTGCG CAAACTATTAACTGGCGAACTACTTACTCTAGCTTCCCGGCAACAATTAAT AGACTGGATGGAGGCGGATAAAGTTGCAGGACCACTTCTGCGCTCGGCCCT TCCGGCTGGCTGGTTTATTGCTGATAAATCTGGAGCCGGTGAGCGTGGGTC TCGCGGTATCATTGCAGCACTGGGGCCAGATGGTAAGCCCTCCCGTATCGT AGTTATCTACACGACGGGGAGTCAGGCAACTATGGATGAACGAAATAGACA GATCGCTGAGATAGGTGCCTCACTGATTAAGCATTGGTAACTGTCAGACCA AGTTTACTCATATATACTTTAGATTGATTTAAAACTTCATTTTTAATTTAA AAGGATCTAGGTGAAGATCCTTTTTGATAATCTCATGACCAAAATCCCTTA ACGTGAGTTTTCGTTCCACTGAGCGTCAGACCCCGTAGAAAAGATCAAAGG ATCTTCTTGAGATCCTTTTTTTCTGCGCGTAATCTGCTGCTTGCAAACAAA AAAACCACCGCTACCAGCGGTGGTTTGTTTGCCGGATCAAGAGCTACCAAC TCTTTTTCCGAAGGTAACTGGCTTCAGCAGAGCGCAGATACCAAATACTGT

SEKV ID NR	Vektor navn	Nukleotidsekvenser 12345678901234567890123456789012345678901
		TCTTCTAGTGTAGCCGTAGTTAGGCCACCACTTCAAGAACTCTGTAGCACC GCCTACATACCTCGCTCTGCTAATCCTGTTACCAGTGGCTGCTGCCAGTGG CGATAAGTCGTGTCTTACCGGGTTGGACTCAAGACGATAGTTACCGGATAA GGCGCAGCGGTCGGGCTGAACGGGGGGTTCGTGCACACAGCCCAGCTTGGA GCGAACGACCTACACCGAACTGAGATACCTACAGCGTGAGCTATGAGAAAG CGCCACGCTTCCCGAAGGGAGAAAGGCGGACAGGTATCCGGTAAGCGGCAG GGTCGGAACAGGAGAGCGCACGAGGGAGCTTCCAGGGGGAAACGCCTGGTA TCTTTATAGTCCTGTCGGGTTTCGCCACCTCTGACTTGAGCGTCGATTTTT GTGATGCTCGTCAGGGGGGCGGAGCCTATGGAAAAACGCCAGCAACGCGGC CTTTTTACGGTTCCTGGCCTTTTGCTGGCCTTTTGCTCACATGTTCTTTCC TGCGTTATCCCCTGATTCTGTGGATAACCGTATTACCGCCTTTGAGTGAGC TGATACCGCTCGCCGCAGCCGAACGACCGAGCGCAGCGAGTCAGTGAGCGA GGAAGCGGAAGAGCGCCCAATACGCAAACCGCCTCTCCCCGCGCGTTGGCC GATTCATTAATGCAGCTGGCACGACAGGTTTCCCGACTGGAAAGCGGGCAG TGAGCGCAACGCAATTAATGTGAGTTAGCTCACTCATTAGGCACCCCAGGC TTTACACTTTATGCTTCCGGCTCGTATGTTGTGTGGAATTGTGAGCGGATA ACAATTTCACACAGGAAACAGCTATGACCATGATTACGCCAAGCTCTAGCT AGAGGTCGAGTCCCTCCCCAGCAGGCAGAAGTATGCAAAGCATGCATCTCA ATTAGTCAGCAACCATAGTCCCGCCCCTAACTCCGCCCATCCCGCCCCTAA CTCCGCCCAGTTCCGCCCATTCTCCGCCCCATGGCTGACTAATTTTTTTTA TTTATGCAGAGGCCGAGGCCGCCTCGGCCTCTGAGCTATTCCAGAAGTAGT GAGGAGGCTTTTTTGGAGGCCTAGGCTTTTGCAAAAAGCTTTGCAAAGATG GATAAAGTTTTAAACAGAGAGGAATCTTTGCAGCTAATGGACCTTCTAGGT CTTGAAAGGAGTGGGAATTGGCTCCGGTGCCCGTCAGTGGGCAGAGCGCAC ATCGCCCACAGTCCCCGAGAAGTTGGGGGGAGGGGTCGGCAATTGAACCGG TGCCTAGAGAAGGTGGCGCGGGGTAAACTGGGAAAGTGATGTCGTGTACTG GCTCCGCCTTTTTCCCGAGGGTGGGGGAGAACCGTATATAAGTGCAGTAGT CGCCGTGAACGTTCTTTTTCGCAACGGGTTTGCCGCCAGAACACAGGTAAG TGCCGTGTGTGGTTCCCGCGGGCCTGGCCTCTTTACGGGTTATGGCCCTTG CGTGCCTTGAATTACTTCCACCTGGCTGCAGTACGTGATTCTTGATCCCGA GCTTCGGGTTGGAAGTGGGTGGGAGAGTTCGAGGCCTTGCGCTTAAGGAGC CCCTTCGCCTCGTGCTTGAGTTGAGGCCTGGCCTGGGCGCTGGGGCCGCCG CGTGCGAATCTGGTGGCACCTTCGCGCCTGTCTCGCTGCTTTCGATAAGTC TCTAGCCATTTAAAATTTTTGATGACCTGCTGCGACGCTTTTTTTCTGGCA AGATAGTCTTGTAAATGCGGGCCAAGATCTGCACACTGGTATTTCGGTTTT TGGGGCCGCGGGCGGCGACGGGGCCCGTGCGTCCCAGCGCACATGTTCGGC GAGGCGGGGCCTGCGAGCGCGGCCACCGAGAATCGGACGGGGGTAGTCTCA AGCTGGCCGGCCTGCTCTGGTGCCTGGCCTCGCGCCGCCGTGTATCGCCCC GCCCTGGGCGGCAAGGCTGGCCCGGTCGGCACCAGTTGCGTGAGCGGAAAG ATGGCCGCTTCCCGGCCCTGCTGCAGGGAGCTCAAAATGGAGGACGCGGCG CTCGGGAGAGCGGGCGGGTGAGTCACCCACACAAAGGAAAAGGGCCTTTCC GTCCTCAGCCGTCGCTTCATGTGACTCCACGGAGTACCGGGCGCCGTCCAG GCACCTCGATTAGTTCTCGAGCTTTTGGAGTACGTCGTCTTTAGGTTGGGG GGAGGGGTTTTATGCGATGGAGTTTCCCCACACTGAGTGGGTGGAGACTGA AGTTAGGCCAGCTTGGCACTTGATGTAATTCTCCTTGGAATTTGCCCTTTT TGAGTTTGGATCTTGGTTCATTCTCAAGCCTCAGACAGTGGTTCAAAGTTT TTTTCTTCCATTTCAGGTGTCGTGAGGAATTCTCTAGAGATCCCTCGACCT CGAGATCCATTGTGCCCGGGCGCCACCATGACTTGGACCCCACTCCTCTTC CTCACCCTCCTCCTCCACTGCACAGGAAGCTTATCG
239	V4	ACGGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTG AAATCTGGAACTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGA GAGGCCAAAGTACAGTGGAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAACTCC CAGGAGAGTGTCACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGC AGCACCCTGACGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCC TGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAAC AGGGGAGAGTGTTGAGCGGCCGCTCGAGGCCGGCAAGGCCGGATCCCCCGA CCTCGACCTCTGGCTAATAAAGGAAATTTATTTTCATTGCAATAGTGTGTT GGAATTTTTTGTGTCTCTCACTCGGAAGGACATATGGGAGGGCAAATCATT TGGTCGAGATCCCTCGGAGATCTCTAGCTAGAGGATCGATCCCCGCCCCGG

SEKV ID NR	Vektor navn	Nukleotidsekvenser 12345678901234567890123456789012345678901234567890 1
		ACGAACTAAACCTGACTACGACATCTCTGCCCCTTCTTCGCGGGGCAGTGC
		ATGTAATCCCTTCAGTTGGTTGGTACAACTTGCCAACTGGGCCCTGTTCCA
		CATGTGACACGGGGGGGGACCAAACACAAAGGGGTTCTCTGACTGTAGTTG
		ACATCCTTATAAATGGATGTGCACATTTGCCAACACTGAGTGGCTTTCATC
		CTGGAGCAGACTTTGCAGTCTGTGGACTGCAACACAACATTGCCTTTATGT
		GTAACTCTTGGCTGAAGCTCTTACACCAATGCTGGGGGACATGTACCTCCC
		AGGGGCCCAGGAAGACTACGGGAGGCTACACCAACGTCAATCAGAGGGGCC
		TGTGTAGCTACCGATAAGCGGACCCTCAAGAGGGCATTAGCAATAGTGTTT
		ATAAGGCCCCCTTGTTAACCCTAAACGGGTAGCATATGCTTCCCGGGTAGT
		AGTATATACTATCCAGACTAACCCTAATTCAATAGCATATGTTACCCAACG
		GGAAGCATATGCTATCGAATTAGGGTTAGTAAAAGGGTCCTAAGGAACAGC
		GATATCTCCCACCCCATGAGCTGTCACGGTTTTATTTACATGGGGTCAGGA
		TTCCACGAGGGTAGTGAACCATTTTAGTCACAAGGGCAGTGGCTGAAGATC
		AAGGAGCGGGCAGTGAACTCTCCTGAATCTTCGCCTGCTTCTTCATTCTCC
		TTCGTTTAGCTAATAGAATAACTGCTGAGTTGTGAACAGTAAGGTGTATGT
		GAGGTGCTCGAAAACAAGGTTTCAGGTGACGCCCCCAGAATAAAATTTGGA
		CGGGGGGTTCAGTGGTGGCATTGTGCTATGACACCAATATAACCCTCACAA
		ACCCCTTGGGCAATAAATACTAGTGTAGGAATGAAACATTCTGAATATCTT
		TAACAATAGAAATCCATGGGGTGGGGACAAGCCGTAAAGACTGGATGTCCA
		TCTCACACGAATTTATGGCTATGGGCAACACATAATCCTAGTGCAATATGA
		TACTGGGGTTATTAAGATGTGTCCCAGGCAGGGACCAAGACAGGTGAACCA
		TGTTGTTACACTCTATTTGTAACAAGGGGAAAGAGAGTGGACGCCGACAGC
		AGCGGACTCCACTGGTTGTCTCTAACACCCCCGAAAATTAAACGGGGCTCC
		ACGCCAATGGGGCCCATAAACAAAGACAAGTGGCCACTCTTTTTTTTGAAA
		TTGTGGAGTGGGGGCACGCGTCAGCCCCCACACGCCGCCCTGCGGTTTTGG
		ACTGTAAAATAAGGGTGTAATAACTTGGCTGATTGTAACCCCGCTAACCAC
		TGCGGTCAAACCACTTGCCCACAAAACCACTAATGGCACCCCGGGGAATAC
		CTGCATAAGTAGGTGGGCGGGCCAAGATAGGGGCGCGATTGCTGCGATCTG
		GAGGACAAATTACACACACTTGCGCCTGAGCGCCAAGCACAGGGTTGTTGG
		TCCTCATATTCACGAGGTCGCTGAGAGCACGGTGGGCTAATGTTGCCATGG
		GTAGCATATACTACCCAAATATCTGGATAGCATATGCTATCCTAATCTATA
		TCTGGGTAGCATAGGCTATCCTAATCTATATCTGGGTAGCATATGCTATCC
		TAATCTATATCTGGGTAGTATATGCTATCCTAATTTATATCTGGGTAGCAT
		AGGCTATCCTAATCTATATCTGGGTAGCATATGCTATCCTAATCTATATCT
		GGGTAGTATATGCTATCCTAATCTGTATCCGGGTAGCATATGCTATCCTAA
		TAGAGATTAGGGTAGTATATGCTATCCTAATTTATATCTGGGTAGCATATA
		CTACCCAAATATCTGGATAGCATATGCTATCCTAATCTATATCTGGGTAGC
		ATATGCTATCCTAATCTATATCTGGGTAGCATAGGCTATCCTAATCTATAT
		CTGGGTAGCATATGCTATCCTAATCTATATCTGGGTAGTATATGCTATCCT
		AATTTATATCTGGGTAGCATAGGCTATCCTAATCTATATCTGGGTAGCATA
		TGCTATCCTAATCTATATCTGGGTAGTATATGCTATCCTAATCTGTATCCG
		GGTAGCATATGCTATCCTCATGATAAGCTGTCAAACATGAGAATTTTCTTG
		AAGACGAAAGGGCCTCGTGATACGCCTATTTTTATAGGTTAATGTCATGAT
		AATAATGGTTTCTTAGACGTCAGGTGGCACTTTTCGGGGAAATGTGCGCGG
		AACCCCTATTTGTTTATTTTTCTAAATACATTCAAATATGTATCCGCTCAT
		GAGACAATAACCCTGATAAATGCTTCAATAATATTGAAAAAGGAAGAGTAT
		GAGTATTCAACATTTCCGTGTCGCCCTTATTCCCTTTTTTGCGGCATTTTG
		CCTTCCTGTTTTTGCTCACCCAGAAACGCTGGTGAAAGTAAAAGATGCTGA
		AGATCAGTTGGGTGCACGAGTGGGTTACATCGAACTGGATCTCAACAGCGG
		TAAGATCCTTGAGAGTTTTCGCCCCGAAGAACGTTTTCCAATGATGAGCAC
		TTTTAAAGTTCTGCTATGTGGCGCGGTATTATCCCGTGTTGACGCCGGGCA
		AGAGCAACTCGGTCGCCGCATACACTATTCTCAGAATGACTTGGTTGAGTA
		CTCACCAGTCACAGAAAAGCATCTTACGGATGGCATGACAGTAAGAGAATT
		ATGCAGTGCTGCCATAACCATGAGTGATAACACTGCGGCCAACTTACTTCT
		GACAACGATCGGAGGACCGAAGGAGCTAACCGCTTTTTTGCACAACATGGG
		GGATCATGTAACTCGCCTTGATCGTTGGGAACCGGAGCTGAATGAAGCCAT
		ACCAAACGACGAGCGTGACACCACGATGCCTGCAGCAATGGCAACAACGTT
		GCGCAAACTATTAACTGGCGAACTACTTACTCTAGCTTCCCGGCAACAATT
		AATAGACTGGATGGAGGCGGATAAAGTTGCAGGACCACTTCTGCGCTCGGC

SEKV ID NR	Vektor navn	Nukleotidsekvenser 12345678901234567890123456789012345678901234567890 CCTTCCGGCTGGCTGGTTTATTGCTGATAAATCTGGAGCCGGTGAGCGTGG GTCTCGCGGTATCATTGCAGCACTGGGGCCAGATGGTAAGCCCTCCCGTAT CGTAGTTATCTACACGACGGGGAGTCAGGCAACTATGGATGAACGAAATAG ACAGATCGCTGAGATAGGTGCCTCACTGATTAAGCATTGGTAACTGTCAGA CCAAGTTTACTCATATATACTTTAGATTGATTTAAAACTTCATTTTTAATT TAAAAGGATCTAGGTGAAGATCCTTTTTGATAATCTCATGACCAAAATCCC TTAACGTGAGTTTTCGTTCCACTGAGCGTCAGACCCCGTAGAAAAGATCAA AGGATCTTCTTGAGATCCTTTTTTTCTGCGCGTAATCTGCTGCTTGCAAAC AAAAAAACCACCGCTACCAGCGGTGGTTTGTTTGCCGGATCAAGAGCTACC AACTCTTTTTCCGAAGGTAACTGGCTTCAGCAGAGCGCAGATACCAAATAC TGTTCTTCTAGTGTAGCCGTAGTTAGGCCACCACTTCAAGAACTCTGTAGC ACCGCCTACATACCTCGCTCTGCTAATCCTGTTACCAGTGGCTGCTGCCAG TGGCGATAAGTCGTGTCTTACCGGGTTGGACTCAAGACGATAGTTACCGGA TAAGGCGCAGCGGTCGGGCTGAACGGGGGGTTCGTGCACACAGCCCAGCTT GGAGCGAACGACCTACACCGAACTGAGATACCTACAGCGTGAGCTATGAGA AAGCGCCACGCTTCCCGAAGGGAGAAAGGCGGACAGGTATCCGGTAAGCGG CAGGGTCGGAACAGGAGAGCGCACGAGGGAGCTTCCAGGGGGAAACGCCTG GTATCTTTATAGTCCTGTCGGGTTTCGCCACCTCTGACTTGAGCGTCGATT TTTGTGATGCTCGTCAGGGGGGCGGAGCCTATGGAAAAACGCCAGCAACGC GGCCTTTTTACGGTTCCTGGCCTTTTGCTGGCCTTTTGCTCACATGTTCTT TCCTGCGTTATCCCCTGATTCTGTGGATAACCGTATTACCGCCTTTGAGTG AGCTGATACCGCTCGCCGCAGCCGAACGACCGAGCGCAGCGAGTCAGTGAG CGAGGAAGCGGAAGAGCGCCCAATACGCAAACCGCCTCTCCCCGCGCGTTG GCCGATTCATTAATGCAGCTGGCACGACAGGTTTCCCGACTGGAAAGCGGG CAGTGAGCGCAACGCAATTAATGTGAGTTAGCTCACTCATTAGGCACCCCA GGCTTTACACTTTATGCTTCCGGCTCGTATGTTGTGTGGAATTGTGAGCGG ATAACAATTTCACACAGGAAACAGCTATGACCATGATTACGCCAAGCTCTA GCTAGAGGTCGAGTCCCTCCCCAGCAGGCAGAAGTATGCAAAGCATGCATC TCAATTAGTCAGCAACCATAGTCCCGCCCCTAACTCCGCCCATCCCGCCCC TAACTCCGCCCAGTTCCGCCCATTCTCCGCCCCATGGCTGACTAATTTTTT TTATTTATGCAGAGGCCGAGGCCGCCTCGGCCTCTGAGCTATTCCAGAAGT AGTGAGGAGGCTTTTTTGGAGGCCTAGGCTTTTGCAAAAAGCTTTGCAAAG ATGGATAAAGTTTTAAACAGAGAGGAATCTTTGCAGCTAATGGACCTTCTA GGTCTTGAAAGGAGTGGGAATTGGCTCCGGTGCCCGTCAGTGGGCAGAGCG CACATCGCCCACAGTCCCCGAGAAGTTGGGGGGAGGGGTCGGCAATTGAAC CGGTGCCTAGAGAAGGTGGCGCGGGGTAAACTGGGAAAGTGATGTCGTGTA CTGGCTCCGCCTTTTTCCCGAGGGTGGGGGAGAACCGTATATAAGTGCAGT AGTCGCCGTGAACGTTCTTTTTCGCAACGGGTTTGCCGCCAGAACACAGGT AAGTGCCGTGTGTGGTTCCCGCGGGCCTGGCCTCTTTACGGGTTATGGCCC TTGCGTGCCTTGAATTACTTCCACCTGGCTGCAGTACGTGATTCTTGATCC CGAGCTTCGGGTTGGAAGTGGGTGGGAGAGTTCGAGGCCTTGCGCTTAAGG AGCCCCTTCGCCTCGTGCTTGAGTTGAGGCCTGGCCTGGGCGCTGGGGCCG CCGCGTGCGAATCTGGTGGCACCTTCGCGCCTGTCTCGCTGCTTTCGATAA GTCTCTAGCCATTTAAAATTTTTGATGACCTGCTGCGACGCTTTTTTTCTG GCAAGATAGTCTTGTAAATGCGGGCCAAGATCTGCACACTGGTATTTCGGT TTTTGGGGCCGCGGGCGGCGACGGGGCCCGTGCGTCCCAGCGCACATGTTC GGCGAGGCGGGGCCTGCGAGCGCGGCCACCGAGAATCGGACGGGGGTAGTC TCAAGCTGGCCGGCCTGCTCTGGTGCCTGGCCTCGCGCCGCCGTGTATCGC CCCGCCCTGGGCGGCAAGGCTGGCCCGGTCGGCACCAGTTGCGTGAGCGGA AAGATGGCCGCTTCCCGGCCCTGCTGCAGGGAGCTCAAAATGGAGGACGCG GCGCTCGGGAGAGCGGGCGGGTGAGTCACCCACACAAAGGAAAAGGGCCTT TCCGTCCTCAGCCGTCGCTTCATGTGACTCCACGGAGTACCGGGCGCCGTC CAGGCACCTCGATTAGTTCTCGAGCTTTTGGAGTACGTCGTCTTTAGGTTG GGGGGAGGGGTTTTATGCGATGGAGTTTCCCCACACTGAGTGGGTGGAGAC TGAAGTTAGGCCAGCTTGGCACTTGATGTAATTCTCCTTGGAATTTGCCCT TTTTGAGTTTGGATCTTGGTTCATTCTCAAGCCTCAGACAGTGGTTCAAAG TTTTTTTCTTCCATTTCAGGTGTCGTGAGGAATTCTCTAGAGATCCCTCGA CCTCGAGATCCATTGTGCCCGGGCGCACCATGACTTGGACCCCACTCCTCT TCCTCACCCTCCTCCTCCACTGCACAGGAAGCTTATCG

SEKV ID NR	Vektor navn	Nukleotidsekvenser 12345678901234567890123456789012345678901
240	V5	CAACCCAAGGCTGCCCCCTCGGTCACTCTGTTCCCGCCCTCCTCTGAGGAG CTTCAAGCCAACAAGGCCACACTGGTGTGTCTCATAAGTGACTTCTACCCG GGAGCCGTGACAGTGGCCTGGAAGGCAGATAGCAGCCCCGTCAAGGCGGGA GTGGAGACCACCACACCCTCCAAACAAAGCAACAACAAGTACGCGGCCAGC AGCTACCTGAGCCTGACGCCTGAGCAGTGGAAGTCCCACAGAAGCTACAGC TGCCAGGTCACGCATGAAGGGAGCACCGTGGAGAAGACAGTGGCCCCTACA GAATGTTCATGAGCGGCCGCTCGAGGCCGGCAAGGCCGGATCCCCCGACCT CGACCTCTGGCTAATAAAGGAAATTTATTTTCATTGCAATAGTGTGTTGGA ATTTTTTGTGTCTCTCACTCGGAAGGACATATGGGAGGGCAAATCATTTGG TCGAGATCCCTCGGAGATCTCTAGCTAGAGGATCGATCCCCGCCCCGGACG AACTAAACCTGACTACGACATCTCTGCCCCTTCTTCGCGGGGCAGTGCATG TAATCCCTTCAGTTGGTTGGTACAACTTGCCAACTGGGCCCTGTTCCACAT GTGACACGGGGGGGGACCAAACACAAAGGGGTTCTCTGACTGTAGTTGACA TCCTTATAAATGGATGTGCACATTTGCCAACACTGAGTGGCTTTCATCCTG GAGCAGACTTTGCAGTCTGTGGACTGCAACACAACATTGCCTTTATGTGTA ACTCTTGGCTGAAGCTCTTACACCAATGCTGGGGGACATGTACCTCCCAGG GGCCCAGGAAGACTACGGGAGGCTACACCAACGTCAATCAGAGGGGCCTGT GTAGCTACCGATAAGCGGACCCTCAAGAGGGCATTAGCAATAGTGTTTATA AGGCCCCCTTGTTAACCCTAAACGGGTAGCATATGCTTCCCGGGTAGTAGT ATATACTATCCAGACTAACCCTAATTCAATAGCATATGTTACCCAACGGGA AGCATATGCTATCGAATTAGGGTTAGTAAAAGGGTCCTAAGGAACAGCGAT ATCTCCCACCCCATGAGCTGTCACGGTTTTATTTACATGGGGTCAGGATTC CACGAGGGTAGTGAACCATTTTAGTCACAAGGGCAGTGGCTGAAGATCAAG GAGCGGGCAGTGAACTCTCCTGAATCTTCGCCTGCTTCTTCATTCTCCTTC GTTTAGCTAATAGAATAACTGCTGAGTTGTGAACAGTAAGGTGTATGTGAG GTGCTCGAAAACAAGGTTTCAGGTGACGCCCCCAGAATAAAATTTGGACGG GGGGTTCAGTGGTGGCATTGTGCTATGACACCAATATAACCCTCACAAACC CCTTGGGCAATAAATACTAGTGTAGGAATGAAACATTCTGAATATCTTTAA CAATAGAAATCCATGGGGTGGGGACAAGCCGTAAAGACTGGATGTCCATCT CACACGAATTTATGGCTATGGGCAACACATAATCCTAGTGCAATATGATAC TGGGGTTATTAAGATGTGTCCCAGGCAGGGACCAAGACAGGTGAACCATGT TGTTACACTCTATTTGTAACAAGGGGAAAGAGAGTGGACGCCGACAGCAGC GGACTCCACTGGTTGTCTCTAACACCCCCGAAAATTAAACGGGGCTCCACG CCAATGGGGCCCATAAACAAAGACAAGTGGCCACTCTTTTTTTTGAAATTG TGGAGTGGGGGCACGCGTCAGCCCCCACACGCCGCCCTGCGGTTTTGGACT GTAAAATAAGGGTGTAATAACTTGGCTGATTGTAACCCCGCTAACCACTGC GGTCAAACCACTTGCCCACAAAACCACTAATGGCACCCCGGGGAATACCTG CATAAGTAGGTGGGCGGGCCAAGATAGGGGCGCGATTGCTGCGATCTGGAG GACAAATTACACACACTTGCGCCTGAGCGCCAAGCACAGGGTTGTTGGTCC TCATATTCACGAGGTCGCTGAGAGCACGGTGGGCTAATGTTGCCATGGGTA GCATATACTACCCAAATATCTGGATAGCATATGCTATCCTAATCTATATCT GGGTAGCATAGGCTATCCTAATCTATATCTGGGTAGCATATGCTATCCTAA TCTATATCTGGGTAGTATATGCTATCCTAATTTATATCTGGGTAGCATAGG CTATCCTAATCTATATCTGGGTAGCATATGCTATCCTAATCTATATCTGGG TAGTATATGCTATCCTAATCTGTATCCGGGTAGCATATGCTATCCTAATAG AGATTAGGGTAGTATATGCTATCCTAATTTATATCTGGGTAGCATATACTA CCCAAATATCTGGATAGCATATGCTATCCTAATCTATATCTGGGTAGCATA TGCTATCCTAATCTATATCTGGGTAGCATAGGCTATCCTAATCTATATCTG GGTAGCATATGCTATCCTAATCTATATCTGGGTAGTATATGCTATCCTAAT TTATATCTGGGTAGCATAGGCTATCCTAATCTATATCTGGGTAGCATATGC TATCCTAATCTATATCTGGGTAGTATATGCTATCCTAATCTGTATCCGGGT AGCATATGCTATCCTCATGATAAGCTGTCAAACATGAGAATTTTCTTGAAG ACGAAAGGGCCTCGTGATACGCCTATTTTTATAGGTTAATGTCATGATAAT AATGGTTTCTTAGACGTCAGGTGGCACTTTTCGGGGAAATGTGCGCGGAAC CCCTATTTGTTTATTTTTCTAAATACATTCAAATATGTATCCGCTCATGAG ACAATAACCCTGATAAATGCTTCAATAATATTGAAAAAGGAAGAGTATGAG TATTCAACATTTCCGTGTCGCCCTTATTCCCTTTTTTGCGGCATTTTGCCT TCCTGTTTTTGCTCACCCAGAAACGCTGGTGAAAGTAAAAGATGCTGAAGA TCAGTTGGGTGCACGAGTGGGTTACATCGAACTGGATCTCAACAGCGGTAA

SEKV ID NR	Vektor navn	Nukleotidsekvenser 12345678901234567890123456789012345678901
		GATCCTTGAGAGTTTTCGCCCCGAAGAACGTTTTCCAATGATGAGCACTTT TAAAGTTCTGCTATGTGGCGCGGTATTATCCCGTGTTGACGCCGGGCAAGA GCAACTCGGTCGCCGCATACACTATTCTCAGAATGACTTGGTTGAGTACTC ACCAGTCACAGAAAAGCATCTTACGGATGGCATGACAGTAAGAGAATTATG CAGTGCTGCCATAACCATGAGTGATAACACTGCGGCCAACTTACTTCTGAC AACGATCGGAGGACCGAAGGAGCTAACCGCTTTTTTGCACAACATGGGGGA TCATGTAACTCGCCTTGATCGTTGGGAACCGGAGCTGAATGAAGCCATACC AAACGACGAGCGTGACACCACGATGCCTGCAGCAATGGCAACAACGTTGCG CAAACTATTAACTGGCGAACTACTTACTCTAGCTTCCCGGCAACAATTAAT AGACTGGATGGAGGCGGATAAAGTTGCAGGACCACTTCTGCGCTCGGCCCT TCCGGCTGGCTGGTTTATTGCTGATAAATCTGGAGCCGGTGAGCGTGGGTC TCGCGGTATCATTGCAGCACTGGGGCCAGATGGTAAGCCCTCCCGTATCGT AGTTATCTACACGACGGGGAGTCAGGCAACTATGGATGAACGAAATAGACA GATCGCTGAGATAGGTGCCTCACTGATTAAGCATTGGTAACTGTCAGACCA AGTTTACTCATATATACTTTAGATTGATTTAAAACTTCATTTTTAATTTAA AAGGATCTAGGTGAAGATCCTTTTTGATAATCTCATGACCAAAATCCCTTA ACGTGAGTTTTCGTTCCACTGAGCGTCAGACCCCGTAGAAAAGATCAAAGG ATCTTCTTGAGATCCTTTTTTTCTGCGCGTAATCTGCTGCTTGCAAACAAA AAAACCACCGCTACCAGCGGTGGTTTGTTTGCCGGATCAAGAGCTACCAAC TCTTTTTCCGAAGGTAACTGGCTTCAGCAGAGCGCAGATACCAAATACTGT TCTTCTAGTGTAGCCGTAGTTAGGCCACCACTTCAAGAACTCTGTAGCACC GCCTACATACCTCGCTCTGCTAATCCTGTTACCAGTGGCTGCTGCCAGTGG CGATAAGTCGTGTCTTACCGGGTTGGACTCAAGACGATAGTTACCGGATAA GGCGCAGCGGTCGGGCTGAACGGGGGGTTCGTGCACACAGCCCAGCTTGGA GCGAACGACCTACACCGAACTGAGATACCTACAGCGTGAGCTATGAGAAAG CGCCACGCTTCCCGAAGGGAGAAAGGCGGACAGGTATCCGGTAAGCGGCAG GGTCGGAACAGGAGAGCGCACGAGGGAGCTTCCAGGGGGAAACGCCTGGTA TCTTTATAGTCCTGTCGGGTTTCGCCACCTCTGACTTGAGCGTCGATTTTT GTGATGCTCGTCAGGGGGGCGGAGCCTATGGAAAAACGCCAGCAACGCGGC CTTTTTACGGTTCCTGGCCTTTTGCTGGCCTTTTGCTCACATGTTCTTTCC TGCGTTATCCCCTGATTCTGTGGATAACCGTATTACCGCCTTTGAGTGAGC TGATACCGCTCGCCGCAGCCGAACGACCGAGCGCAGCGAGTCAGTGAGCGA GGAAGCGGAAGAGCGCCCAATACGCAAACCGCCTCTCCCCGCGCGTTGGCC GATTCATTAATGCAGCTGGCACGACAGGTTTCCCGACTGGAAAGCGGGCAG TGAGCGCAACGCAATTAATGTGAGTTAGCTCACTCATTAGGCACCCCAGGC TTTACACTTTATGCTTCCGGCTCGTATGTTGTGTGGAATTGTGAGCGGATA ACAATTTCACACAGGAAACAGCTATGACCATGATTACGCCAAGCTCTAGCT AGAGGTCGAGTCCCTCCCCAGCAGGCAGAAGTATGCAAAGCATGCATCTCA ATTAGTCAGCAACCATAGTCCCGCCCCTAACTCCGCCCATCCCGCCCCTAA CTCCGCCCAGTTCCGCCCATTCTCCGCCCCATGGCTGACTAATTTTTTTTA TTTATGCAGAGGCCGAGGCCGCCTCGGCCTCTGAGCTATTCCAGAAGTAGT GAGGAGGCTTTTTTGGAGGCCTAGGCTTTTGCAAAAAGCTTTGCAAAGATG GATAAAGTTTTAAACAGAGAGGAATCTTTGCAGCTAATGGACCTTCTAGGT CTTGAAAGGAGTGGGAATTGGCTCCGGTGCCCGTCAGTGGGCAGAGCGCAC ATCGCCCACAGTCCCCGAGAAGTTGGGGGGAGGGGTCGGCAATTGAACCGG TGCCTAGAGAAGGTGGCGCGGGGTAAACTGGGAAAGTGATGTCGTGTACTG GCTCCGCCTTTTTCCCGAGGGTGGGGGAGAACCGTATATAAGTGCAGTAGT CGCCGTGAACGTTCTTTTTCGCAACGGGTTTGCCGCCAGAACACAGGTAAG TGCCGTGTGTGGTTCCCGCGGGCCTGGCCTCTTTACGGGTTATGGCCCTTG CGTGCCTTGAATTACTTCCACCTGGCTGCAGTACGTGATTCTTGATCCCGA GCTTCGGGTTGGAAGTGGGTGGGAGAGTTCGAGGCCTTGCGCTTAAGGAGC CCCTTCGCCTCGTGCTTGAGTTGAGGCCTGGCCTGGGCGCTGGGGCCGCCG CGTGCGAATCTGGTGGCACCTTCGCGCCTGTCTCGCTGCTTTCGATAAGTC TCTAGCCATTTAAAATTTTTGATGACCTGCTGCGACGCTTTTTTTCTGGCA AGATAGTCTTGTAAATGCGGGCCAAGATCTGCACACTGGTATTTCGGTTTT TGGGGCCGCGGGCGGCGACGGGGCCCGTGCGTCCCAGCGCACATGTTCGGC GAGGCGGGGCCTGCGAGCGCGGCCACCGAGAATCGGACGGGGGTAGTCTCA AGCTGGCCGGCCTGCTCTGGTGCCTGGCCTCGCGCCGCCGTGTATCGCCCC GCCCTGGGCGGCAAGGCTGGCCCGGTCGGCACCAGTTGCGTGAGCGGAAAG

SEKV ID NR	Vektor navn	Nukleotidsekvenser 12345678901234567890123456789012345678901
		ATGGCCGCTTCCCGGCCCTGCTGCAGGGAGCTCAAAATGGAGGACGCGGCG CTCGGGAGAGCGGGCGGGTGAGTCACCCACACAAAGGAAAAGGGCCTTTCC GTCCTCAGCCGTCGCTTCATGTGACTCCACGGAGTACCGGGCGCCGTCCAG GCACCTCGATTAGTTCTCGAGCTTTTGGAGTACGTCGTCTTTAGGTTGGGG GGAGGGGTTTTATGCGATGGAGTTTCCCCACACTGAGTGGGTGGAGACTGA AGTTAGGCCAGCTTGGCACTTGATGTAATTCTCCTTGGAATTTGCCCTTTT TGAGTTTGGATCTTGGTTCATTCTCAAGCCTCAGACAGTGGTTCAAAGTTT TTTTCTTCCATTTCAGGTGTCGTGAGGAATTCTCTAGAGATCCCTCGACCT CGAGATCCATTGTGCCCGGGCGCCACCATGGACATGCGCGTGCCCGCCCAG CTGCTGGGCCTGCTGCTGCTGTGGTTCCCCGGCTCGCGATGC
241	V7	GCGTCGACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCTCCTCCAAGAGC ACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCC GAACCGGTGACGGTGTCGTGGAACTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCAC ACCTTCCCGGCTGTCCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTG GTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTG AATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAAAGTTGAGCCCAAATCT TGTGACAAAACTCACACATGCCCACCGTGCCCAGCACCTGAAGCCGCGGGG GGACCGTCAGTCTTCCTCTTCCCCCCAAAACCCAAGGACACCCTCATGATC TCCCGGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGAC CCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCC AAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGC GTCCTCACCGTCCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGC AAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAA GCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCCATCCCGC GAGGAGATGACCAAGAACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTC TATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAAC AACTACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCCTC TACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTC TCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGC CTCTCCCTGTCTCCGGGTAAATGAGCGGCCGCTCGAGGCCGGCAAGGCCGG ATCCCCCGACCTCGACCTCTGGCTAATAAAGGAAATTTATTTTCATTGCAA TAGTGTGTTGGAATTTTTTGTGTCTCTCACTCGGAAGGACATATGGGAGGG CAAATCATTTGGTCGAGATCCCTCGGAGATCTCTAGCTAGAGGATCGATCC CCGCCCCGGACGAACTAAACCTGACTACGACATCTCTGCCCCTTCTTCGCG GGGCAGTGCATGTAATCCCTTCAGTTGGTTGGTACAACTTGCCAACTGGGC CCTGTTCCACATGTGACACGGGGGGGGACCAAACACAAAGGGGTTCTCTGA CTGTAGTTGACATCCTTATAAATGGATGTGCACATTTGCCAACACTGAGTG GCTTTCATCCTGGAGCAGACTTTGCAGTCTGTGGACTGCAACACAACATTG CCTTTATGTGTAACTCTTGGCTGAAGCTCTTACACCAATGCTGGGGGACAT GTACCTCCCAGGGGCCCAGGAAGACTACGGGAGGCTACACCAACGTCAATC AGAGGGGCCTGTGTAGCTACCGATAAGCGGACCCTCAAGAGGGCATTAGCA ATAGTGTTTATAAGGCCCCCTTGTTAACCCTAAACGGGTAGCATATGCTTC CCGGGTAGTAGTATATACTATCCAGACTAACCCTAATTCAATAGCATATGT TACCCAACGGGAAGCATATGCTATCGAATTAGGGTTAGTAAAAGGGTCCTA AGGAACAGCGATATCTCCCACCCCATGAGCTGTCACGGTTTTATTTACATG GGGTCAGGATTCCACGAGGGTAGTGAACCATTTTAGTCACAAGGGCAGTGG CTGAAGATCAAGGAGCGGGCAGTGAACTCTCCTGAATCTTCGCCTGCTTCT TCATTCTCCTTCGTTTAGCTAATAGAATAACTGCTGAGTTGTGAACAGTAA GGTGTATGTGAGGTGCTCGAAAACAAGGTTTCAGGTGACGCCCCCAGAATA AAATTTGGACGGGGGGTTCAGTGGTGGCATTGTGCTATGACACCAATATAA CCCTCACAAACCCCTTGGGCAATAAATACTAGTGTAGGAATGAAACATTCT GAATATCTTTAACAATAGAAATCCATGGGGTGGGGACAAGCCGTAAAGACT GGATGTCCATCTCACACGAATTTATGGCTATGGGCAACACATAATCCTAGT GCAATATGATACTGGGGTTATTAAGATGTGTCCCAGGCAGGGACCAAGACA GGTGAACCATGTTGTTACACTCTATTTGTAACAAGGGGAAAGAGAGTGGAC GCCGACAGCAGCGGACTCCACTGGTTGTCTCTAACACCCCCGAAAATTAAA CGGGGCTCCACGCCAATGGGGCCCATAAACAAAGACAAGTGGCCACTCTTT TTTTTGAAATTGTGGAGTGGGGGCACGCGTCAGCCCCCACACGCCGCCCTG CGGTTTTGGACTGTAAAATAAGGGTGTAATAACTTGGCTGATTGTAACCCC

