



(19) 대한민국특허청(KR)

(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2025년01월02일

(11) 등록번호 10-2749049

(24) 등록일자 2024년12월26일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07K 16/28 (2006.01) A61K 39/00 (2006.01)
C07K 16/30 (2006.01)

(52) CPC특허분류
C07K 16/2809 (2013.01)
C07K 16/2815 (2013.01)

(21) 출원번호 10-2018-7006488

(22) 출원일자(국제) 2016년08월04일

심사청구일자 2021년08월03일

(85) 번역문제출일자 2018년03월06일

(65) 공개번호 10-2018-0050321

(43) 공개일자 2018년05월14일

(86) 국제출원번호 PCT/US2016/045580

(87) 국제공개번호 WO 2017/027325

국제공개일자 2017년02월16일

(30) 우선권주장

62/202,665 2015년08월07일 미국(US)

(56) 선행기술조사문헌

US20130323236 A1

US20140286951 A1

(73) 특허권자

이미지넵 인코포레이티드

미국, 캘리포니아 90301, 인글우드, 유닛 디, 423
힌드리 애비뉴

(72) 발명자

찬, 치오, 무이

미국, 캘리포니아 90301, 인글우드, 유닛 디, 423
힌드리 애비뉴

구다스, 진

미국, 캘리포니아 90301, 인글우드, 유닛 디, 423
힌드리 애비뉴

(뒷면에 계속)

(74) 대리인

이명진

전체 청구항 수 : 총 15 항

심사관 : 윤소라

(54) 발명의 명칭 분자를 표적화하기 위한 항원 결합 구조체

(57) 요약

목적하는 표적에 결합하는 항원 결합 구조체가 개시되어 있다. 예를 들어, 표적 분자에 결합하고 본원에 개시된 하나 이상의 힌지를 갖는 항체 단편(예를 들어, scFv 및 미니바디)을 포함하는 항체가 본원에 개시되어 있다. 사용 방법이 본원에 개시되어 있다.

대표도

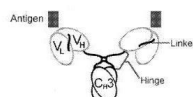
M1 orientation

S	V _L	L	V _H	H	C _H 3
---	----------------	---	----------------	---	------------------

M2 orientation

S	V _H	L	V _L	H	C _H 3
---	----------------	---	----------------	---	------------------

S = signal peptide
V_H = heavy chain of variable domain
L = linker
V_L = light chain of variable domain
H = hinge
C_H3 = C_H3 domain



(52) CPC특허분류

C07K 16/30 (2013.01)

C07K 16/3069 (2013.01)

A61K 2039/505 (2013.01)

C07K 2317/53 (2013.01)

C07K 2317/622 (2013.01)