SEKV ID NR	Vektor navn	Nukleotidsekvenser 12345678901234567890123456789012345678901
		GCTAACCACTGCGGTCAAACCACTTGCCCACAAAACCACTAATGGCACCCC GGGGAATACCTGCATAAGTAGGTGGGCGGGCCAAGATAGGGGCGCGATTGC TGCGATCTGGAGGACAAATTACACACACTTGCGCCTGAGCGCCAAGCACAG GGTTGTTGGTCCTCATATTCACGAGGTCGCTGAGAGCACGGTGGGCTAATG TTGCCATGGGTAGCATATACTACCCAAATATCTGGATAGCATATGCTATCC TAATCTATATCTGGGTAGCATAGGCTATCCTAATCTATATCTGGGTAGCAT ATGCTATCCTAATCTATATCTGGGTAGTATATGCTATCCTAATTTATATCT GGGTAGCATAGGCTATCCTAATCTATATCTGGGTAGCATATGCTATCCTAA TCTATATCTGGGTAGTATATGCTATCCTAATCTGTATCCGGGTAGCATATG CTATCCTAATAGAGATTAGGGTAGTATATGCTATCCTAATTTATATCTGGG TAGCATATACTACCCAAATATCTGGATAGCATATGCTATCCTAATCTATAT CTGGGTAGCATATGCTATCCTAATCTATATCTGGGTAGCATAGGCTATCCT AATCTATATCTGGGTAGCATATGCTATCCTAATCTATATCTGGGTAGTATA TGCTATCCTAATTTATATCTGGGTAGCATAGGCTATCCTAATCTATATCTG GGTAGCATATGCTATCCTAATCTATATCTGGGTAGTATATGCTATCCTAAT CTGTATCCGGGTAGCATATGCTATCCTCATGATAAGCTGTCAAACATGAGA ATTTTCTTGAAGACGAAAGGGCCTCGTGATACGCCTATTTTTATAGGTTAA TGTCATGATAATAATGGTTTCTTAGACGTCAGGTGGCACTTTTCGGGGAAA TGTGCGCGGAACCCCTATTTGTTTATTTTTCTAAATACATTCAAATATGTA TCCGCTCATGAGACAATAACCCTGATAAATGCTTCAATAATATTGAAAAAG GAAGAGTATGAGTATTCAACATTTCCGTGTCGCCCTTATTCCCTTTTTTGC GGCATTTTGCCTTCCTGTTTTTGCTCACCCAGAAACGCTGGTGAAAGTAAA AGATGCTGAAGATCAGTTGGGTGCACGAGTGGGTTACATCGAACTGGATCT CAACAGCGGTAAGATCCTTGAGAGTTTTCGCCCCGAAGAACGTTTTCCAAT GATGAGCACTTTTAAAGTTCTGCTATGTGGCGCGGTATTATCCCGTGTTGA CGCCGGGCAAGAGCAACTCGGTCGCCGCATACACTATTCTCAGAATGACTT GGTTGAGTACTCACCAGTCACAGAAAAGCATCTTACGGATGGCATGACAGT AAGAGAATTATGCAGTGCTGCCATAACCATGAGTGATAACACTGCGGCCAA CTTACTTCTGACAACGATCGGAGGACCGAAGGAGCTAACCGCTTTTTTGCA CAACATGGGGGATCATGTAACTCGCCTTGATCGTTGGGAACCGGAGCTGAA TGAAGCCATACCAAACGACGAGCGTGACACCACGATGCCTGCAGCAATGGC AACAACGTTGCGCAAACTATTAACTGGCGAACTACTTACTCTAGCTTCCCG GCAACAATTAATAGACTGGATGGAGGCGGATAAAGTTGCAGGACCACTTCT GCGCTCGGCCCTTCCGGCTGGCTGGTTTATTGCTGATAAATCTGGAGCCGG TGAGCGTGGGTCTCGCGGTATCATTGCAGCACTGGGGCCAGATGGTAAGCC CTCCCGTATCGTAGTTATCTACACGACGGGGAGTCAGGCAACTATGGATGA ACGAAATAGACAGATCGCTGAGATAGGTGCCTCACTGATTAAGCATTGGTA ACTGTCAGACCAAGTTTACTCATATATACTTTAGATTGATTTAAAACTTCA TTTTTAATTTAAAAGGATCTAGGTGAAGATCCTTTTTGATAATCTCATGAC CAAAATCCCTTAACGTGAGTTTTCGTTCCACTGAGCGTCAGACCCCGTAGA AAAGATCAAAGGATCTTCTTGAGATCCTTTTTTTCTGCGCGTAATCTGCTG CTTGCAAACAAAAAAACCACCGCTACCAGCGGTGGTTTGTTTGCCGGATCA AGAGCTACCAACTCTTTTTCCGAAGGTAACTGGCTTCAGCAGAGCGCAGAT ACCAAATACTGTTCTTCTAGTGTAGCCGTAGTTAGGCCACCACTTCAAGAA CTCTGTAGCACCGCCTACATACCTCGCTCTGCTAATCCTGTTACCAGTGGC TGCTGCCAGTGGCGATAAGTCGTGTCTTACCGGGTTGGACTCAAGACGATA GTTACCGGATAAGGCGCAGCGGTCGGGCTGAACGGGGGGTTCGTGCACACA GCCCAGCTTGGAGCGAACGACCTACACCGAACTGAGATACCTACAGCGTGA GCTATGAGAAAGCGCCACGCTTCCCGAAGGGAGAAAGGCGGACAGGTATCC GGTAAGCGGCAGGGTCGGAACAGGAGAGCGCACGAGGGAGCTTCCAGGGGG AAACGCCTGGTATCTTTATAGTCCTGTCGGGTTTCGCCACCTCTGACTTGA GCGTCGATTTTTGTGATGCTCGTCAGGGGGGCGGAGCCTATGGAAAAACGC CAGCAACGCGGCCTTTTTACGGTTCCTGGCCTTTTGCTGGCCTTTTGCTCA CATGTTCTTTCCTGCGTTATCCCCTGATTCTGTGGATAACCGTATTACCGC CTTTGAGTGAGCTGATACCGCTCGCCGCAGCCGAACGACCGAGCGCAGCGA GTCAGTGAGCGAGGAAGCGGAAGAGCGCCCAATACGCAAACCGCCTCTCCC CGCGCGTTGGCCGATTCATTAATGCAGCTGGCACGACAGGTTTCCCGACTG GAAAGCGGGCAGTGAGCGCAACGCAATTAATGTGAGTTAGCTCACTCATTA GGCACCCCAGGCTTTACACTTTATGCTTCCGGCTCGTATGTTGTGTGGAAT

SEKV ID NR	Vektor navn	Nukleotidsekvenser 12345678901234567890123456789012345678901
		TGTGAGCGGATAACAATTTCACACAGGAAACAGCTATGACCATGATTACGC CAAGCTCTAGCTAGAGGTCGAGTCCCTCCCCAGCAGGCAGAAGTATGCAAA GCATGCATCTCAATTAGTCAGCAACCATAGTCCCGCCCCTAACTCCGCCCA TCCCGCCCCTAACTCCGCCCAGTTCCGCCCATTCTCCGCCCCATGGCTGAC TAATTTTTTTTATTTATGCAGAGGCCGAGGCCGCCTCGGCCTCTGAGCTAT TCCAGAAGTAGTGAGGAGGCTTTTTTGGAGGCCTAGGCTTTTGCAAAAAGC TTTGCAAAGATGGATAAAGTTTTAAACAGAGAGGAATCTTTGCAGCTAATG GACCTTCTAGGTCTTGAAAGGAGTGGGAATTGGCTCCGGTGCCCGTCAGTG GGCAGAGCGCACATCGCCCACAGTCCCCGAGAAGTTGGGGGGAGGGGTCGG CAATTGAACCGGTGCCTAGAGAAGGTGGCGCGGGGTAAACTGGGAAAGTGA TGTCGTGTACTGGCTCCGCCTTTTTCCCGAGGGTGGGGGAGAACCGTATAT AAGTGCAGTAGTCGCCGTGAACGTTCTTTTTCGCAACGGGTTTGCCGCCAG AACACAGGTAAGTGCCGTGTGTGGTTCCCGCGGGCCTGGCCTCTTTACGGG TTATGGCCCTTGCGTGCCTTGAATTACTTCCACCTGGCTGCAGTACGTGAT TCTTGATCCCGAGCTTCGGGTTGGAAGTGGGTGGGAGAGTTCGAGGCCTTG CGCTTAAGGAGCCCCTTCGCCTCGTGCTTGAGTTGAGGCCTGGCCTGGGCG CTGGGGCCGCCGCGTGCGAATCTGGTGGCACCTTCGCGCCTGTCTCGCTGC TTTCGATAAGTCTCTAGCCATTTAAAATTTTTGATGACCTGCTGCGACGCT TTTTTTCTGGCAAGATAGTCTTGTAAATGCGGGCCAAGATCTGCACACTGG TATTTCGGTTTTTGGGGCCGCGGGCGGCGACGGGGCCCGTGCGTCCCAGCG CACATGTTCGGCGAGGCGGGGCCTGCGAGCGCGGCCACCGAGAATCGGACG GGGGTAGTCTCAAGCTGGCCGGCCTGCTCTGGTGCCTGGCCTCGCGCCGCC GTGTATCGCCCCGCCCTGGGCGGCAAGGCTGGCCCGGTCGGCACCAGTTGC GTGAGCGGAAAGATGGCCGCTTCCCGGCCCTGCTGCAGGGAGCTCAAAATG GAGGACGCGGCGCTCGGGAGAGCGGGCGGGTGAGTCACCCACACAAAGGAA AAGGGCCTTTCCGTCCTCAGCCGTCGCTTCATGTGACTCCACGGAGTACCG GGCGCCGTCCAGGCACCTCGATTAGTTCTCGAGCTTTTGGAGTACGTCGTC TTTAGGTTGGGGGGAGGGGTTTTATGCGATGGAGTTTCCCCACACTGAGTG GGTGGAGACTGAAGTTAGGCCAGCTTGGCACTTGATGTAATTCTCCTTGGA ATTTGCCCTTTTTGAGTTTGGATCTTGGTTCATTCTCAAGCCTCAGACAGT GGTTCAAAGTTTTTTTCTTCCATTTCAGGTGTCGTGAGGAATTCTCTAGAG ATCCCTCGACCTCGAGATCCATTGTGCCCGGGCGCCACCATGGAGTTTGGG CTGAGCTGGCTTTTTCTTGTCGCGATTTTAAAAGGTGTCCAGTGC

Den foreliggende oppfinnelsen inkorporerer ved referanse i deres helhet teknikker velkjent i området for molekylærbiologi og legemiddellevering. Disse teknikker inkluderer, men er ikke begrenset til, teknikker beskrevet i de følgende publikasjoner:

Ausubel et al. (eds.), Current Protocolls In Molecular Biology, John Wiley &Sons, NY (1993); Ausubel, F.M. et al. eds., Short Protocolls In Molecular Biology (4th Ed. 1999) John Wiley & Sons, NY. (ISBN 0-471-32938-X).
Controlled Drug Bioavailability, Drug Product Design and Performance, Smolen og Ball (eds.), Wiley, Ny York (1984);
Giege, R. og Ducruix, A. Barrett, Crystallization of Nucleic Acids and Proteins, a Practical Approach, 2nd ea., pp. 20 1-16, Oksford University Press, Ny York, Ny York, (1999);
Goodson, i Medical Application of Contolled Release, vol. 2, pp. 115-138 (1984);
Hammerling, et al., i: Monoclonal Antibodies and T-Cell Hybridomas 563-681 (Elsevier, N.Y., 1981;

Harlow et al. , Antibodies: A Laboratory Manual, (Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2nd ed. 1988);

Kabat-et al., Sequences of proteins of immunological interest (National Institutes of Health, Betesda, Md. (1987) og (1991);

Kabat, E.A., *et al.* (1991) Sequences of proteins of immunological interest, Fifth Edition, U.S. Department of Health and Human Services, NIH Publikasjonsnr. 91-3242;

Kontermann og Dubel eds., Antibody Engineering (2001) Springer-Verlag. Ny York. 790 pp. (ISBN 3-540-41354-5).

Kriegler, Gene Transfer and Expression, A Laboratory Manual, Stockton Press, NY (1990);

Lu og Weiner eds., Cloning and Expression Vectors for Gene Function Analyzes (2001) BioTechniques Press. Westborough, MA. 298 pp. (ISBN 1-881299-21-X).

Medical Application of Contolled Release, Langer og Wise (eds.), CRC Pres., Boca Raton, Fla. (1974);

Old, R.W. & S.B. Primrose, Principles of Gene Manipulation: An introduction to Genetic Engineering (3d Ed. 1985) Blackwell Scientific Publications, Boston. Studier i Mikrobiologi; V.2:409 pp. (ISBN 0-632-01318-4).

Sambrook, J. et al. eds., Molecular Cloning: A Laboratory Manual (2d Ed. 1989) Cold Spring Harbor Laboratory Press, NY. Vols. 1-3. (ISBN 0-87969-309-6).

Sustained and Controlled Release Drug Delivery Systems, J.R. Robinson, ed., Marcel Dekker, Inc., Ny York, 1978

Winnacker, E.L. From Genes To Clones: Introduction To Gene Technology (1987) VCH Publishers, NY (oversatt av Horst Ibelgaufts). 634 pp. (ISBN 0-89573-614-4).

Inkorporering ved referanse

Innholdet av alle siterte referanser (inkludert litteraturreferanser, patenter, patent søknader, og nettsteder) som kan være sitert gjennom hele denne søknaden er herved uttrykkelig inkorporert ved referanse i deres helhet for ethvert formål, det er også referansene sitert deri. Praksisen ifølge den foreliggende oppfinnelsen vil anvende, medmindre ellers indikert, konvensjonelle teknikker i immunologi, molekylærbiologi og cellebiologi, som er velkjent i teknikken.

Ekvivalenter

Oppfinnelsen kan bli utført i andre spesifikke former uten å gå bort fra ånden eller essensielle karakteristikker derav. De forutgående utførelsesformene skal derfor bli vurdert i alle hensyn som illustrative heller enn begrensende av oppfinnelsen beskrevet heri. Omfanget av oppfinnelsen er følgelig indikert ved de vedlagte krav heller enn ved den forutgående

beskrivelsen, og alle forandringer som kommer innenfor betydningen og ekvivalensområdet til kravene er derfor ment å være omfattet heri.

Patentkrav

1. Et bindende protein omfattende et polypeptidkjede, hvori nevnte polypeptidkjede omfatter VD1-(X1)n-VD2-C-(X2)n, hvori;

VD1 er et første tungkjede variabelt domene;

VD2 er et andre tungkjede variabelt domene;

C er et tungkjede konstant domene;

X1 er en linker med den forutsetningen at den ikke er CH1;

X2 er en Fc-region; og

n er 0 eller 1;

hvori det bindende proteinet er i stand til å binde et par med antigener valgt fra gruppen bestående av TNF og IL-17A; TNF og RANKL; TNF og VEGF; TNF og SOST; TNF og DKK; TNF og alfaVbeta3; TNF og NGF; TNF og IL-23p19; TNF og IL-6; TNF og IL-6R; TNF og CD-20; IgE og IL-13; IL-13 og IL-23p19; IgE og IL-4; IgE og IL-9; IL-13 og IL-9; IL-13 og IL-4; IL-6R og VEGF; IL-6R og IL-17A; IL-6R og RANKL; IL-17A og IL-1beta; IL-1beta og RANKL; IL-1beta og VEGF; RANKL og CD-20; og IL-1alfa og IL-1beta.

2. Det bindende proteinet ifølge krav 1, hvori VD1 og VD2 omfatter en aminosyresekvens valgt fra gruppen bestående av SEKV ID NR: 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46, 48, 50, 52, 54, 56, 58, 60, 62, 64, 66, 68, og 70.

3. Et bindende protein omfattende et polypeptidkjede, hvori nevnte polypeptidkjede omfatter VD1-(X1)n-VD2-C-(X2)n, hvori;

VD1 er et første lett tungkjede variabelt domene;

VD2 er et andre lett tungkjede variabelt domene;

C er et lettkjede konstant domene;

X1 er en linker med den forutsetningen at den ikke er CH1;

X2 ikke omfatter en Fc-region; og

n er 0 eller 1;

hvori det bindende proteinet er i stand til å binde et par med antigener valgt fra gruppen bestående av TNF og IL-17A; TNF og RANKL; TNF og VEGF; TNF og SOST; TNF og DKK; TNF og alfaVbeta3; TNF og NGF; TNF og IL-23p19; TNF og IL-6; TNF og IL-6R; TNF og

CD-20; IgE og IL-13; IL-13 og IL-23p19; IgE og IL-4; IgE og IL-9; IL-13 og IL-9; IL-13 og IL-4; IL-6R og VEGF; IL-6R og IL-17A; IL-6R og RANKL; IL-17A og IL-1beta; IL-1beta og RANKL; IL-1beta og VEGF; RANKL og CD-20; og IL-1alfa og IL-1beta.

4. Det bindende proteinet ifølge krav 3, hvori VD1 og VD2 lettkjede variable domener omfatter en aminosyresekvens valgt fra gruppen bestående av SEKV ID NR: 29, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, 45, 47, 49, 51, 53, 55, 57, 59, 61, 63, 65, 67, 69, og 71.

5. Det bindende proteinet ifølge krav 1 eller 3, hvori n er 0.

6. Et bindende protein omfattende første og andre polypeptidkjeder, hvori nevnte første polypeptidkjede omfatter en første VD1-(X1)n-VD2-C-(X2)n, hvori

VD1 er et første tungkjede variabelt domene;

VD2 er et andre tungkjede variabelt domene;

C er et tungkjede konstant domene;

X1 er en linker med den forutsetningen at den ikke er CH1; og

X2 er en Fc-region; og

hvori nevnte andre polypeptidkjede omfatter en andre VD1-(X1)n-VD2-C-(X2)n, hvori

VD1 er et første lettkjede variabelt domene;

VD2 er et andre lettkjede variabelt domene;

C er et lettkjede konstant domene;

X1 er en linker med den forutsetningen at den ikke er CH1;

X2 ikke omfatter en Fc-region; og

n er 0 eller 1, hvori det bindende proteinet er i stand til å binde et par med antigener valgt fra gruppen bestående av TNF og IL-17A; TNF og RANKL; TNF og VEGF; TNF og SOST; TNF og DKK; TNF og alfaVbeta3; TNF og NGF; TNF og IL-23p19; TNF og IL-6; TNF og IL-6R; TNF og CD-20; IgE og IL-13; IL-13 og IL-23p19; IgE og IL-4; IgE og IL-9; IL-13 og IL-9; IL-13 og IL-4; IL-6R og VEGF; IL-6R og IL-17A; IL-6R og RANKL; IL-17A og IL-1beta; IL-1beta og RANKL; IL-1beta og VEGF; RANKL og CD-20; og IL-1alfa og IL-1beta.

7. Det bindende proteinet ifølge krav 6, hvori VD1 og VD2 tungkjede variabelt domener omfatter en aminosyresekvens valgt fra gruppen bestående av SEKV ID NR: 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46, 48, 50, 52, 54, 56, 58, 60, 62, 64, 66, 68, og 70 og hvori VD1 og VD2 lettkjede variable domener omfatter en aminosyresekvens valgt fra gruppen bestående av SEKV ID NR: 29, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, 45, 47, 49, 51, 53, 55, 57, 59, 61, 63, 65, 67, 69, og 71.

8. Det bindende proteinet ifølge krav 1, 3, eller 6, hvori X1 eller X2 er en aminosyresekvens valgt fra gruppen bestående av SEKV ID NR 1-26.

9. Det bindende proteinet ifølge krav 6, hvori det bindende proteinet omfatter to første polypeptidkjeder og to andre polypeptidkjeder.

10. Det bindende proteinet ifølge krav 1, 3, eller 6, hvori Fc-regionen er valgt fra gruppen bestående av opprinnelig sekvens Fc-region og en variant sekvens Fc-region.

11. Det bindende proteinet ifølge krav 10, hvori Fc-regionen er valgt fra gruppen bestående av en Fc-region fra en IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA, IgM, IgE, og IgD.

12. Det bindende proteinet ifølge krav 1, 3, eller 6, hvori nevnte VD1 til det første polypeptidkjedet og nevnte VD1 til det andre polypeptidkjedet er oppnådd henholdsvis fra det samme første og andre moderantistoffet, eller antigen-bindende porsjon derav.

13. Det bindende proteinet ifølge krav 1, 3, eller 6, hvori nevnte VD1 til det første polypeptidkjedet og nevnte VD1 til det andre polypeptidkjedet er oppnådd henholdsvis fra et forskjellig første og andre moderantistoff, eller antigen-bindende porsjon derav.

14. Det bindende proteinet ifølge krav 1, 3, eller 6, hvori nevnte VD2 til det første polypeptidkjedet og nevnte VD2 til det andre polypeptidkjedet er oppnådd henholdsvis fra det samme første og andre moderantistoffet, eller antigen-bindende porsjon derav.

15. Det bindende proteinet ifølge krav 1, 3, eller 6, hvori nevnte VD2 til det første polypeptidkjedet og nevnte VD2 til det andre polypeptidkjedet er oppnådd henholdsvis fra forskjellig første og andre moderantistoff, eller antigen-bindende porsjon derav.

16. Det bindende proteinet ifølge ethvert av kravene 13-15, hvori nevnte første og nevnte andre moder-antistoffer binder forskjellige epitoper på nevnte antigen.

17. Det bindende proteinet ifølge ethvert av kravene 13-15, hvori nevnte første moderantistoff eller antigen-bindende porsjon derav, binder nevnte første antigen med en styrke forskjellig fra styrken som nevnte andre moder-antistoff eller antigen-bindende porsjon derav, binder nevnte andre antigen.

18. Det bindende proteinet ifølge ethvert av kravene 13-15, hvori nevnte første moderantistoff eller antigen-bindende porsjon derav, binder nevnte første antigen med en affinitet forskjellig fra affiniteten som nevnte andre moder-antistoff eller antigen-bindende porsjon derav, binder nevnte andre antigen.

19. Det bindende proteinet ifølge ethvert av kravene 13-15, hvori nevnte første moderantistoff eller antigen-bindende porsjon derav, og nevnte andre moder-antistoff eller antigen-bindende porsjon derav, er valgt fra gruppen bestående av et humant antistoff, et CDR-podet antistoff, og et humanisert antistoff.

20. Det bindende proteinet ifølge ethvert av kravene 13-15, hvori nevnte første moderantistoff eller antigen-bindende porsjon derav, og nevnte andre moder-antistoff eller antigen-bindende porsjon derav, er valgt fra gruppen bestående av et Fab-fragment; en $F(ab')_2$ fragment; et bivalent fragment omfattende to Fab-fragmenter knyttet sammen ved en disulfid-bro ved hengsel-regionen; et Fd-fragment bestående av VH- og CH1-domenene; et Fv-fragment bestående av VL- og VH-domenene fra en enkelt arm til et antistoff; et dAb-fragment; en isolert komplementaritetsbestemmende region (CDR); et enkelt-kjede antistoff; og en "diabody".

21. Det bindende proteinet ifølge krav 1, 3, eller 6, hvori nevnte bindende protein innehar minst en ønsket egenskap fremvist av nevnte første moder-antistoff eller antigen-bindende porsjon derav, eller nevnte andre moder-antistoff eller antigen-bindende porsjon derav.

22. Det bindende proteinet ifølge krav 22, hvori nevnte ønsket egenskap er valgt fra en eller flere antistoff-parametre.

23. Det bindende proteinet ifølge krav 21, hvori nevnte antistoff-parametre er valgt fra gruppen bestående av antigen spesifisitet, affinitet ovenfor antigen, styrke, biologisk funksjon, epitop-gjenkjenning, stabillitet, løselighet, produksjonseffektivitet, immunogenitet, farmakokinetikk, biotilgjengelighet, kryssreaktivitet for vev, og ortolog antigen-binding.

24. Et bindende protein i stand til å binde to antigener omfattende fire polypeptidkjeder, hvori to polypeptidkjeder omfatter VD1-(X1)n-VD2-C-(X2)n, hvori

VD1 er et første tungkjede variabelt domene;
VD2 er et andre tungkjede variabelt domene;
C er et tungkjede konstant domene;
X1 er en linker med den forutsetningen at den ikke er CH1; og
X2 er en Fc-region; og
hvori to polypeptidkjeder omfatter VD1-(X1)n-VD2-C-(X2)n, hvori
VD1 er et første lettkjede variabelt domene;
VD2 er et andre lettkjede variabelt domene;
C er et lettkjede konstant domene;
X1 er en linker med den forutsetningen at den ikke er CH1;
X2 ikke omfatter en Fc-region; og
n er 0 eller 1; hvori VD1 og VD2 tungkjede variabelt domener omfatter en aminosyresekvens valgt fra gruppen bestående av SEKV ID NR: 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46, 48, 50, 52, 54, 56, 58, 60, 62, 64, 66, 68, og 70 og hvori VD1 og VD2 lettkjede variable domener omfatter en aminosyresekvens valgt fra gruppen bestående av SEKV ID NR:. 29, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, 45, 47, 49, 51, 53, 55, 57, 59, 61, 63, 65, 67, 69, og 71

25. Et bindende protein i stand til å binde to antigener omfattende fire polypeptidkjeder, hvori to polypeptidkjeder omfatter VD1-(X1)n-VD2-C-(X2)n, hvori
VD1 er et første tungkjede variabelt domene;
VD2 er et andre tungkjede variabelt domene;
C er et tungkjede konstant domene;
X1 er en linker med den forutsetningen at den ikke er CH1;
X2 er en Fc-region; og
n er 0 eller 1; og
hvori to polypeptidkjeder omfatter VD1-(X1)n-VD2-C-(X2)n, hvori
VD1 er et første lettkjede variabelt domene;
VD2 er et andre lettkjede variabelt domene;
C er et lettkjede konstant domene;
X1 er en linker med den forutsetningen at den ikke er CH1;
X2 ikke omfatter en Fc-region; og
n er 0 eller 1; hvori DVD-Ig'et binder minst et antigen valgt fra gruppen bestående av TNF, RANKL, VEGF, NGF, SOST, DKK, CD-20, alfaVbeta3, IL-13, IL-4, IL-9, IL-17A, IL-1alfa, IL-1beta, IL-23p19, IL-6, IgE, IL-6R, og IL-9.

26. Det bindende proteinet ifølge krav 1, 3, 6, 24, eller 25, hvori nevnte bindende protein har en på-hastighetskonstant (Kon) for nevnte et eller flere mål valgt fra gruppen bestående av: minst omtrent $10^2M^{-1}s^{-1}$; minst omtrent $10^3M^{-1}s^{-1}$; minst omtrent $10^4M^{-1}s^{-1}$; minst omtrent $10^5M^{-1}s^{-1}$; og minst omtrent $10^6M^{-1}s^{-1}$, som målt ved overflate-plasmonresonans.

27. Det bindende proteinet ifølge krav 1, 3, 6, 24, eller 25, hvori nevnte bindende protein har en av-hastighetskonstant (Koff) for nevnte et eller flere mål valgt fra gruppen bestående av: på det meste omtrent $10^{-3}s^{-1}$; på det meste omtrent $10^{-4}s^{-1}$; på det meste omtrent $10^{-5}s^{-1}$; og på det meste omtrent $10^{-6}s^{-1}$, som målt ved overflate-plasmonresonans.

28. Det bindende proteinet ifølge krav 1, 3, 6, 24, eller 25, hvori nevnte bindende protein har en dissosieringskonstant (K_D) for nevnte et eller flere mål valgt fra gruppen bestående av: på det meste omtrent 10^{-7} M; på det meste omtrent 10^{-8} M; på det meste omtrent 10^{-9} M; på det meste omtrent 10^{-10} M; på det meste omtrent 10^{-11} M; på det meste omtrent 10^{-12} M; og på det meste 10^{-13} M.

29. Et bindende protein-konjugat omfattende et bindende protein ifølge ethvert av kravene 1, 3, 6, 24, eller 25, nevnte bindende protein-konjugat videre omfattende et middel valgt fra gruppen bestående av; an immunoadhension molekyl, et billedfremkallingsmiddel, et terapeutisk middel, og et cytotoksisk middel.

30. Det bindende protein-konjugatet ifølge krav 29, hvori nevnte middel er et billedfremkallingsmiddel valgt fra gruppen bestående av et radioaktivt merkestoff, et enzym, et fluorescerende merkestoff, et luminescerende merkestoff, et bioluminescerende merkestoff, et magnetisk merkestoff, og biotin.

31. Det bindende protein-konjugatet ifølge krav 30, hvori nevnte billedfremkallingsmiddel er et radioaktivt merkestoff valgt fra gruppen bestående av: ^{3}H, ^{14}C, ^{35}S, ^{90}Y, ^{99}Tc, ^{111}In, ^{125}I, ^{131}I, ^{177}Lu, ^{166}Ho, og ^{153}Sm.

32. Det bindende protein-konjugatet ifølge krav 30, hvori nevnte middel er et terapeutisk eller cytotoksisk middel valgt fra gruppen bestående av; en anti-metabolitt, et alkylerende middel, et antibiotika, en vekstfaktor, et cytokin, et anti-angiogent middel, et anti-mitotisk middel, et antrasyklin, toksin, og et apoptotisk middel.

33. Det bindende proteinet ifølge krav 1, 3, 6, 24, eller 25, hvori nevnte bindende protein er et krystallisert bindende protein.

34. Det bindende proteinet ifølge krav 33, hvori nevnte krystall er en bærer-fri farmasøytisk kontrollert-frigjørelseskrystall.

35. Det bindende proteinet ifølge krav 33, hvori nevnte bindende protein har en lengre halveringstid *in vivo* enn den løselige motparten av nevnte bindende protein.

36. Det bindende proteinet ifølge krav 33, hvori nevnte bindende protein beholder biologisk aktivitet.

37. En isolert nukleinsyre som koder for en bindende-protein aminosyresekvens ifølge ethvert av kravene 1, 3, 6, 24, eller 25.

38. En vektor omfattende en isolert nukleinsyre ifølge krav 37.

39. Vektoren ifølge krav 38, hvori nevnte vektor er valgt fra gruppen bestående av pcDNA, pTT, pTT3, pEFBOS, pBV, pJV, pcDNA3.1 TOPO, pEF6 TOPO, og pBJ.

40. En vertscelle omfattende en vektor ifølge krav 38.

41. Vertscellen ifølge krav 40, hvori nevnte vertscelle er en prokaryotisk celle.

42. Vertscellen ifølge krav 41, hvori nevnte vertscelle er E.Coli.

43. Vertscellen ifølge krav 40, hvori nevnte vertscelle er en eukaryotisk celle.

44. Vertscellen ifølge krav 43, hvori nevnte eukaryotiske celle er valgt fra gruppen bestående av protist-celle, dyrecelle, plantecelle og soppcelle.

45. Vertscellen ifølge krav 43, hvori nevnte eukaryotiske celle er en dyrecelle valgt fra gruppen bestående av; en pattedyrscelle, en fuglecelle, og en insektscelle.

46. Vertscellen ifølge krav 45, hvori nevnte vertscelle er en CHO-celle.

47. Vertscellen ifølge krav 45, hvori nevnte vertscelle er COS.

48. Vertscellen ifølge krav 43, hvori nevnte vertscelle er en gjærcelle.

49. Vertscellen ifølge krav 48, hvori nevnte gjærcelle er *Saccharomyces cerevisiae*.

50. Vertscellen ifølge krav 45, hvori nevnte vertscelle er en insekt Sf9 celle.

51. En fremgangsmåte for å fremstille et bindende protein, omfattende å dyrke en vertscelle beskrevet i ethvert av kravene 40-50 i vekstmedium under betingelser tilstrekkelig for å produsere det bindende proteinet

52. Metoden ifølge krav 51, hvori 50%-75% av det bindende proteinet produsert er et dobbelt spesifikt tetravalent bindende protein.

53. Metoden ifølge krav 51, hvori 75%-90% av det bindende proteinet produsert er et dobbelt spesifikt tetravalent bindende protein.

54. Metoden ifølge krav 51, hvori 90%-95% av det bindende proteinet produsert er et dobbelt spesifikt tetravalent bindende protein.

55. Et protein produsert ifølge metoden i krav 51.

56. En farmasøytisk sammensetning omfattende det bindende proteinet fra ethvert av kravene 1-36 og 55, og en farmasøytisk akseptabel bærer.

57. Den farmasøytiske sammensetningen i krav 56 videre omfattende minst et ytterligere terapeutisk middel.

58. Den farmasøytiske sammensetningen i krav 57, hvori nevnte ytterligere terapeutiske middel er valgt fra gruppen bestående av: Terapeutisk middel, billedfremkallingsmiddel, cytotoksisk middel, angiogenese-inhibitorer; kinase-inhibitorer; blokkerere av ko-stimulerende molekyl; adhesjonsmolekyl-blokkerere; anti-cytokin antistoff eller funksjonelt fragment derav; metotrexat; syklosporin; rapamycin; FK506; detekterbar markør eller reporter; en TNF-antagonist; et antirevmatika; en muskelavslapper, et narkotisk stoff, et ikke-steroid anti-inflammatorisk legemiddel (NSAID), et analgetikum, et anestetika, et sedativ, et lokalt anestetika, en neuromuskulær blokkerer, et antimikrobisk middel, et antipsoriatisk middel, et kortikosteriod, et anabolt steroid, et erythropoietin, et immuniseringsmiddel, et immunoglobulin, et immunosuppressiv, et veksthormon, et hormonerstatningslegemiddel, et

radiofarmasøytika, et antidepressiva, et antipsykotika, en stimulant, et astma-medikament, en beta-agonist, et inhalert steroid, et epinefrin eller analog, et cytokin, og en cytokin-antagonist.

59. En metode for å behandle et subjekt for en sykdom eller en forstyrrelse ved å administrere til subjektet det bindende proteinet fra ethvert av kravene 1-36 og 55 slik at behandling er oppnådd.

60. Metoden i krav 59, hvori nevnte forstyrrelse er valgt fra gruppen omfattende revmatoid artritt, osteoartritt, juvenil kronisk artritt, septisk artritt, Lyme artritt, psoriatisk artritt, reaktiv artritt, spondyloartropati, systemisk lupus erytematose, Crohns sykdom, ulcerativ kolitt, inflammatorisk tarmsykdom, insulin avhengig diabetes mellitus, tyroiditt, astma, allergiske sykdommer, psoriasis, dermatitt skleroderma, transplantat-mot-vert sykdom, organtransplantat-avvisning, akutt eller kronisk immunsykdom assosiert med organ-transplantasjon, sarkoidose, aterosklerose, disseminert intravaskulær koagulasjon, Kawasakis sykdom, Graves sykdom, nefrotisk syndrom, kronisk utmattelsessyndrom, Wegeners granulomatose, Henoch-Schoenlein purpurea, mikroskopisk vaskulitt av nyrene, kronisk aktiv hepatitt, uveitt, septisk sjokk, toksisk sjokk syndrom, sepsis syndrom, kakeksi, smittsomme sykdommer, parasittisk sykdommer, ervervet immunsvikt syndrom, akutt transvers myelitt, Huntingtons chorea, Parkinsons sykdom, Alzheimers sykdom, hjerneslag, primær biliær cirrhose, hemolytisk anemi, maligniteter, hjertesvikt, myokardielt infarkt, Addisons sykdom, sporadisk, polyglandulær mangel type I og polyglandulær mangel type II, Schmidts syndrom, voksen (akutt) respiratorisk distress syndrom, alopeki, alopeki areata, seronegativ artopati, artropati, Reiters sykdom, psoriatisk artropati, ulcerativ kolittisk artropati, enteropatisk synovitt, klamydia, yersinia og salmonella assosiert artropati, spondyloartopati, ateromatisk sykdom/arteriosklerose, atopisk allergi, autoimmun bulløs sykdom, pemfigus vulgaris, pemfigus foliaceus, pemfigoid, lineær IgEn sykdom, autoimmun hemolytisk anemi, Coombs positiv hemolytisk anemi, ervervet pernisiøs anemi, juvenil pernisiøs anemi, myalgisk encefalitt/Royal Fri Sykdom, kronisk mucokutan candidiasis, storcelle arteritt, primær skleroserende hepatitt, kryptogenisk autoimmun hepatitt, Ervervet Immunsvikt Sykdom Syndrom, Ervervet Immunsvikt Beslektede Sykdommer, Hepatitt B, Hepatitt C, vanlig variabel immunsvikt (vanlig variabel hypogammaglobulinemi), dilatert kardiomyopati, kvinnelig infertilitet, eggstokksvikt, prematur eggstokksvikt, fibrotisk lungesykdom, kryptogen fibroserende alveolitt, post-inflammatorisk interstitiell lungesykdom, interstitiell pneumonitt, bindevevssykdom assosiert interstitiell lungesykdom, blandet bindevevssykdom assosiert lungesykdom, systemisk sklerose assosiert interstitiell lungesykdom, revmatoid artritt assosiert interstitiell lungesykdom, systemisk lupus erytematose assosiert lungesykdom, dermatomiositt/polymyositt assosiert lungesykdom, Sjögrens sykdom assosiert lungesykdom, ankyloserende spondylitt assosiert lungesykdom, vaskulitisk diffus

lungesykdom, hemosiderose assosiert lungesykdom, legemiddelindusert interstitiell lungesykdom, fibrose, strålingsfibrose, bronkiolitt obliterans, kronisk eosinofil lungebetennelse, lymfocytisk infiltrativ lungesykdom, postsmittsom interstitiell lungesykdom, giktisk artritt, autoimmun hepatitt, type-1 autoimmun hepatitt (klassisk autoimmun eller lupoid hepatitt), type-2 autoimmun hepatitt (anti-LKM antistoff hepatitt), autoimmun mediert hypoglykemi, type B insulinresistens med acanthosis nigricans, hypoparatyroidisme, akutt immunsykdom assosiert med organ-transplantasjon, kronisk immunsykdom assosiert med organ-transplantasjon, osteoarthrose, primær skleroserende kolangitt, psoriasis type 1, psoriasis type 2, idiopatisk leukopeni, autoimmun neutropeni, nyresykdom NOS, glomerulonefritt, mikroskopisk vasulitt av nyrene, lyme sykdom, diskoid lupus erytematose, mannlig infertilitet idiopatisk eller NOS, sædcelle autoimmunitet, multippel sklerose (alle undertyper), sympatisk oftalmi, pulmonær hypertensjon sekundært til bindevevssykdom, Goodpastures syndrom, pulmonær manifestasjon av polyarteritt nodosa, akutt revmatisk feber, revmatoid spondylitt, Stills sykdom, systemisk sklerose, Sjörgrens syndrom, Takayasus sykdom/arteritt, autoimmun trombocytopeni, idiopatisk trombocytopeni, autoimmun tyroid sykdom, hypertyroidisme, goitrous autoimmun hypotyroidisme (Hashimotos sykdom), atrofisk autoimmun hypotyroidisme, primært myxoødem, facogen uveitt, primær vaskulitt, vitiligo akutt leversykdom, kroniske leversykdommer, alkoholisk cirrhose, alkohol-indusert leverskade, koleosatatis, idiosynkratisk leversykdom, Legemiddelindusert hepatitt, Ikke-alkoholisk Steatohepatitt, allergi og astma, gruppe B streptococci (GBS) infeksjon, mentale forstyrrelser (*f.eks.*, depressjon og schizofreni), Th2 Type og Th1 Type medierte sykdommer, akutt og kronisk smerte (forskjellige typer av smerte), og kreftsykdommer slik som lunge, bryst, mage, blære, tykktarm, bukspyttkjertel, eggstokk, prostata og rektal kreft og hematopoietiske maligniteter (leukemi og lymfom) Abetalipoprotemi, Acrocyanose, akutte og kroniske parasittisk eller smittsomme prosesser, akutt leukemi, akutt lymfoblastisk leukemi (ALLE), akutt myeloid leukemi (AML), akutt eller kronisk bakteriell infeksjon, akutt pancreatitt, akutt nyresvikt, adenokarsinomer, luftige ektopiske slag, AIDS demens-kompleks, alkohol-indusert hepatitt, allergisk konjunktivitt, allergisk kontaktdermatitt, allergisk rinitt, allotransplantat-avvisning, alfa-l- antitrypsin mangel, amyotrofisk lateral sklerose, anemi, angina pectoris, fremre horncelle degenerering, anti cd3 terapi, antifosfolipid syndrom, anti-reseptor hypersensitivitetsreaksjoner, aordiske og perifere aneurismer, aortadisseksjon, arteriell hypertensjon, arteriosklerose, arteriovenøs fistula, ataksi, atriell flimmer (vedvarende eller paroksysmal), atriell flutter, atrioventrikulær blokkering, B-celle lymfom, beintransplantat avvisning, beinmargtransplantat (BMT) avvisning, "bundle branch"-blokkering, Burkitts lymfom, Brannskader, kardielle arytmier, kardiell lammelsessyndrom, kardielle tumorer, kardiomyopati, kardiopulmonær bypass inflammasjonsrespons, brusktransplantat-avvisning, cerebellære kortikale degenerasjoner, cerebellære forstyrrelser, kaotisk eller multifokal atriell takykardi, kjemoterapi-assosierte

forstyrrelser, chromic myelocytisk leukemi (CML), kronisk alkoholisme, kroniske inflammatoriske patologier, kronisk lymfocytisk leukemi (CLL), kronisk obstruktiv pulmonær sykdom (COPD), kronisk salisylatforgiftning, kolorektalt karsinom, kongestiv hjertesvikt, konjunktivitt, kontaktdermatitt, cor pulmonale, koronær arteriesykdom, Creutzfeldt-Jakob sykdom, kultur-negativ sepsis, cystisk fibrose, cytokinterapi-assosierte forstyrrelser, Demens pugilistica, demyelinerende sykdommer, dengue hemoragisk feber, dermatitt, dermatologiske tilstander, diabetes, diabetes mellitus, diabetisk ateriosklerotisk sykdom, Diffus Lewy-kropp sykdom, dilatert kongestiv kardiomyopati, forstyrrelser i det basale ganglia, Downs Syndrom i middelalder, legemiddel- indusert bevegelsesforstyrrelser indusert av legemidler som blokkerer CNS dopaminreseptorer, legemiddelfølsomhet, eksem, encefalomyelitt, endokarditt, endokrinopati, epiglottitt, epstein-barr virus infeksjon, erytromelalgi, ekstrapyramidal og cerebellære forstyrrelser, familiær hematofagocytisk lymfohistiocytose, føtalt tymus implantat avvisning, Friedreichs ataksi, funksjonell perifere arterielle forstyrrelser, sopp sepsis, gass-koldbrann, mavesår, glomerulær nefritt, transplantat-avvisning av ethvert organ eller vev, gram-negativ sepsis, gram-positiv sepsis, granulomar på grunn av intracellulære organismer, hårcelle leukemi, Hallerrorden-Spatz sykdom, hashimotos tyroiditt, høyfeber, hjertetransplantasjonsavvisning, hemakromatose, hemodialyse, hemolytisk uremisk syndrom/trombolytisk trombocytopenisk purpura, blødning, hepatitt (A), "His bundle" arytmier, HIV infeksjon/HIV nevropati, Hodgkins sykdom, hyperkinetiske bevegelsesforstyrrelser, hypersensibilitetsreaksjoner, hypersensitivitet pneumonitt, hypertensjon, hypokinetiske bevegelsesforstyrrelser, hypothalamus-hypofyse-binyre-akse evaluering, idiopatisk Addisons sykdom, idiopatisk pulmonær fibrose, antistoff-mediert cytotoksisitet, Asteni, infantil spinal muskulær atrofi, inflammasjon av aorta, influensa a, ioniserende strålingseksponering, iridocyclitt/uveitt/optisk neuritt, iskemi- reperfusjon skade, iskemisk hjerneslag, juvenil revmatoid artritt, juvenil spinal muskulær atrofi, Kaposis sarkom, nyretransplantasjon avvisning, legionella, leishmaniasis, spedalskhet, lesjoner på det kortikospinale systemet, lipødem, levertransplantasjon avvisning, lymfederma, malaria, malignamt Lymfom, malignant histiocytose, malignant melanom, meningitt, meningococcemia, metabolisk/idiopatisk, migrene hodepine, mitokondriell multisystem forstyrrelse, blandet bindevevssykdom, monoklonal gammopati, multippel myelom, multippel-systemdegenerasjoner (Mencel Dejerine- Thomas Shi-Drager og Machado-Josef), myAsteni gravis, mycobacterium avium intracellulære, mycobacterium tuberculose, myelodyplastisk syndrom, myokardielt infarkt, myokardielle iskemiske forstyrrelser, nasofaryngeal karsinom, neonatal kronisk lungesykdom, nefritt, nefrose, nevrodegenerativ sykdommer, nevrogene I muskulære atrofier , neutropen feber, ikke-hodgkins lymfom, okklusjon av den abdominale aorta og dens sidegrener, okklusive arterielle forstyrrelser, okt3 terapi, orkitt/epidydimitt, orkitt/vasektomi-reversering prosedyrer, organomegali, osteoporose, bukspyttkjertel transplantasjon avvisning, bukspyttkjertel karsinom,

paraneoplastisk syndrom/hyperkalsemi av ondartethet, paratyroid transplantasjon avvisning, inflammatorisk bekken sykdom, perennial rinitt, perikardiell sykdom, perifer aterlosklerotisk sykdom, perifere vaskulære forstyrrelser, peritonitt, pernisiøs anemi, pneumocystis carinii lungebetennelse, lungebetennelse, POEMS syndrom (polynevropati, organomegali, endokrinopati, monoklonal gammopati, og hudforandringssyndrom), postperfusjonssyndrom, post pump syndrom, post-MI kardiotomi syndrom, preeklampsi, Progressiv supranukleær parese, primær pulmonær hypertensjon, strålingsterapi, Raynauds fenomen og sykdom, Raynouds sykdom, Refsums sykdom, jevnlig smal QRS takykardi, renovaskulær hypertensjon, reperfusjon skade, restriktiv kardiomyopati, sarkomer, skleroderma, senil chorea, Senil Demens av Lewy-legemer typen, seronegativ artropatier, sjokk, sigd-celle anemi, hud allotransplantat-avvisning, hudforandringssyndrom, liten tarm transplantasjon avvisning, faste tumorer, spesifikke arytmier, spinal ataksi, spinocerebellære degenerasjoner, streptokokk myositt, strukturelle lesjoner på lillehjernen, Subakutt skleroserende panencefalitt, Synkope, syfilis i det kardiovaskulære systemet, systemisk anafalaksi, systemisk inflammatorisk respons syndrom, systemisk utbrudd juvenil revmatoid artritt, T-celle eller FAB ALLE, Telangiektasi, tromboangitt obliterans, trombocytopeni, toksisitet, transplantasjoner, traumer/blødning, type III hypersensitivitetsreaksjoner, type IV hypersensitivitet, ustabil angina, uremi, urosepsis, urtikaria, valvulære hjertesykdommer, åreknuter, ,vaskulitt, venøse sykdommer, venøs trombose, ventrikulært flimmer, virale infeksjoner og soppinfeksjoner, vital encefalitt/aseptisk meningitt, vital-assosiert hemafagocytisk syndrom, Wernicke- Korsakoff syndrom, Wilsons sykdom, xenotransplantat-avvisning av ethvert organ eller vev, Akutte koronære syndromer, akutt idiopatisk polyneuritt, akutt inflammatorisk demyelinerende polyradiculonevropati, akutt iskemi, voksen Stills sykdom, alopeki areata, Anafylakse, anti-fosfolipid antistoff syndrom, aplastisk anemi, arteriosklerose, atopisk eksem, atopisk dermatitt, autoimmun dermatitt, autoimmun forstyrrelse assosiert med streptococcus infeksjon, autoimmun enteropati, autoimmun hearing tap, autoimmun lymfoproliferativt syndrom (ALPS), autoimmun myokarditt, autoimmun prematur eggstokksvikt, blefaritt, bronchiectasis, Bulløs pemfigoid, kardiovaskulær sykdom, katastrofisk antifosfolipid syndrom, Cøliac sykdom, Cervikal spondylose, kronisk iskemi, cicatricial pemfigoid, klinisk isolert syndrom (cis) med risiko for multippel sklerose, konjunktivitt, Barndom utbrudd Psykiatrisk forstyrrelse, kronisk obstruktiv pulmonær sykdom (COPD), dacryocystitt, dermatomiositt, diabetisk retinopati, diabetes mellitus, Skiveprolaps, Skiveprolaps, legemiddel indusert immun hemolytisk anemi, endokarditt, endometriose, endoftalmitt, episkleritt, Erytema multiforme, Erytema multiforme major, Svangerskaps pemfigoid, Guillain-Barré syndrom (GBS), høyfeber, Hughes syndrom, idiopatisk Parkinsons sykdom, idiopatisk interstitiell lungebetennelse, IgE-mediert allergi, immun hemolytisk anemi, inclusion body myositt, Smittsom okkulær inflammatorisk sykdom, inflammatorisk demyelinerende sykdom, inflammatorisk hjertesykdom, inflammatorisk

nyresykdom, IPF/UIP, iritt, keratitt, keratojuntivitt sicca, Kussmaul sykdom eller Kussmaul-Meier sykdom, Landrys Paralyse, Langerhans celle histiocytose, livedo reticularis, makulær degenerering, mikroskopisk polyangiitt, morbus bechterev, Motornevron forstyrrelser, slimhinne pemfigoid, multippel organsvikt, myAsteni gravis, myelodysplastisk syndrom, myokarditt, Nerverot forstyrrelser, nevropati, ikke-A ikke-B hepatitt, optisk neuritt, osteolyse, eggstokk kreft, Pauciartikulær JRA, perifer arterie okklusiv sykdom (PAOD), perifer vaskulær sykdom (PVD), perifer arterie, sykdom (PAD), flebitt, polyarteritt nodosa (eller periarteritt nodosa), polykondritt, polymyalgi revmatiska, poliose, Polyartikulær JRA, polyendokrin mangel syndrom, polymyositt, polymyalgi revmatiska (PMR), post-pump syndrom, primær Parkinsonisme, prostata og rektal kreft og hematopoietiske maligniteter (leukemi og lymfom), prostatitt, Ren rødcelle aplasi, primær binyrer utilstrekkelighet, tilbakevendende neuromyelitt optica, restenose, revmatisk hjertesykdom, safo (synovitt, akne, pustulose, hyperostose, og osteitt), skleroderma, sekundær amyloidose, Sjokklunge, scleritt, isjas, sekundær binyrer utilstrekkelighet, Silikonassosiert bindevevssykdom, sneddon-wilkinson dermatose, spondilitt ankylosans, Stevens-Johnson syndrom (SJS), systemisk inflammatorisk respons syndrom, temporær arteritt, toksoplasmisk retinitt, toksisk epidermal necrolyse, transvers myelitt, TRAPS (tumornekrose-faktor reseptor, type 1 allergisk reaksjon, type II diabetes, urtikaria, vanlig interstitiell lungebetennelse (UIP), vaskulitt, vernal konjunktivitt, viral retinitt, Vogt-Koyanagi-Harada syndrom (VKH syndrom), våt makulær degenerering, sårtilheling, yersinia og salmonella assosiert artropati.

61. Metoden ifølge krav 60, hvori nevnte å administrere til subjektet er ved minst en måte valgt fra parenteral, subkutan, intramuskulær, intravenøs, intrartikulær, intrabronkiell, intraabdominal, intrakapsulær, intrakartilaginøst, intrakavitøst, intracelialt, intracerebralt, intracerebroventrikulært, intrakolisk, intracervikalt, intragastrisk, intrahepatisk, intramyokardielt, intraostealt, intrapelvisk, intraperikardielt, intraperitonalt, intrapleuralt, intraprostatisk, intrapulmonært, intrarektalt, intrarenalt, intraretinalt, intraspinalt, intrasynovialt, intratoraksialt, intrauterint, intravesikalt, bolus, vaginalt, rektalt, bukkalt, sublingualt, intranasalt og transdermalt.

62. En metode for å generere et immunoglobulin med to variable domener i stand til å binde to antigener omfattende trinnet å

a) oppnå et første moderantistoff eller antigen-bindende porsjon derav, i stand til å binde et første antigen;

b) oppnå et andre moderantistoff eller antigen-bindende porsjon derav, i stand til å binde et andre antigen;

c) konstruere første og tredje polypeptidkjeder omfattende VD1-(X1)n-VD2-C-(X2)n, hvori

VD1 er et første tungkjede variabelt domene oppnådd fra nevnte første moder-antistoff eller antigen-bindende porsjon derav;

VD2 er et andre tungkjede variabelt domene oppnådd fra nevnte andre moder-antistoff eller antigen-bindende porsjon derav;

C er et tungkjede konstant domene;

X1 er en linker med den forutsetningen at den ikke er CH1;

X2 er en Fc-region; og

n er 0 eller 1; og

d) konstruere andre og fjerde polypeptidkjeder omfattende VD1-(X1)n-VD2-C-(X2)n, hvori

VD1 er et første lettkjede variabelt domene oppnådd fra nevnte første moder-antistoff eller antigen-bindende porsjon derav;

VD2 er et andre lettkjede variabelt domene oppnådd fra nevnte andre moder-antistoff eller antigen-bindende derav;

C er et lettkjede konstant domene;

X1 er en linker med den forutsetningen at den ikke er CH1;

X2 ikke omfatter en Fc-region; og

n er 0 eller 1; og

e) som uttrykker nevnte første, andre, tredje og fjerde polypeptidkjeder;

slik at et immunoglobulin med to variable domener i stand til å binde nevnte første og nevnte andre antigen blir fremstilt, hvori det bindende proteinet er i stand til å binde et par med antigener valgt fra gruppen bestående av TNF og IL-17A; TNF og RANKL; TNF og VEGF; TNF og SOST; TNF og DKK; TNF og alfaVbeta3; TNF og NGF; TNF og IL-23p19; TNF og IL-6; TNF og IL-6R; TNF og CD-20; IgE og IL-13; IL-13 og IL-23p19; IgE og IL-4; IgE og IL-9; IL-13 og IL-9; IL-13 og IL-4; IL-6R og VEGF; IL-6R og IL-17A; IL-6R og RANKL; IL-17A og IL-1beta; IL-1beta og RANKL; IL-1beta og VEGF; RANKL og CD-20; og IL-1alfa og IL-1beta.

63. Metoden i krav 62, hvori VD1 og VD2 tungkjede variabelt domener omfatter en aminosyresekvens valgt fra gruppen bestående av SEKV ID NR: 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46, 48, 50, 52, 54, 56, 58, 60, 62, 64, 66, 68, og 70 og hvori VD1 og VD2 lettkjede variable domener omfatter en aminosyresekvens valgt fra gruppen bestående av SEKV ID NR: 29, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, 45, 47, 49, 51, 53, 55, 57, 59, 61, 63, 65, 67, 69, og 71.

64. Metoden i krav 62, hvori nevnte første moderantistoff eller antigen-bindende porsjon derav, og nevnte andre moder-antistoff eller antigen-bindende porsjon derav, er valgt fra gruppen bestående av et humant antistoff, et CDR-podet antistoff, og et humanisert antistoff.

65. Metoden i krav 62, hvori nevnte første moderantistoff eller antigen-bindende porsjon derav, og nevnte andre moder-antistoff eller antigen-bindende porsjon derav, er valgt fra gruppen bestående av et Fab-fragment, en $F(ab')_2$ fragment, et bivalent fragment omfattende to Fab-fragmenter knyttet sammen ved en disulfid-bro ved hengsel-regionen; et Fd-fragment bestående av VH- og CH1-domenene; et Fv-fragment bestående av VL- og VH-domenene fra en enkelt arm til et antistoff, et dAb-fragment, en isolert komplementaritetsbestemmende region (CDR), et enkelt-kjede antistoff, og diabodier.

66. Metoden i krav 62, hvori nevnte første moderantistoff eller antigen-bindende porsjon derav innehar minst en ønsket egenskap vist av immunoglobulinet med to variable domener.

67. Metoden i krav 62, hvori nevnte andre moderantistoff eller antigen-bindende porsjon derav innehar minst en ønsket egenskap vist av immunoglobulinet med to variable domener.

68. Metoden i krav 62, hvori Fc-regionen er valgt fra gruppen bestående av en opprinnelig sekvens Fc-region og en variant sekvens Fc-region.

69. Metoden i krav 62, hvori Fc-regionen er valgt fra gruppen bestående av en Fc-region fra en IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA, IgM, IgE, og IgD.

70. Metoden i krav 66, hvori nevnte ønsket egenskap er valgt fra en eller flere antistoff-parametre.

71. Metoden i krav 67, hvori nevnte ønsket egenskap er valgt fra en eller flere antistoff-parametre.

72. Metoden i krav 70, hvori nevnte antistoff-parametre er valgt fra gruppen bestående av antigen spesifisitet, affinitet ovenfor antigen, styrke, biologisk funksjon, epitop-gjenkjenning, stabillitet, løselighet, produksjonseffektivitet, immunogenitet, farmakokinetikk, biotilgjengelighet, kryssreaktivitet for vev, og ortolog antigen-binding.

73. Metoden i krav 71, hvori nevnte antistoff-parametre er valgt fra gruppen bestående av antigen spesifisitet, affinitet ovenfor antigen, styrke, biologisk funksjon, epitop-gjenkjenning,

stabillitet, løselighet, produksjonseffektivitet, immunogenitet, farmakokinetikk, biotilgjengelighet, kryssreaktivitet for vev, og ortolog antigen-binding.

74. Metoden i krav 62, hvori nevnte første moderantistoff eller antigen-bindende porsjon derav, binder nevnte første antigen med en forskjellig affinitet enn affiniteten som nevnte andre moder-antistoff eller antigen-bindende porsjon derav, binder nevnte andre antigen.

75. Metoden i krav 62, hvori nevnte første moderantistoff eller antigen-bindende porsjon derav, binder nevnte første antigen med en forskjellig styrke enn styrken som nevnte andre moder-antistoff eller antigen-bindende porsjon derav, binder nevnte andre antigen.

76. En metode for å generere et immunoglobulin med to variable domener i stand til å binde to antigener med ønskede egenskaper omfattende trinnet å

a) oppnå et første moderantistoff eller antigen-bindende porsjon derav, i stand til å binde et første antigen og innehar minst en ønsket egenskap vist av immunoglobulinet med to variable domener;

b) oppnå et andre moderantistoff eller antigen-bindende porsjon derav, i stand til å binde et andre antigen og innehar minst en ønsket egenskap vist av immunoglobulinet med to variable domener;

c) konstruere første og tredje polypeptidkjeder omfattende VD1-(X1)n-VD2-C-(X2)n, hvori;

VD1 er et første tungkjede variabelt domene oppnådd fra nevnte første moder-antistoff eller antigen-bindende porsjon derav;

VD2 er et andre tungkjede variabelt domene oppnådd fra nevnte andre moder-antistoff eller antigen-bindende porsjon derav;

C er et tungkjede konstant domene;

X1 er en linker med den forutsetningen at den ikke er CH1;

X2 er en Fc-region; og

n er 0 eller 1;

d) konstruere andre og fjerde polypeptidkjeder omfattende VD1-(X1)n-VD2-C-(X2)n, hvori;

VD1 er et første lettkjede variabelt domene oppnådd fra nevnte første moder-antistoff eller antigen-bindende porsjon derav;

VD2 er et andre lettkjede variabelt domene oppnådd fra nevnte andre moder-antistoff eller antigen-bindende porsjon derav;

C er et lettkjede konstant domene;

X1 er en linker med den forutsetningen at den ikke er CH1;

X2 ikke omfatter en Fc-region; og

n er 0 eller 1;

e) som uttrykker nevnte første, andre, tredje og fjerde polypeptidkjeder; slik at et immunoglobulin med to variable domener i stand til å binde nevnte første og nevnte andre antigen med ønskede egenskaper blir fremstilt, hvori det bindende proteinet er i stand til å binde et par med antigener valgt fra gruppen bestående av TNF og IL-17A; TNF og RANKL; TNF og VEGF; TNF og SOST; TNF og DKK; TNF og alfaVbeta3; TNF og NGF; TNF og IL-23p19; TNF og IL-6; TNF og IL-6R; TNF og CD-20; IgE og IL-13; IL-13 og IL-23p19; IgE og IL-4; IgE og IL-9; IL-13 og IL-9; IL-13 og IL-4; IL-6R og VEGF; IL-6R og IL-17A; IL-6R og RANKL; IL-17A og IL-1beta; IL-1beta og RANKL; IL-1beta og VEGF; RANKL og CD-20; og IL-1alfa og IL-1beta.

SEQUENCE LISTING

<110> GHAYUR, TARIQ

<120> DUAL VARIABLE DOMAIN IMMUNOGLOBULINS AND USES THEREOF

<130> 8386US01

<140>
<141>

<150> 61/130,817
<151> 2008-06-03

<150> 61/197,172
<151> 2008-10-23

<160> 241

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1
<211> 16
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide

<400> 1
Ala Lys Thr Thr Pro Lys Leu Glu Glu Gly Glu Phe Ser Glu Ala Arg
1 5 10 15

<210> 2
<211> 17
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide

<400> 2
Ala Lys Thr Thr Pro Lys Leu Glu Glu Gly Glu Phe Ser Glu Ala Arg
1 5 10 15

Val

<210> 3
<211> 9
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide

<400> 3
Ala Lys Thr Thr Pro Lys Leu Gly Gly
1 5

<210> 4
<211> 10
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide

<400> 4
Ser Ala Lys Thr Thr Pro Lys Leu Gly Gly
1 5 10

<210> 5
<211> 6
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide

<400> 5
Ser Ala Lys Thr Thr Pro
1 5

<210> 6
<211> 6
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide

<400> 6
Arg Ala Asp Ala Ala Pro
1 5

<210> 7
<211> 9
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide

<400> 7
Arg Ala Asp Ala Ala Pro Thr Val Ser
1 5

<210> 8
<211> 12
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide

<400> 8
Arg Ala Asp Ala Ala Ala Ala Gly Gly Pro Gly Ser
1 5 10

<210> 9
<211> 27
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide

<400> 9
Arg Ala Asp Ala Ala Ala Ala Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
1 5 10 15

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
20 25

<210> 10
<211> 18
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide

<400> 10
Ser Ala Lys Thr Thr Pro Lys Leu Glu Glu Gly Glu Phe Ser Glu Ala
1 5 10 15

Arg Val

<210> 11
<211> 5
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide

<400> 11
Ala Asp Ala Ala Pro
1 5

<210> 12
<211> 12
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide

<400> 12
Ala Asp Ala Ala Pro Thr Val Ser Ile Phe Pro Pro
1 5 10

<210> 13
<211> 5
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide

<400> 13
Thr Val Ala Ala Pro
1 5

<210> 14
<211> 12
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide

<400> 14
Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro
1 5 10

<210> 15
<211> 6
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide

<400> 15
Gln Pro Lys Ala Ala Pro
1 5

<210> 16
<211> 13
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide

<400> 16
Gln Pro Lys Ala Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro
1 5 10

<210> 17
<211> 6
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide

<400> 17
Ala Lys Thr Thr Pro Pro
1 5

<210> 18
<211> 13
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide

<400> 18
Ala Lys Thr Thr Pro Pro Ser Val Thr Pro Leu Ala Pro
1 5 10

<210> 19
<211> 6
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide

<400> 19
Ala Lys Thr Thr Ala Pro
1 5

<210> 20
<211> 13
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide

<400> 20
Ala Lys Thr Thr Ala Pro Ser Val Tyr Pro Leu Ala Pro
1 5 10

<210> 21
<211> 6
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide

<400> 21
Ala Ser Thr Lys Gly Pro
1 5

<210> 22
<211> 13
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide

<400> 22
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro
1 5 10

<210> 23
<211> 15
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide

<400> 23
Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
1 5 10 15

<210> 24
<211> 15
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide

<400> 24
Gly Glu Asn Lys Val Glu Tyr Ala Pro Ala Leu Met Ala Leu Ser

1 5 10 15

<210> 25
<211> 15
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide

<400> 25
Gly Pro Ala Lys Glu Leu Thr Pro Leu Lys Glu Ala Lys Val Ser
1 5 10 15

<210> 26
<211> 15
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide

<400> 26
Gly His Glu Ala Ala Ala Val Met Gln Val Gln Tyr Pro Ala Ser
1 5 10 15

<210> 27
<211> 5
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide

<400> 27
Gly Gly Gly Gly Ser
1 5

<210> 28
<211> 121
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 28
Gln Val Gln Leu Gln Gln Pro Gly Ala Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

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

Asn Met His Trp Val Lys Gln Thr Pro Gly Arg Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

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

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

Ala Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ala
115 120

<210> 29
<211> 107
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 29
Gln Ile Val Leu Ser Gln Ser Pro Ala Ile Leu Ser Pro Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Lys Val Thr Met Thr Cys Arg Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Ile
20 25 30

His Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Ser Ser Pro Lys Pro Trp Ile Tyr
35 40 45

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

Gly Ser Gly Thr Ser Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu
65 70 75 80

Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Thr Ser Asn Pro Pro Thr
85 90 95

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg
100 105

<210> 30
<211> 123
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 30
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

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

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

Gly Trp Ile Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Ala Ala Asp Phe
50 55 60

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

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

Ala Lys Tyr Pro His Tyr Tyr Gly Ser Ser His Trp Tyr Phe Asp Val
100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 31
<211> 108
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 31
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 Ser Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr
20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Val Leu Ile
35 40 45

Tyr Phe Thr Ser Ser Leu His 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 Tyr Ser Thr Val Pro Trp
85 90 95

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

<210> 32
<211> 121
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 32
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15

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

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

Ser Ala Ile Thr Trp Asn Ser Gly His Ile Asp Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Glu 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 Lys Val Ser Tyr Leu Ser Thr Ala Ser Ser Leu Asp Tyr Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 33
<211> 108
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 33
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 Tyr
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu 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 Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Arg Tyr Asn Arg Ala Pro Tyr
85 90 95

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

<210> 34
<211> 122
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 34

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

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

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

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

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

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

Ala Lys Asp Pro Gly Thr Thr Val Ile Met Ser Trp Phe Asp Pro Trp
100 105 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 35
<211> 109
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 35
Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15

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

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

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

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 Phe Tyr Cys Gln Gln Tyr Gly Ser Ser Pro
85 90 95

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

<210> 36
<211> 121
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 36
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 Phe Ser Leu Ile Gly Tyr
20 25 30

Asp Leu Asn Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Ile Ile Trp Gly Asp Gly Thr Thr Asp Tyr Asn Ser Ala Val Lys
50 55 60

Ser Arg Val Thr Ile Ser Lys 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

Arg Gly Gly Tyr Trp Tyr Ala Thr Ser Tyr Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 37
<211> 108
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 37
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 Ser Ile Ser Asn Asn
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 Phe His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Phe Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Glu His Thr Leu Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg
100 105

<210> 38
<211> 119
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 38
Glu Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Leu Val Thr Pro Gly Ala
1 5 10 15

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

Tyr Met Ser Trp Val Lys Gln Ser His Gly Lys Ser Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Asp Ile Asn Pro Tyr Ser Gly Glu Thr Thr Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60

Lys Gly Thr Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Ser Ile Ala Tyr
65 70 75 80

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

Ala Arg Asp Asp Tyr Asp Ala Ser Pro Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ala
115

<210> 39
<211> 108
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 39
Asp Val Gln Met Ile Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Leu Gly
1 5 10 15

Asp Ile Val Thr Met Thr Cys Gln Ala Ser Gln Gly Thr Ser Ile Asn
20 25 30

Leu Asn Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Gly Ser Ser Asn Leu Glu Asp Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

Glu Asp Leu Ala Thr Tyr Phe Cys Leu Gln His Ser Tyr Leu Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg
100 105

<210> 40
<211> 120
<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 40
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Ala Asn
1 5 10 15

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

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

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

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

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

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

Gly Val Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 41
<211> 108
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 41
Asp Ile Arg Met Thr Gln Ser Pro Ala Ser Leu Ser Ala Ser Leu Gly
1 5 10 15

Glu Thr Val Asn Ile Glu Cys Leu Ala Ser Glu Asp Ile Tyr Ser Asp
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Gln Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Asn Ala Asn Ser Leu Gln Asn Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Gln Tyr Ser Leu Lys Ile Asn Ser Leu Gln Ser
65 70 75 80

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

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys Arg
100 105

<210> 42
<211> 117
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 42
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly 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

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

Ala Lys Val Ser Ser Gly Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Leu Asp Thr Val
50 55 60

Gln 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 His Asn Tyr Gly Ser Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 43
<211> 108
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 43
Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15

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

Leu His Trp Tyr Gln Gln Arg Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile
35 40 45

Lys Tyr Arg Ser Gln Ser Ile Ser Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Gly Ser Trp Pro His
85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
100 105

<210> 44
<211> 123
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 44
Glu Val Thr Leu Arg Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Thr Gln
1 5 10 15

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

Asp Met Gly Val Asp Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu

35 40 45

Trp Leu Ala His Ile Trp Trp Asp Asp Val Lys Arg Tyr Asn Pro Ala
50 55 60

Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys Asn Gln Val
65 70 75 80

Val Leu Lys Leu Thr Ser Val Asp Pro Val Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr
85 90 95

Cys Ala Arg Thr Val Ser Ser Gly Tyr Ile Tyr Tyr Ala Met Asp Tyr
100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 45
<211> 108
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 45
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 Ser Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Arg Asn Tyr
20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Phe Tyr Thr Ser Lys Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Asn Thr Leu Pro Leu
85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg

100 105

<210> 46
<211> 121
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 46
Gln Val Thr Leu Arg Glu Ser Gly Pro Ala Leu Val Lys Pro Thr Gln
1 5 10 15

Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Phe Ser Gly Phe Ser Leu Ser Thr Ser
20 25 30

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

Trp Leu Ala His Ile Tyr Trp Asp Asp Asp Lys Arg Tyr Asn Pro Ser
50 55 60

Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Arg Asn Gln Val
65 70 75 80

Val Leu Thr Met Thr Asn Met Asp Pro Val Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr
85 90 95

Cys Ala Arg Arg Glu Thr Val Phe Tyr Trp Tyr Phe Asp Val Trp Gly
100 105 110

Arg Gly Thr Pro Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 47
<211> 112
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 47
Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

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

Gly Asp Ser Tyr Met Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro
35 40 45

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

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

Ser Leu Gln Pro Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Asn
85 90 95

Glu Asp Pro Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
100 105 110

<210> 48
<211> 118
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 48
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

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

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

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

Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr Met Glu Leu
65 70 75 80

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

Asp Tyr Tyr Gly Ser Asp Tyr Val Lys Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Ser Ser
115

<210> 49
<211> 108
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 49
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 His Val Gly Thr His
20 25 30

Val Thr Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Ser Thr Ser Tyr Arg Tyr 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 His Phe Tyr Ser Tyr Pro Leu
85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
100 105

<210> 50
<211> 127
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 50
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

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

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

Ala Ala Ile Asn Gln Asp Gly Ser Glu Lys Tyr Tyr Val Gly 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 Val Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Val Arg Asp Tyr Tyr Asp Ile Leu Thr Asp Tyr Tyr Ile His Tyr Trp
100 105 110

Tyr Phe Asp Leu Trp Gly Arg Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 51
<211> 109
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 51
Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15

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

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

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

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 Gly Ser Ser Pro
85 90 95

Cys Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys Arg
100 105

<210> 52
<211> 118
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 52
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly 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 Val Tyr
20 25 30

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

Ala Ile Ile Trp Tyr Asp Gly Asp Asn Gln Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

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

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

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

Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 53
<211> 108
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 53
Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Asp Phe Gln Ser Val Thr Pro Lys
1 5 10 15

Glu Lys Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Gly Ser Ser
20 25 30

Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Lys Tyr Ala Ser Gln Ser Phe Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Asn Ser Leu Glu Ala
65 70 75 80

Glu Asp Ala Ala Ala Tyr Tyr Cys His Gln Ser Ser Ser Leu Pro Phe
85 90 95

Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Asp Ile Lys Arg
100 105

<210> 54
<211> 122
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 54
Asp Val Asn Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly
1 5 10 15

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

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

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

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

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

Thr Arg Asp Asn His Ala Tyr Asp Arg Gly Pro Phe Phe Asp Tyr Trp
100 105 110

Gly Gln Gly Ala Thr Leu Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 55
<211> 114
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 55
Asp Ile Val Met Ser Gln Ser Pro Ser Ser Leu Val Val Ser Val Gly
1 5 10 15

Glu Lys Val Thr Met Ser Cys Lys Ser Ser Gln Asn Leu Phe Tyr Arg
20 25 30

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

Ser Pro Thr Leu Leu Ile Tyr Trp Thr Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val
50 55 60

Pro Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
65 70 75 80

Ile Ser Arg Val Lys Ala Glu Asp Leu Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln
85 90 95

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

Lys Arg

<210> 56
<211> 123

<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 56
Gln Val Thr Leu Lys Glu Ser Gly Pro Gly Ile Leu Gln Pro Ser Gln
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ser Phe Ser Gly Phe Ser Leu Ser Thr Asn
20 25 30

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

Trp Leu Ala His Ile Tyr Trp Asp Glu Asp Lys Arg Tyr Asn Pro Ser
50 55 60

Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Asn Asn Gln Val
65 70 75 80

Phe Leu Lys Ile Thr Asn Val Asp Thr Ala Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr
85 90 95

Cys Ala Arg Arg Arg Ile Ile Tyr Asp Val Glu Asp Tyr Phe Asp Tyr
100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Thr Leu Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 57
<211> 107
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 57
Gln Ile Val Leu Ile Gln Ser Pro Ala Ile Met Ser Ala Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Lys Val Thr Met Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met
20 25 30

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

35 40 45

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

Gly Ser Gly Thr Ser Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Arg Met Glu Ala Glu
65 70 75 80

Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Ser Gly Tyr Pro Tyr Thr
85 90 95

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg
100 105

<210> 58
<211> 123
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 58
Glu Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Leu Met Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

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

Asn Met His Trp Met Lys Gln Asn Gln Gly Lys Ser Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Glu Ile Asn Pro Asn Ser Gly Gly Ser Gly Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60

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

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

Ala Arg Leu Gly Tyr Tyr Gly Asn Tyr Glu Asp Trp Tyr Phe Asp Val
100 105 110

Trp Gly Ala Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 59
<211> 108
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 59
Asp Leu Gln Met Thr Gln Thr Thr Ser Ser Leu Ser Ala Ser Leu Gly
1 5 10 15

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

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gly Thr Val Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Phe Tyr Thr Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asn Tyr Ser Leu Thr Ile Thr Asn Leu Glu Gln
65 70 75 80

Asp Asp Ala Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Gly Asp Thr Leu Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg
100 105

<210> 60
<211> 123
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 60
Glu Val Thr Leu Arg Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Thr Gln
1 5 10 15

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

Asp Met Gly Val Asp Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu
35 40 45

Trp Leu Ala His Ile Trp Trp Asp Asp Val Lys Arg Tyr Asn Pro Ala
50 55 60

Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys Asn Gln Val
65 70 75 80

Val Leu Lys Leu Thr Ser Val Asp Pro Val Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr
85 90 95

Cys Ala Arg Thr Val Ser Ser Gly Tyr Ile Tyr Tyr Ala Met Asp Tyr
100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 61
<211> 108
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 61
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 Ser Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Arg Asn Tyr
20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Phe Tyr Thr Ser Lys Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Leu Thr Pro Pro Leu
85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
100 105

<210> 62
<211> 121
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 62
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Val Ser Gly Tyr Ser Ile Thr Ser Gly
20 25 30

Tyr Ser Trp Asn Trp Ile Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
35 40 45

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

Lys Gly Arg Ile Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr Phe 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 Gly Ser His Tyr Phe Gly His Trp His Phe Ala Val Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 63
<211> 112
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 63
Asp Ile Gln Leu 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 Ser Val Asp Tyr Asp
20 25 30

Gly Asp Ser Tyr Met Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro
35 40 45

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

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

Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser His
85 90 95

Glu Asp Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
100 105 110

<210> 64
<211> 119
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 64
Glu Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Arg Pro Ser Gln
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Tyr Ser Ile Thr Ser Asp
20 25 30

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

Ile Gly Tyr Ile Ser Tyr Ser Gly Ile Thr Thr Tyr Asn Pro Ser Leu
50 55 60

Lys Ser Arg Val Thr Met Leu Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser
65 70 75 80

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

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

Ser Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 65
<211> 108
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 65
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 Asp Ile Ser Ser 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 Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Phe Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Asn Thr Leu Pro Tyr
85 90 95

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

<210> 66
<211> 120
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 66
Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Leu Met Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

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

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

Gly Gln Ile Leu Pro Gly Ser Gly Ser Ala Tyr Tyr Asn Glu Lys Phe
50 55 60

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

Ile Gln Leu Ile Ser Leu Thr Thr Glu Asp Ser Ala Ile Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Glu Asp Asn Tyr Gly Ser Ser Ser Leu Ala Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Leu Leu Thr Val Ser Ala
115 120

<210> 67
<211> 108
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 67
Asp Ile Leu Leu Thr Gln Ser Pro Ala Ile Leu Ser Val Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Arg Val Ser Phe Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Gly Thr Asn
20 25 30

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

Lys Tyr Ala Ser Glu Ser Ile Ser Gly Ile Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Gly Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Ser Ile Asn Ser Val Glu Ser
65 70 75 80

Glu Asp Ile Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Asn Asn Trp Pro Leu
85 90 95

Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys Arg
100 105

<210> 68
<211> 122
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 68
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15

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

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

Ala Ala Val Ser Tyr Asp 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 Ile Leu Phe
65 70 75 80

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

Ala Arg Gly Arg Pro Lys Val Val Ile Pro Ala Pro Leu Ala His Trp
100 105 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Phe Ser Ser
115 120

<210> 69
<211> 108
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 69
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 Ser Ser Trp
20 25 30

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

Tyr Glu Ala Ser Asn Leu Glu Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

Ser Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu His Lys Arg
100 105

<210> 70
<211> 119
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 70
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ser Ser Ser Gly Phe Ile Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

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

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

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

65 70 75 80

Leu Gln Met Asp Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Gly Val Tyr Phe Cys
85 90 95

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

Thr Pro Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 71
<211> 107
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 71
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 Gly Asn Ile His Asn Tyr
20 25 30

Leu Thr Trp Tyr Gln Gln Thr Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Asn Ala Lys Thr Leu Ala Asp Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Phe Trp Ser Ile Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Gln Ile Thr
100 105

<210> 72
<211> 330
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 72
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15

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

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
100 105 110

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
115 120 125

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
130 135 140

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145 150 155 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
165 170 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
180 185 190

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
195 200 205

Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
210 215 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
225 230 235 240

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
245 250 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
260 265 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
275 280 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
290 295 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
305 310 315 320

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325 330

<210> 73
<211> 330
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 73
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15

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

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
100 105 110

Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
115 120 125

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
130 135 140

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145 150 155 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
165 170 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
180 185 190

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
195 200 205

Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
210 215 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
225 230 235 240

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
245 250 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
260 265 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
275 280 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
290 295 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
305 310 315 320

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325 330

<210> 74
<211> 106
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 74
Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln
1 5 10 15

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

Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser
35 40 45

Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
50 55 60

Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys
65 70 75 80

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

Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
100 105

<210> 75
<211> 105
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 75
Gln Pro Lys Ala Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu
1 5 10 15

Glu Leu Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe
20 25 30

Tyr Pro Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro Val
35 40 45

Lys Ala Gly Val Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys

50 55 60

Tyr Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser
65 70 75 80

His Arg Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu
85 90 95

Lys Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser
100 105

<210> 76
<211> 254
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 76
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15

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

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

Ser Ala Ile Thr Trp Asn Ser Gly His Ile Asp Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Glu 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 Lys Val Ser Tyr Leu Ser Thr Ala Ser Ser Leu Asp Tyr Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Glu
115 120 125