(72) 발명자

올라프센, 토브

미국, 캘리포니아 90301, 인글우드, 유닛 디, 423
힌드리 애비뉴

사트파예프, 다울렛, 카딜

미국, 캘리포니아 90301, 인글우드, 유닛 디, 423
힌드리 애비뉴

토고브, 마이클, 유리

미국, 캘리포니아 90301, 인글우드, 유닛 디, 423
힌드리 애비뉴

명세서

청구범위

청구항 1

삭제

청구항 2

삭제

청구항 3

삭제

청구항 4

삭제

청구항 5

삭제

청구항 6

삭제

청구항 7

삭제

청구항 8

삭제

청구항 9

삭제

청구항 10

삭제

청구항 11

삭제

청구항 12

삭제

청구항 13

삭제

청구항 14

삭제

청구항 15

삭제

청구항 16

삭제

청구항 17

삭제

청구항 18

삭제

청구항 19

삭제

청구항 20

삭제

청구항 21

삭제

청구항 22

삭제

청구항 23

삭제

청구항 24

삭제

청구항 25

삭제

청구항 26

삭제

청구항 27

삭제

청구항 28

삭제

청구항 29

삭제

청구항 30

삭제

청구항 31

삭제

청구항 32

삭제

청구항 33

삭제

청구항 34

삭제

청구항 35

삭제

청구항 36

삭제

청구항 37

삭제

청구항 38

삭제

청구항 39

삭제

청구항 40

삭제

청구항 41

삭제

청구항 42

삭제

청구항 43

삭제

청구항 44

삭제

청구항 45

삭제

청구항 46

삭제

청구항 47

삭제

청구항 48

삭제

청구항 49

삭제

청구항 50

삭제

청구항 51

삭제

청구항 52

삭제

청구항 53

삭제

청구항 54

삭제

청구항 55

삭제

청구항 56

삭제

청구항 57

삭제

청구항 58

삭제

청구항 59

삭제

청구항 60

삭제

청구항 61

삭제

청구항 62

삭제

청구항 63

삭제

청구항 64

삭제

청구항 65

삭제

청구항 66

삭제

청구항 67

삭제

청구항 68

삭제

청구항 69

삭제

청구항 70

삭제

청구항 71

삭제

청구항 72

삭제

청구항 73

삭제

청구항 74

삭제

청구항 75

삭제

청구항 76

삭제

청구항 77

삭제

청구항 78

삭제

청구항 79

삭제

청구항 80

삭제

청구항 81

삭제

청구항 82

삭제

청구항 83

삭제

청구항 84

삭제

청구항 85

삭제

청구항 86

EPKSSDKTHTCPPCPPC(서열번호 168) 또는 EPKSSDKTHTCPPCPPC (서열번호 170)를 포함하는 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드로서,

상기 폴리펩티드는 scFv와 C_H3을 연결하는 인공적인 힌지를 포함하는 미니바디 내에 있고,

상기 인공적인 힌지는 상기 아미노산 서열 및 상기 아미노산 서열의 바로 C-말단에 있는 연장 서열 또는 하부 힌지 영역을 포함하고,

상기 EPKSSDKTHTCPPCPPC(서열번호 168) 또는 EPKSSDKTHTCPPCPPC (서열번호 170)의 아미노산 서열 내의 시스테인 외에 힌지 영역에는 시스테인이 존재하지 않고,

상기 미니바디는 천연 힌지를 포함하지 않는 것을 특징으로 하는, 폴리펩티드.

청구항 87

삭제

청구항 88

제86항에 있어서,

상기 연장 서열 또는 하부 힌지 영역은 S, G, A, P 및 V 로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상을 포함하는 것을 특징으로 하는, 폴리펩티드.

청구항 89

제86항에 있어서,

상기 아미노산 서열은 EPKSSDKTHTCPPCPPELLGGP(서열번호 25), EPKSSDKTHTCPPCPGGSSGGSG(서열번호 26) 또는 EPKSSDKTHTCPPCPGGSSGGSG (서열번호 30)을 포함하는 것을 특징으로 하는, 폴리펩티드.

청구항 90

제86항에 있어서,

상기 미니바디는 이중 특이성 미니바디인 것을 특징으로 하는, 폴리펩티드.

청구항 91

인공적인 힌지를 포함하는 미니바디로서:

(1) EPKSSDKTHTCPPCPPC (서열번호 168) 또는 (2) EPKSSDKTHTCPPCPPC (서열번호 170) 중 어느 하나; 및

상기 (1) 또는 (2)의 바로 C-말단에 있는 연장 서열 또는 하부 힌지 영역을 포함하고,

상기 (1) 또는 (2) 내의 시스테인 외에 힌지 영역에는 시스테인이 존재하지 않으며,

상기 미니바디는 천연 힌지를 포함하지 않는 것을 특징으로 하는, 미니바디.

청구항 92

제91항에 있어서,

상기 미니바디는 인공적인 힌지로서, EPKSSDKTHTCPPCPPCGGGSSGGGSG (서열번호 26) 또는 EPKSSDKTHTCPPCPPCGGGSSGGGSG (서열번호 30)를 포함하는 것을 특징으로 하는, 미니바디.

청구항 93

삭제

청구항 94

삭제

청구항 95

미니바디로서,

scFv;

C_H3; 및

EPKSSDKTHTCPPCPPCGGGSSGGGSG (서열번호 26)를 포함하는 아미노산 서열을 포함하며, 상기 아미노산 서열은 scFv를 C_H3와 연결하는 것을 특징으로 하는, 미니바디.

청구항 96

하기를 포함하는 미니바디로서:

하기를 포함하는 제 1 폴리펩티드는:

제 1 가변 영역;

제 1 C_H3; 및

상기 제 1 가변 영역 및 제 1 C_H3를 연결하는 제 1 힌지를 포함하며, 상기 제 1 힌지는:

EPKSSDKTHTCPPCPPC (서열번호 168); 및

EPKSSDKTHTCPPCPPC의 바로 C-말단에 있는 제 1 연장 서열 또는 제 1 하부 힌지 영역을 포함하고, 상기 EPKSSDKTHTCPPCPPC의 내의 시스테인 외에 제 1 힌지에는 시스테인이 존재하지 않으며; 및

하기를 포함하는 제 2 폴리펩티드는:

제 2 가변 영역;

제 2 C₄3; 및

상기 제 2 가변 영역 및 제 2 C₄3를 연결하는 제 2 힌지를 포함하며, 상기 제 2 힌지는:

EPKSSDKTHTCPPCPPC (서열번호 168); 및

EPKSSDKTHTCPPCPPC의 바로 C-말단에 있는 제 2 연장 서열 또는 제 2 하부 힌지 영역을 포함하고, 상기 EPKSSDKTHTCPPCPPC의 내의 시스테인 외에 제 2 힌지에는 시스테인이 존재하지 않는 것을 특징으로 하는, 미니바디.

청구항 97

제96항에 있어서,

상기 제 1 폴리펩티드는 EPKSSDKTHTCPPCPPCGGSSGGSG(서열번호 26)를 포함하고,

상기 제 2 폴리펩티드는 EPKSSDKTHTCPPCPPCGGSSGGSG(서열번호 26)를 포함하는 것을 특징으로 하는, 미니바디.

청구항 98

삭제

청구항 99

삭제

청구항 100

하기를 포함하는 암 치료용 약학적 조성물로서:

제91항, 제92항 및 제95항 내지 제97항 중 어느 한 항의 미니바디;

화학 치료제 또는 방사성 핵종; 및

약학적으로 허용 가능한 담체를 포함하는 것을 특징으로 하는, 암 치료용 약학적 조성물.

청구항 101

하기를 포함하는 환자의 임상적 이미징용 조성물로서:

제91항, 제92항 및 제95항 내지 제97항 중 어느 한 항의 미니바디;

검출 가능한 마커; 및

약학적으로 허용되는 담체를 포함하는 것을 특징으로 하는, 환자의 임상적 이미징용 조성물.

청구항 102

제100항에 있어서,

상기 미니바디가 적어도 1 마이크로그램(μg) 내지 100 mg으로 존재하는 것을 특징으로 하는, 약학적 조성물.

청구항 103

제101항에 있어서,

상기 미니바디가 적어도 1 마이크로그램(μg) 내지 100 mg으로 존재하는 것을 특징으로 하는, 조성물.

청구항 104

제100항에 있어서,

상기 미니바디의 5% 미만의 집성체가 상기 조성물 내에 존재하는 것을 특징으로 하는, 약학적 조성물.

청구항 105

제90항에 있어서,

상기 이중 특이성 미니바디는 2 이상의 상이한 폴리펩티드 사슬을 포함하고,

상기 2 이상의 상이한 폴리펩티드 사슬이 1:1의 비율로 조립되는 것을 특징으로 하는, 폴리펩티드.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 관련 출원서에 대한 상호 참조

[0002] 본 출원서는 2015년 08월 07일자로 출원된 미국 가출원 제 62/202,665 호의 이점을 주장하며, 이는 본원에서 그 전체가 참고로 인용된다.

[0003] 서열 목록에 대한 인용

[0004] 본 출원서는 전자 형식의 서열 목록과 함께 제출되어 있다. 상기 서열 목록은 IGNAB030W0서열.TXT의 표제를 갖는 파일로서 제공되며, 상기 파일은 2016년 08월 03일자로 생성되고 마지막으로 변경되었으며, 이의 크기는 270,446바이트이다. 상기 전자 서열 목록 내의 정보는 본원에서 그 전체가 참고로 인용된다.

[0005] 본원에 개시된 실시형태는 일반적으로는 항원 결합 구조체 자체(예를 들어, 미니바디(minobody)와 같은 임의의 scFv 융합 단백질)뿐만 아니라 상기 항원 결합 구조체 내의 힌지 구조 및 이의 사용 방법에 관한 것이다.

배경 기술

[0006] 당해 기술분야에 공지된 매우 다양한 항원 결합 구조체가 존재한다. 이 같은 구조체들은 종종 이들의 CDR 절편 내의 서열에 따라 변경되며, 덜 빈번하지만 이들의 골격 영역 및 항체의 다른 절편(예를 들어, C_H3 및 힌지 영역)에서 변경된다.