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

130 135 140

Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr Trp
145 150 155 160

Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala
165 170 175

Ala Ile Asn Gln Asp Gly Ser Glu Lys Tyr Tyr Val Gly Ser Val Lys
180 185 190

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr Leu
195 200 205

Gln Met Asn Ser Leu Arg Val Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Val
210 215 220

Arg Asp Tyr Tyr Asp Ile Leu Thr Asp Tyr Tyr Ile His Tyr Trp Tyr
225 230 235 240

Phe Asp Leu Trp Gly Arg Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
245 250

<210> 77
<211> 222
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 77
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 Tyr
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu 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 Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65 70 75 80

Glu Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Arg Tyr Asn Arg Ala Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro
115 120 125

Gly Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser
130 135 140

Ser Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu
145 150 155 160

Leu Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe
165 170 175

Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu
180 185 190

Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Gly Ser Ser
195 200 205

Pro Cys Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys Arg
210 215 220

<210> 78
<211> 254
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 78
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

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

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

35 40 45

Ala Ala Ile Asn Gln Asp Gly Ser Glu Lys Tyr Tyr Val Gly 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 Val Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Val Arg Asp Tyr Tyr Asp Ile Leu Thr Asp Tyr Tyr Ile His Tyr Trp
100 105 110

Tyr Phe Asp Leu Trp Gly Arg Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala
115 120 125

Ser Thr Lys Gly Pro Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu
130 135 140

Val Gln Pro Gly Arg Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe
145 150 155 160

Thr Phe Asp Asp Tyr Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys
165 170 175

Gly Leu Glu Trp Val Ser Ala Ile Thr Trp Asn Ser Gly His Ile Asp
180 185 190

Tyr Ala Asp Ser Val Glu Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala
195 200 205

Lys Asn Ser Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr
210 215 220

Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Lys Val Ser Tyr Leu Ser Thr Ala Ser Ser
225 230 235 240

Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
245 250

<210> 79
<211> 222

<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 79
Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15

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

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

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

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 Gly Ser Ser Pro
85 90 95

Cys Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala
100 105 110

Ala Pro Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser
115 120 125

Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Arg
130 135 140

Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu
145 150 155 160

Leu Ile Tyr Ala Ala Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe
165 170 175

Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu
180 185 190

Gln Pro Glu Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Arg Tyr Asn Arg Ala
195 200 205

Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
210 215 220

<210> 80
<211> 249
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 80
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15

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

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

Ser Ala Ile Thr Trp Asn Ser Gly His Ile Asp Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Glu 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 Lys Val Ser Tyr Leu Ser Thr Ala Ser Ser Leu Asp Tyr Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Glu
115 120 125

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

Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Ala
145 150 155 160

Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser
165 170 175

Gly Ile Thr Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
180 185 190

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu
195 200 205

Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
210 215 220

Lys Asp Pro Gly Thr Thr Val Ile Met Ser Trp Phe Asp Pro Trp Gly
225 230 235 240

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
245

<210> 81
<211> 222
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 81
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 Tyr
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu 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 Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Arg Tyr Asn Arg Ala Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro
115 120 125

Gly Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Arg Gly
130 135 140

Arg Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu
145 150 155 160

Leu Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe
165 170 175

Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu
180 185 190

Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Phe Tyr Cys Gln Gln Tyr Gly Ser Ser
195 200 205

Pro Arg Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
210 215 220

<210> 82
<211> 249
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 82
Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

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

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

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

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

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

Ala Lys Asp Pro Gly Thr Thr Val Ile Met Ser Trp Phe Asp Pro Trp
100 105 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro
115 120 125

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg
130 135 140

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr
145 150 155 160

Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
165 170 175

Ser Ala Ile Thr Trp Asn Ser Gly His Ile Asp Tyr Ala Asp Ser Val
180 185 190

Glu Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
195 200 205

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
210 215 220

Ala Lys Val Ser Tyr Leu Ser Thr Ala Ser Ser Leu Asp Tyr Trp Gly
225 230 235 240

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
245

<210> 83
<211> 222
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 83
Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15

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

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

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

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 Phe Tyr Cys Gln Gln Tyr Gly Ser Ser Pro
85 90 95

Arg Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala
100 105 110

Ala Pro Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser
115 120 125

Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Arg
130 135 140

Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu
145 150 155 160

Leu Ile Tyr Ala Ala Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe
165 170 175

Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu
180 185 190

Gln Pro Glu Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Arg Tyr Asn Arg Ala
195 200 205

Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
210 215 220

<210> 84
<211> 250
<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 84
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15

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

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

Ser Ala Ile Thr Trp Asn Ser Gly His Ile Asp Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Glu 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 Lys Val Ser Tyr Leu Ser Thr Ala Ser Ser Leu Asp Tyr Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Glu
115 120 125

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

Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr Gly
145 150 155 160

Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Gly
165 170 175

Trp Ile Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Ala Ala Asp Phe Lys
180 185 190

Arg Arg Phe Thr Phe Ser Leu Asp Thr Ser Lys Ser Thr Ala Tyr Leu
195 200 205

Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
210 215 220

Lys Tyr Pro His Tyr Tyr Gly Ser Ser His Trp Tyr Phe Asp Val Trp
225 230 235 240

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
245 250

<210> 85
<211> 221
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 85
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 Tyr
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu 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 Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Arg Tyr Asn Arg Ala Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val
115 120 125

Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ser Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn
130 135 140

Tyr Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Val Leu
145 150 155 160

Ile Tyr Phe Thr Ser Ser Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser
165 170 175

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln
180 185 190

Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Ser Thr Val Pro
195 200 205

Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
210 215 220

<210> 86
<211> 250
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 86
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

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

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

Gly Trp Ile Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Ala Ala Asp Phe
50 55 60

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

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

Ala Lys Tyr Pro His Tyr Tyr Gly Ser Ser His Trp Tyr Phe Asp Val
100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly
115 120 125

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

Arg Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asp Asp
145 150 155 160

Tyr Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
165 170 175

Val Ser Ala Ile Thr Trp Asn Ser Gly His Ile Asp Tyr Ala Asp Ser
180 185 190

Val Glu Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu
195 200 205

Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr
210 215 220

Cys Ala Lys Val Ser Tyr Leu Ser Thr Ala Ser Ser Leu Asp Tyr Trp
225 230 235 240

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
245 250

<210> 87
<211> 221
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 87
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 Ser Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr
20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Val Leu Ile
35 40 45

Tyr Phe Thr Ser Ser Leu His 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 Tyr Ser Thr Val Pro Trp
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val
115 120 125

Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Arg Asn
130 135 140

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu
145 150 155 160

Ile Tyr Ala Ala Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser
165 170 175

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln
180 185 190

Pro Glu Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Arg Tyr Asn Arg Ala Pro
195 200 205

Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
210 215 220

<210> 88
<211> 246
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 88
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15

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

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

Ser Ala Ile Thr Trp Asn Ser Gly His Ile Asp Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Glu 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 Lys Val Ser Tyr Leu Ser Thr Ala Ser Ser Leu Asp Tyr Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Glu
115 120 125

Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Leu Val Thr Pro Gly Ala Ser
130 135 140

Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp His Tyr
145 150 155 160

Met Ser Trp Val Lys Gln Ser His Gly Lys Ser Leu Glu Trp Ile Gly
165 170 175

Asp Ile Asn Pro Tyr Ser Gly Glu Thr Thr Tyr Asn Gln Lys Phe Lys
180 185 190

Gly Thr Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Ser Ile Ala Tyr Met
195 200 205

Glu Ile Arg Gly Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
210 215 220

Arg Asp Asp Tyr Asp Ala Ser Pro Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
225 230 235 240

Leu Val Thr Val Ser Ala
245

<210> 89
<211> 221
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 89
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 Tyr
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu 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 Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Arg Tyr Asn Arg Ala Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Asp Val Gln Met Ile Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Leu
115 120 125

Gly Asp Ile Val Thr Met Thr Cys Gln Ala Ser Gln Gly Thr Ser Ile
130 135 140

Asn Leu Asn Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu
145 150 155 160

Ile Tyr Gly Ser Ser Asn Leu Glu Asp Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser
165 170 175

Gly Ser Arg Tyr Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu
180 185 190

Asp Glu Asp Leu Ala Thr Tyr Phe Cys Leu Gln His Ser Tyr Leu Pro
195 200 205

Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg
210 215 220

<210> 90
<211> 246
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 90
Glu Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Leu Val Thr Pro Gly Ala
1 5 10 15

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

Tyr Met Ser Trp Val Lys Gln Ser His Gly Lys Ser Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Asp Ile Asn Pro Tyr Ser Gly Glu Thr Thr Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60

Lys Gly Thr Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Ser Ile Ala Tyr
65 70 75 80

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

Ala Arg Asp Asp Tyr Asp Ala Ser Pro Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ala Ala Ser Thr Lys Gly Pro Glu Val Gln
115 120 125

Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg Ser Leu Arg
130 135 140

Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr Ala Met His
145 150 155 160

Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser Ala Ile
165 170 175

Thr Trp Asn Ser Gly His Ile Asp Tyr Ala Asp Ser Val Glu Gly Arg
180 185 190

Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr Leu Gln Met
195 200 205

Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Lys Val
210 215 220

Ser Tyr Leu Ser Thr Ala Ser Ser Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
225 230 235 240

Leu Val Thr Val Ser Ser
245

<210> 91
<211> 221
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 91
Asp Val Gln Met Ile Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Leu Gly
1 5 10 15

Asp Ile Val Thr Met Thr Cys Gln Ala Ser Gln Gly Thr Ser Ile Asn
20 25 30

Leu Asn Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Gly Ser Ser Asn Leu Glu Asp Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

Glu Asp Leu Ala Thr Tyr Phe Cys Leu Gln His Ser Tyr Leu Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val
115 120 125

Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Arg Asn
130 135 140

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu
145 150 155 160

Ile Tyr Ala Ala Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser
165 170 175

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln
180 185 190

Pro Glu Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Arg Tyr Asn Arg Ala Pro
195 200 205

Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
210 215 220

<210> 92
<211> 247
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 92
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15

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

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

Ser Ala Ile Thr Trp Asn Ser Gly His Ile Asp Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Glu 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 Lys Val Ser Tyr Leu Ser Thr Ala Ser Ser Leu Asp Tyr Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Glu
115 120 125

Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Ala Asn Ser
130 135 140

Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr Ala
145 150 155 160

Met Ala Trp Val Arg Gln Ser Pro Lys Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala
165 170 175

Thr Ile Ile Tyr Asp Gly Ser Ser Thr Tyr Tyr Arg Asp Ser Val Lys
180 185 190

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Ser Thr Leu Tyr Leu
195 200 205

Gln Met Asp Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala
210 215 220

Thr Gly Leu Gly Ile Ala Thr Asp Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
225 230 235 240

Val Leu Val Thr Val Ser Ser
245

<210> 93
<211> 221
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 93
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 Tyr
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu 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 Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Arg Tyr Asn Arg Ala Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Asp Ile Arg Met Thr Gln Ser Pro Ala Ser Leu Ser Ala Ser Leu
115 120 125

Gly Glu Thr Val Asn Ile Glu Cys Leu Ala Ser Glu Asp Ile Tyr Ser
130 135 140

Asp Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Gln Leu Leu
145 150 155 160

Ile Tyr Asn Ala Asn Ser Leu Gln Asn Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser
165 170 175

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Gln Tyr Ser Leu Lys Ile Asn Ser Leu Gln
180 185 190

Ser Glu Asp Val Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Tyr Asn Asn Tyr Pro
195 200 205

Pro Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys Arg

210 215 220

<210> 94
<211> 247
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 94
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Ala Asn
1 5 10 15

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

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

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

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

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

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

Gly Val Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Glu Val
115 120 125

Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg Ser Leu
130 135 140

Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr Ala Met
145 150 155 160

His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser Ala
165 170 175

Ile Thr Trp Asn Ser Gly His Ile Asp Tyr Ala Asp Ser Val Glu Gly

180 185 190

Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr Leu Gln
195 200 205

Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Lys
210 215 220

Val Ser Tyr Leu Ser Thr Ala Ser Ser Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
225 230 235 240

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
245

<210> 95
<211> 221
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 95
Asp Ile Arg Met Thr Gln Ser Pro Ala Ser Leu Ser Ala Ser Leu Gly
1 5 10 15

Glu Thr Val Asn Ile Glu Cys Leu Ala Ser Glu Asp Ile Tyr Ser Asp
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Gln Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Asn Ala Asn Ser Leu Gln Asn Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Gln Tyr Ser Leu Lys Ile Asn Ser Leu Gln Ser
65 70 75 80

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

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

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

115 120 125

Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Arg Asn
130 135 140

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu
145 150 155 160

Ile Tyr Ala Ala Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser
165 170 175

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln
180 185 190

Pro Glu Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Arg Tyr Asn Arg Ala Pro
195 200 205

Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
210 215 220

<210> 96
<211> 244
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 96
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15

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

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

Ser Ala Ile Thr Trp Asn Ser Gly His Ile Asp Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Glu 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 Lys Val Ser Tyr Leu Ser Thr Ala Ser Ser Leu Asp Tyr Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Gln
115 120 125

Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg Ser
130 135 140

Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Asp
145 150 155 160

Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala
165 170 175

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

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu
195 200 205

Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
210 215 220

Arg His Asn Tyr Gly Ser Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val
225 230 235 240

Thr Val Ser Ser

<210> 97
<211> 221
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 97
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 Tyr

20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu 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 Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Arg Tyr Asn Arg Ala Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro
115 120 125

Gly Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Gln Ala Ser Gln Ser Ile Ser Asn
130 135 140

His Leu His Trp Tyr Gln Gln Arg Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
145 150 155 160

Ile Lys Tyr Arg Ser Gln Ser Ile Ser Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser
165 170 175

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu
180 185 190

Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Gly Ser Trp Pro
195 200 205

His Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
210 215 220

<210> 98
<211> 244
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 98
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly 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

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

Ala Lys Val Ser Ser Gly Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Leu Asp Thr Val
50 55 60

Gln 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 His Asn Tyr Gly Ser Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Glu Val Gln Leu Val
115 120 125

Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg Ser Leu Arg Leu Ser
130 135 140

Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr Ala Met His Trp Val
145 150 155 160

Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser Ala Ile Thr Trp
165 170 175

Asn Ser Gly His Ile Asp Tyr Ala Asp Ser Val Glu Gly Arg Phe Thr
180 185 190

Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser
195 200 205

Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Lys Val Ser Tyr
210 215 220

Leu Ser Thr Ala Ser Ser Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
225 230 235 240

Thr Val Ser Ser

<210> 99
<211> 221
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 99
Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15

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

Leu His Trp Tyr Gln Gln Arg Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile
35 40 45

Lys Tyr Arg Ser Gln Ser Ile Ser Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Gly Ser Trp Pro His
85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val
115 120 125

Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Arg Asn
130 135 140

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu
145 150 155 160

Ile Tyr Ala Ala Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser
165 170 175

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln
180 185 190

Pro Glu Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Arg Tyr Asn Arg Ala Pro
195 200 205

Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
210 215 220

<210> 100
<211> 248
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 100
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15

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

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

Ser Ala Ile Thr Trp Asn Ser Gly His Ile Asp Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Glu 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 Lys Val Ser Tyr Leu Ser Thr Ala Ser Ser Leu Asp Tyr Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Gln
115 120 125

Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu Thr
130 135 140

Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Ile Gly Tyr Asp
145 150 155 160

Leu Asn Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile Gly
165 170 175

Ile Ile Trp Gly Asp Gly Thr Thr Asp Tyr Asn Ser Ala Val Lys Ser
180 185 190

Arg Val Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu Lys
195 200 205

Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg
210 215 220

Gly Gly Tyr Trp Tyr Ala Thr Ser Tyr Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln
225 230 235 240

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
245

<210> 101
<211> 221
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 101
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 Tyr
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu 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 Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Arg Tyr Asn Arg Ala Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val
115 120 125

Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Asn
130 135 140

Asn Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu
145 150 155 160

Ile Tyr Tyr Thr Ser Arg Phe His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser
165 170 175

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Phe Thr Ile Ser Ser Leu Gln
180 185 190

Pro Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Glu His Thr Leu Pro
195 200 205

Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg
210 215 220

<210> 102
<211> 248
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<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 Phe Ser Leu Ile Gly Tyr
20 25 30

Asp Leu Asn Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Ile Ile Trp Gly Asp Gly Thr Thr Asp Tyr Asn Ser Ala Val Lys
50 55 60

Ser Arg Val Thr Ile Ser Lys 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

Arg Gly Gly Tyr Trp Tyr Ala Thr Ser Tyr Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Glu
115 120 125

Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg Ser
130 135 140

Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr Ala
145 150 155 160

Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser
165 170 175

Ala Ile Thr Trp Asn Ser Gly His Ile Asp Tyr Ala Asp Ser Val Glu
180 185 190

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr Leu
195 200 205

Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
210 215 220

Lys Val Ser Tyr Leu Ser Thr Ala Ser Ser Leu Asp Tyr Trp Gly Gln
225 230 235 240

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
245

<210> 103
<211> 221
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 103
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 Ser Ile Ser Asn Asn
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 Phe His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Phe Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Glu His Thr Leu Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val
115 120 125

Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Arg Asn
130 135 140

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu
145 150 155 160

Ile Tyr Ala Ala Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser
165 170 175

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln
180 185 190

Pro Glu Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Arg Tyr Asn Arg Ala Pro
195 200 205

Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
210 215 220

<210> 104
<211> 249
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 104
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15

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

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

Ser Ala Ile Thr Trp Asn Ser Gly His Ile Asp Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Glu 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 Lys Val Ser Tyr Leu Ser Thr Ala Ser Ser Leu Asp Tyr Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Asp
115 120 125

Val Asn Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly Ser
130 135 140

Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Thr
145 150 155 160

Met Ser Trp Val Arg Gln Thr Pro Glu Lys Arg Leu Glu Trp Val Ala
165 170 175

Thr Ile Ser Ser Gly Gly Thr Tyr Thr Tyr Tyr Pro Asp Ser Val Lys
180 185 190

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Leu Tyr Leu
195 200 205

Gln Met Ser Ser Leu Lys Ser Glu Asp Thr Ala Met Phe Tyr Cys Thr
210 215 220

Arg Asp Asn His Ala Tyr Asp Arg Gly Pro Phe Phe Asp Tyr Trp Gly
225 230 235 240

Gln Gly Ala Thr Leu Thr Val Ser Ser
245

<210> 105
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 105
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 Tyr
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu 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 Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Arg Tyr Asn Arg Ala Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Asp Ile Val Met Ser Gln Ser Pro Ser Ser Leu Val Val Ser Val
115 120 125

Gly Glu Lys Val Thr Met Ser Cys Lys Ser Ser Gln Asn Leu Phe Tyr
130 135 140

Arg Ser Asn Gln Lys Asn His Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly
145 150 155 160

Gln Ser Pro Thr Leu Leu Ile Tyr Trp Thr Ser Thr Arg Glu Ser Gly
165 170 175

Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu
180 185 190

Thr Ile Ser Arg Val Lys Ala Glu Asp Leu Ala Val Tyr Tyr Cys Gln
195 200 205

Gln Tyr Tyr Ser Tyr Pro Pro Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu
210 215 220

Ile Lys Arg
225

<210> 106
<211> 249
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 106
Asp Val Asn Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly
1 5 10 15

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

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

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

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

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

Thr Arg Asp Asn His Ala Tyr Asp Arg Gly Pro Phe Phe Asp Tyr Trp
100 105 110

Gly Gln Gly Ala Thr Leu Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro
115 120 125

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg
130 135 140

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr
145 150 155 160

Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
165 170 175

Ser Ala Ile Thr Trp Asn Ser Gly His Ile Asp Tyr Ala Asp Ser Val
180 185 190

Glu Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
195 200 205

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
210 215 220

Ala Lys Val Ser Tyr Leu Ser Thr Ala Ser Ser Leu Asp Tyr Trp Gly
225 230 235 240

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
245

<210> 107
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 107
Asp Ile Val Met Ser Gln Ser Pro Ser Ser Leu Val Val Ser Val Gly
1 5 10 15

Glu Lys Val Thr Met Ser Cys Lys Ser Ser Gln Asn Leu Phe Tyr Arg
20 25 30

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

Ser Pro Thr Leu Leu Ile Tyr Trp Thr Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val
50 55 60

Pro Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
65 70 75 80

Ile Ser Arg Val Lys Ala Glu Asp Leu Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln
85 90 95

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

Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser
115 120 125

Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala
130 135 140

Ser Gln Gly Ile Arg Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly
145 150 155 160

Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Ala Ala Ser Thr Leu Gln Ser Gly
165 170 175

Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu
180 185 190

Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln
195 200 205

Arg Tyr Asn Arg Ala Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu
210 215 220

Ile Lys Arg
225

<210> 108
<211> 250
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 108
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15

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

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

Ser Ala Ile Thr Trp Asn Ser Gly His Ile Asp Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Glu 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 Lys Val Ser Tyr Leu Ser Thr Ala Ser Ser Leu Asp Tyr Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Gln
115 120 125

Val Thr Leu Lys Glu Ser Gly Pro Gly Ile Leu Gln Pro Ser Gln Thr
130 135 140

Leu Ser Leu Thr Cys Ser Phe Ser Gly Phe Ser Leu Ser Thr Asn Gly
145 150 155 160

Met Gly Val Ser Trp Ile Arg Gln Pro Ser Gly Lys Gly Leu Glu Trp
165 170 175

Leu Ala His Ile Tyr Trp Asp Glu Asp Lys Arg Tyr Asn Pro Ser Leu
180 185 190

Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Asn Asn Gln Val Phe
195 200 205

Leu Lys Ile Thr Asn Val Asp Thr Ala Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys
210 215 220

Ala Arg Arg Arg Ile Ile Tyr Asp Val Glu Asp Tyr Phe Asp Tyr Trp
225 230 235 240

Gly Gln Gly Thr Thr Leu Thr Val Ser Ser
245 250

<210> 109
<211> 220
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 109
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 Tyr
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu 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 Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Arg Tyr Asn Arg Ala Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Gln Ile Val Leu Ile Gln Ser Pro Ala Ile Met Ser Ala Ser Pro
115 120 125

Gly Glu Lys Val Thr Met Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr
130 135 140

Met Tyr Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Ser Ser Pro Arg Leu Leu Ile
145 150 155 160

Tyr Asp Thr Ser Asn Leu Ala Ser Gly Val Pro Val Arg Phe Ser Gly
165 170 175

Ser Gly Ser Gly Thr Ser Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Arg Met Glu Ala
180 185 190

Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Ser Gly Tyr Pro Tyr
195 200 205

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg
210 215 220

<210> 110
<211> 250
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 110
Gln Val Thr Leu Lys Glu Ser Gly Pro Gly Ile Leu Gln Pro Ser Gln
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ser Phe Ser Gly Phe Ser Leu Ser Thr Asn
20 25 30

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

Trp Leu Ala His Ile Tyr Trp Asp Glu Asp Lys Arg Tyr Asn Pro Ser
50 55 60

Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Asn Asn Gln Val
65 70 75 80

Phe Leu Lys Ile Thr Asn Val Asp Thr Ala Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr
85 90 95

Cys Ala Arg Arg Arg Ile Ile Tyr Asp Val Glu Asp Tyr Phe Asp Tyr
100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Thr Leu Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly
115 120 125

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

Arg Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asp Asp
145 150 155 160

Tyr Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
165 170 175

Val Ser Ala Ile Thr Trp Asn Ser Gly His Ile Asp Tyr Ala Asp Ser
180 185 190

Val Glu Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu
195 200 205

Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr
210 215 220

Cys Ala Lys Val Ser Tyr Leu Ser Thr Ala Ser Ser Leu Asp Tyr Trp
225 230 235 240

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
245 250

<210> 111
<211> 220
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 111

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

Glu Lys Val Thr Met Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met
20 25 30

Tyr Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Ser Ser Pro Arg Leu Leu Ile Tyr
35 40 45

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

Gly Ser Gly Thr Ser Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Arg Met Glu Ala Glu
65 70 75 80

Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Ser Gly Tyr Pro Tyr Thr
85 90 95

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro
100 105 110

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
115 120 125

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Arg Asn Tyr
130 135 140

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
145 150 155 160

Tyr Ala Ala Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
165 170 175

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
180 185 190

Glu Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Arg Tyr Asn Arg Ala Pro Tyr
195 200 205

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
210 215 220

<210> 112

<211> 250
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 112
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15

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

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

Ser Ala Ile Thr Trp Asn Ser Gly His Ile Asp Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Glu 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 Lys Val Ser Tyr Leu Ser Thr Ala Ser Ser Leu Asp Tyr Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Glu
115 120 125

Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Leu Met Lys Pro Gly Ala Ser
130 135 140

Val Lys Met Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr Asn
145 150 155 160

Met His Trp Met Lys Gln Asn Gln Gly Lys Ser Leu Glu Trp Ile Gly
165 170 175

Glu Ile Asn Pro Asn Ser Gly Gly Ser Gly Tyr Asn Gln Lys Phe Lys
180 185 190

Gly Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr Met

195 200 205

Glu Leu Arg Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
210 215 220

Arg Leu Gly Tyr Tyr Gly Asn Tyr Glu Asp Trp Tyr Phe Asp Val Trp
225 230 235 240

Gly Ala Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
245 250

<210> 113
<211> 221
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 113
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 Tyr
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu 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 Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Arg Tyr Asn Arg Ala Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Asp Leu Gln Met Thr Gln Thr Thr Ser Ser Leu Ser Ala Ser Leu
115 120 125

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

130 135 140

Tyr Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gly Thr Val Lys Leu Leu
145 150 155 160

Ile Phe Tyr Thr Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser
165 170 175

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asn Tyr Ser Leu Thr Ile Thr Asn Leu Glu
180 185 190

Gln Asp Asp Ala Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Gly Asp Thr Leu Pro
195 200 205

Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg
210 215 220

<210> 114
<211> 250
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 114
Glu Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Leu Met Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

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

Asn Met His Trp Met Lys Gln Asn Gln Gly Lys Ser Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Glu Ile Asn Pro Asn Ser Gly Gly Ser Gly Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60

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

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

Ala Arg Leu Gly Tyr Tyr Gly Asn Tyr Glu Asp Trp Tyr Phe Asp Val

100 105 110

Trp Gly Ala Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly
115 120 125

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

Arg Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asp Asp
145 150 155 160

Tyr Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
165 170 175

Val Ser Ala Ile Thr Trp Asn Ser Gly His Ile Asp Tyr Ala Asp Ser
180 185 190

Val Glu Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu
195 200 205

Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr
210 215 220

Cys Ala Lys Val Ser Tyr Leu Ser Thr Ala Ser Ser Leu Asp Tyr Trp
225 230 235 240

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
245 250

<210> 115
<211> 221
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 115
Asp Leu Gln Met Thr Gln Thr Thr Ser Ser Leu Ser Ala Ser Leu Gly
1 5 10 15

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

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gly Thr Val Lys Leu Leu Ile

35 40 45

Phe Tyr Thr Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asn Tyr Ser Leu Thr Ile Thr Asn Leu Glu Gln
65 70 75 80

Asp Asp Ala Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Gly Asp Thr Leu Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val
115 120 125

Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Arg Asn
130 135 140

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu
145 150 155 160

Ile Tyr Ala Ala Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser
165 170 175

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln
180 185 190

Pro Glu Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Arg Tyr Asn Arg Ala Pro
195 200 205

Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
210 215 220

<210> 116
<211> 246
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 116
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg

1 5 10 15

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

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

Ser Ala Ile Thr Trp Asn Ser Gly His Ile Asp Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Glu 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 Lys Val Ser Tyr Leu Ser Thr Ala Ser Ser Leu Asp Tyr Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Glu
115 120 125

Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Arg Pro Ser Gln Thr
130 135 140

Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Tyr Ser Ile Thr Ser Asp His
145 150 155 160

Ala Trp Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Arg Gly Leu Glu Trp Ile
165 170 175

Gly Tyr Ile Ser Tyr Ser Gly Ile Thr Thr Tyr Asn Pro Ser Leu Lys
180 185 190

Ser Arg Val Thr Met Leu Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu
195 200 205

Arg Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
210 215 220

Arg Ser Leu Ala Arg Thr Thr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Ser
225 230 235 240

Leu Val Thr Val Ser Ser
245

<210> 117
<211> 221
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 117
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 Tyr
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu 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 Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Arg Tyr Asn Arg Ala Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val
115 120 125

Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Ser
130 135 140

Tyr Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu
145 150 155 160

Ile Tyr Tyr Thr Ser Arg Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser
165 170 175

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Phe Thr Ile Ser Ser Leu Gln
180 185 190

Pro Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Asn Thr Leu Pro
195 200 205

Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
210 215 220

<210> 118
<211> 246
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 118
Glu Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Arg Pro Ser Gln
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Tyr Ser Ile Thr Ser Asp
20 25 30

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

Ile Gly Tyr Ile Ser Tyr Ser Gly Ile Thr Thr Tyr Asn Pro Ser Leu
50 55 60

Lys Ser Arg Val Thr Met Leu Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser
65 70 75 80

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

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

Ser Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Glu Val Gln
115 120 125

Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg Ser Leu Arg
130 135 140

Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr Ala Met His
145 150 155 160

Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser Ala Ile
165 170 175

Thr Trp Asn Ser Gly His Ile Asp Tyr Ala Asp Ser Val Glu Gly Arg
180 185 190

Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr Leu Gln Met
195 200 205

Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Lys Val
210 215 220

Ser Tyr Leu Ser Thr Ala Ser Ser Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
225 230 235 240

Leu Val Thr Val Ser Ser
245

<210> 119
<211> 221
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 119
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 Asp Ile Ser Ser 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 Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Phe Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Asn Thr Leu Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val
115 120 125

Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Arg Asn
130 135 140

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu
145 150 155 160

Ile Tyr Ala Ala Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser
165 170 175

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln
180 185 190

Pro Glu Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Arg Tyr Asn Arg Ala Pro
195 200 205

Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
210 215 220

<210> 120
<211> 248
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 120
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15

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

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

Ser Ala Ile Thr Trp Asn Ser Gly His Ile Asp Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Glu 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 Lys Val Ser Tyr Leu Ser Thr Ala Ser Ser Leu Asp Tyr Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Gln
115 120 125

Val Gln Leu Gln Gln Pro Gly Ala Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala Ser
130 135 140

Val Lys Met Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr Asn
145 150 155 160

Met His Trp Val Lys Gln Thr Pro Gly Arg Gly Leu Glu Trp Ile Gly
165 170 175

Ala Ile Tyr Pro Gly Asn Gly Asp Thr Ser Tyr Asn Gln Lys Phe Lys
180 185 190

Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr Met
195 200 205

Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
210 215 220

Arg Ser Thr Tyr Tyr Gly Gly Asp Trp Tyr Phe Asn Val Trp Gly Ala
225 230 235 240

Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ala
245

<210> 121
<211> 220
<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 121
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 Tyr
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu 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 Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Arg Tyr Asn Arg Ala Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Gln Ile Val Leu Ser Gln Ser Pro Ala Ile Leu Ser Pro Ser Pro
115 120 125

Gly Glu Lys Val Thr Met Thr Cys Arg Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr
130 135 140

Ile His Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Ser Ser Pro Lys Pro Trp Ile
145 150 155 160

Tyr Ala Thr Ser Asn Leu Ala Ser Gly Val Pro Val Arg Phe Ser Gly
165 170 175

Ser Gly Ser Gly Thr Ser Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Arg Val Glu Ala
180 185 190

Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Thr Ser Asn Pro Pro
195 200 205

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg
210 215 220

<210> 122
<211> 248
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 122
Gln Val Gln Leu Gln Gln Pro Gly Ala Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

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

Asn Met His Trp Val Lys Gln Thr Pro Gly Arg Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

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

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

Ala Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ala Ala Ser Thr Lys Gly Pro Glu
115 120 125

Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg Ser
130 135 140

Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr Ala
145 150 155 160

Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser
165 170 175

Ala Ile Thr Trp Asn Ser Gly His Ile Asp Tyr Ala Asp Ser Val Glu
180 185 190

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr Leu
195 200 205

Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
210 215 220

Lys Val Ser Tyr Leu Ser Thr Ala Ser Ser Leu Asp Tyr Trp Gly Gln
225 230 235 240

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
245

<210> 123
<211> 220
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 123
Gln Ile Val Leu Ser Gln Ser Pro Ala Ile Leu Ser Pro Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Lys Val Thr Met Thr Cys Arg Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Ile
20 25 30

His Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Ser Ser Pro Lys Pro Trp Ile Tyr
35 40 45

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

Gly Ser Gly Thr Ser Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu
65 70 75 80

Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Thr Ser Asn Pro Pro Thr
85 90 95

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro
100 105 110

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
115 120 125

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Arg Asn Tyr
130 135 140

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
145 150 155 160

Tyr Ala Ala Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
165 170 175

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
180 185 190

Glu Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Arg Tyr Asn Arg Ala Pro Tyr
195 200 205

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
210 215 220

<210> 124
<211> 250
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 124
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Val Ser Gly Tyr Ser Ile Thr Ser Gly
20 25 30

Tyr Ser Trp Asn Trp Ile Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
35 40 45

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

Lys Gly Arg Ile Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr Phe 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 Gly Ser His Tyr Phe Gly His Trp His Phe Ala Val Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Glu
115 120 125

Val Thr Leu Arg Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Thr Gln Thr
130 135 140

Leu Thr Leu Thr Cys Thr Leu Tyr Gly Phe Ser Leu Ser Thr Ser Asp
145 150 155 160

Met Gly Val Asp Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
165 170 175

Leu Ala His Ile Trp Trp Asp Asp Val Lys Arg Tyr Asn Pro Ala Leu
180 185 190

Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys Asn Gln Val Val
195 200 205

Leu Lys Leu Thr Ser Val Asp Pro Val Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys
210 215 220

Ala Arg Thr Val Ser Ser Gly Tyr Ile Tyr Tyr Ala Met Asp Tyr Trp
225 230 235 240

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
245 250

<210> 125
<211> 225
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 125
Asp Ile Gln Leu 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 Ser Val Asp Tyr Asp
20 25 30

Gly Asp Ser Tyr Met Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro
35 40 45

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

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

Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser His
85 90 95

Glu Asp Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
100 105 110

Thr Val Ala Ala Pro Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu
115 120 125

Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Gln
130 135 140

Asp Ile Arg Asn Tyr Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala
145 150 155 160

Pro Lys Leu Leu Ile Phe Tyr Thr Ser Lys Leu His Ser Gly Val Pro
165 170 175

Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Thr Leu Thr Ile
180 185 190

Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly
195 200 205

Asn Thr Leu Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
210 215 220

Arg
225

<210> 126
<211> 250
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 126
Glu Val Thr Leu Arg Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Thr Gln
1 5 10 15

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

Asp Met Gly Val Asp Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu
35 40 45

Trp Leu Ala His Ile Trp Trp Asp Asp Val Lys Arg Tyr Asn Pro Ala
50 55 60

Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys Asn Gln Val
65 70 75 80

Val Leu Lys Leu Thr Ser Val Asp Pro Val Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr
85 90 95

Cys Ala Arg Thr Val Ser Ser Gly Tyr Ile Tyr Tyr Ala Met Asp Tyr
100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly
115 120 125

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

Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Val Ser Gly Tyr Ser Ile Thr Ser
145 150 155 160

Gly Tyr Ser Trp Asn Trp Ile Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu
165 170 175

Trp Val Ala Ser Ile Thr Tyr Asp Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser
180 185 190

Val Lys Gly Arg Ile Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr Phe
195 200 205

Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr
210 215 220

Cys Ala Arg Gly Ser His Tyr Phe Gly His Trp His Phe Ala Val Trp
225 230 235 240

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
245 250

<210> 127
<211> 225
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 127
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 Ser Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Arg Asn Tyr
20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Phe Tyr Thr Ser Lys Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Asn Thr Leu Pro Leu
85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val
115 120 125

Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Asp Tyr
130 135 140

Asp Gly Asp Ser Tyr Met Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala
145 150 155 160

Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Ala Ala Ser Tyr Leu Glu Ser Gly Val Pro
165 170 175

Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile
180 185 190

Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser
195 200 205

His Glu Asp Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
210 215 220

Arg
225

<210> 128
<211> 251
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 128
Glu Val Thr Leu Arg Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Thr Gln
1 5 10 15

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

Asp Met Gly Val Asp Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu
35 40 45

Trp Leu Ala His Ile Trp Trp Asp Asp Val Lys Arg Tyr Asn Pro Ala
50 55 60

Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys Asn Gln Val
65 70 75 80

Val Leu Lys Leu Thr Ser Val Asp Pro Val Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr
85 90 95

Cys Ala Arg Thr Val Ser Ser Gly Tyr Ile Tyr Tyr Ala Met Asp Tyr
100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly
115 120 125

Pro Asp Val Asn Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly
130 135 140

Gly Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser
145 150 155 160

Tyr Thr Met Ser Trp Val Arg Gln Thr Pro Glu Lys Arg Leu Glu Trp
165 170 175

Val Ala Thr Ile Ser Ser Gly Gly Thr Tyr Thr Tyr Tyr Pro Asp Ser
180 185 190

Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Leu
195 200 205

Tyr Leu Gln Met Ser Ser Leu Lys Ser Glu Asp Thr Ala Met Phe Tyr
210 215 220

Cys Thr Arg Asp Asn His Ala Tyr Asp Arg Gly Pro Phe Phe Asp Tyr
225 230 235 240

Trp Gly Gln Gly Ala Thr Leu Thr Val Ser Ser
245 250

<210> 129
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 129
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 Ser Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Arg Asn Tyr
20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Phe Tyr Thr Ser Lys Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Asn Thr Leu Pro Leu
85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Asp Ile Val Met Ser Gln Ser Pro Ser Ser Leu Val Val Ser Val
115 120 125

Gly Glu Lys Val Thr Met Ser Cys Lys Ser Ser Gln Asn Leu Phe Tyr
130 135 140

Arg Ser Asn Gln Lys Asn His Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly
145 150 155 160

Gln Ser Pro Thr Leu Leu Ile Tyr Trp Thr Ser Thr Arg Glu Ser Gly
165 170 175

Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu
180 185 190

Thr Ile Ser Arg Val Lys Ala Glu Asp Leu Ala Val Tyr Tyr Cys Gln
195 200 205

Gln Tyr Tyr Ser Tyr Pro Pro Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu
210 215 220

Ile Lys Arg
225

<210> 130

<211> 251
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 130
Asp Val Asn Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly
1 5 10 15

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

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

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

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

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

Thr Arg Asp Asn His Ala Tyr Asp Arg Gly Pro Phe Phe Asp Tyr Trp
100 105 110

Gly Gln Gly Ala Thr Leu Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro
115 120 125

Glu Val Thr Leu Arg Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Thr Gln
130 135 140

Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Leu Tyr Gly Phe Ser Leu Ser Thr Ser
145 150 155 160

Asp Met Gly Val Asp Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu
165 170 175

Trp Leu Ala His Ile Trp Trp Asp Asp Val Lys Arg Tyr Asn Pro Ala
180 185 190

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

195 200 205

Val Leu Lys Leu Thr Ser Val Asp Pro Val Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr
210 215 220

Cys Ala Arg Thr Val Ser Ser Gly Tyr Ile Tyr Tyr Ala Met Asp Tyr
225 230 235 240

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
245 250

<210> 131
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 131
Asp Ile Val Met Ser Gln Ser Pro Ser Ser Leu Val Val Ser Val Gly
1 5 10 15

Glu Lys Val Thr Met Ser Cys Lys Ser Ser Gln Asn Leu Phe Tyr Arg
20 25 30

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

Ser Pro Thr Leu Leu Ile Tyr Trp Thr Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val
50 55 60

Pro Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
65 70 75 80

Ile Ser Arg Val Lys Ala Glu Asp Leu Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln
85 90 95

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

Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser
115 120 125

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

130 135 140

Ser Gln Asp Ile Arg Asn Tyr Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly
145 150 155 160

Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Phe Tyr Thr Ser Lys Leu His Ser Gly
165 170 175

Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Thr Leu
180 185 190

Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln
195 200 205

Gln Gly Asn Thr Leu Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu
210 215 220

Ile Lys Arg
225

<210> 132
<211> 248
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 132
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Val Ser Gly Tyr Ser Ile Thr Ser Gly
20 25 30

Tyr Ser Trp Asn Trp Ile Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
35 40 45

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

Lys Gly Arg Ile Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr Phe 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 Gly Ser His Tyr Phe Gly His Trp His Phe Ala Val Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Gln
115 120 125

Val Thr Leu Arg Glu Ser Gly Pro Ala Leu Val Lys Pro Thr Gln Thr
130 135 140

Leu Thr Leu Thr Cys Thr Phe Ser Gly Phe Ser Leu Ser Thr Ser Gly
145 150 155 160

Met Gly Val Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
165 170 175

Leu Ala His Ile Tyr Trp Asp Asp Asp Lys Arg Tyr Asn Pro Ser Leu
180 185 190

Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Arg Asn Gln Val Val
195 200 205

Leu Thr Met Thr Asn Met Asp Pro Val Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys
210 215 220

Ala Arg Arg Glu Thr Val Phe Tyr Trp Tyr Phe Asp Val Trp Gly Arg
225 230 235 240

Gly Thr Pro Val Thr Val Ser Ser
245

<210> 133
<211> 229
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 133
Asp Ile Gln Leu 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 Ser Val Asp Tyr Asp

20 25 30

Gly Asp Ser Tyr Met Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro
35 40 45

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

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

Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser His
85 90 95

Glu Asp Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
100 105 110

Thr Val Ala Ala Pro Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu
115 120 125

Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln
130 135 140

Ser Val Asp Tyr Asp Gly Asp Ser Tyr Met Asn Trp Tyr Gln Gln Lys
145 150 155 160

Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Ala Ala Ser Asn Leu Glu
165 170 175

Ser Gly Ile Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe
180 185 190

Thr Phe Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr
195 200 205

Cys Gln Gln Ser Asn Glu Asp Pro Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys
210 215 220

Val Glu Ile Lys Arg
225

<210> 134
<211> 248

<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 134
Gln Val Thr Leu Arg Glu Ser Gly Pro Ala Leu Val Lys Pro Thr Gln
1 5 10 15

Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Phe Ser Gly Phe Ser Leu Ser Thr Ser
20 25 30

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

Trp Leu Ala His Ile Tyr Trp Asp Asp Asp Lys Arg Tyr Asn Pro Ser
50 55 60

Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Arg Asn Gln Val
65 70 75 80

Val Leu Thr Met Thr Asn Met Asp Pro Val Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr
85 90 95

Cys Ala Arg Arg Glu Thr Val Phe Tyr Trp Tyr Phe Asp Val Trp Gly
100 105 110

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

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

Leu Arg Leu Ser Cys Ala Val Ser Gly Tyr Ser Ile Thr Ser Gly Tyr
145 150 155 160

Ser Trp Asn Trp Ile Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
165 170 175

Ala Ser Ile Thr Tyr Asp Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Val Lys
180 185 190

Gly Arg Ile Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr Phe Tyr Leu
195 200 205

Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
210 215 220

Arg Gly Ser His Tyr Phe Gly His Trp His Phe Ala Val Trp Gly Gln
225 230 235 240

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
245

<210> 135
<211> 229
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 135
Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

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

Gly Asp Ser Tyr Met Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro
35 40 45

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

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

Ser Leu Gln Pro Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Asn
85 90 95

Glu Asp Pro Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
100 105 110

Thr Val Ala Ala Pro Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu
115 120 125

Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln
130 135 140

Ser Val Asp Tyr Asp Gly Asp Ser Tyr Met Asn Trp Tyr Gln Gln Lys
145 150 155 160

Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Ala Ala Ser Tyr Leu Glu
165 170 175

Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe
180 185 190

Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr
195 200 205

Cys Gln Gln Ser His Glu Asp Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys
210 215 220

Val Glu Ile Lys Arg
225

<210> 136
<211> 245
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 136
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Val Ser Gly Tyr Ser Ile Thr Ser Gly
20 25 30

Tyr Ser Trp Asn Trp Ile Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
35 40 45

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

Lys Gly Arg Ile Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr Phe 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 Gly Ser His Tyr Phe Gly His Trp His Phe Ala Val Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Gln
115 120 125

Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala Ser
130 135 140

Val Lys Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Gly Tyr Trp Ile
145 150 155 160

Glu Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Leu Glu Trp Met Gly Glu Ile
165 170 175

Leu Pro Gly Ser Thr Thr Asn Tyr Asn Glu Lys Phe Lys Gly Arg Val
180 185 190

Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr Met Glu Leu Ser
195 200 205

Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Ala Asp
210 215 220

Tyr Tyr Gly Ser Asp Tyr Val Lys Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
225 230 235 240

Leu Val Thr Ser Ser
245

<210> 137
<211> 225
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 137
Asp Ile Gln Leu 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 Ser Val Asp Tyr Asp
20 25 30

Gly Asp Ser Tyr Met Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro
35 40 45

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

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

Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser His
85 90 95

Glu Asp Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
100 105 110

Thr Val Ala Ala Pro Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu
115 120 125

Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln
130 135 140

His Val Gly Thr His Val Thr Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala
145 150 155 160

Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Ser Thr Ser Tyr Arg Tyr Ser Gly Val Pro
165 170 175

Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile
180 185 190

Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Phe
195 200 205

Tyr Ser Tyr Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
210 215 220

Arg
225

<210> 138
<211> 245
<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 138
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

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

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

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

Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr Met Glu Leu
65 70 75 80

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

Asp Tyr Tyr Gly Ser Asp Tyr Val Lys Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Glu Val Gln Leu
115 120 125

Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu
130 135 140

Ser Cys Ala Val Ser Gly Tyr Ser Ile Thr Ser Gly Tyr Ser Trp Asn
145 150 155 160

Trp Ile Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala Ser Ile
165 170 175

Thr Tyr Asp Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Val Lys Gly Arg Ile
180 185 190

Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr Phe Tyr Leu Gln Met Asn
195 200 205

Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly Ser
210 215 220

His Tyr Phe Gly His Trp His Phe Ala Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu
225 230 235 240

Val Thr Val Ser Ser
245

<210> 139
<211> 225
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 139
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 His Val Gly Thr His
20 25 30

Val Thr Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Ser Thr Ser Tyr Arg Tyr 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 His Phe Tyr Ser Tyr Pro Leu
85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val
115 120 125

Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Asp Tyr
130 135 140

Asp Gly Asp Ser Tyr Met Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala
145 150 155 160

Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Ala Ala Ser Tyr Leu Glu Ser Gly Val Pro
165 170 175

Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile
180 185 190

Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser
195 200 205

His Glu Asp Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
210 215 220

Arg
225

<210> 140
<211> 247
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 140
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Val Ser Gly Tyr Ser Ile Thr Ser Gly
20 25 30

Tyr Ser Trp Asn Trp Ile Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
35 40 45

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

Lys Gly Arg Ile Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr Phe 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 Gly Ser His Tyr Phe Gly His Trp His Phe Ala Val Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Gln
115 120 125

Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Leu Met Lys Pro Gly Ala Ser
130 135 140

Val Lys Leu Ser Cys Lys Ala Thr Gly Tyr Thr Phe Thr Gly Ser Trp
145 150 155 160

Ile Glu Trp Ile Lys Gln Arg Pro Gly His Gly Leu Glu Trp Ile Gly
165 170 175

Gln Ile Leu Pro Gly Ser Gly Ser Ala Tyr Tyr Asn Glu Lys Phe Lys
180 185 190

Gly Lys Ala Thr Phe Thr Ala Asp Thr Ser Ser Lys Thr Val Tyr Ile
195 200 205

Gln Leu Ile Ser Leu Thr Thr Glu Asp Ser Ala Ile Tyr Tyr Cys Ala
210 215 220

Arg Glu Asp Asn Tyr Gly Ser Ser Ser Leu Ala Tyr Trp Gly Gln Gly
225 230 235 240

Thr Leu Leu Thr Val Ser Ala
245

<210> 141
<211> 225
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 141
Asp Ile Gln Leu 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 Ser Val Asp Tyr Asp
20 25 30

Gly Asp Ser Tyr Met Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro
35 40 45

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

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

Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser His
85 90 95

Glu Asp Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
100 105 110

Thr Val Ala Ala Pro Asp Ile Leu Leu Thr Gln Ser Pro Ala Ile Leu
115 120 125

Ser Val Ser Pro Gly Glu Arg Val Ser Phe Ser Cys Arg Ala Ser Gln
130 135 140

Ser Ile Gly Thr Asn Ile His Trp Tyr Gln Gln Arg Thr Asn Gly Ser
145 150 155 160

Pro Arg Leu Leu Ile Lys Tyr Ala Ser Glu Ser Ile Ser Gly Ile Pro
165 170 175

Ser Arg Phe Ser Gly Gly Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Ser Ile
180 185 190

Asn Ser Val Glu Ser Glu Asp Ile Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser
195 200 205

Asn Asn Trp Pro Leu Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys
210 215 220

Arg
225

<210> 142
<211> 247
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 142
Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Leu Met Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

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

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

Gly Gln Ile Leu Pro Gly Ser Gly Ser Ala Tyr Tyr Asn Glu Lys Phe
50 55 60

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

Ile Gln Leu Ile Ser Leu Thr Thr Glu Asp Ser Ala Ile Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Glu Asp Asn Tyr Gly Ser Ser Ser Leu Ala Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Leu Leu Thr Val Ser Ala Ala Ser Thr Lys Gly Pro Glu Val
115 120 125

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

Arg Leu Ser Cys Ala Val Ser Gly Tyr Ser Ile Thr Ser Gly Tyr Ser
145 150 155 160

Trp Asn Trp Ile Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala
165 170 175

Ser Ile Thr Tyr Asp Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Val Lys Gly
180 185 190

Arg Ile Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr Phe Tyr Leu Gln
195 200 205

Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg
210 215 220

Gly Ser His Tyr Phe Gly His Trp His Phe Ala Val Trp Gly Gln Gly
225 230 235 240

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
245

<210> 143
<211> 225
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 143
Asp Ile Leu Leu Thr Gln Ser Pro Ala Ile Leu Ser Val Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Arg Val Ser Phe Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Gly Thr Asn
20 25 30

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

Lys Tyr Ala Ser Glu Ser Ile Ser Gly Ile Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Gly Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Ser Ile Asn Ser Val Glu Ser
65 70 75 80

Glu Asp Ile Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Asn Asn Trp Pro Leu
85 90 95

Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val
115 120 125

Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Asp Tyr
130 135 140

Asp Gly Asp Ser Tyr Met Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala
145 150 155 160

Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Ala Ala Ser Tyr Leu Glu Ser Gly Val Pro
165 170 175

Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile
180 185 190

Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser
195 200 205

His Glu Asp Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
210 215 220

Arg
225

<210> 144
<211> 250
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 144
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Val Ser Gly Tyr Ser Ile Thr Ser Gly
20 25 30

Tyr Ser Trp Asn Trp Ile Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
35 40 45

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

Lys Gly Arg Ile Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr Phe 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 Gly Ser His Tyr Phe Gly His Trp His Phe Ala Val Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Glu
115 120 125

Val Thr Leu Arg Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Thr Gln Thr
130 135 140

Leu Thr Leu Thr Cys Thr Leu Tyr Gly Phe Ser Leu Ser Thr Ser Asp
145 150 155 160

Met Gly Val Asp Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
165 170 175

Leu Ala His Ile Trp Trp Asp Asp Val Lys Arg Tyr Asn Pro Ala Leu
180 185 190

Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys Asn Gln Val Val
195 200 205

Leu Lys Leu Thr Ser Val Asp Pro Val Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys
210 215 220

Ala Arg Thr Val Ser Ser Gly Tyr Ile Tyr Tyr Ala Met Asp Tyr Trp
225 230 235 240

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
245 250

<210> 145
<211> 225
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 145
Asp Ile Gln Leu 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 Ser Val Asp Tyr Asp
20 25 30

Gly Asp Ser Tyr Met Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro
35 40 45

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

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

Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser His
85 90 95

Glu Asp Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
100 105 110

Thr Val Ala Ala Pro Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu
115 120 125

Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Gln
130 135 140

Asp Ile Arg Asn Tyr Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala
145 150 155 160

Pro Lys Leu Leu Ile Phe Tyr Thr Ser Lys Leu His Ser Gly Val Pro
165 170 175

Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Thr Leu Thr Ile
180 185 190

Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly
195 200 205

Leu Thr Pro Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
210 215 220

Arg
225

<210> 146
<211> 250
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 146
Glu Val Thr Leu Arg Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Thr Gln
1 5 10 15

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

Asp Met Gly Val Asp Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu
35 40 45

Trp Leu Ala His Ile Trp Trp Asp Asp Val Lys Arg Tyr Asn Pro Ala
50 55 60

Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys Asn Gln Val
65 70 75 80

Val Leu Lys Leu Thr Ser Val Asp Pro Val Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr
85 90 95

Cys Ala Arg Thr Val Ser Ser Gly Tyr Ile Tyr Tyr Ala Met Asp Tyr
100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly
115 120 125

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

Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Val Ser Gly Tyr Ser Ile Thr Ser
145 150 155 160

Gly Tyr Ser Trp Asn Trp Ile Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu
165 170 175

Trp Val Ala Ser Ile Thr Tyr Asp Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser
180 185 190

Val Lys Gly Arg Ile Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr Phe
195 200 205

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

210 215 220

Cys Ala Arg Gly Ser His Tyr Phe Gly His Trp His Phe Ala Val Trp
225 230 235 240

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
245 250

<210> 147
<211> 225
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 147
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 Ser Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Arg Asn Tyr
20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Phe Tyr Thr Ser Lys Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Leu Thr Pro Pro Leu
85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val
115 120 125

Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Asp Tyr
130 135 140

Asp Gly Asp Ser Tyr Met Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala

145 150 155 160

Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Ala Ala Ser Tyr Leu Glu Ser Gly Val Pro
165 170 175

Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile
180 185 190

Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser
195 200 205

His Glu Asp Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
210 215 220

Arg
225

<210> 148
<211> 247
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 148
Glu Val Thr Leu Arg Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Thr Gln
1 5 10 15

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

Asp Met Gly Val Asp Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu
35 40 45

Trp Leu Ala His Ile Trp Trp Asp Asp Val Lys Arg Tyr Asn Pro Ala
50 55 60

Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys Asn Gln Val
65 70 75 80

Val Leu Lys Leu Thr Ser Val Asp Pro Val Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr
85 90 95

Cys Ala Arg Thr Val Ser Ser Gly Tyr Ile Tyr Tyr Ala Met Asp Tyr

100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly
115 120 125

Pro Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly
130 135 140

Ala Ser Val Lys Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Gly Tyr
145 150 155 160

Trp Ile Glu Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Leu Glu Trp Met Gly
165 170 175

Glu Ile Leu Pro Gly Ser Thr Thr Asn Tyr Asn Glu Lys Phe Lys Gly
180 185 190

Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr Met Glu
195 200 205

Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg
210 215 220

Ala Asp Tyr Tyr Gly Ser Asp Tyr Val Lys Phe Asp Tyr Trp Gly Gln
225 230 235 240

Gly Thr Leu Val Thr Ser Ser
245

<210> 149
<211> 221
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 149
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 Ser Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Arg Asn Tyr
20 25 30

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

35 40 45

Phe Tyr Thr Ser Lys Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Asn Thr Leu Pro Leu
85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val
115 120 125

Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln His Val Gly Thr
130 135 140

His Val Thr Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu
145 150 155 160

Ile Tyr Ser Thr Ser Tyr Arg Tyr Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser
165 170 175

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln
180 185 190

Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Phe Tyr Ser Tyr Pro
195 200 205

Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
210 215 220

<210> 150
<211> 247
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 150
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala

1 5 10 15

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

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

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

Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr Met Glu Leu
65 70 75 80

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

Asp Tyr Tyr Gly Ser Asp Tyr Val Lys Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Glu Val Thr Leu
115 120 125

Arg Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Thr Gln Thr Leu Thr Leu
130 135 140

Thr Cys Thr Leu Tyr Gly Phe Ser Leu Ser Thr Ser Asp Met Gly Val
145 150 155 160

Asp Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Leu Ala His
165 170 175

Ile Trp Trp Asp Asp Val Lys Arg Tyr Asn Pro Ala Leu Lys Ser Arg
180 185 190

Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys Asn Gln Val Val Leu Lys Leu
195 200 205

Thr Ser Val Asp Pro Val Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala Arg Thr
210 215 220

Val Ser Ser Gly Tyr Ile Tyr Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
225 230 235 240

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
245

<210> 151
<211> 221
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 151
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 His Val Gly Thr His
20 25 30

Val Thr Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Ser Thr Ser Tyr Arg Tyr 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 His Phe Tyr Ser Tyr Pro Leu
85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val
115 120 125

Gly Asp Arg Val Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Arg Asn
130 135 140

Tyr Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu
145 150 155 160

Ile Phe Tyr Thr Ser Lys Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser
165 170 175

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln
180 185 190

Pro Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Asn Thr Leu Pro
195 200 205

Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
210 215 220

<210> 152
<211> 250
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 152
Glu Val Thr Leu Arg Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Thr Gln
1 5 10 15

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

Asp Met Gly Val Asp Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu
35 40 45

Trp Leu Ala His Ile Trp Trp Asp Asp Val Lys Arg Tyr Asn Pro Ala
50 55 60

Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys Asn Gln Val
65 70 75 80

Val Leu Lys Leu Thr Ser Val Asp Pro Val Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr
85 90 95

Cys Ala Arg Thr Val Ser Ser Gly Tyr Ile Tyr Tyr Ala Met Asp Tyr
100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly
115 120 125

Pro Gln Val Thr Leu Arg Glu Ser Gly Pro Ala Leu Val Lys Pro Thr
130 135 140

Gln Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Phe Ser Gly Phe Ser Leu Ser Thr
145 150 155 160

Ser Gly Met Gly Val Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu
165 170 175

Glu Trp Leu Ala His Ile Tyr Trp Asp Asp Asp Lys Arg Tyr Asn Pro
180 185 190

Ser Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Arg Asn Gln
195 200 205

Val Val Leu Thr Met Thr Asn Met Asp Pro Val Asp Thr Ala Thr Tyr
210 215 220

Tyr Cys Ala Arg Arg Glu Thr Val Phe Tyr Trp Tyr Phe Asp Val Trp
225 230 235 240

Gly Arg Gly Thr Pro Val Thr Val Ser Ser
245 250

<210> 153
<211> 225
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 153
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 Ser Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Arg Asn Tyr
20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Phe Tyr Thr Ser Lys Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Asn Thr Leu Pro Leu
85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val
115 120 125

Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Ser Val Asp Tyr
130 135 140

Asp Gly Asp Ser Tyr Met Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala
145 150 155 160

Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Ala Ala Ser Asn Leu Glu Ser Gly Ile Pro
165 170 175

Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Phe Thr Ile
180 185 190

Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser
195 200 205

Asn Glu Asp Pro Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
210 215 220

Arg
225

<210> 154
<211> 250
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 154
Gln Val Thr Leu Arg Glu Ser Gly Pro Ala Leu Val Lys Pro Thr Gln
1 5 10 15

Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Phe Ser Gly Phe Ser Leu Ser Thr Ser
20 25 30

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

Trp Leu Ala His Ile Tyr Trp Asp Asp Asp Lys Arg Tyr Asn Pro Ser
50 55 60

Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Arg Asn Gln Val
65 70 75 80

Val Leu Thr Met Thr Asn Met Asp Pro Val Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr
85 90 95

Cys Ala Arg Arg Glu Thr Val Phe Tyr Trp Tyr Phe Asp Val Trp Gly
100 105 110

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

Val Thr Leu Arg Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Thr Gln Thr
130 135 140

Leu Thr Leu Thr Cys Thr Leu Tyr Gly Phe Ser Leu Ser Thr Ser Asp
145 150 155 160

Met Gly Val Asp Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
165 170 175

Leu Ala His Ile Trp Trp Asp Asp Val Lys Arg Tyr Asn Pro Ala Leu
180 185 190

Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys Asn Gln Val Val
195 200 205

Leu Lys Leu Thr Ser Val Asp Pro Val Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys
210 215 220

Ala Arg Thr Val Ser Ser Gly Tyr Ile Tyr Tyr Ala Met Asp Tyr Trp
225 230 235 240

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
245 250

<210> 155
<211> 225
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 155
Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

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

Gly Asp Ser Tyr Met Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro
35 40 45

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

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

Ser Leu Gln Pro Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Asn
85 90 95

Glu Asp Pro Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
100 105 110

Thr Val Ala Ala Pro Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu
115 120 125

Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Gln
130 135 140

Asp Ile Arg Asn Tyr Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala
145 150 155 160

Pro Lys Leu Leu Ile Phe Tyr Thr Ser Lys Leu His Ser Gly Val Pro
165 170 175

Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Thr Leu Thr Ile
180 185 190

Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly
195 200 205

Asn Thr Leu Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
210 215 220

Arg
225

<210> 156
<211> 249
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 156
Glu Val Thr Leu Arg Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Thr Gln
1 5 10 15

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

Asp Met Gly Val Asp Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu
35 40 45

Trp Leu Ala His Ile Trp Trp Asp Asp Val Lys Arg Tyr Asn Pro Ala
50 55 60

Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys Asn Gln Val
65 70 75 80

Val Leu Lys Leu Thr Ser Val Asp Pro Val Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr
85 90 95

Cys Ala Arg Thr Val Ser Ser Gly Tyr Ile Tyr Tyr Ala Met Asp Tyr
100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly
115 120 125

Pro Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Leu Met Lys Pro Gly
130 135 140

Ala Ser Val Lys Leu Ser Cys Lys Ala Thr Gly Tyr Thr Phe Thr Gly
145 150 155 160

Ser Trp Ile Glu Trp Ile Lys Gln Arg Pro Gly His Gly Leu Glu Trp
165 170 175

Ile Gly Gln Ile Leu Pro Gly Ser Gly Ser Ala Tyr Tyr Asn Glu Lys
180 185 190

Phe Lys Gly Lys Ala Thr Phe Thr Ala Asp Thr Ser Ser Lys Thr Val
195 200 205

Tyr Ile Gln Leu Ile Ser Leu Thr Thr Glu Asp Ser Ala Ile Tyr Tyr
210 215 220

Cys Ala Arg Glu Asp Asn Tyr Gly Ser Ser Ser Leu Ala Tyr Trp Gly
225 230 235 240

Gln Gly Thr Leu Leu Thr Val Ser Ala
245

<210> 157
<211> 221
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 157
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 Ser Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Arg Asn Tyr
20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Phe Tyr Thr Ser Lys Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Asn Thr Leu Pro Leu
85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Asp Ile Leu Leu Thr Gln Ser Pro Ala Ile Leu Ser Val Ser Pro
115 120 125

Gly Glu Arg Val Ser Phe Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Gly Thr
130 135 140

Asn Ile His Trp Tyr Gln Gln Arg Thr Asn Gly Ser Pro Arg Leu Leu
145 150 155 160

Ile Lys Tyr Ala Ser Glu Ser Ile Ser Gly Ile Pro Ser Arg Phe Ser
165 170 175

Gly Gly Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Ser Ile Asn Ser Val Glu
180 185 190

Ser Glu Asp Ile Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Asn Asn Trp Pro
195 200 205

Leu Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys Arg
210 215 220

<210> 158
<211> 249
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 158
Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Leu Met Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

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

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

Gly Gln Ile Leu Pro Gly Ser Gly Ser Ala Tyr Tyr Asn Glu Lys Phe
50 55 60

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

Ile Gln Leu Ile Ser Leu Thr Thr Glu Asp Ser Ala Ile Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Glu Asp Asn Tyr Gly Ser Ser Ser Leu Ala Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Leu Leu Thr Val Ser Ala Ala Ser Thr Lys Gly Pro Glu Val
115 120 125

Thr Leu Arg Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Thr Gln Thr Leu
130 135 140

Thr Leu Thr Cys Thr Leu Tyr Gly Phe Ser Leu Ser Thr Ser Asp Met
145 150 155 160

Gly Val Asp Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Leu
165 170 175

Ala His Ile Trp Trp Asp Asp Val Lys Arg Tyr Asn Pro Ala Leu Lys
180 185 190

Ser Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys Asn Gln Val Val Leu
195 200 205

Lys Leu Thr Ser Val Asp Pro Val Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala
210 215 220

Arg Thr Val Ser Ser Gly Tyr Ile Tyr Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly
225 230 235 240

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
245

<210> 159
<211> 221
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 159
Asp Ile Leu Leu Thr Gln Ser Pro Ala Ile Leu Ser Val Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Arg Val Ser Phe Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Gly Thr Asn
20 25 30

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

Lys Tyr Ala Ser Glu Ser Ile Ser Gly Ile Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Gly Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Ser Ile Asn Ser Val Glu Ser
65 70 75 80

Glu Asp Ile Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Asn Asn Trp Pro Leu
85 90 95

Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val
115 120 125

Gly Asp Arg Val Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Arg Asn
130 135 140

Tyr Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu
145 150 155 160

Ile Phe Tyr Thr Ser Lys Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser
165 170 175

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln
180 185 190

Pro Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Asn Thr Leu Pro
195 200 205

Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
210 215 220

<210> 160
<211> 247
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 160
Glu Val Thr Leu Arg Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Thr Gln
1 5 10 15

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

Asp Met Gly Val Asp Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu
35 40 45

Trp Leu Ala His Ile Trp Trp Asp Asp Val Lys Arg Tyr Asn Pro Ala
50 55 60

Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys Asn Gln Val
65 70 75 80

Val Leu Lys Leu Thr Ser Val Asp Pro Val Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr
85 90 95

Cys Ala Arg Thr Val Ser Ser Gly Tyr Ile Tyr Tyr Ala Met Asp Tyr
100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly
115 120 125

Pro Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly
130 135 140

Ala Ser Val Lys Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Gly Tyr
145 150 155 160

Trp Ile Glu Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Leu Glu Trp Met Gly
165 170 175

Glu Ile Leu Pro Gly Ser Thr Thr Asn Tyr Asn Glu Lys Phe Lys Gly
180 185 190

Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr Met Glu
195 200 205

Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg
210 215 220

Ala Asp Tyr Tyr Gly Ser Asp Tyr Val Lys Phe Asp Tyr Trp Gly Gln
225 230 235 240

Gly Thr Leu Val Thr Ser Ser
245

<210> 161
<211> 221
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 161
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 Ser Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Arg Asn Tyr
20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Phe Tyr Thr Ser Lys Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Leu Thr Pro Pro Leu
85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val
115 120 125

Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln His Val Gly Thr
130 135 140

His Val Thr Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu
145 150 155 160

Ile Tyr Ser Thr Ser Tyr Arg Tyr Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser
165 170 175

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln
180 185 190

Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Phe Tyr Ser Tyr Pro
195 200 205

Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
210 215 220

<210> 162
<211> 247
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 162
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

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

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

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

Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr Met Glu Leu
65 70 75 80

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

Asp Tyr Tyr Gly Ser Asp Tyr Val Lys Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Glu Val Thr Leu
115 120 125

Arg Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Thr Gln Thr Leu Thr Leu
130 135 140

Thr Cys Thr Leu Tyr Gly Phe Ser Leu Ser Thr Ser Asp Met Gly Val
145 150 155 160

Asp Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Leu Ala His
165 170 175

Ile Trp Trp Asp Asp Val Lys Arg Tyr Asn Pro Ala Leu Lys Ser Arg
180 185 190

Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys Asn Gln Val Val Leu Lys Leu
195 200 205

Thr Ser Val Asp Pro Val Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala Arg Thr
210 215 220

Val Ser Ser Gly Tyr Ile Tyr Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
225 230 235 240

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
245

<210> 163
<211> 221
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 163
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 His Val Gly Thr His
20 25 30

Val Thr Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Ser Thr Ser Tyr Arg Tyr 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 His Phe Tyr Ser Tyr Pro Leu
85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val
115 120 125

Gly Asp Arg Val Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Arg Asn
130 135 140

Tyr Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu
145 150 155 160

Ile Phe Tyr Thr Ser Lys Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser
165 170 175

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln
180 185 190

Pro Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Leu Thr Pro Pro
195 200 205

Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
210 215 220

<210> 164
<211> 250
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 164
Glu Val Thr Leu Arg Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Thr Gln
1 5 10 15

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

Asp Met Gly Val Asp Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu
35 40 45

Trp Leu Ala His Ile Trp Trp Asp Asp Val Lys Arg Tyr Asn Pro Ala
50 55 60

Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys Asn Gln Val
65 70 75 80

Val Leu Lys Leu Thr Ser Val Asp Pro Val Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr
85 90 95

Cys Ala Arg Thr Val Ser Ser Gly Tyr Ile Tyr Tyr Ala Met Asp Tyr
100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly
115 120 125

Pro Gln Val Thr Leu Arg Glu Ser Gly Pro Ala Leu Val Lys Pro Thr
130 135 140

Gln Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Phe Ser Gly Phe Ser Leu Ser Thr
145 150 155 160

Ser Gly Met Gly Val Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu
165 170 175

Glu Trp Leu Ala His Ile Tyr Trp Asp Asp Asp Lys Arg Tyr Asn Pro
180 185 190

Ser Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Arg Asn Gln
195 200 205

Val Val Leu Thr Met Thr Asn Met Asp Pro Val Asp Thr Ala Thr Tyr

210 215 220

Tyr Cys Ala Arg Arg Glu Thr Val Phe Tyr Trp Tyr Phe Asp Val Trp
225 230 235 240

Gly Arg Gly Thr Pro Val Thr Val Ser Ser
245 250

<210> 165
<211> 225
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 165
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 Ser Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Arg Asn Tyr
20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Phe Tyr Thr Ser Lys Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Leu Thr Pro Pro Leu
85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val
115 120 125

Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Ser Val Asp Tyr
130 135 140

Asp Gly Asp Ser Tyr Met Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala

145 150 155 160

Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Ala Ala Ser Asn Leu Glu Ser Gly Ile Pro
165 170 175

Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Phe Thr Ile
180 185 190

Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser
195 200 205

Asn Glu Asp Pro Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
210 215 220

Arg
225

<210> 166
<211> 250
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 166
Gln Val Thr Leu Arg Glu Ser Gly Pro Ala Leu Val Lys Pro Thr Gln
1 5 10 15

Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Phe Ser Gly Phe Ser Leu Ser Thr Ser
20 25 30

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

Trp Leu Ala His Ile Tyr Trp Asp Asp Asp Lys Arg Tyr Asn Pro Ser
50 55 60

Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Arg Asn Gln Val
65 70 75 80

Val Leu Thr Met Thr Asn Met Asp Pro Val Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr
85 90 95

Cys Ala Arg Arg Glu Thr Val Phe Tyr Trp Tyr Phe Asp Val Trp Gly

100 105 110

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

Val Thr Leu Arg Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Thr Gln Thr
130 135 140

Leu Thr Leu Thr Cys Thr Leu Tyr Gly Phe Ser Leu Ser Thr Ser Asp
145 150 155 160

Met Gly Val Asp Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
165 170 175

Leu Ala His Ile Trp Trp Asp Asp Val Lys Arg Tyr Asn Pro Ala Leu
180 185 190

Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys Asn Gln Val Val
195 200 205

Leu Lys Leu Thr Ser Val Asp Pro Val Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys
210 215 220

Ala Arg Thr Val Ser Ser Gly Tyr Ile Tyr Tyr Ala Met Asp Tyr Trp
225 230 235 240

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
245 250

<210> 167
<211> 225
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 167
Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

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

Gly Asp Ser Tyr Met Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro

35 40 45

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

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

Ser Leu Gln Pro Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Asn
85 90 95

Glu Asp Pro Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
100 105 110

Thr Val Ala Ala Pro Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu
115 120 125

Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Gln
130 135 140

Asp Ile Arg Asn Tyr Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala
145 150 155 160

Pro Lys Leu Leu Ile Phe Tyr Thr Ser Lys Leu His Ser Gly Val Pro
165 170 175

Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Thr Leu Thr Ile
180 185 190

Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly
195 200 205

Leu Thr Pro Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
210 215 220

Arg
225

<210> 168
<211> 251
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 168

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

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

Asp Met Gly Val Asp Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu
35 40 45

Trp Leu Ala His Ile Trp Trp Asp Asp Val Lys Arg Tyr Asn Pro Ala
50 55 60

Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys Asn Gln Val
65 70 75 80

Val Leu Lys Leu Thr Ser Val Asp Pro Val Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr
85 90 95

Cys Ala Arg Thr Val Ser Ser Gly Tyr Ile Tyr Tyr Ala Met Asp Tyr
100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly
115 120 125

Pro Asp Val Asn Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly
130 135 140

Gly Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser
145 150 155 160

Tyr Thr Met Ser Trp Val Arg Gln Thr Pro Glu Lys Arg Leu Glu Trp
165 170 175

Val Ala Thr Ile Ser Ser Gly Gly Thr Tyr Thr Tyr Tyr Pro Asp Ser
180 185 190

Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Leu
195 200 205

Tyr Leu Gln Met Ser Ser Leu Lys Ser Glu Asp Thr Ala Met Phe Tyr
210 215 220

Cys Thr Arg Asp Asn His Ala Tyr Asp Arg Gly Pro Phe Phe Asp Tyr
225 230 235 240

Trp Gly Gln Gly Ala Thr Leu Thr Val Ser Ser
245 250

<210> 169
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 169
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 Ser Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Arg Asn Tyr
20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Phe Tyr Thr Ser Lys Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Leu Thr Pro Pro Leu
85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Asp Ile Val Met Ser Gln Ser Pro Ser Ser Leu Val Val Ser Val
115 120 125

Gly Glu Lys Val Thr Met Ser Cys Lys Ser Ser Gln Asn Leu Phe Tyr
130 135 140

Arg Ser Asn Gln Lys Asn His Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly
145 150 155 160

Gln Ser Pro Thr Leu Leu Ile Tyr Trp Thr Ser Thr Arg Glu Ser Gly
165 170 175

Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu
180 185 190

Thr Ile Ser Arg Val Lys Ala Glu Asp Leu Ala Val Tyr Tyr Cys Gln
195 200 205

Gln Tyr Tyr Ser Tyr Pro Pro Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu
210 215 220

Ile Lys Arg
225

<210> 170
<211> 251
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 170
Asp Val Asn Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly
1 5 10 15

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

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

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

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

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

Thr Arg Asp Asn His Ala Tyr Asp Arg Gly Pro Phe Phe Asp Tyr Trp
100 105 110

Gly Gln Gly Ala Thr Leu Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro
115 120 125

Glu Val Thr Leu Arg Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Thr Gln
130 135 140

Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Leu Tyr Gly Phe Ser Leu Ser Thr Ser
145 150 155 160

Asp Met Gly Val Asp Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu
165 170 175

Trp Leu Ala His Ile Trp Trp Asp Asp Val Lys Arg Tyr Asn Pro Ala
180 185 190

Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys Asn Gln Val
195 200 205

Val Leu Lys Leu Thr Ser Val Asp Pro Val Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr
210 215 220

Cys Ala Arg Thr Val Ser Ser Gly Tyr Ile Tyr Tyr Ala Met Asp Tyr
225 230 235 240

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
245 250

<210> 171
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 171
Asp Ile Val Met Ser Gln Ser Pro Ser Ser Leu Val Val Ser Val Gly
1 5 10 15

Glu Lys Val Thr Met Ser Cys Lys Ser Ser Gln Asn Leu Phe Tyr Arg
20 25 30

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

Ser Pro Thr Leu Leu Ile Tyr Trp Thr Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val
50 55 60

Pro Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
65 70 75 80

Ile Ser Arg Val Lys Ala Glu Asp Leu Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln
85 90 95

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

Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser
115 120 125

Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Ser Cys Arg Ala
130 135 140

Ser Gln Asp Ile Arg Asn Tyr Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly
145 150 155 160

Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Phe Tyr Thr Ser Lys Leu His Ser Gly
165 170 175

Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Thr Leu
180 185 190

Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln
195 200 205

Gln Gly Leu Thr Pro Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu
210 215 220

Ile Lys Arg
225

<210> 172
<211> 249
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 172
Glu Val Thr Leu Arg Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Thr Gln
1 5 10 15

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

Asp Met Gly Val Asp Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu
35 40 45

Trp Leu Ala His Ile Trp Trp Asp Asp Val Lys Arg Tyr Asn Pro Ala
50 55 60

Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys Asn Gln Val
65 70 75 80

Val Leu Lys Leu Thr Ser Val Asp Pro Val Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr
85 90 95

Cys Ala Arg Thr Val Ser Ser Gly Tyr Ile Tyr Tyr Ala Met Asp Tyr
100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly
115 120 125

Pro Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Leu Met Lys Pro Gly
130 135 140

Ala Ser Val Lys Leu Ser Cys Lys Ala Thr Gly Tyr Thr Phe Thr Gly
145 150 155 160

Ser Trp Ile Glu Trp Ile Lys Gln Arg Pro Gly His Gly Leu Glu Trp
165 170 175

Ile Gly Gln Ile Leu Pro Gly Ser Gly Ser Ala Tyr Tyr Asn Glu Lys
180 185 190

Phe Lys Gly Lys Ala Thr Phe Thr Ala Asp Thr Ser Ser Lys Thr Val
195 200 205

Tyr Ile Gln Leu Ile Ser Leu Thr Thr Glu Asp Ser Ala Ile Tyr Tyr
210 215 220

Cys Ala Arg Glu Asp Asn Tyr Gly Ser Ser Ser Leu Ala Tyr Trp Gly
225 230 235 240

Gln Gly Thr Leu Leu Thr Val Ser Ala
245

<210> 173
<211> 221
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 173
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 Ser Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Arg Asn Tyr
20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Phe Tyr Thr Ser Lys Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Leu Thr Pro Pro Leu
85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Asp Ile Leu Leu Thr Gln Ser Pro Ala Ile Leu Ser Val Ser Pro
115 120 125

Gly Glu Arg Val Ser Phe Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Gly Thr
130 135 140

Asn Ile His Trp Tyr Gln Gln Arg Thr Asn Gly Ser Pro Arg Leu Leu
145 150 155 160

Ile Lys Tyr Ala Ser Glu Ser Ile Ser Gly Ile Pro Ser Arg Phe Ser
165 170 175

Gly Gly Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Ser Ile Asn Ser Val Glu
180 185 190

Ser Glu Asp Ile Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Asn Asn Trp Pro
195 200 205

Leu Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys Arg
210 215 220

<210> 174
<211> 249
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 174
Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Leu Met Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

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

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

Gly Gln Ile Leu Pro Gly Ser Gly Ser Ala Tyr Tyr Asn Glu Lys Phe
50 55 60

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

Ile Gln Leu Ile Ser Leu Thr Thr Glu Asp Ser Ala Ile Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Glu Asp Asn Tyr Gly Ser Ser Ser Leu Ala Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Leu Leu Thr Val Ser Ala Ala Ser Thr Lys Gly Pro Glu Val
115 120 125

Thr Leu Arg Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Thr Gln Thr Leu
130 135 140

Thr Leu Thr Cys Thr Leu Tyr Gly Phe Ser Leu Ser Thr Ser Asp Met
145 150 155 160

Gly Val Asp Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Leu
165 170 175

Ala His Ile Trp Trp Asp Asp Val Lys Arg Tyr Asn Pro Ala Leu Lys
180 185 190

Ser Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys Asn Gln Val Val Leu
195 200 205

Lys Leu Thr Ser Val Asp Pro Val Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala
210 215 220

Arg Thr Val Ser Ser Gly Tyr Ile Tyr Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly
225 230 235 240

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
245

<210> 175
<211> 221
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 175
Asp Ile Leu Leu Thr Gln Ser Pro Ala Ile Leu Ser Val Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Arg Val Ser Phe Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Gly Thr Asn
20 25 30

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

Lys Tyr Ala Ser Glu Ser Ile Ser Gly Ile Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Gly Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Ser Ile Asn Ser Val Glu Ser
65 70 75 80

Glu Asp Ile Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Asn Asn Trp Pro Leu
85 90 95

Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val
115 120 125

Gly Asp Arg Val Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Arg Asn
130 135 140

Tyr Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu
145 150 155 160

Ile Phe Tyr Thr Ser Lys Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser
165 170 175

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln
180 185 190

Pro Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Leu Thr Pro Pro
195 200 205

Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
210 215 220

<210> 176
<211> 248
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 176
Glu Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Arg Pro Ser Gln
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Tyr Ser Ile Thr Ser Asp
20 25 30

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

Ile Gly Tyr Ile Ser Tyr Ser Gly Ile Thr Thr Tyr Asn Pro Ser Leu
50 55 60

Lys Ser Arg Val Thr Met Leu Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser
65 70 75 80

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

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

Ser Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Glu Val Gln
115 120 125

Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg
130 135 140

Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr Gly Met Asn
145 150 155 160

Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Gly Trp Ile
165 170 175

Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Ala Ala Asp Phe Lys Arg Arg
180 185 190

Phe Thr Phe Ser Leu Asp Thr Ser Lys Ser Thr Ala Tyr Leu Gln Met
195 200 205

Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Lys Tyr
210 215 220

Pro His Tyr Tyr Gly Ser Ser His Trp Tyr Phe Asp Val Trp Gly Gln
225 230 235 240

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
245

<210> 177
<211> 221
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 177
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 Asp Ile Ser Ser 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 Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Phe Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Asn Thr Leu Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val
115 120 125

Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ser Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn
130 135 140

Tyr Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Val Leu
145 150 155 160

Ile Tyr Phe Thr Ser Ser Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser
165 170 175

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln
180 185 190

Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Ser Thr Val Pro
195 200 205

Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
210 215 220

<210> 178
<211> 248
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 178
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

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

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

Gly Trp Ile Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Ala Ala Asp Phe
50 55 60

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

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

Ala Lys Tyr Pro His Tyr Tyr Gly Ser Ser His Trp Tyr Phe Asp Val
100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly
115 120 125

Pro Glu Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Arg Pro Ser
130 135 140

Gln Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Tyr Ser Ile Thr Ser
145 150 155 160

Asp His Ala Trp Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Arg Gly Leu Glu
165 170 175

Trp Ile Gly Tyr Ile Ser Tyr Ser Gly Ile Thr Thr Tyr Asn Pro Ser
180 185 190

Leu Lys Ser Arg Val Thr Met Leu Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe
195 200 205

Ser Leu Arg Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr
210 215 220

Cys Ala Arg Ser Leu Ala Arg Thr Thr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln
225 230 235 240

Gly Ser Leu Val Thr Val Ser Ser
245

<210> 179
<211> 221
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 179
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 Ser Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr
20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Val Leu Ile
35 40 45

Tyr Phe Thr Ser Ser Leu His 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 Tyr Ser Thr Val Pro Trp
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val
115 120 125

Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Ser
130 135 140

Tyr Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu
145 150 155 160

Ile Tyr Tyr Thr Ser Arg Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser
165 170 175

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Phe Thr Ile Ser Ser Leu Gln
180 185 190

Pro Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Asn Thr Leu Pro
195 200 205

Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
210 215 220

<210> 180
<211> 252
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 180
Glu Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Arg Pro Ser Gln
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Tyr Ser Ile Thr Ser Asp
20 25 30

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

Ile Gly Tyr Ile Ser Tyr Ser Gly Ile Thr Thr Tyr Asn Pro Ser Leu
50 55 60

Lys Ser Arg Val Thr Met Leu Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser
65 70 75 80

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

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

Ser Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Glu Val Gln
115 120 125

Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg
130 135 140

Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr Trp Met Asn
145 150 155 160

Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala Ala Ile
165 170 175

Asn Gln Asp Gly Ser Glu Lys Tyr Tyr Val Gly Ser Val Lys Gly Arg
180 185 190

Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr Leu Gln Met
195 200 205

Asn Ser Leu Arg Val Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Val Arg Asp
210 215 220

Tyr Tyr Asp Ile Leu Thr Asp Tyr Tyr Ile His Tyr Trp Tyr Phe Asp
225 230 235 240

Leu Trp Gly Arg Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
245 250

<210> 181
<211> 222
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 181

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 Asp Ile Ser Ser 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 Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Phe Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Asn Thr Leu Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro
115 120 125

Gly Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser
130 135 140

Ser Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu
145 150 155 160

Leu Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe
165 170 175

Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu
180 185 190

Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Gly Ser Ser
195 200 205

Pro Cys Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys Arg
210 215 220

<210> 182

<211> 252
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 182
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

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

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

Ala Ala Ile Asn Gln Asp Gly Ser Glu Lys Tyr Tyr Val Gly 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 Val Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Val Arg Asp Tyr Tyr Asp Ile Leu Thr Asp Tyr Tyr Ile His Tyr Trp
100 105 110

Tyr Phe Asp Leu Trp Gly Arg Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala
115 120 125

Ser Thr Lys Gly Pro Glu Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu
130 135 140

Val Arg Pro Ser Gln Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Tyr
145 150 155 160

Ser Ile Thr Ser Asp His Ala Trp Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly
165 170 175

Arg Gly Leu Glu Trp Ile Gly Tyr Ile Ser Tyr Ser Gly Ile Thr Thr
180 185 190

Tyr Asn Pro Ser Leu Lys Ser Arg Val Thr Met Leu Arg Asp Thr Ser

195 200 205

Lys Asn Gln Phe Ser Leu Arg Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr
210 215 220

Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Ser Leu Ala Arg Thr Thr Ala Met Asp
225 230 235 240

Tyr Trp Gly Gln Gly Ser Leu Val Thr Val Ser Ser
245 250

<210> 183
<211> 222
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 183
Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15

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

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

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

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 Gly Ser Ser Pro
85 90 95

Cys Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala
100 105 110

Ala Pro Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser
115 120 125

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

130 135 140

Ser Tyr Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu
145 150 155 160

Leu Ile Tyr Tyr Thr Ser Arg Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe
165 170 175

Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Phe Thr Ile Ser Ser Leu
180 185 190

Gln Pro Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Asn Thr Leu
195 200 205

Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
210 215 220

<210> 184
<211> 247
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 184
Glu Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Arg Pro Ser Gln
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Tyr Ser Ile Thr Ser Asp
20 25 30

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

Ile Gly Tyr Ile Ser Tyr Ser Gly Ile Thr Thr Tyr Asn Pro Ser Leu
50 55 60

Lys Ser Arg Val Thr Met Leu Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser
65 70 75 80

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

Ala Arg Ser Leu Ala Arg Thr Thr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly

100 105 110

Ser Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Glu Val Gln
115 120 125

Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg
130 135 140

Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Ala Met Ser
145 150 155 160

Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser Gly Ile
165 170 175

Thr Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg
180 185 190

Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met
195 200 205

Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Lys Asp
210 215 220

Pro Gly Thr Thr Val Ile Met Ser Trp Phe Asp Pro Trp Gly Gln Gly
225 230 235 240

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
245

<210> 185
<211> 222
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 185
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 Asp Ile Ser Ser 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 Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Phe Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Asn Thr Leu Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro
115 120 125

Gly Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Arg Gly
130 135 140

Arg Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu
145 150 155 160

Leu Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe
165 170 175

Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu
180 185 190

Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Phe Tyr Cys Gln Gln Tyr Gly Ser Ser
195 200 205

Pro Arg Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
210 215 220

<210> 186
<211> 247
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 186
Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

1 5 10 15

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

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

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

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

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

Ala Lys Asp Pro Gly Thr Thr Val Ile Met Ser Trp Phe Asp Pro Trp
100 105 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro
115 120 125

Glu Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Arg Pro Ser Gln
130 135 140

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Tyr Ser Ile Thr Ser Asp
145 150 155 160

His Ala Trp Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Arg Gly Leu Glu Trp
165 170 175

Ile Gly Tyr Ile Ser Tyr Ser Gly Ile Thr Thr Tyr Asn Pro Ser Leu
180 185 190

Lys Ser Arg Val Thr Met Leu Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser
195 200 205

Leu Arg Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
210 215 220

Ala Arg Ser Leu Ala Arg Thr Thr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
225 230 235 240

Ser Leu Val Thr Val Ser Ser
245

<210> 187
<211> 222
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 187
Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15

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

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

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

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 Phe Tyr Cys Gln Gln Tyr Gly Ser Ser Pro
85 90 95

Arg Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala
100 105 110

Ala Pro Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser
115 120 125

Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser
130 135 140

Ser Tyr Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu
145 150 155 160

Leu Ile Tyr Tyr Thr Ser Arg Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe
165 170 175

Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Phe Thr Ile Ser Ser Leu
180 185 190

Gln Pro Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Asn Thr Leu
195 200 205

Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
210 215 220

<210> 188
<211> 251
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 188
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly 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 Val Tyr
20 25 30

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

Ala Ile Ile Trp Tyr Asp Gly Asp Asn Gln Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

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

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

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

Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Glu Val Gln Leu
115 120 125

Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu
130 135 140

Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr Trp Met Asn Trp
145 150 155 160

Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala Ala Ile Asn
165 170 175

Gln Asp Gly Ser Glu Lys Tyr Tyr Val Gly Ser Val Lys Gly Arg Phe
180 185 190

Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr Leu Gln Met Asn
195 200 205

Ser Leu Arg Val Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Val Arg Asp Tyr
210 215 220

Tyr Asp Ile Leu Thr Asp Tyr Tyr Ile His Tyr Trp Tyr Phe Asp Leu
225 230 235 240

Trp Gly Arg Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
245 250

<210> 189
<211> 222
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 189
Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Asp Phe Gln Ser Val Thr Pro Lys
1 5 10 15

Glu Lys Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Gly Ser Ser
20 25 30

Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Lys Tyr Ala Ser Gln Ser Phe Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Asn Ser Leu Glu Ala
65 70 75 80

Glu Asp Ala Ala Ala Tyr Tyr Cys His Gln Ser Ser Ser Leu Pro Phe
85 90 95

Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Asp Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro
115 120 125

Gly Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser
130 135 140

Ser Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu
145 150 155 160

Leu Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe
165 170 175

Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu
180 185 190

Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Gly Ser Ser
195 200 205

Pro Cys Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys Arg
210 215 220

<210> 190
<211> 251
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 190
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

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

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

Ala Ala Ile Asn Gln Asp Gly Ser Glu Lys Tyr Tyr Val Gly 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 Val Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Val Arg Asp Tyr Tyr Asp Ile Leu Thr Asp Tyr Tyr Ile His Tyr Trp
100 105 110

Tyr Phe Asp Leu Trp Gly Arg Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala
115 120 125

Ser Thr Lys Gly Pro Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val
130 135 140

Val Gln Pro Gly Arg Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe
145 150 155 160

Thr Phe Ser Val Tyr Gly Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys
165 170 175

Gly Leu Glu Trp Val Ala Ile Ile Trp Tyr Asp Gly Asp Asn Gln Tyr
180 185 190

Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser
195 200 205

Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Gly Leu Arg Ala Glu Asp Thr
210 215 220

Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Asp Leu Arg Thr Gly Pro Phe Asp Tyr
225 230 235 240

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
245 250

<210> 191
<211> 222
<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 191
Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15

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

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

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

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 Gly Ser Ser Pro
85 90 95

Cys Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala
100 105 110

Ala Pro Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Asp Phe Gln Ser Val Thr
115 120 125

Pro Lys Glu Lys Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Gly
130 135 140

Ser Ser Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gln Ser Pro Lys Leu
145 150 155 160

Leu Ile Lys Tyr Ala Ser Gln Ser Phe Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe
165 170 175

Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Asn Ser Leu
180 185 190

Glu Ala Glu Asp Ala Ala Ala Tyr Tyr Cys His Gln Ser Ser Ser Leu
195 200 205

Pro Phe Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Asp Ile Lys Arg
210 215 220

<210> 192
<211> 246
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 192
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly 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 Val Tyr
20 25 30

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

Ala Ile Ile Trp Tyr Asp Gly Asp Asn Gln Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

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

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

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

Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Glu Val Gln Leu
115 120 125

Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu
130 135 140

Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Ala Met Ser Trp
145 150 155 160

Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser Gly Ile Thr
165 170 175

Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe
180 185 190

Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn
195 200 205

Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Lys Asp Pro
210 215 220

Gly Thr Thr Val Ile Met Ser Trp Phe Asp Pro Trp Gly Gln Gly Thr
225 230 235 240

Leu Val Thr Val Ser Ser
245

<210> 193
<211> 222
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 193
Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Asp Phe Gln Ser Val Thr Pro Lys
1 5 10 15

Glu Lys Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Gly Ser Ser
20 25 30

Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Lys Tyr Ala Ser Gln Ser Phe Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Asn Ser Leu Glu Ala
65 70 75 80

Glu Asp Ala Ala Ala Tyr Tyr Cys His Gln Ser Ser Ser Leu Pro Phe
85 90 95

Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Asp Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro
115 120 125

Gly Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Arg Gly
130 135 140

Arg Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu
145 150 155 160

Leu Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe
165 170 175

Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu
180 185 190

Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Phe Tyr Cys Gln Gln Tyr Gly Ser Ser
195 200 205

Pro Arg Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
210 215 220

<210> 194
<211> 246
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 194
Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

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

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

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

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

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

Ala Lys Asp Pro Gly Thr Thr Val Ile Met Ser Trp Phe Asp Pro Trp
100 105 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro
115 120 125

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
130 135 140

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Val Tyr
145 150 155 160

Gly Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
165 170 175

Ala Ile Ile Trp Tyr Asp Gly Asp Asn Gln Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
180 185 190

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
195 200 205

Leu Gln Met Asn Gly Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
210 215 220

Ala Arg Asp Leu Arg Thr Gly Pro Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
225 230 235 240

Leu Val Thr Val Ser Ser
245

<210> 195
<211> 222
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 195
Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15

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

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

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

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 Phe Tyr Cys Gln Gln Tyr Gly Ser Ser Pro
85 90 95

Arg Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala
100 105 110

Ala Pro Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Asp Phe Gln Ser Val Thr
115 120 125

Pro Lys Glu Lys Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Gly
130 135 140

Ser Ser Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gln Ser Pro Lys Leu
145 150 155 160

Leu Ile Lys Tyr Ala Ser Gln Ser Phe Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe
165 170 175

Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Asn Ser Leu
180 185 190

Glu Ala Glu Asp Ala Ala Ala Tyr Tyr Cys His Gln Ser Ser Ser Leu
195 200 205

Pro Phe Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Asp Ile Lys Arg
210 215 220

<210> 196
<211> 247
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 196
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly 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 Val Tyr
20 25 30

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

Ala Ile Ile Trp Tyr Asp Gly Asp Asn Gln Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

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

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

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

Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Glu Val Gln Leu
115 120 125

Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu
130 135 140

Ser Cys Ala Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr Gly Met Asn Trp
145 150 155 160

Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Gly Trp Ile Asn
165 170 175

Thr Tyr Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Ala Ala Asp Phe Lys Arg Arg Phe
180 185 190

Thr Phe Ser Leu Asp Thr Ser Lys Ser Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn
195 200 205

Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Lys Tyr Pro
210 215 220

His Tyr Tyr Gly Ser Ser His Trp Tyr Phe Asp Val Trp Gly Gln Gly
225 230 235 240

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
245

<210> 197
<211> 221
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 197
Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Asp Phe Gln Ser Val Thr Pro Lys
1 5 10 15

Glu Lys Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Gly Ser Ser
20 25 30

Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Lys Tyr Ala Ser Gln Ser Phe Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Asn Ser Leu Glu Ala
65 70 75 80

Glu Asp Ala Ala Ala Tyr Tyr Cys His Gln Ser Ser Ser Leu Pro Phe
85 90 95

Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Asp Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val
115 120 125

Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ser Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn
130 135 140

Tyr Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Val Leu
145 150 155 160

Ile Tyr Phe Thr Ser Ser Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser
165 170 175

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln
180 185 190

Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Ser Thr Val Pro
195 200 205

Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
210 215 220

<210> 198
<211> 247
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 198
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

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

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

Gly Trp Ile Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Ala Ala Asp Phe
50 55 60

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

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

Ala Lys Tyr Pro His Tyr Tyr Gly Ser Ser His Trp Tyr Phe Asp Val
100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly
115 120 125

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

Arg Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Val
145 150 155 160

Tyr Gly Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
165 170 175

Val Ala Ile Ile Trp Tyr Asp Gly Asp Asn Gln Tyr Tyr Ala Asp Ser
180 185 190

Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu
195 200 205

Tyr Leu Gln Met Asn Gly Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr
210 215 220

Cys Ala Arg Asp Leu Arg Thr Gly Pro Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
225 230 235 240

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
245

<210> 199
<211> 221
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 199
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 Ser Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr
20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Val Leu Ile
35 40 45

Tyr Phe Thr Ser Ser Leu His 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 Tyr Ser Thr Val Pro Trp
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Asp Phe Gln Ser Val Thr Pro
115 120 125

Lys Glu Lys Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Gly Ser
130 135 140

Ser Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gln Ser Pro Lys Leu Leu
145 150 155 160

Ile Lys Tyr Ala Ser Gln Ser Phe Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser
165 170 175

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Asn Ser Leu Glu
180 185 190

Ala Glu Asp Ala Ala Ala Tyr Tyr Cys His Gln Ser Ser Ser Leu Pro
195 200 205

Phe Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Asp Ile Lys Arg
210 215 220

<210> 200
<211> 249
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 200
Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

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

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

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

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

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

Ala Lys Asp Pro Gly Thr Thr Val Ile Met Ser Trp Phe Asp Pro Trp
100 105 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro
115 120 125

Gln Val Gln Leu Gln Gln Pro Gly Ala Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala
130 135 140

Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
145 150 155 160

Asn Met His Trp Val Lys Gln Thr Pro Gly Arg Gly Leu Glu Trp Ile
165 170 175

Gly Ala Ile Tyr Pro Gly Asn Gly Asp Thr Ser Tyr Asn Gln Lys Phe
180 185 190

Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
195 200 205

Met Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys
210 215 220

Ala Arg Ser Thr Tyr Tyr Gly Gly Asp Trp Tyr Phe Asn Val Trp Gly
225 230 235 240

Ala Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ala

245

<210> 201
<211> 221
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 201
Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15

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

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

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

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 Phe Tyr Cys Gln Gln Tyr Gly Ser Ser Pro
85 90 95

Arg Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala
100 105 110

Ala Pro Gln Ile Val Leu Ser Gln Ser Pro Ala Ile Leu Ser Pro Ser
115 120 125

Pro Gly Glu Lys Val Thr Met Thr Cys Arg Ala Ser Ser Ser Val Ser
130 135 140

Tyr Ile His Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Ser Ser Pro Lys Pro Trp
145 150 155 160

Ile Tyr Ala Thr Ser Asn Leu Ala Ser Gly Val Pro Val Arg Phe Ser
165 170 175

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Ser Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Arg Val Glu

180 185 190

Ala Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Thr Ser Asn Pro
195 200 205

Pro Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg
210 215 220

<210> 202
<211> 249
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 202
Gln Val Gln Leu Gln Gln Pro Gly Ala Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

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

Asn Met His Trp Val Lys Gln Thr Pro Gly Arg Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

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

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

Ala Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ala Ala Ser Thr Lys Gly Pro Glu
115 120 125

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

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

145 150 155 160

Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser
165 170 175

Gly Ile Thr Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
180 185 190

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu
195 200 205

Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
210 215 220

Lys Asp Pro Gly Thr Thr Val Ile Met Ser Trp Phe Asp Pro Trp Gly
225 230 235 240

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
245

<210> 203
<211> 221
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 203
Gln Ile Val Leu Ser Gln Ser Pro Ala Ile Leu Ser Pro Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Lys Val Thr Met Thr Cys Arg Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Ile
20 25 30

His Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Ser Ser Pro Lys Pro Trp Ile Tyr
35 40 45

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

Gly Ser Gly Thr Ser Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu
65 70 75 80

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

85 90 95

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro
100 105 110

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
115 120 125

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Arg Gly Arg
130 135 140

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
145 150 155 160

Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
165 170 175

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu
180 185 190

Pro Glu Asp Phe Ala Val Phe Tyr Cys Gln Gln Tyr Gly Ser Ser Pro
195 200 205

Arg Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
210 215 220

<210> 204
<211> 246
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 204
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15

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

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

Ala Ala Val Ser Tyr Asp 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 Ile Leu Phe
65 70 75 80

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

Ala Arg Gly Arg Pro Lys Val Val Ile Pro Ala Pro Leu Ala His Trp
100 105 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Phe Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro
115 120 125

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
130 135 140

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Val Tyr
145 150 155 160

Gly Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
165 170 175

Ala Ile Ile Trp Tyr Asp Gly Asp Asn Gln Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
180 185 190

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
195 200 205

Leu Gln Met Asn Gly Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
210 215 220

Ala Arg Asp Leu Arg Thr Gly Pro Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
225 230 235 240

Leu Val Thr Val Ser Ser
245

<210> 205
<211> 221
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 205

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 Ser Ser Trp
20 25 30

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

Tyr Glu Ala Ser Asn Leu Glu Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

Ser Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu His Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Asp Phe Gln Ser Val Thr Pro
115 120 125

Lys Glu Lys Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Gly Ser
130 135 140

Ser Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gln Ser Pro Lys Leu Leu
145 150 155 160

Ile Lys Tyr Ala Ser Gln Ser Phe Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser
165 170 175

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Asn Ser Leu Glu
180 185 190

Ala Glu Asp Ala Ala Ala Tyr Tyr Cys His Gln Ser Ser Ser Leu Pro
195 200 205

Phe Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Asp Ile Lys Arg
210 215 220

<210> 206
<211> 246
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 206
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly 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 Val Tyr
20 25 30

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

Ala Ile Ile Trp Tyr Asp Gly Asp Asn Gln Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

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

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

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

Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Gln Val Gln Leu
115 120 125

Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg Ser Leu Arg Leu
130 135 140

Ser Cys Thr Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Met Phe Gly Val His Trp
145 150 155 160

Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala Ala Val Ser
165 170 175

Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Glu Ser Val Lys Gly Arg Phe
180 185 190

Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Ile Leu Phe Leu Gln Met Asp
195 200 205

Ser Leu Arg Leu Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly Arg
210 215 220

Pro Lys Val Val Ile Pro Ala Pro Leu Ala His Trp Gly Gln Gly Thr
225 230 235 240

Leu Val Thr Phe Ser Ser
245

<210> 207
<211> 221
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 207
Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Asp Phe Gln Ser Val Thr Pro Lys
1 5 10 15

Glu Lys Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Gly Ser Ser
20 25 30

Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Lys Tyr Ala Ser Gln Ser Phe Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Asn Ser Leu Glu Ala
65 70 75 80

Glu Asp Ala Ala Ala Tyr Tyr Cys His Gln Ser Ser Ser Leu Pro Phe
85 90 95

Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Asp Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val
115 120 125

Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser
130 135 140

Trp Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu
145 150 155 160

Ile Tyr Glu Ala Ser Asn Leu Glu Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser
165 170 175

Gly Ser Gly Ser Gly Ser Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln
180 185 190

Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Thr Ser Ser Phe Leu
195 200 205

Leu Ser Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu His Lys Arg
210 215 220

<210> 208
<211> 253
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 208
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15

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

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

Ala Ala Val Ser Tyr Asp 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 Ile Leu Phe
65 70 75 80

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

Ala Arg Gly Arg Pro Lys Val Val Ile Pro Ala Pro Leu Ala His Trp
100 105 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Phe Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro
115 120 125

Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly
130 135 140

Gly Val Val Gln Pro Gly Arg Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser
145 150 155 160

Gly Phe Thr Phe Ser Val Tyr Gly Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro
165 170 175

Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala Ile Ile Trp Tyr Asp Gly Asp Asn
180 185 190

Gln Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp
195 200 205

Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Gly Leu Arg Ala Glu
210 215 220

Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Asp Leu Arg Thr Gly Pro Phe
225 230 235 240

Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
245 250

<210> 209
<211> 228
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 209
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 Ser Ser Trp
20 25 30

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

Tyr Glu Ala Ser Asn Leu Glu Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

Ser Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu His Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro
115 120 125

Asp Phe Gln Ser Val Thr Pro Lys Glu Lys Val Thr Ile Thr Cys Arg
130 135 140

Ala Ser Gln Ser Ile Gly Ser Ser Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro
145 150 155 160

Asp Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile Lys Tyr Ala Ser Gln Ser Phe Ser
165 170 175

Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr
180 185 190

Leu Thr Ile Asn Ser Leu Glu Ala Glu Asp Ala Ala Ala Tyr Tyr Cys
195 200 205

His Gln Ser Ser Ser Leu Pro Phe Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val
210 215 220

Asp Ile Lys Arg
225

<210> 210
<211> 253
<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 210
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly 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 Val Tyr
20 25 30

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

Ala Ile Ile Trp Tyr Asp Gly Asp Asn Gln Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

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

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

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

Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro
115 120 125

Leu Ala Pro Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln
130 135 140

Pro Gly Arg Ser Leu Arg Leu Ser Cys Thr Ala Ser Gly Phe Thr Phe
145 150 155 160

Ser Met Phe Gly Val His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu
165 170 175

Glu Trp Val Ala Ala Val Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala
180 185 190

Glu Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn
195 200 205

Ile Leu Phe Leu Gln Met Asp Ser Leu Arg Leu Glu Asp Thr Ala Val
210 215 220

Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly Arg Pro Lys Val Val Ile Pro Ala Pro Leu
225 230 235 240

Ala His Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Phe Ser Ser
245 250

<210> 211
<211> 228
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 211
Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Asp Phe Gln Ser Val Thr Pro Lys
1 5 10 15

Glu Lys Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Gly Ser Ser
20 25 30

Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Lys Tyr Ala Ser Gln Ser Phe Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Asn Ser Leu Glu Ala
65 70 75 80

Glu Asp Ala Ala Ala Tyr Tyr Cys His Gln Ser Ser Ser Leu Pro Phe
85 90 95

Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Asp Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro
115 120 125

Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg
130 135 140

Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Trp Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro
145 150 155 160

Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Glu Ala Ser Asn Leu Glu Thr
165 170 175

Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Ser Asp Phe Thr
180 185 190

Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys
195 200 205

Gln Gln Thr Ser Ser Phe Leu Leu Ser Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val
210 215 220

Glu His Lys Arg
225

<210> 212
<211> 253
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 212
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15

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

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

Ala Ala Val Ser Tyr Asp 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 Ile Leu Phe
65 70 75 80

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

Ala Arg Gly Arg Pro Lys Val Val Ile Pro Ala Pro Leu Ala His Trp
100 105 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Phe Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro
115 120 125

Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly
130 135 140

Gly Val Val Gln Pro Gly Arg Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser
145 150 155 160

Gly Phe Thr Phe Ser Val Tyr Gly Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro
165 170 175

Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala Ile Ile Trp Tyr Asp Gly Asp Asn
180 185 190

Gln Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp
195 200 205

Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Gly Leu Arg Ala Glu
210 215 220

Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Asp Leu Arg Thr Gly Pro Phe
225 230 235 240

Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
245 250

<210> 213
<211> 221
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 213
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 Ser Ser Trp
20 25 30

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

Tyr Glu Ala Ser Asn Leu Glu Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

Ser Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu His Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Asp Phe Gln Ser Val Thr Pro
115 120 125

Lys Glu Lys Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Gly Ser
130 135 140

Ser Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gln Ser Pro Lys Leu Leu
145 150 155 160

Ile Lys Tyr Ala Ser Gln Ser Phe Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser
165 170 175

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Asn Ser Leu Glu
180 185 190

Ala Glu Asp Ala Ala Ala Tyr Tyr Cys His Gln Ser Ser Ser Leu Pro
195 200 205

Phe Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Asp Ile Lys Arg
210 215 220

<210> 214
<211> 253
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 214
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly 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 Val Tyr
20 25 30

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

Ala Ile Ile Trp Tyr Asp Gly Asp Asn Gln Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

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

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

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

Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro
115 120 125

Leu Ala Pro Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln
130 135 140

Pro Gly Arg Ser Leu Arg Leu Ser Cys Thr Ala Ser Gly Phe Thr Phe
145 150 155 160

Ser Met Phe Gly Val His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu
165 170 175

Glu Trp Val Ala Ala Val Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala
180 185 190

Glu Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn
195 200 205

Ile Leu Phe Leu Gln Met Asp Ser Leu Arg Leu Glu Asp Thr Ala Val
210 215 220

Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly Arg Pro Lys Val Val Ile Pro Ala Pro Leu
225 230 235 240

Ala His Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Phe Ser Ser
245 250

<210> 215
<211> 221
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 215
Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Asp Phe Gln Ser Val Thr Pro Lys
1 5 10 15

Glu Lys Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Gly Ser Ser
20 25 30

Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Lys Tyr Ala Ser Gln Ser Phe Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Asn Ser Leu Glu Ala
65 70 75 80

Glu Asp Ala Ala Ala Tyr Tyr Cys His Gln Ser Ser Ser Leu Pro Phe
85 90 95

Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Asp Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val
115 120 125

Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser
130 135 140

Trp Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu
145 150 155 160

Ile Tyr Glu Ala Ser Asn Leu Glu Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser
165 170 175

Gly Ser Gly Ser Gly Ser Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln
180 185 190

Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Thr Ser Ser Phe Leu
195 200 205

Leu Ser Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu His Lys Arg
210 215 220

<210> 216
<211> 246
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 216
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15

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

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

Ala Ala Val Ser Tyr Asp 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 Ile Leu Phe
65 70 75 80

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

Ala Arg Gly Arg Pro Lys Val Val Ile Pro Ala Pro Leu Ala His Trp
100 105 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Phe Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro
115 120 125

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
130 135 140

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Val Tyr
145 150 155 160

Gly Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
165 170 175

Ala Ile Ile Trp Tyr Asp Gly Asp Asn Gln Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
180 185 190

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
195 200 205

Leu Gln Met Asn Gly Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
210 215 220

Ala Arg Asp Leu Arg Thr Gly Pro Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
225 230 235 240

Leu Val Thr Val Ser Ser
245

<210> 217
<211> 228
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 217
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 Ser Ser Trp
20 25 30

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

Tyr Glu Ala Ser Asn Leu Glu Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

Ser Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu His Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro
115 120 125

Asp Phe Gln Ser Val Thr Pro Lys Glu Lys Val Thr Ile Thr Cys Arg
130 135 140

Ala Ser Gln Ser Ile Gly Ser Ser Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro
145 150 155 160

Asp Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile Lys Tyr Ala Ser Gln Ser Phe Ser
165 170 175

Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr
180 185 190

Leu Thr Ile Asn Ser Leu Glu Ala Glu Asp Ala Ala Ala Tyr Tyr Cys
195 200 205

His Gln Ser Ser Ser Leu Pro Phe Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val
210 215 220

Asp Ile Lys Arg
225

<210> 218
<211> 246
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 218
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly 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 Val Tyr
20 25 30

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

Ala Ile Ile Trp Tyr Asp Gly Asp Asn Gln Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

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

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

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

Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Gln Val Gln Leu
115 120 125

Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg Ser Leu Arg Leu
130 135 140

Ser Cys Thr Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Met Phe Gly Val His Trp
145 150 155 160

Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala Ala Val Ser
165 170 175

Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Glu Ser Val Lys Gly Arg Phe
180 185 190

Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Ile Leu Phe Leu Gln Met Asp
195 200 205

Ser Leu Arg Leu Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly Arg
210 215 220

Pro Lys Val Val Ile Pro Ala Pro Leu Ala His Trp Gly Gln Gly Thr
225 230 235 240

Leu Val Thr Phe Ser Ser

245

<210> 219
<211> 228
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 219
Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Asp Phe Gln Ser Val Thr Pro Lys
1 5 10 15

Glu Lys Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Gly Ser Ser
20 25 30

Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Lys Tyr Ala Ser Gln Ser Phe Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Asn Ser Leu Glu Ala
65 70 75 80

Glu Asp Ala Ala Ala Tyr Tyr Cys His Gln Ser Ser Ser Leu Pro Phe
85 90 95

Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Asp Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro
115 120 125

Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg
130 135 140

Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Trp Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro
145 150 155 160

Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Glu Ala Ser Asn Leu Glu Thr
165 170 175

Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Ser Asp Phe Thr

180 185 190

Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys
195 200 205

Gln Gln Thr Ser Ser Phe Leu Leu Ser Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val
210 215 220

Glu His Lys Arg
225

<210> 220
<211> 247
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 220
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15

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

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

Ala Ala Val Ser Tyr Asp 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 Ile Leu Phe
65 70 75 80

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

Ala Arg Gly Arg Pro Lys Val Val Ile Pro Ala Pro Leu Ala His Trp
100 105 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Phe Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro
115 120 125

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

130 135 140

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ser Ser Ser Gly Phe Ile Phe Ser Ser Tyr
145 150 155 160

Asp Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
165 170 175

Ala Tyr Ile Ser Ser Gly Gly Gly Gly Thr Tyr Tyr Pro Asp Thr Val
180 185 190

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Phe
195 200 205

Leu Gln Met Asp Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Gly Val Tyr Phe Cys
210 215 220

Ala Arg Gly Gly Val Thr Lys Gly Tyr Phe Asp Val Trp Gly Gln Gly
225 230 235 240

Thr Pro Val Thr Val Ser Ser
245

<210> 221
<211> 220
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 221
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 Ser Ser Trp
20 25 30

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

Tyr Glu Ala Ser Asn Leu Glu Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

Ser Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu His Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val
115 120 125

Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gly Asn Ile His Asn
130 135 140

Tyr Leu Thr Trp Tyr Gln Gln Thr Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu
145 150 155 160

Ile Tyr Asn Ala Lys Thr Leu Ala Asp Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser
165 170 175

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Thr Phe Thr Ile Ser Ser Leu Gln
180 185 190

Pro Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Phe Trp Ser Ile Pro
195 200 205

Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Gln Ile Thr
210 215 220

<210> 222
<211> 247
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 222
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ser Ser Ser Gly Phe Ile Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

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

35 40 45

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

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

Leu Gln Met Asp Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Gly Val Tyr Phe Cys
85 90 95

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

Thr Pro Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Gln Val Gln
115 120 125

Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg Ser Leu Arg
130 135 140

Leu Ser Cys Thr Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Met Phe Gly Val His
145 150 155 160

Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala Ala Val
165 170 175

Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Glu Ser Val Lys Gly Arg
180 185 190

Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Ile Leu Phe Leu Gln Met
195 200 205

Asp Ser Leu Arg Leu Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly
210 215 220

Arg Pro Lys Val Val Ile Pro Ala Pro Leu Ala His Trp Gly Gln Gly
225 230 235 240

Thr Leu Val Thr Phe Ser Ser
245

<210> 223
<211> 220

<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 223
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 Gly Asn Ile His Asn Tyr
20 25 30

Leu Thr Trp Tyr Gln Gln Thr Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Asn Ala Lys Thr Leu Ala Asp Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Phe Trp Ser Ile Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Gln Ile Thr Thr Val Ala Ala Pro
100 105 110

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly
115 120 125

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Trp
130 135 140

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
145 150 155 160

Tyr Glu Ala Ser Asn Leu Glu Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
165 170 175

Ser Gly Ser Gly Ser Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
180 185 190

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Thr Ser Ser Phe Leu Leu
195 200 205

Ser Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu His Lys Arg
210 215 220

<210> 224
<211> 254
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 224
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15

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

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

Ala Ala Val Ser Tyr Asp 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 Ile Leu Phe
65 70 75 80

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

Ala Arg Gly Arg Pro Lys Val Val Ile Pro Ala Pro Leu Ala His Trp
100 105 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Phe Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro
115 120 125

Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly
130 135 140

Gly Val Val Gln Pro Gly Arg Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ser Ser Ser
145 150 155 160

Gly Phe Ile Phe Ser Ser Tyr Asp Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro
165 170 175

Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala Tyr Ile Ser Ser Gly Gly Gly Gly
180 185 190

Thr Tyr Tyr Pro Asp Thr Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp
195 200 205

Asn Ser Lys Asn Thr Leu Phe Leu Gln Met Asp Ser Leu Arg Pro Glu
210 215 220

Asp Thr Gly Val Tyr Phe Cys Ala Arg Gly Gly Val Thr Lys Gly Tyr
225 230 235 240

Phe Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Pro Val Thr Val Ser Ser
245 250

<210> 225
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 225
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 Ser Ser Trp
20 25 30

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

Tyr Glu Ala Ser Asn Leu Glu Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

Ser Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu His Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro
115 120 125

Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg
130 135 140

Ala Ser Gly Asn Ile His Asn Tyr Leu Thr Trp Tyr Gln Gln Thr Pro
145 150 155 160

Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Asn Ala Lys Thr Leu Ala Asp
165 170 175

Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Thr
180 185 190

Phe Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys
195 200 205

Gln His Phe Trp Ser Ile Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu
210 215 220

Gln Ile Thr
225

<210> 226
<211> 254
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 226
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ser Ser Ser Gly Phe Ile Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

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

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

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

Leu Gln Met Asp Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Gly Val Tyr Phe Cys
85 90 95

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

Thr Pro Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
115 120 125

Pro Leu Ala Pro Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val
130 135 140

Gln Pro Gly Arg Ser Leu Arg Leu Ser Cys Thr Ala Ser Gly Phe Thr
145 150 155 160

Phe Ser Met Phe Gly Val His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly
165 170 175

Leu Glu Trp Val Ala Ala Val Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr
180 185 190

Ala Glu Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys
195 200 205

Asn Ile Leu Phe Leu Gln Met Asp Ser Leu Arg Leu Glu Asp Thr Ala
210 215 220

Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly Arg Pro Lys Val Val Ile Pro Ala Pro
225 230 235 240

Leu Ala His Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Phe Ser Ser
245 250

<210> 227
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 227
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gly Asn Ile His Asn Tyr
20 25 30

Leu Thr Trp Tyr Gln Gln Thr Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Asn Ala Lys Thr Leu Ala Asp Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Phe Trp Ser Ile Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Gln Ile Thr Thr Val Ala Ala Pro
100 105 110

Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser
115 120 125

Ser Val Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala
130 135 140

Ser Gln Gly Ile Ser Ser Trp Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly
145 150 155 160

Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Glu Ala Ser Asn Leu Glu Thr Gly
165 170 175

Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Ser Asp Phe Thr Leu
180 185 190

Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln
195 200 205

Gln Thr Ser Ser Phe Leu Leu Ser Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu
210 215 220

His Lys Arg
225

<210> 228
<211> 254
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 228
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15

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

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

Ala Ala Val Ser Tyr Asp 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 Ile Leu Phe
65 70 75 80

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

Ala Arg Gly Arg Pro Lys Val Val Ile Pro Ala Pro Leu Ala His Trp
100 105 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Phe Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro
115 120 125

Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly
130 135 140

Gly Val Val Gln Pro Gly Arg Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ser Ser Ser
145 150 155 160

Gly Phe Ile Phe Ser Ser Tyr Asp Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro
165 170 175

Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala Tyr Ile Ser Ser Gly Gly Gly Gly
180 185 190

Thr Tyr Tyr Pro Asp Thr Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp
195 200 205

Asn Ser Lys Asn Thr Leu Phe Leu Gln Met Asp Ser Leu Arg Pro Glu
210 215 220

Asp Thr Gly Val Tyr Phe Cys Ala Arg Gly Gly Val Thr Lys Gly Tyr
225 230 235 240

Phe Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Pro Val Thr Val Ser Ser
245 250

<210> 229
<211> 220
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 229
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 Ser Ser Trp
20 25 30

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

Tyr Glu Ala Ser Asn Leu Glu Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

Ser Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu His Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val
115 120 125

Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gly Asn Ile His Asn
130 135 140

Tyr Leu Thr Trp Tyr Gln Gln Thr Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu
145 150 155 160

Ile Tyr Asn Ala Lys Thr Leu Ala Asp Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser
165 170 175

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Thr Phe Thr Ile Ser Ser Leu Gln
180 185 190

Pro Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Phe Trp Ser Ile Pro
195 200 205

Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Gln Ile Thr
210 215 220

<210> 230
<211> 254
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 230
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ser Ser Ser Gly Phe Ile Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

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

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

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

Leu Gln Met Asp Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Gly Val Tyr Phe Cys
85 90 95

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

Thr Pro Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
115 120 125

Pro Leu Ala Pro Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val
130 135 140

Gln Pro Gly Arg Ser Leu Arg Leu Ser Cys Thr Ala Ser Gly Phe Thr
145 150 155 160

Phe Ser Met Phe Gly Val His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly
165 170 175

Leu Glu Trp Val Ala Ala Val Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr
180 185 190

Ala Glu Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys
195 200 205

Asn Ile Leu Phe Leu Gln Met Asp Ser Leu Arg Leu Glu Asp Thr Ala
210 215 220

Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly Arg Pro Lys Val Val Ile Pro Ala Pro
225 230 235 240

Leu Ala His Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Phe Ser Ser
245 250

<210> 231
<211> 220
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 231
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 Gly Asn Ile His Asn Tyr
20 25 30

Leu Thr Trp Tyr Gln Gln Thr Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Asn Ala Lys Thr Leu Ala Asp Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Phe Trp Ser Ile Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Gln Ile Thr Thr Val Ala Ala Pro
100 105 110

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly
115 120 125

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Trp
130 135 140

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
145 150 155 160

Tyr Glu Ala Ser Asn Leu Glu Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
165 170 175

Ser Gly Ser Gly Ser Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
180 185 190

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Thr Ser Ser Phe Leu Leu
195 200 205

Ser Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu His Lys Arg
210 215 220

<210> 232
<211> 247
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 232
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15

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

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

Ala Ala Val Ser Tyr Asp 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 Ile Leu Phe
65 70 75 80

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

Ala Arg Gly Arg Pro Lys Val Val Ile Pro Ala Pro Leu Ala His Trp
100 105 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Phe Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro
115 120 125

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
130 135 140

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ser Ser Ser Gly Phe Ile Phe Ser Ser Tyr
145 150 155 160

Asp Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
165 170 175

Ala Tyr Ile Ser Ser Gly Gly Gly Gly Thr Tyr Tyr Pro Asp Thr Val
180 185 190

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Phe
195 200 205

Leu Gln Met Asp Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Gly Val Tyr Phe Cys
210 215 220

Ala Arg Gly Gly Val Thr Lys Gly Tyr Phe Asp Val Trp Gly Gln Gly
225 230 235 240

Thr Pro Val Thr Val Ser Ser
245

<210> 233
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 233
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 Ser Ser Trp
20 25 30

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

Tyr Glu Ala Ser Asn Leu Glu Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

Ser Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu His Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro
115 120 125

Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg
130 135 140

Ala Ser Gly Asn Ile His Asn Tyr Leu Thr Trp Tyr Gln Gln Thr Pro
145 150 155 160

Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Asn Ala Lys Thr Leu Ala Asp
165 170 175

Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Thr
180 185 190

Phe Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys
195 200 205

Gln His Phe Trp Ser Ile Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu
210 215 220

Gln Ile Thr
225

<210> 234
<211> 247
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 234
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ser Ser Ser Gly Phe Ile Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

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

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

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

Leu Gln Met Asp Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Gly Val Tyr Phe Cys
85 90 95

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

Thr Pro Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Gln Val Gln
115 120 125

Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg Ser Leu Arg
130 135 140

Leu Ser Cys Thr Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Met Phe Gly Val His
145 150 155 160

Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala Ala Val
165 170 175

Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Glu Ser Val Lys Gly Arg
180 185 190

Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Ile Leu Phe Leu Gln Met
195 200 205

Asp Ser Leu Arg Leu Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly
210 215 220

Arg Pro Lys Val Val Ile Pro Ala Pro Leu Ala His Trp Gly Gln Gly
225 230 235 240

Thr Leu Val Thr Phe Ser Ser
245

<210> 235
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 235
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 Gly Asn Ile His Asn Tyr
20 25 30

Leu Thr Trp Tyr Gln Gln Thr Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Asn Ala Lys Thr Leu Ala Asp Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Phe Trp Ser Ile Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Gln Ile Thr Thr Val Ala Ala Pro
100 105 110

Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser
115 120 125

Ser Val Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala
130 135 140

Ser Gln Gly Ile Ser Ser Trp Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly
145 150 155 160

Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Glu Ala Ser Asn Leu Glu Thr Gly
165 170 175

Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Ser Asp Phe Thr Leu
180 185 190

Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln
195 200 205

Gln Thr Ser Ser Phe Leu Leu Ser Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu
210 215 220

His Lys Arg
225

<210> 236
<211> 7185
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polynucleotide

<400> 236
gcgtcgacca agggcccatc ggtcttcccc ctggcaccct cctccaagag cacctctggg 60

ggcacagcgg ccctgggctg cctggtcaag gactacttcc ccgaaccggt gacggtgtcg 120

tggaactcag gcgccctgac cagcggcgtg cacaccttcc cggctgtcct acagtcctca 180

ggactctact ccctcagcag cgtggtgacc gtgccctcca gcagcttggg cacccagacc 240

tacatctgca acgtgaatca caagcccagc aacaccaagg tggacaagaa agttgagccc 300

aaatcttgtg acaaaactca cacatgccca ccgtgcccag cacctgaact cctgggggga 360

ccgtcagtct tcctcttccc cccaaaaccc aaggacaccc tcatgatctc ccggacccct 420

gaggtcacat gcgtggtggt ggacgtgagc cacgaagacc ctgaggtcaa gttcaactgg 480

tacgtggacg gcgtggaggt gcataatgcc aagacaaagc cgcgggagga gcagtacaac 540

agcacgtacc gtgtggtcag cgtcctcacc gtcctgcacc aggactggct gaatggcaag 600

gagtacaagt gcaaggtctc caacaaagcc ctcccagccc ccatcgagaa aaccatctcc 660

aaagccaaag ggcagccccg agaaccacag gtgtacaccc tgcccccatc ccgcgaggag 720

atgaccaaga accaggtcag cctgacctgc ctggtcaaag gcttctatcc cagcgacatc 780

gccgtggagt gggagagcaa tgggcagccg gagaacaact acaagaccac gcctcccgtg 840

ctggactccg acggctcctt cttcctctac agcaagctca ccgtggacaa gagcaggtgg 900

cagcagggga acgtcttctc atgctccgtg atgcatgagg ctctgcacaa ccactacacg 960

cagaagagcc tctccctgtc tccgggtaaa tgagcggccg ctcgaggccg gcaaggccgg 1020

atcccccgac ctcgacctct ggctaataaa ggaaatttat tttcattgca atagtgtgtt 1080

ggaatttttt gtgtctctca ctcggaagga catatgggag ggcaaatcat ttggtcgaga 1140

tccctcggag atctctagct agaggatcga tccccgcccc ggacgaacta aacctgacta 1200

cgacatctct gccccttctt cgcggggcag tgcatgtaat cccttcagtt ggttggtaca 1260

acttgccaac tgggccctgt tccacatgtg acacgggggg ggaccaaaca caaaggggtt 1320

ctctgactgt agttgacatc cttataaatg gatgtgcaca tttgccaaca ctgagtggct 1380

ttcatcctgg agcagacttt gcagtctgtg gactgcaaca caacattgcc tttatgtgta 1440

actcttggct gaagctctta caccaatgct gggggacatg tacctcccag gggcccagga 1500

agactacggg aggctacacc aacgtcaatc agaggggcct gtgtagctac cgataagcgg 1560

accctcaaga gggcattagc aatagtgttt ataaggcccc cttgttaacc ctaaacgggt 1620

agcatatgct tcccgggtag tagtatatac tatccagact aaccctaatt caatagcata 1680

tgttacccaa cgggaagcat atgctatcga attagggtta gtaaaagggt cctaaggaac 1740

agcgatatct cccaccccat gagctgtcac ggttttattt acatggggtc aggattccac 1800

gagggtagtg aaccatttta gtcacaaggg cagtggctga agatcaagga gcgggcagtg 1860

aactctcctg aatcttcgcc tgcttcttca ttctccttcg tttagctaat agaataactg 1920

ctgagttgtg aacagtaagg tgtatgtgag gtgctcgaaa acaaggtttc aggtgacgcc 1980

cccagaataa aatttggacg gggggttcag tggtggcatt gtgctatgac accaatataa 2040

ccctcacaaa ccccttgggc aataaatact agtgtaggaa tgaaacattc tgaatatctt 2100

taacaataga aatccatggg gtggggacaa gccgtaaaga ctggatgtcc atctcacacg 2160

aatttatggc tatgggcaac acataatcct agtgcaatat gatactgggg ttattaagat 2220

gtgtcccagg cagggaccaa gacaggtgaa ccatgttgtt acactctatt tgtaacaagg 2280

ggaaagagag tggacgccga cagcagcgga ctccactggt tgtctctaac acccccgaaa 2340

attaaacggg gctccacgcc aatggggccc ataaacaaag acaagtggcc actctttttt 2400

ttgaaattgt ggagtggggg cacgcgtcag cccccacacg ccgccctgcg gttttggact 2460

gtaaaataag ggtgtaataa cttggctgat tgtaaccccg ctaaccactg cggtcaaacc 2520

acttgcccac aaaaccacta atggcacccc ggggaatacc tgcataagta ggtgggcggg 2580

ccaagatagg ggcgcgattg ctgcgatctg gaggacaaat tacacacact tgcgcctgag 2640

cgccaagcac agggttgttg gtcctcatat tcacgaggtc gctgagagca cggtgggcta 2700

atgttgccat gggtagcata tactacccaa atatctggat agcatatgct atcctaatct 2760

atatctgggt agcataggct atcctaatct atatctgggt agcatatgct atcctaatct 2820

atatctgggt agtatatgct atcctaattt atatctgggt agcataggct atcctaatct 2880

atatctgggt agcatatgct atcctaatct atatctgggt agtatatgct atcctaatct 2940

gtatccgggt agcatatgct atcctaatag agattagggt agtatatgct atcctaattt 3000

atatctgggt agcatatact acccaaatat ctggatagca tatgctatcc taatctatat 3060

ctgggtagca tatgctatcc taatctatat ctgggtagca taggctatcc taatctatat 3120

ctgggtagca tatgctatcc taatctatat ctgggtagta tatgctatcc taatttatat 3180

ctgggtagca taggctatcc taatctatat ctgggtagca tatgctatcc taatctatat 3240

ctgggtagta tatgctatcc taatctgtat ccgggtagca tatgctatcc tcatgataag 3300

ctgtcaaaca tgagaatttt cttgaagacg aaagggcctc gtgatacgcc tatttttata 3360

ggttaatgtc atgataataa tggtttctta gacgtcaggt ggcacttttc ggggaaatgt 3420

gcgcggaacc cctatttgtt tatttttcta aatacattca aatatgtatc cgctcatgag 3480

acaataaccc tgataaatgc ttcaataata ttgaaaaagg aagagtatga gtattcaaca 3540

tttccgtgtc gcccttattc cctttttgc ggcattttgc cttcctgttt ttgctcaccc 3600

agaaacgctg gtgaaagtaa aagatgctga agatcagttg ggtgcacgag tgggttacat 3660

cgaactggat ctcaacagcg gtaagatcct tgagagtttt cgccccgaag aacgttttcc 3720

aatgatgagc acttttaaag ttctgctatg tggcgcggta ttatcccgtg ttgacgccgg 3780

gcaagagcaa ctcggtcgcc gcatacacta ttctcagaat gacttggttg agtactcacc 3840

agtcacagaa aagcatctta cggatggcat gacagtaaga gaattatgca gtgctgccat 3900

aaccatgagt gataacactg cggccaactt acttctgaca acgatcggag gaccgaagga 3960

gctaaccgct tttttgcaca acatggggga tcatgtaact cgccttgatc gttgggaacc 4020

ggagctgaat gaagccatac caaacgacga gcgtgacacc acgatgcctg cagcaatggc 4080

aacaacgttg cgcaaactat taactggcga actacttact ctagcttccc ggcaacaatt 4140

aatagactgg atggaggcgg ataaagttgc aggaccactt ctgcgctcgg cccttccggc 4200

tggctggttt attgctgata aatctggagc cggtgagcgt gggtctcgcg gtatcattgc 4260

agcactgggg ccagatggta agccctcccg tatcgtagtt atctacacga cggggagtca 4320

ggcaactatg gatgaacgaa atagacagat cgctgagata ggtgcctcac tgattaagca 4380

ttggtaactg tcagaccaag tttactcata tatactttag attgatttaa aacttcattt 4440

ttaatttaaa aggatctagg tgaagatcct ttttgataat ctcatgacca aaatccctta 4500

acgtgagttt tcgttccact gagcgtcaga ccccgtagaa aagatcaaag gatcttcttg 4560

agatcctttt tttctgcgcg taatctgctg cttgcaaaca aaaaaaccac cgctaccagc 4620

ggtggtttgt ttgccggatc aagagctacc aactcttttt ccgaaggtaa ctggcttcag 4680

cagagcgcag ataccaaata ctgttcttct agtgtagccg tagttaggcc accacttcaa 4740

gaactctgta gcaccgccta catacctcgc tctgctaatc ctgttaccag tggctgctgc 4800

cagtggcgat aagtcgtgtc ttaccgggtt ggactcaaga cgatagttac cggataaggc 4860

gcagcggtcg ggctgaacgg ggggttcgtg cacacagccc agcttggagc gaacgaccta 4920

caccgaactg agatacctac agcgtgagct atgagaaagc gccacgcttc ccgaagggag 4980

aaaggcggac aggtatccgg taagcggcag ggtcggaaca ggagagcgca cgagggagct 5040

tccaggggga aacgcctggt atctttatag tcctgtcggg tttcgccacc tctgacttga 5100

gcgtcgattt ttgtgatgct cgtcaggggg gcggagccta tggaaaaacg ccagcaacgc 5160

ggccttttta cggttcctgg ccttttgctg gccttttgct cacatgttct ttcctgcgtt 5220

atcccctgat tctgtggata accgtattac cgcctttgag tgagctgata ccgctcgccg 5280

cagccgaacg accgagcgca gcgagtcagt gagcgaggaa gcggaagagc gcccaatacg 5340

caaaccgcct ctccccgcgc gttggccgat tcattaatgc agctggcacg acaggtttcc 5400

cgactggaaa gcgggcagtg agcgcaacgc aattaatgtg agttagctca ctcattaggc 5460

accccaggct ttacacttta tgcttccggc tcgtatgttg tgtggaattg tgagcggata 5520

acaatttcac acaggaaaca gctatgacca tgattacgcc aagctctagc tagaggtcga 5580

gtccctcccc agcaggcaga agtatgcaaa gcatgcatct caattagtca gcaaccatag 5640

tcccgcccct aactccgccc atcccgcccc taactccgcc cagttccgcc cattctccgc 5700

cccatggctg actaattttt tttatttatg cagaggccga ggccgcctcg gcctctgagc 5760

tattccagaa gtagtgagga ggcttttttg gaggcctagg cttttgcaaa aagctttgca 5820

aagatggata aagttttaaa cagagaggaa tctttgcagc taatggacct tctaggtctt 5880

gaaaggagtg ggaattggct ccggtgcccg tcagtgggca gagcgcacat cgcccacagt 5940

ccccgagaag ttgggggggag gggtcggcaa ttgaaccggt gcctagagaa ggtggcgcgg 6000

ggtaaactgg gaaagtgatg tcgtgtactg gctccgcctt tttcccgagg gtgggggaga 6060

accgtatata agtgcagtag tcgccgtgaa cgttcttttt cgcaacgggt ttgccgccag 6120

aacacaggta agtgccgtgt gtggttcccg cgggcctggc ctctttacgg gttatggccc 6180

ttgcgtgcct tgaattactt ccacctggct gcagtacgtg attcttgatc ccgagcttcg 6240

ggttggaagt gggtgggaga gttcgaggcc ttgcgcttaa ggagcccctt cgcctcgtgc 6300

ttgagttgag gcctggcctg ggcgctgggg ccgccgcgtg cgaatctggt ggcaccttcg 6360

cgcctgtctc gctgctttcg ataagtctct agccatttaa aatttttgat gacctgctgc 6420

gacgcttttt ttctggcaag atagtcttgt aaatgcgggc caagatctgc acactggtat 6480

ttcggttttt ggggccgcgg gcggcgacgg ggcccgtgcg tcccagcgca catgttcggc 6540

gaggcggggc ctgcgagcgc ggccaccgag aatcggacgg gggtagtctc aagctggccg 6600

gcctgctctg gtgcctggcc tcgcgccgcc gtgtatcgcc ccgccctggg cggcaaggct 6660

ggcccggtcg gcaccagttg cgtgagcgga aagatggccg cttcccggcc ctgctgcagg 6720

gagctcaaaa tggaggacgc ggcgctcggg agagcgggcg ggtgagtcac ccacacaaag 6780

gaaaagggcc tttccgtcct cagccgtcgc ttcatgtgac tccacggagt accgggcgcc 6840

gtccaggcac ctcgattagt tctcgagctt ttggagtacg tcgtctttag gttgggggga 6900

ggggttttat gcgatggagt ttccccacac tgagtgggtg gagactgaag ttaggccagc 6960

ttggcacttg atgtaattct ccttggaatt tgccctttt gagtttggat cttggttcat 7020

tctcaagcct cagacagtgg ttcaaagttt ttttcttcca tttcaggtgt cgtgaggaat 7080

tctctagaga tccctcgacc tcgagatcca ttgtgcccgg gcgccaccat ggagtttggg 7140

ctgagctggc tttttcttgt cgcgatttta aaaggtgtcc agtgc 7185

<210> 237
<211> 6521
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polynucleotide

<400> 237
acggtggctg caccatctgt cttcatcttc ccgccatctg atgagcagtt gaaatctgga 60

actgcctctg ttgtgtgcct gctgaataac ttctatccca gagaggccaa agtacagtgg 120

aaggtggata acgccctcca atcgggtaac tcccaggaga gtgtcacaga gcaggacagc 180

aaggacagca cctacagcct cagcagcacc ctgacgctga gcaaagcaga ctacgagaaa 240

cacaaagtct acgcctgcga agtcacccat cagggcctga gctcgcccgt cacaaagagc 300

ttcaacaggg gagagtgttg agcggccgct cgaggccggc aaggccggat cccccgacct 360

cgacctctgg ctaataaagg aaatttattt tcattgcaat agtgtgttgg aatttttgt 420

gtctctcact cggaaggaca tatgggaggg caaatcattt ggtcgagatc cctcggagat 480

ctctagctag aggatcgatc cccgccccgg acgaactaaa cctgactacg acatctctgc 540

cccttcttcg cggggcagtg catgtaatcc cttcagttgg ttggtacaac ttgccaactg 600

ggccctgttc cacatgtgac acgggggggg accaaacaca aaggggttct ctgactgtag 660

ttgacatcct tataaatgga tgtgcacatt tgccaacact gagtggcttt catcctggag 720

cagactttgc agtctgtgga ctgcaacaca acattgcctt tatgtgtaac tcttggctga 780

agctcttaca ccaatgctgg gggacatgta cctcccaggg gcccaggaag actacgggag 840

gctacaccaa cgtcaatcag aggggcctgt gtagctaccg ataagcggac cctcaagagg 900

gcattagcaa tagtgtttat aaggcccccc tgttaaccct aaacgggtag catatgcttc 960

ccgggtagta gtatatacta tccagactaa ccctaattca atagcatatg ttacccaacg 1020

ggaagcatat gctatcgaat tagggttagt aaaagggtcc taaggaacag cgatatctcc 1080

caccccatga gctgtcacgg ttttatttac atggggtcag gattccacga gggtagtgaa 1140

ccattttagt cacaagggca gtggctgaag atcaaggagc gggcagtgaa ctctcctgaa 1200

tcttcgcctg cttcttcatt ctccttcgtt tagctaatag aataactgct gagttgtgaa 1260

cagtaaggtg tatgtgaggt gctcgaaaac aaggtttcag gtgacgcccc cagaataaaa 1320

tttggacggg gggttcagtg gtggcattgt gctatgacac caatataacc ctcacaaacc 1380

ccttgggcaa taaatactag tgtaggaatg aaacattctg aatatcttta acaatagaaa 1440

tccatggggt ggggacaagc cgtaaagact ggatgtccat ctcacacgaa tttatggcta 1500

tgggcaacac ataatcctag tgcaatatga tactggggtt attaagatgt gtcccaggca 1560

gggaccaaga caggtgaacc atgttgttac actctatttg taacaagggg aaagagagtg 1620

gacgccgaca gcagcggact ccactggttg tctctaacac ccccgaaaat taaacggggc 1680

tccacgccaa tggggcccat aaacaaagac aagtggccac tctttttttt gaaattgtgg 1740

agtgggggca cgcgtcagcc cccacacgcc gccctgcggt tttggactgt aaaataaggg 1800

tgtaataact tggctgattg taaccccgct aaccactgcg gtcaaaccac ttgcccacaa 1860

aaccactaat ggcaccccgg ggaatacctg cataagtagg tgggcgggcc aagatagggg 1920

cgcgattgct gcgatctgga ggacaaatta cacacacttg cgcctgagcg ccaagcacag 1980

ggttgttggt cctcatattc acgaggtcgc tgagagcacg gtgggctaat gttgccatgg 2040

gtagcatata ctacccaaat atctggatag catatgctat cctaatctat atctgggtag 2100

cataggctat cctaatctat atctgggtag catatgctat cctaatctat atctgggtag 2160

tatatgctat cctaatttat atctgggtag cataggctat cctaatctat atctgggtag 2220

catatgctat cctaatctat atctgggtag tatatgctat cctaatctgt atccgggtag 2280

catatgctat cctaatagag attagggtag tatatgctat cctaatttat atctgggtag 2340

catatactac ccaaatatct ggatagcata tgctatccta atctatatct gggtagcata 2400

tgctatccta atctatatct gggtagcata ggctatccta atctatatct gggtagcata 2460

tgctatccta atctatatct gggtagtata tgctatccta atttatatct gggtagcata 2520

ggctatccta atctatatct gggtagcata tgctatccta atctatatct gggtagtata 2580

tgctatccta atctgtatcc gggtagcata tgctatcctc atgataagct gtcaaacatg 2640

agaattttct tgaagacgaa agggcctcgt gatacgccta tttttatagg ttaatgtcat 2700

gataataatg gtttcttaga cgtcaggtgg cacttttcgg ggaaatgtgc gcggaacccc 2760

tatttgttta tttttctaaa tacattcaaa tatgtatccg ctcatgagac aataaccctg 2820

ataaatgctt caataatatt gaaaaaggaa gagtatgagt attcaacatt tccgtgtcgc 2880

ccttattccc ttttttgcgg cattttgcct tcctgttttt gctcacccag aaacgctggt 2940

gaaagtaaaa gatgctgaag atcagttggg tgcacgagtg ggttacatcg aactggatct 3000

caacagcggt aagatccttg agagttttcg ccccgaagaa cgttttccaa tgatgagcac 3060

ttttaaagtt ctgctatgtg gcgcggtatt atcccgtgtt gacgccgggc aagagcaact 3120

cggtcgccgc atacactatt ctcagaatga cttggttgag tactcaccag tcacagaaaa 3180

gcatcttacg gatggcatga cagtaagaga attatgcagt gctgccataa ccatgagtga 3240

taacactgcg gccaacttac ttctgacaac gatcggagga ccgaaggagc taaccgcttt 3300

tttgcacaac atgggggatc atgtaactcg ccttgatcgt tgggaaccgg agctgaatga 3360

agccatacca aacgacgagc gtgacaccac gatgcctgca gcaatggcaa caacgttgcg 3420

caaactatta actggcgaac tacttactct agcttcccgg caacaattaa tagactggat 3480

ggaggcggat aaagttgcag gaccacttct gcgctcggcc cttccggctg gctggtttat 3540

tgctgataaa tctggagccg gtgagcgtgg gtctcgcggt atcattgcag cactggggcc 3600

agatggtaag ccctcccgta tcgtagttat ctacacgacg gggagtcagg caactatgga 3660

tgaacgaaat agacagatcg ctgagatagg tgcctcactg attaagcatt ggtaactgtc 3720

agaccaagtt tactcatata tactttagat tgatttaaaa cttcattttt aatttaaaag 3780

gatctaggtg aagatccttt ttgataatct catgaccaaa atcccttaac gtgagttttc 3840

gttccactga gcgtcagacc ccgtagaaaa gatcaaagga tcttcttgag atccttttttt 3900

tctgcgcgta atctgctgct tgcaaacaaa aaaaccaccg ctaccagcgg tggtttgttt 3960

gccggatcaa gagctaccaa ctctttttcc gaaggtaact ggcttcagca gagcgcagat 4020

accaaatact gttcttctag tgtagccgta gttaggccac cacttcaaga actctgtagc 4080

accgcctaca tacctcgctc tgctaatcct gttaccagtg gctgctgcca gtggcgataa 4140

gtcgtgtctt accgggttgg actcaagacg atagttaccg gataaggcgc agcggtcggg 4200

ctgaacgggg ggttcgtgca cacagcccag cttggagcga acgacctaca ccgaactgag 4260

atacctacag cgtgagctat gagaaagcgc cacgcttccc gaagggagaa aggcggacag 4320

gtatccggta agcggcaggg tcggaacagg agagcgcacg agggagcttc cagggggaaa 4380

cgcctggtat ctttatagtc ctgtcgggtt tcgccacctc tgacttgagc gtcgattttt 4440

gtgatgctcg tcaggggggc ggagcctatg gaaaaacgcc agcaacgcgg cctttttacg 4500

gttcctggcc ttttgctggc cttttgctca catgttcttt cctgcgttat cccctgattc 4560

tgtggataac cgtattaccg cctttgagtg agctgatacc gctcgccgca gccgaacgac 4620

cgagcgcagc gagtcagtga gcgaggaagc ggaagagcgc ccaatacgca aaccgcctct 4680

ccccgcgcgt tggccgattc attaatgcag ctggcacgac aggtttcccg actggaaagc 4740

gggcagtgag cgcaacgcaa ttaatgtgag ttagctcact cattaggcac cccaggcttt 4800

acactttatg cttccggctc gtatgttgtg tggaattgtg agcggataac aatttcacac 4860

aggaaacagc tatgaccatg attacgccaa gctctagcta gaggtcgagt ccctccccag 4920

caggcagaag tatgcaaagc atgcatctca attagtcagc aaccatagtc ccgcccctaa 4980

ctccgcccat cccgccccta actccgccca gttccgccca ttctccgccc catggctgac 5040

taatttttt tatttatgca gaggccgagg ccgcctcggc ctctgagcta ttccagaagt 5100

agtgaggagg ctttttgga ggcctaggct tttgcaaaaa gctttgcaaa gatggataaa 5160

gttttaaaca gagaggaatc tttgcagcta atggaccttc taggtcttga aaggagtggg 5220

aattggctcc ggtgcccgtc agtgggcaga gcgcacatcg cccacagtcc ccgagaagtt 5280

gggggggaggg gtcggcaatt gaaccggtgc ctagagaagg tggcgcgggg taaactggga 5340

aagtgatgtc gtgtactggc tccgcctttt tcccgagggt gggggagaac cgtatataag 5400

tgcagtagtc gccgtgaacg ttctttttcg caacgggttt gccgccagaa cacaggtaag 5460

tgccgtgtgt ggttcccgcg ggcctggcct ctttacgggt tatggccctt gcgtgccttg 5520

aattacttcc acctggctgc agtacgtgat tcttgatccc gagcttcggg ttggaagtgg 5580

gtgggagagt tcgaggcctt gcgcttaagg agcccccttcg cctcgtgctt gagttgaggc 5640

ctggcctggg cgctggggcc gccgcgtgcg aatctggtgg caccttcgcg cctgtctcgc 5700

tgctttcgat aagtctctag ccatttaaaa tttttgatga cctgctgcga cgcttttttt 5760

ctggcaagat agtcttgtaa atgcgggcca agatctgcac actggtattt cggtttttgg 5820

ggccgcgggc ggcgacgggg cccgtgcgtc ccagcgcaca tgttcggcga ggcggggcct 5880

gcgagcgcgg ccaccgagaa tcggacgggg gtagtctcaa gctggccggc ctgctctggt 5940

gcctggcctc gcgccgccgt gtatcgcccc gccctgggcg gcaaggctgg cccggtcggc 6000

accagttgcg tgagcggaaa gatggccgct tcccggccct gctgcaggga gctcaaaatg 6060

gaggacgcgg cgctcgggag agcgggcggg tgagtcaccc acacaaagga aaagggcctt 6120

tccgtcctca gccgtcgctt catgtgactc cacggagtac cgggcgccgt ccaggcacct 6180

cgattagttc tcgagctttt ggagtacgtc gtctttaggt tgggggggagg ggttttatgc 6240

gatggagttt ccccacactg agtgggtgga gactgaagtt aggccagctt ggcacttgat 6300

gtaattctcc ttggaatttg ccctttttga gtttggatct tggttcattc tcaagcctca 6360

gacagtggtt caaagttttt ttcttccatt tcaggtgtcg tgaggaattc tctagagatc 6420

cctcgacctc gagatccatt gtgcccgggc gcaccatgga catgcgcgtg cccgcccagc 6480

tgctgggcct gctgctgctg tggttccccg gctcgcgatg c 6521

<210> 238
<211> 6513
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polynucleotide

<400> 238
caacccaagg ctgccccctc ggtcactctg ttcccgccct cctctgagga gcttcaagcc 60

aacaaggcca cactggtgtg tctcataagt gacttctacc cgggagccgt gacagtggcc 120

tggaaggcag atagcagccc cgtcaaggcg ggagtggaga ccaccacacc ctccaaacaa 180

agcaacaaca agtacgcggc cagcagctac ctgagcctga cgcctgagca gtggaagtcc 240

cacagaagct acagctgcca ggtcacgcat gaagggagca ccgtggagaa gacagtggcc 300

cctacagaat gttcatgagc ggccgctcga ggccggcaag gccggatccc ccgacctcga 360

cctctggcta ataaaggaaa tttattttca ttgcaatagt gtgttggaat tttttgtgtc 420

tctcactcgg aaggacatat gggagggcaa atcatttggt cgagatccct cggagatctc 480

tagctagagg atcgatcccc gccccggacg aactaaacct gactacgaca tctctgcccc 540

ttcttcgcgg ggcagtgcat gtaatccctt cagttggttg gtacaacttg ccaactgggc 600

cctgttccac atgtgacacg gggggggacc aaacacaaag gggttctctg actgtagttg 660

acatccttat aaatggatgt gcacatttgc caacactgag tggctttcat cctggagcag 720

actttgcagt ctgtggactg caacacaaca ttgcctttat gtgtaactct tggctgaagc 780

tcttacacca atgctggggg acatgtacct cccaggggcc caggaagact acgggaggct 840

acaccaacgt caatcagagg ggcctgtgta gctaccgata agcggaccct caagagggca 900

ttagcaatag tgtttataag gcccccttgt taaccctaaa cgggtagcat atgcttcccg 960

ggtagtagta tatactatcc agactaaccc taattcaata gcatatgtta cccaacggga 1020

agcatatgct atcgaattag ggttagtaaa agggtcctaa ggaacagcga tatctcccac 1080

cccatgagct gtcacggttt tatttacatg gggtcaggat tccacgaggg tagtgaacca 1140

ttttagtcac aagggcagtg gctgaagatc aaggagcggg cagtgaactc tcctgaatct 1200

tcgcctgctt cttcattctc cttcgtttag ctaatagaat aactgctgag ttgtgaacag 1260

taaggtgtat gtgaggtgct cgaaaacaag gtttcaggtg acgcccccag aataaaattt 1320

ggacgggggg ttcagtggtg gcattgtgct atgacaccaa tataaccctc acaaacccct 1380

tgggcaataa atactagtgt aggaatgaaa cattctgaat atctttaaca atagaaatcc 1440

atggggtggg gacaagccgt aaagactgga tgtccatctc acacgaattt atggctatgg 1500

gcaacacata atcctagtgc aatatgatac tggggttatt aagatgtgtc ccaggcaggg 1560

accaagacag gtgaaccatg ttgttacact ctatttgtaa caaggggaaa gagagtggac 1620

gccgacagca gcggactcca ctggttgtct ctaacacccc cgaaaattaa acggggctcc 1680

acgccaatgg ggcccataaa caaagacaag tggccactct ttttttttgaa attgtggagt 1740

gggggcacgc gtcagccccc acacgccgcc ctgcggtttt ggactgtaaa ataagggtgt 1800

aataacttgg ctgattgtaa ccccgctaac cactgcggtc aaaccacttg cccacaaaac 1860

cactaatggc accccgggga atacctgcat aagtaggtgg gcgggccaag ataggggcgc 1920

gattgctgcg atctggagga caaattacac acacttgcgc ctgagcgcca agcacagggt 1980

tgttggtcct catattcacg aggtcgctga gagcacggtg ggctaatgtt gccatgggta 2040

gcatatacta cccaaatatc tggatagcat atgctatcct aatctatatc tgggtagcat 2100

aggctatcct aatctatatc tgggtagcat atgctatcct aatctatatc tgggtagtat 2160

atgctatcct aatttatatc tgggtagcat aggctatcct aatctatatc tgggtagcat 2220

atgctatcct aatctatatc tgggtagtat atgctatcct aatctgtatc cgggtagcat 2280

atgctatcct aatagagatt agggtagtat atgctatcct aatttatatc tgggtagcat 2340

atactaccca aatatctgga tagcatatgc tatcctaatc tatatctggg tagcatatgc 2400

tatcctaatc tatatctggg tagcataggc tatcctaatc tatatctggg tagcatatgc 2460

tatcctaatc tatatctggg tagtatatgc tatcctaatt tatatctggg tagcataggc 2520

tatcctaatc tatatctggg tagcatatgc tatcctaatc tatatctggg tagtatatgc 2580

tatcctaatc tgtatccggg tagcatatgc tatcctcatg ataagctgtc aaacatgaga 2640

attttcttga agacgaaagg gcctcgtgat acgcctattt ttataggtta atgtcatgat 2700

aataatggtt tcttagacgt caggtggcac ttttcgggga aatgtgcgcg gaacccctat 2760

ttgtttattt ttctaaatac attcaaatat gtatccgctc atgagacaat aaccctgata 2820

aatgcttcaa taatattgaa aaaggaagag tatgagtatt caacatttcc gtgtcgccct 2880

tattcccttt tttgcggcat tttgccttcc tgtttttgct cacccagaaa cgctggtgaa 2940

agtaaaagat gctgaagatc agttgggtgc acgagtgggt tacatcgaac tggatctcaa 3000

cagcggtaag atccttgaga gttttcgccc cgaagaacgt tttccaatga tgagcacttt 3060

taaagttctg ctatgtggcg cggtattatc ccgtgttgac gccgggcaag agcaactcgg 3120

tcgccgcata cactattctc agaatgactt ggttgagtac tcaccagtca cagaaaagca 3180

tcttacggat ggcatgacag taagagaatt atgcagtgct gccataacca tgagtgataa 3240

cactgcggcc aacttacttc tgacaacgat cggaggaccg aaggagctaa ccgcttttttt 3300

gcacaacatg ggggatcatg taactcgcct tgatcgttgg gaaccggagc tgaatgaagc 3360

cataccaaac gacgagcgtg acaccacgat gcctgcagca atggcaacaa cgttgcgcaa 3420

actattaact ggcgaactac ttactctagc ttcccggcaa caattaatag actggatgga 3480

ggcggataaa gttgcaggac cacttctgcg ctcggccctt ccggctggct ggtttattgc 3540

tgataaatct ggagccggtg agcgtgggtc tcgcggtatc attgcagcac tggggccaga 3600

tggtaagccc tcccgtatcg tagttatcta cacgacgggg agtcaggcaa ctatggatga 3660

acgaaataga cagatcgctg agataggtgc ctcactgatt aagcattggt aactgtcaga 3720

ccaagtttac tcatatatac tttagattga tttaaaactt catttttaat ttaaaaggat 3780

ctaggtgaag atccttttttg ataatctcat gaccaaaatc ccttaacgtg agttttcgtt 3840

ccactgagcg tcagaccccg tagaaaagat caaaggatct tcttgagatc ctttttttct 3900

gcgcgtaatc tgctgcttgc aaacaaaaaa accaccgcta ccagcggtgg tttgtttgcc 3960

ggatcaagag ctaccaactc tttttccgaa ggtaactggc ttcagcagag cgcagatacc 4020

aaatactgtt cttctagtgt agccgtagtt aggccaccac ttcaagaact ctgtagcacc 4080

gcctacatac ctcgctctgc taatcctgtt accagtggct gctgccagtg gcgataagtc 4140

gtgtcttacc gggttggact caagacgata gttaccggat aaggcgcagc ggtcgggctg 4200

aacgggggt tcgtgcacac agcccagctt ggagcgaacg acctacaccg aactgagata 4260

cctacagcgt gagctatgag aaagcgccac gcttcccgaa gggagaaagg cggacaggta 4320

tccggtaagc ggcagggtcg gaacaggaga gcgcacgagg gagcttccag ggggaaacgc 4380

ctggtatctt tatagtcctg tcgggtttcg ccacctctga cttgagcgtc gatttttgtg 4440

atgctcgtca ggggggcgga gcctatggaa aaacgccagc aacgcggcct ttttacggtt 4500

cctggccttt tgctggcctt ttgctcacat gttctttcct gcgttatccc ctgattctgt 4560

ggataaccgt attaccgcct ttgagtgagc tgataccgct cgccgcagcc gaacgaccga 4620

gcgcagcgag tcagtgagcg aggaagcgga agagcgccca atacgcaaac cgcctctccc 4680

cgcgcgttgg ccgattcatt aatgcagctg gcacgacagg tttcccgact ggaaagcggg 4740

cagtgagcgc aacgcaatta atgtgagtta gctcactcat taggcacccc aggctttaca 4800

ctttatgctt ccggctcgta tgttgtgtgg aattgtgagc ggataacaat ttcacacagg 4860

aaacagctat gaccatgatt acgccaagct ctagctagag gtcgagtccc tccccagcag 4920

gcagaagtat gcaaagcatg catctcaatt agtcagcaac catagtcccg cccctaactc 4980

cgcccatccc gcccctaact ccgcccagtt ccgcccattc tccgccccat ggctgactaa 5040

ttttttttat ttatgcagag gccgaggccg cctcggcctc tgagctattc cagaagtagt 5100

gaggaggctt ttttggaggc ctaggctttt gcaaaaagct ttgcaaagat ggataaagtt 5160

ttaaacagag aggaatcttt gcagctaatg gaccttctag gtcttgaaag gagtgggaat 5220

tggctccggt gcccgtcagt gggcagagcg cacatcgccc acagtccccg agaagttggg 5280

gggaggggtc ggcaattgaa ccggtgccta gagaaggtgg cgcggggtaa actgggaaag 5340

tgatgtcgtg tactggctcc gccttttttcc cgagggtggg ggagaaccgt atataagtgc 5400

agtagtcgcc gtgaacgttc tttttcgcaa cgggtttgcc gccagaacac aggtaagtgc 5460

cgtgtgtggt tcccgcgggc ctggcctctt tacgggttat ggcccttgcg tgccttgaat 5520

tacttccacc tggctgcagt acgtgattct tgatcccgag cttcgggttg gaagtgggtg 5580

ggagagttcg aggccttgcg cttaaggagc cccttcgcct cgtgcttgag ttgaggcctg 5640

gcctgggcgc tggggccgcc gcgtgcgaat ctggtggcac cttcgcgcct gtctcgctgc 5700

tttcgataag tctctagcca tttaaaattt ttgatgacct gctgcgacgc tttttttctg 5760

gcaagatagt cttgtaaatg cgggccaaga tctgcacact ggtatttcgg tttttggggc 5820

cgcgggcggc gacggggccc gtgcgtccca gcgcacatgt tcggcgaggc ggggcctgcg 5880

agcgcggcca ccgagaatcg gacgggggta gtctcaagct ggccggcctg ctctggtgcc 5940

tggcctcgcg ccgccgtgta tcgccccgcc ctgggcggca aggctggccc ggtcggcacc 6000

agttgcgtga gcggaaagat ggccgcttcc cggccctgct gcagggagct caaaatggag 6060

gacgcggcgc tcgggagagc gggcgggtga gtcacccaca caaaggaaaa gggcctttcc 6120

gtcctcagcc gtcgcttcat gtgactccac ggagtaccgg gcgccgtcca ggcacctcga 6180

ttagttctcg agcttttgga gtacgtcgtc tttaggttgg ggggaggggt tttatgcgat 6240

ggagtttccc cacactgagt gggtggagac tgaagttagg ccagcttggc acttgatgta 6300

attctccttg gaatttgccc tttttgagtt tggatcttgg ttcattctca agcctcagac 6360

agtggttcaa agtttttttc ttccatttca ggtgtcgtga ggaattctct agagatccct 6420

cgacctcgag atccattgtg cccgggcgcc accatgactt ggaccccact cctcttcctc 6480

accctcctcc tccactgcac aggaagctta tcg 6513

<210> 239
<211> 6515
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polynucleotide

<400> 239
acggtggctg caccatctgt cttcatcttc ccgccatctg atgagcagtt gaaatctgga 60

actgcctctg ttgtgtgcct gctgaataac ttctatccca gagaggccaa agtacagtgg 120

aaggtggata acgccctcca atcgggtaac tcccaggaga gtgtcacaga gcaggacagc 180

aaggacagca cctacagcct cagcagcacc ctgacgctga gcaaagcaga ctacgagaaa 240

cacaaagtct acgcctgcga agtcacccat cagggcctga gctcgcccgt cacaaagagc 300

ttcaacaggg gagagtgttg agcggccgct cgaggccggc aaggccggat cccccgacct 360

cgacctctgg ctaataaagg aaatttattt tcattgcaat agtgtgttgg aatttttttgt 420

gtctctcact cggaaggaca tatgggaggg caaatcattt ggtcgagatc cctcggagat 480

ctctagctag aggatcgatc cccgccccgg acgaactaaa cctgactacg acatctctgc 540

cccttcttcg cggggcagtg catgtaatcc cttcagttgg ttggtacaac ttgccaactg 600

ggccctgttc cacatgtgac acgggggggg accaaacaca aaggggttct ctgactgtag 660

ttgacatcct tataaatgga tgtgcacatt tgccaacact gagtggcttt catcctggag 720

cagactttgc agtctgtgga ctgcaacaca acattgcctt tatgtgtaac tcttggctga 780

agctcttaca ccaatgctgg gggacatgta cctcccaggg gcccaggaag actacgggag 840

gctacaccaa cgtcaatcag aggggcctgt gtagctaccg ataagcggac cctcaagagg 900

gcattagcaa tagtgtttat aaggcccccc tgttaaccct aaacgggtag catatgcttc 960

ccgggtagta gtatatacta tccagactaa ccctaattca atagcatatg ttacccaacg 1020

ggaagcatat gctatcgaat tagggttagt aaaagggtcc taaggaacag cgatatctcc 1080

caccccatga gctgtcacgg ttttatttac atggggtcag gattccacga gggtagtgaa 1140

ccattttagt cacaagggca gtggctgaag atcaaggagc gggcagtgaa ctctcctgaa 1200

tcttcgcctg cttcttcatt ctccttcgtt tagctaatag aataactgct gagttgtgaa 1260

cagtaaggtg tatgtgaggt gctcgaaaac aaggtttcag gtgacgcccc cagaataaaa 1320

tttggacggg gggttcagtg gtggcattgt gctatgacac caatataacc ctcacaaacc 1380

ccttgggcaa taaatactag tgtaggaatg aaacattctg aatatcttta acaatagaaa 1440

tccatggggt ggggacaagc cgtaaagact ggatgtccat ctcacacgaa tttatggcta 1500

tgggcaacac ataatcctag tgcaatatga tactggggtt attaagatgt gtcccaggca 1560

gggaccaaga caggtgaacc atgttgttac actctatttg taacaagggg aaagagagtg 1620

gacgccgaca gcagcggact ccactggttg tctctaacac ccccgaaaat taaacggggc 1680

tccacgccaa tggggcccat aaacaaagac aagtggccac tctttttttt gaaattgtgg 1740

agtgggggca cgcgtcagcc cccacacgcc gccctgcggt tttggactgt aaaataaggg 1800

tgtaataact tggctgattg taaccccgct aaccactgcg gtcaaaccac ttgcccacaa 1860

aaccactaat ggcaccccgg ggaatacctg cataagtagg tgggcgggcc aagatagggg 1920

cgcgattgct gcgatctgga ggacaaatta cacacacttg cgcctgagcg ccaagcacag 1980

ggttgttggt cctcatattc acgaggtcgc tgagagcacg gtgggctaat gttgccatgg 2040

gtagcatata ctacccaaat atctggatag catatgctat cctaatctat atctgggtag 2100

cataggctat cctaatctat atctgggtag catatgctat cctaatctat atctgggtag 2160

tatatgctat cctaatttat atctgggtag cataggctat cctaatctat atctgggtag 2220

catatgctat cctaatctat atctgggtag tatatgctat cctaatctgt atccgggtag 2280

catatgctat cctaatagag attagggtag tatatgctat cctaatttat atctgggtag 2340

catatactac ccaaatatct ggatagcata tgctatccta atctatatct gggtagcata 2400

tgctatccta atctatatct gggtagcata ggctatccta atctatatct gggtagcata 2460

tgctatccta atctatatct gggtagtata tgctatccta atttatatct gggtagcata 2520

ggctatccta atctatatct gggtagcata tgctatccta atctatatct gggtagtata 2580

tgctatccta atctgtatcc gggtagcata tgctatcctc atgataagct gtcaaacatg 2640

agaattttct tgaagacgaa agggcctcgt gatacgccta tttttatagg ttaatgtcat 2700

gataataatg gtttcttaga cgtcaggtgg cacttttcgg ggaaatgtgc gcggaacccc 2760

tatttgttta tttttctaaa tacattcaaa tatgtatccg ctcatgagac aataaccctg 2820

ataaatgctt caataatatt gaaaaaggaa gagtatgagt attcaacatt tccgtgtcgc 2880

ccttattccc ttttttgcgg cattttgcct tcctgttttt gctcacccag aaacgctggt 2940

gaaagtaaaa gatgctgaag atcagttggg tgcacgagtg ggttacatcg aactggatct 3000

caacagcggt aagatccttg agagttttcg ccccgaagaa cgttttccaa tgatgagcac 3060

ttttaaagtt ctgctatgtg gcgcggtatt atcccgtgtt gacgccgggc aagagcaact 3120

cggtcgccgc atacactatt ctcagaatga cttggttgag tactcaccag tcacagaaaa 3180

gcatcttacg gatggcatga cagtaagaga attatgcagt gctgccataa ccatgagtga 3240

taacactgcg gccaacttac ttctgacaac gatcggagga ccgaaggagc taaccgcttt 3300

tttgcacaac atgggggatc atgtaactcg ccttgatcgt tgggaaccgg agctgaatga 3360

agccatacca aacgacgagc gtgacaccac gatgcctgca gcaatggcaa caacgttgcg 3420

caaactatta actggcgaac tacttactct agcttcccgg caacaattaa tagactggat 3480

ggaggcggat aaagttgcag gaccacttct gcgctcggcc cttccggctg gctggtttat 3540

tgctgataaa tctggagccg gtgagcgtgg gtctcgcggt atcattgcag cactggggcc 3600

agatggtaag ccctcccgta tcgtagttat ctacacgacg gggagtcagg caactatgga 3660

tgaacgaaat agacagatcg ctgagatagg tgcctcactg attaagcatt ggtaactgtc 3720

agaccaagtt tactcatata tactttagat tgatttaaaa cttcattttt aatttaaaag 3780

gatctaggtg aagatccttt ttgataatct catgaccaaa atcccttaac gtgagttttc 3840

gttccactga gcgtcagacc ccgtagaaaa gatcaaagga tcttcttgag atccttttttt 3900

tctgcgcgta atctgctgct tgcaaacaaa aaaaccaccg ctaccagcgg tggtttgttt 3960

gccggatcaa gagctaccaa ctctttttcc gaaggtaact ggcttcagca gagcgcagat 4020

accaaatact gttcttctag tgtagccgta gttaggccac cacttcaaga actctgtagc 4080

accgcctaca tacctcgctc tgctaatcct gttaccagtg gctgctgcca gtggcgataa 4140

gtcgtgtctt accgggttgg actcaagacg atagttaccg gataaggcgc agcggtcggg 4200

ctgaacgggg ggttcgtgca cacagcccag cttggagcga acgacctaca ccgaactgag 4260

atacctacag cgtgagctat gagaaagcgc cacgcttccc gaagggagaa aggcggacag 4320

gtatccggta agcggcaggg tcggaacagg agagcgcacg agggagcttc cagggggaaa 4380

cgcctggtat ctttatagtc ctgtcgggtt tcgccacctc tgacttgagc gtcgattttt 4440

gtgatgctcg tcaggggggc ggagcctatg gaaaaacgcc agcaacgcgg cctttttacg 4500

gttcctggcc ttttgctggc cttttgctca catgttcttt cctgcgttat cccctgattc 4560

tgtggataac cgtattaccg cctttgagtg agctgatacc gctcgccgca gccgaacgac 4620

cgagcgcagc gagtcagtga gcgaggaagc ggaagagcgc ccaatacgca aaccgcctct 4680

ccccgcgcgt tggccgattc attaatgcag ctggcacgac aggtttcccg actggaaagc 4740

gggcagtgag cgcaacgcaa ttaatgtgag ttagctcact cattaggcac cccaggcttt 4800

acactttatg cttccggctc gtatgttgtg tggaattgtg agcggataac aatttcacac 4860

aggaaacagc tatgaccatg attacgccaa gctctagcta gaggtcgagt ccctccccag 4920

caggcagaag tatgcaaagc atgcatctca attagtcagc aaccatagtc ccgcccctaa 4980

ctccgcccat cccgccccta actccgccca gttccgccca ttctccgccc catggctgac 5040

taatttttt tatttatgca gaggccgagg ccgcctcggc ctctgagcta ttccagaagt 5100

agtgaggagg ctttttgga ggcctaggct tttgcaaaaa gctttgcaaa gatggataaa 5160

gttttaaaca gagaggaatc tttgcagcta atggaccttc taggtcttga aaggagtggg 5220

aattggctcc ggtgcccgtc agtgggcaga gcgcacatcg cccacagtcc ccgagaagtt 5280

gggggggaggg gtcggcaatt gaaccggtgc ctagagaagg tggcgcgggg taaactggga 5340

aagtgatgtc gtgtactggc tccgcctttt tcccgagggt gggggagaac cgtatataag 5400

tgcagtagtc gccgtgaacg ttcttttttcg caacgggttt gccgccagaa cacaggtaag 5460

tgccgtgtgt ggttcccgcg ggcctggcct ctttacgggt tatggccctt gcgtgccttg 5520

aattacttcc acctggctgc agtacgtgat tcttgatccc gagcttcggg ttggaagtgg 5580

gtgggagagt tcgaggcctt gcgcttaagg agcccccttcg cctcgtgctt gagttgaggc 5640

ctggcctggg cgctggggcc gccgcgtgcg aatctggtgg caccttcgcg cctgtctcgc 5700

tgctttcgat aagtctctag ccatttaaaa tttttgatga cctgctgcga cgcttttttt 5760

ctggcaagat agtcttgtaa atgcgggcca agatctgcac actggtattt cggtttttgg 5820

ggccgcgggc ggcgacgggg cccgtgcgtc ccagcgcaca tgttcggcga ggcggggcct 5880

gcgagcgcgg ccaccgagaa tcggacgggg gtagtctcaa gctggccggc ctgctctggt 5940

gcctggcctc gcgccgccgt gtatcgcccc gccctgggcg gcaaggctgg cccggtcggc 6000

accagttgcg tgagcggaaa gatggccgct tcccggccct gctgcaggga gctcaaaatg 6060

gaggacgcgg cgctcgggag agcgggcggg tgagtcaccc acacaaagga aaagggcctt 6120

tccgtcctca gccgtcgctt catgtgactc cacggagtac cgggcgccgt ccaggcacct 6180

cgattagttc tcgagctttt ggagtacgtc gtctttaggt tgggggggagg ggttttatgc 6240

gatggagttt ccccacactg agtgggtgga gactgaagtt aggccagctt ggcacttgat 6300

gtaattctcc ttggaatttg ccctttttga gtttggatct tggttcattc tcaagcctca 6360

gacagtggtt caaagttttt ttcttccatt tcaggtgtcg tgaggaattc tctagagatc 6420

cctcgacctc gagatccatt gtgcccgggc gcaccatgac ttggacccca ctcctcttcc 6480

tcaccctcct cctccactgc acaggaagct tatcg 6515

<210> 240
<211> 6519
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polynucleotide

<400> 240
caacccaagg ctgccccctc ggtcactctg ttcccgccct cctctgagga gcttcaagcc 60

aacaaggcca cactggtgtg tctcataagt gacttctacc cgggagccgt gacagtggcc 120

tggaaggcag atagcagccc cgtcaaggcg ggagtggaga ccaccacacc ctccaaacaa 180

agcaacaaca agtacgcggc cagcagctac ctgagcctga cgcctgagca gtggaagtcc 240

cacagaagct acagctgcca ggtcacgcat gaagggagca ccgtggagaa gacagtggcc 300

cctacagaat gttcatgagc ggccgctcga ggccggcaag gccggatccc ccgacctcga 360

cctctggcta ataaaggaaa tttattttca ttgcaatagt gtgttggaat tttttgtgtc 420

tctcactcgg aaggacatat gggagggcaa atcatttggt cgagatccct cggagatctc 480

tagctagagg atcgatcccc gccccggacg aactaaacct gactacgaca tctctgcccc 540

ttcttcgcgg ggcagtgcat gtaatccctt cagttggttg gtacaacttg ccaactgggc 600

cctgttccac atgtgacacg gggggggacc aaacacaaag gggttctctg actgtagttg 660

acatccttat aaatggatgt gcacatttgc caacactgag tggctttcat cctggagcag 720

actttgcagt ctgtggactg caacacaaca ttgcctttat gtgtaactct tggctgaagc 780

tcttacacca atgctggggg acatgtacct cccaggggcc caggaagact acgggaggct 840

acaccaacgt caatcagagg ggcctgtgta gctaccgata agcggaccct caagagggca 900

ttagcaatag tgtttataag gcccccttgt taaccctaaa cgggtagcat atgcttcccg 960

ggtagtagta tatactatcc agactaaccc taattcaata gcatatgtta cccaacggga 1020

agcatatgct atcgaattag ggttagtaaa agggtcctaa ggaacagcga tatctcccac 1080

cccatgagct gtcacggttt tatttacatg gggtcaggat tccacgaggg tagtgaacca 1140

ttttagtcac aagggcagtg gctgaagatc aaggagcggg cagtgaactc tcctgaatct 1200

tcgcctgctt cttcattctc cttcgtttag ctaatagaat aactgctgag ttgtgaacag 1260

taaggtgtat gtgaggtgct cgaaaacaag gtttcaggtg acgcccccag aataaaattt 1320

ggacgggggg ttcagtggtg gcattgtgct atgacaccaa tataaccctc acaaacccct 1380

tgggcaataa atactagtgt aggaatgaaa cattctgaat atctttaaca atagaaatcc 1440

atggggtggg gacaagccgt aaagactgga tgtccatctc acacgaattt atggctatgg 1500

gcaacacata atcctagtgc aatatgatac tggggttatt aagatgtgtc ccaggcaggg 1560

accaagacag gtgaaccatg ttgttacact ctatttgtaa caaggggaaa gagagtggac 1620

gccgacagca gcggactcca ctggttgtct ctaacacccc cgaaaattaa acggggctcc 1680

acgccaatgg ggcccataaa caaagacaag tggccactct ttttttttgaa attgtggagt 1740

gggggcacgc gtcagccccc acacgccgcc ctgcggtttt ggactgtaaa ataagggtgt 1800

aataacttgg ctgattgtaa ccccgctaac cactgcggtc aaaccacttg cccacaaaac 1860

cactaatggc accccgggga atacctgcat aagtaggtgg gcgggccaag ataggggcgc 1920

gattgctgcg atctggagga caaattacac acacttgcgc ctgagcgcca agcacagggt 1980

tgttggtcct catattcacg aggtcgctga gagcacggtg ggctaatgtt gccatgggta 2040

gcatatacta cccaaatatc tggatagcat atgctatcct aatctatatc tgggtagcat 2100

aggctatcct aatctatatc tgggtagcat atgctatcct aatctatatc tgggtagtat 2160

atgctatcct aatttatatc tgggtagcat aggctatcct aatctatatc tgggtagcat 2220

atgctatcct aatctatatc tgggtagtat atgctatcct aatctgtatc cgggtagcat 2280

atgctatcct aatagagatt agggtagtat atgctatcct aatttatatc tgggtagcat 2340

atactaccca aatatctgga tagcatatgc tatcctaatc tatatctggg tagcatatgc 2400

tatcctaatc tatatctggg tagcataggc tatcctaatc tatatctggg tagcatatgc 2460

tatcctaatc tatatctggg tagtatatgc tatcctaatt tatatctggg tagcataggc 2520

tatcctaatc tatatctggg tagcatatgc tatcctaatc tatatctggg tagtatatgc 2580

tatcctaatc tgtatccggg tagcatatgc tatcctcatg ataagctgtc aaacatgaga 2640

attttcttga agacgaaagg gcctcgtgat acgcctattt ttataggtta atgtcatgat 2700

aataatggtt tcttagacgt caggtggcac ttttcgggga aatgtgcgcg gaacccctat 2760

ttgtttattt ttctaaatac attcaaatat gtatccgctc atgagacaat aaccctgata 2820

aatgcttcaa taatattgaa aaaggaagag tatgagtatt caacatttcc gtgtcgccct 2880

tattcccttt tttgcggcat tttgccttcc tgtttttgct cacccagaaa cgctggtgaa 2940

agtaaaagat gctgaagatc agttgggtgc acgagtgggt tacatcgaac tggatctcaa 3000

cagcggtaag atccttgaga gttttcgccc cgaagaacgt tttccaatga tgagcacttt 3060

taaagttctg ctatgtggcg cggtattatc ccgtgttgac gccgggcaag agcaactcgg 3120

tcgccgcata cactattctc agaatgactt ggttgagtac tcaccagtca cagaaaagca 3180

tcttacggat ggcatgacag taagagaatt atgcagtgct gccataacca tgagtgataa 3240

cactgcggcc aacttacttc tgacaacgat cggaggaccg aaggagctaa ccgcttttttt 3300

gcacaacatg ggggatcatg taactcgcct tgatcgttgg gaaccggagc tgaatgaagc 3360

cataccaaac gacgagcgtg acaccacgat gcctgcagca atggcaacaa cgttgcgcaa 3420

actattaact ggcgaactac ttactctagc ttcccggcaa caattaatag actggatgga 3480

ggcggataaa gttgcaggac cacttctgcg ctcggccctt ccggctggct ggtttattgc 3540

tgataaatct ggagccggtg agcgtgggtc tcgcggtatc attgcagcac tggggccaga 3600

tggtaagccc tcccgtatcg tagttatcta cacgacgggg agtcaggcaa ctatggatga 3660

acgaaataga cagatcgctg agataggtgc ctcactgatt aagcattggt aactgtcaga 3720

ccaagtttac tcatatatac tttagattga tttaaaactt catttttaat ttaaaaggat 3780

ctaggtgaag atccttttttg ataatctcat gaccaaaatc ccttaacgtg agttttcgtt 3840

ccactgagcg tcagaccccg tagaaaagat caaaggatct tcttgagatc ctttttttct 3900

gcgcgtaatc tgctgcttgc aaacaaaaaa accaccgcta ccagcggtgg tttgtttgcc 3960

ggatcaagag ctaccaactc tttttccgaa ggtaactggc ttcagcagag cgcagatacc 4020

aaatactgtt cttctagtgt agccgtagtt aggccaccac ttcaagaact ctgtagcacc 4080

gcctacatac ctcgctctgc taatcctgtt accagtggct gctgccagtg gcgataagtc 4140

gtgtcttacc gggttggact caagacgata gttaccggat aaggcgcagc ggtcgggctg 4200

aacgggggt tcgtgcacac agcccagctt ggagcgaacg acctacaccg aactgagata 4260

cctacagcgt gagctatgag aaagcgccac gcttcccgaa gggagaaagg cggacaggta 4320

tccggtaagc ggcagggtcg gaacaggaga gcgcacgagg gagcttccag ggggaaacgc 4380

ctggtatctt tatagtcctg tcgggtttcg ccacctctga cttgagcgtc gatttttgtg 4440

atgctcgtca ggggggcgga gcctatggaa aaacgccagc aacgcggcct ttttacggtt 4500

cctggccttt tgctggcctt ttgctcacat gttctttcct gcgttatccc ctgattctgt 4560

ggataaccgt attaccgcct ttgagtgagc tgataccgct cgccgcagcc gaacgaccga 4620

gcgcagcgag tcagtgagcg aggaagcgga agagcgccca atacgcaaac cgcctctccc 4680

cgcgcgttgg ccgattcatt aatgcagctg gcacgacagg tttcccgact ggaaagcggg 4740

cagtgagcgc aacgcaatta atgtgagtta gctcactcat taggcacccc aggctttaca 4800

ctttatgctt ccggctcgta tgttgtgtgg aattgtgagc ggataacaat ttcacacagg 4860

aaacagctat gaccatgatt acgccaagct ctagctagag gtcgagtccc tccccagcag 4920

gcagaagtat gcaaagcatg catctcaatt agtcagcaac catagtcccg cccctaactc 4980

cgcccatccc gcccctaact ccgcccagtt ccgcccattc tccgccccat ggctgactaa 5040

ttttttttat ttatgcagag gccgaggccg cctcggcctc tgagctattc cagaagtagt 5100

gaggaggctt ttttggaggc ctaggctttt gcaaaaagct ttgcaaagat ggataaagtt 5160

ttaaacagag aggaatcttt gcagctaatg gaccttctag gtcttgaaag gagtgggaat 5220

tggctccggt gcccgtcagt gggcagagcg cacatcgccc acagtccccg agaagttggg 5280

gggaggggtc ggcaattgaa ccggtgccta gagaaggtgg cgcggggtaa actgggaaag 5340

tgatgtcgtg tactggctcc gccttttttcc cgagggtggg ggagaaccgt atataagtgc 5400

agtagtcgcc gtgaacgttc tttttcgcaa cgggtttgcc gccagaacac aggtaagtgc 5460

cgtgtgtggt tcccgcgggc ctggcctctt tacgggttat ggcccttgcg tgccttgaat 5520

tacttccacc tggctgcagt acgtgattct tgatcccgag cttcgggttg gaagtgggtg 5580

ggagagttcg aggccttgcg cttaaggagc cccttcgcct cgtgcttgag ttgaggcctg 5640

gcctgggcgc tggggccgcc gcgtgcgaat ctggtggcac cttcgcgcct gtctcgctgc 5700

tttcgataag tctctagcca tttaaaattt ttgatgacct gctgcgacgc ttttttttctg 5760

gcaagatagt cttgtaaatg cgggccaaga tctgcacact ggtatttcgg tttttggggc 5820

cgcgggcggc gacggggccc gtgcgtccca gcgcacatgt tcggcgaggc ggggcctgcg 5880

agcgcggcca ccgagaatcg gacgggggta gtctcaagct ggccggcctg ctctggtgcc 5940

tggcctcgcg ccgccgtgta tcgccccgcc ctgggcggca aggctggccc ggtcggcacc 6000

agttgcgtga gcggaaagat ggccgcttcc cggccctgct gcagggagct caaaatggag 6060

gacgcggcgc tcgggagagc gggcgggtga gtcacccaca caaaggaaaa gggcctttcc 6120

gtcctcagcc gtcgcttcat gtgactccac ggagtaccgg gcgccgtcca ggcacctcga 6180

ttagttctcg agcttttgga gtacgtcgtc tttaggttgg ggggaggggt tttatgcgat 6240

ggagtttccc cacactgagt gggtggagac tgaagttagg ccagcttggc acttgatgta 6300

attctccttg gaatttgccc tttttgagtt tggatcttgg ttcattctca agcctcagac 6360

agtggttcaa agtttttttc ttccatttca ggtgtcgtga ggaattctct agagatccct 6420

cgacctcgag atccattgtg cccgggcgcc accatggaca tgcgcgtgcc cgcccagctg 6480

ctgggcctgc tgctgctgtg gttccccggc tcgcgatgc 6519

<210> 241
<211> 7185
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polynucleotide

<400> 241
gcgtcgacca agggcccatc ggtcttcccc ctggcaccct cctccaagag cacctctggg 60

ggcacagcgg ccctgggctg cctggtcaag gactacttcc ccgaaccggt gacggtgtcg 120

tggaactcag gcgccctgac cagcggcgtg cacaccttcc cggctgtcct acagtcctca 180

ggactctact ccctcagcag cgtggtgacc gtgccctcca gcagcttggg cacccagacc 240

tacatctgca acgtgaatca caagcccagc aacaccaagg tggacaagaa agttgagccc 300

aaatcttgtg acaaaactca cacatgccca ccgtgcccag cacctgaagc cgcggggga 360

ccgtcagtct tcctcttccc cccaaaaccc aaggacaccc tcatgatctc ccggaccct 420

gaggtcacat gcgtggtggt ggacgtgagc cacgaagacc ctgaggtcaa gttcaactgg 480

tacgtggacg gcgtggaggt gcataatgcc aagacaaagc cgcgggagga gcagtacaac 540

agcacgtacc gtgtggtcag cgtcctcacc gtcctgcacc aggactggct gaatggcaag 600

gagtacaagt gcaaggtctc caacaaagcc ctcccagccc ccatcgagaa aaccatctcc 660

aaagccaaag ggcagccccg agaaccacag gtgtacaccc tgcccccatc ccgcgaggag 720

atgaccaaga accaggtcag cctgacctgc ctggtcaaag gcttctatcc cagcgacatc 780

gccgtggagt gggagagcaa tgggcagccg gagaacaact acaagaccac gcctcccgtg 840

ctggactccg acggctcctt cttcctctac agcaagctca ccgtggacaa gagcaggtgg 900

cagcagggga acgtcttctc atgctccgtg atgcatgagg ctctgcacaa ccactacacg 960

cagaagagcc tctccctgtc tccgggtaaa tgagcggccg ctcgaggccg gcaaggccgg 1020

atcccccgac ctcgacctct ggctaataaa ggaaatttat tttcattgca atagtgtgtt 1080

ggaatttttt gtgtctctca ctcggaagga catatgggag ggcaaatcat ttggtcgaga 1140

tccctcggag atctctagct agaggatcga tccccgcccc ggacgaacta aacctgacta 1200

cgacatctct gccccttctt cgcggggcag tgcatgtaat cccttcagtt ggttggtaca 1260

acttgccaac tgggccctgt tccacatgtg acacgggggg ggaccaaaca caaaggggtt 1320

ctctgactgt agttgacatc cttataaatg gatgtgcaca tttgccaaca ctgagtggct 1380

ttcatcctgg agcagacttt gcagtctgtg gactgcaaca caacattgcc tttatgtgta 1440

actcttggct gaagctctta caccaatgct gggggacatg tacctcccag gggcccagga 1500

agactacggg aggctacacc aacgtcaatc agaggggcct gtgtagctac cgataagcgg 1560

accctcaaga gggcattagc aatagtgttt ataaggcccc cttgttaacc ctaaacgggt 1620

agcatatgct tcccgggtag tagtatatac tatccagact aaccctaatt caatagcata 1680

tgttacccaa cgggaagcat atgctatcga attagggtta gtaaaagggt cctaaggaac 1740

agcgatatct cccaccccat gagctgtcac ggttttattt acatggggtc aggattccac 1800

gagggtagtg aaccatttta gtcacaaggg cagtggctga agatcaagga gcgggcagtg 1860

aactctcctg aatcttcgcc tgcttcttca ttctccttcg tttagctaat agaataactg 1920

ctgagttgtg aacagtaagg tgtatgtgag gtgctcgaaa acaaggtttc aggtgacgcc 1980

cccagaataa aatttggacg gggggttcag tggtggcatt gtgctatgac accaatataa 2040

ccctcacaaa ccccttgggc aataaatact agtgtaggaa tgaaacattc tgaatatctt 2100

taacaataga aatccatggg gtggggacaa gccgtaaaga ctggatgtcc atctcacacg 2160

aatttatggc tatgggcaac acataatcct agtgcaatat gatactgggg ttattaagat 2220

gtgtcccagg cagggaccaa gacaggtgaa ccatgttgtt acactctatt tgtaacaagg 2280

ggaaagagag tggacgccga cagcagcgga ctccactggt tgtctctaac acccccgaaa 2340

attaaacggg gctccacgcc aatggggccc ataaacaaag acaagtggcc actcttttt 2400

ttgaaattgt ggagtggggg cacgcgtcag cccccacacg ccgccctgcg gttttggact 2460

gtaaaataag ggtgtaataa cttggctgat tgtaaccccg ctaaccactg cggtcaaacc 2520

acttgcccac aaaaccacta atggcacccc ggggaatacc tgcataagta ggtgggcggg 2580

ccaagatagg ggcgcgattg ctgcgatctg gaggacaaat tacacacact tgcgcctgag 2640

cgccaagcac agggttgttg gtcctcatat tcacgaggtc gctgagagca cggtgggcta 2700

atgttgccat gggtagcata tactacccaa atatctggat agcatatgct atcctaatct 2760

atatctgggt agcataggct atcctaatct atatctgggt agcatatgct atcctaatct 2820

atatctgggt agtatatgct atcctaattt atatctgggt agcataggct atcctaatct 2880

atatctgggt agcatatgct atcctaatct atatctgggt agtatatgct atcctaatct 2940

gtatccgggt agcatatgct atcctaatag agattagggt agtatatgct atcctaattt 3000

atatctgggt agcatatact acccaaatat ctggatagca tatgctatcc taatctatat 3060

ctgggtagca tatgctatcc taatctatat ctgggtagca taggctatcc taatctatat 3120

ctgggtagca tatgctatcc taatctatat ctgggtagta tatgctatcc taatttatat 3180

ctgggtagca taggctatcc taatctatat ctgggtagca tatgctatcc taatctatat 3240

ctgggtagta tatgctatcc taatctgtat ccgggtagca tatgctatcc tcatgataag 3300

ctgtcaaaca tgagaatttt cttgaagacg aaagggcctc gtgatacgcc tatttttata 3360

ggttaatgtc atgataataa tggtttctta gacgtcaggt ggcacttttc ggggaaatgt 3420

gcgcggaacc cctatttgtt tatttttcta aatacattca aatatgtatc cgctcatgag 3480

acaataaccc tgataaatgc ttcaataata ttgaaaaagg aagagtatga gtattcaaca 3540

tttccgtgtc gcccttattc cctttttgc ggcattttgc cttcctgttt ttgctcaccc 3600

agaaacgctg gtgaaagtaa aagatgctga agatcagttg ggtgcacgag tgggttacat 3660

cgaactggat ctcaacagcg gtaagatcct tgagagtttt cgccccgaag aacgttttcc 3720

aatgatgagc acttttaaag ttctgctatg tggcgcggta ttatcccgtg ttgacgccgg 3780

gcaagagcaa ctcggtcgcc gcatacacta ttctcagaat gacttggttg agtactcacc 3840

agtcacagaa aagcatctta cggatggcat gacagtaaga gaattatgca gtgctgccat 3900

aaccatgagt gataacactg cggccaactt acttctgaca acgatcggag gaccgaagga 3960

gctaaccgct tttttgcaca acatggggga tcatgtaact cgccttgatc gttgggaacc 4020

ggagctgaat gaagccatac caaacgacga gcgtgacacc acgatgcctg cagcaatggc 4080

aacaacgttg cgcaaactat taactggcga actacttact ctagcttccc ggcaacaatt 4140

aatagactgg atggaggcgg ataaagttgc aggaccactt ctgcgctcgg cccttccggc 4200

tggctggttt attgctgata aatctggagc cggtgagcgt gggtctcgcg gtatcattgc 4260

agcactgggg ccagatggta agccctcccg tatcgtagtt atctacacga cggggagtca 4320

ggcaactatg gatgaacgaa atagacagat cgctgagata ggtgcctcac tgattaagca 4380

ttggtaactg tcagaccaag tttactcata tatactttag attgatttaa aacttcattt 4440

ttaatttaaa aggatctagg tgaagatcct ttttgataat ctcatgacca aaatccctta 4500

acgtgagttt tcgttccact gagcgtcaga ccccgtagaa aagatcaaag gatcttcttg 4560

agatccttttt tttctgcgcg taatctgctg cttgcaaaca aaaaaaccac cgctaccagc 4620

ggtggtttgt ttgccggatc aagagctacc aactcttttt ccgaaggtaa ctggcttcag 4680

cagagcgcag ataccaaata ctgttcttct agtgtagccg tagttaggcc accacttcaa 4740

gaactctgta gcaccgccta catacctcgc tctgctaatc ctgttaccag tggctgctgc 4800

cagtggcgat aagtcgtgtc ttaccgggtt ggactcaaga cgatagttac cggataaggc 4860

gcagcggtcg ggctgaacgg ggggttcgtg cacacagccc agcttggagc gaacgaccta 4920

caccgaactg agatacctac agcgtgagct atgagaaagc gccacgcttc ccgaagggag 4980

aaaggcggac aggtatccgg taagcggcag ggtcggaaca ggagagcgca cgagggagct 5040

tccaggggga aacgcctggt atctttatag tcctgtcggg tttcgccacc tctgacttga 5100

gcgtcgattt ttgtgatgct cgtcaggggg gcggagccta tggaaaaacg ccagcaacgc 5160

ggccttttta cggttcctgg ccttttgctg gccttttgct cacatgttct ttcctgcgtt 5220

atcccctgat tctgtggata accgtattac cgcctttgag tgagctgata ccgctcgccg 5280

cagccgaacg accgagcgca gcgagtcagt gagcgaggaa gcggaagagc gcccaatacg 5340

caaaccgcct ctccccgcgc gttggccgat tcattaatgc agctggcacg acaggtttcc 5400

cgactggaaa gcgggcagtg agcgcaacgc aattaatgtg agttagctca ctcattaggc 5460

accccaggct ttacacttta tgcttccggc tcgtatgttg tgtggaattg tgagcggata 5520

acaatttcac acaggaaaca gctatgacca tgattacgcc aagctctagc tagaggtcga 5580

gtccctcccc agcaggcaga agtatgcaaa gcatgcatct caattagtca gcaaccatag 5640

tcccgcccct aactccgccc atcccgcccc taactccgcc cagttccgcc cattctccgc 5700

cccatggctg actaattttt tttatttatg cagaggccga ggccgcctcg gcctctgagc 5760

tattccagaa gtagtgagga ggcttttttg gaggcctagg cttttgcaaa aagctttgca 5820

aagatggata aagttttaaa cagagaggaa tctttgcagc taatggacct tctaggtctt 5880

gaaaggagtg ggaattggct ccggtgcccg tcagtgggca gagcgcacat cgcccacagt 5940

ccccgagaag ttgggggggag gggtcggcaa ttgaaccggt gcctagagaa ggtggcgcgg 6000

ggtaaactgg gaaagtgatg tcgtgtactg gctccgcctt tttcccgagg gtgggggaga 6060

accgtatata agtgcagtag tcgccgtgaa cgttcttttt cgcaacgggt ttgccgccag 6120

aacacaggta agtgccgtgt gtggttcccg cgggcctggc ctctttacgg gttatggccc 6180

ttgcgtgcct tgaattactt ccacctggct gcagtacgtg attcttgatc ccgagcttcg 6240

ggttggaagt gggtgggaga gttcgaggcc ttgcgcttaa ggagcccctt cgcctcgtgc 6300

ttgagttgag gcctggcctg ggcgctgggg ccgccgcgtg cgaatctggt ggcaccttcg 6360

cgcctgtctc gctgctttcg ataagtctct agccatttaa aatttttgat gacctgctgc 6420

gacgcttttt ttctggcaag atagtcttgt aaatgcgggc caagatctgc acactggtat 6480

ttcggttttt ggggccgcgg gcggcgacgg ggcccgtgcg tcccagcgca catgttcggc 6540

gaggcggggc ctgcgagcgc ggccaccgag aatcggacgg gggtagtctc aagctggccg 6600

gcctgctctg gtgcctggcc tcgcgccgcc gtgtatcgcc ccgccctggg cggcaaggct 6660

ggcccggtcg gcaccagttg cgtgagcgga aagatggccg cttcccggcc ctgctgcagg 6720

gagctcaaaa tggaggacgc ggcgctcggg agagcgggcg ggtgagtcac ccacacaaag 6780

gaaaagggcc tttccgtcct cagccgtcgc ttcatgtgac tccacggagt accgggcgcc 6840

gtccaggcac ctcgattagt tctcgagctt ttggagtacg tcgtctttag gttgggggga 6900

ggggttttat gcgatggagt ttccccacac tgagtgggtg gagactgaag ttaggccagc 6960

ttggcacttg atgtaattct ccttggaatt tgccctttt gagtttggat cttggttcat 7020

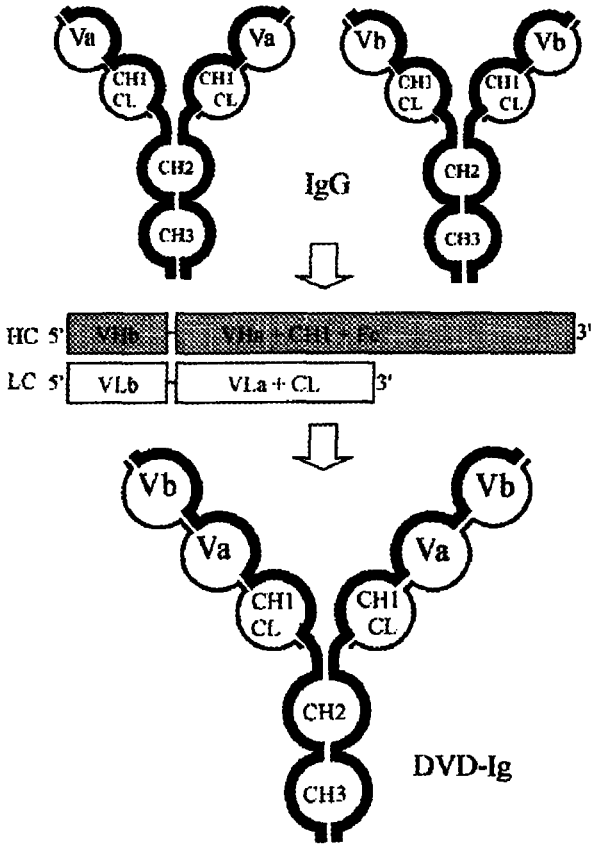
tctcaagcct cagacagtgg ttcaaagttt ttttcttcca tttcaggtgt cgtgaggaat 7080

tctctagaga tccctcgacc tcgagatcca ttgtgcccgg gcgccaccat ggagtttggg 7140

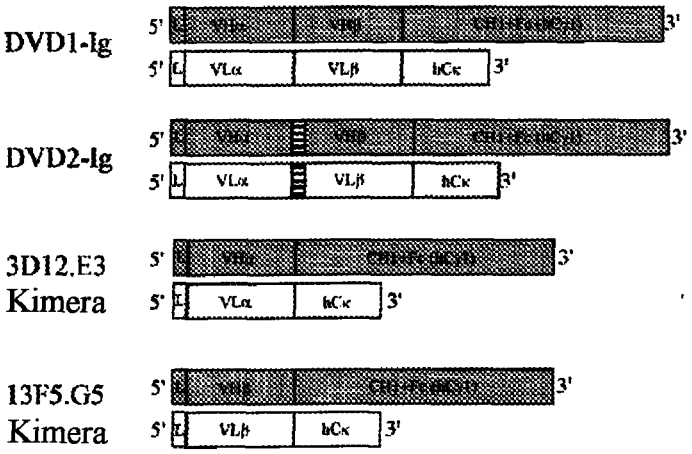
ctgagctggc tttttcttgt cgcgatttta aaaggtgtcc agtgc 7185

Figur 1

A


Va
Va
CH1
CL
CH1
CL
CH2
CH3
IgG
Vb
Vb
CH1
CL
CH1
CL
CH2
CH3
HC 5'
VHb
VHa + CH1 + Fc
3'
LC 5'
VLb
VLa + CL
3'
Vb
Va
Vb
Va
CH1
CL
CH1
CL
CH2
CH3
DVD-Ig

B


DVD1-Ig
5'
3'
5'
VLα
VLβ
hCκ
3'
DVD2-Ig
5'
3'
5'
VLα
VLβ
hCκ
3'
3D12.E3
Kimera
5'
3'
5'
VLα
hCκ
3'
13F5.G5
Kimera
5'
3'
5'
VLβ
hCκ
3'