선행기술문헌

특허문헌

(특허문헌 0001) 미국 공개특허 제2013/0323236호

(특허문헌 0002) 미국 공개특허 제2014/0286951호

발명의 내용

해결하려는 과제

- [0007] 몇몇 양태에서, 서열번호 1의 서열($X_{n1}CX_{n2}X_{n3}CX_{n4}X_{n5}C$)을 포함하는 아미노산 힌지 영역이 제공된다. X_{n1} 은 자연적으로는 공유성 가교 결합을 형성하지 않는 임의의 아미노산일 수 있다. X_{n2} 는 A, R, N, D, E, Q, G, H, I, L, K, M, F, P, S, T, W, Y 및 V 중 하나이다. X_{n3} 은 임의의 아미노산일 수 있다. X_{n4} 는 임의의 아미노산일 수 있다. X_{n5} 는 임의의 아미노산일 수 있다.
- [0008] 몇몇 양태에서, X_{n1} 은 다른 아미노산과 함께 공유성 가교결합을 형성하지 않는다(서열번호 191). 몇몇 양태에서, X_{n1} 은 시스테인이 아니다(서열번호 192). 몇몇 양태에서, X_{n1} 은 A, R, N, D, E, Q, G, H, I, L, K, M, F, P, S, T, W, Y 및 V 중 하나이다(서열번호 193). 몇몇 양태에서, X_{n2} 는 P, V 또는 E이다(서열번호 194). 몇몇 양태에서, X_{n2} 는 P 또는 V이다(서열번호 195). 몇몇 양태에서, X_{n4} 는 P, V 또는 E이다(서열번호 196). 몇몇 양태에서, X_{n4} 는 P 또는 V이다(서열번호 197). 몇몇 양태에서, X_{n3} 은 P 또는 E이다(서열번호 198). 몇몇 양태에서, X_{n5} 는 P 또는 E이다(서열번호 199). 몇몇 양태에서, X_{n3} 은 P 또는 E이다(서열번호 200). 몇몇 양태에서, $X_{n2}X_{n3}$ 은 VE이다(서열번호 201). 몇몇 양태에서, $X_{n2}X_{n3}$ 은 PP이다(서열번호 202). 몇몇 양태에서, $X_{n4}X_{n5}$ 는 VE이다(서열번호 203). 몇몇 양태에서, $X_{n4}X_{n5}$ 는 PP이다(서열번호 204). 몇몇 양태에서, $X_{n2}X_{n3}$ 은 VE이고 $X_{n4}X_{n5}$ 는 PP이다(서열번호 205). 몇몇 양태에서, $X_{n2}X_{n3}$ 은 PP이고 $X_{n4}X_{n5}$ 는 PP 또는 VE이다(서열번호 206). 몇몇 양태에서, $X_{n2}X_{n3}$ 은 VE이고 $X_{n4}X_{n5}$ 는 VE 또는 PP이다(서열번호 207). 몇몇 양태에서, 상기 힌지는 $X_{n1}CX_{n2}X_{n3}CX_{n4}X_{n5}C$ (서열번호 1)에서 마지막 시스테인에 대해 C-말단에 있는 연장 또는 하부 힌지 서열을 더 포함한다. 몇몇 양태에서, 상기 연장 또는 하부 힌지 서열은 S, G, A, P 및 V 중 적어도 하나를 포함한다. 몇몇 양태에서, 상기 연장 서열은 적어도 GGGSSGGSG(서열번호 59)를 포함한다. 몇몇 양태에서, 상기 링커 서열은 적어도 APPVAGP(서열번호 60)를 포함한다. 몇몇 양태에서, 특허청구범위 제 1 항의 힌지 영역은 코어 힌지 영역의 일부이다. 몇몇 양태에서, 상기 힌지는 상기 코어 힌지 영역에 인접한 상부 힌지 영역을 더 포함한다. 몇몇 양태에서, 상기 힌지는 상기 코어 힌지 영역에 인접한 하부 힌지 또는 연장 영역을 더 포함한다. 몇몇 양태에서, 이는 상기 코어 힌지 영역에 인접한 상부 힌지 영역을 더 포함한다. 몇몇 양태에서, X_{n1} 은 세린, 트레오닌 또는 알라닌을 포함한다(서열번호 209). 몇몇 양태에서, X_{n1} 은 세린을 포함한다(서열번호 210). 몇몇 양태에서, X_{n1} 은 알라닌을 포함한다(서열번호 211). 몇몇 양태에서, 상기 아미노산 힌지 영역은 하기 서열, 즉 SCVECPPCP(서열번호 56) 및 TCPCPPC(서열번호 166) 중 적어도 하나를 포함한다. 몇몇 양태에서, 상기 아미노산 힌지 영역은 하기 서열, 즉 ERKSCVECPPCP(서열번호 167), EPKSSDKTHT(서열번호 46) 및 CPCPPC(서열번호 52) 중 적어도 하나를 포함한다. 몇몇 양태에서, 상기 아미노산 힌지 영역은 하기 서열, 즉 ERKSCVECPPCPGGSSGGSG(서열번호 34), ERKSCVECPPCAPPVAGP(서열번호 33), EPKSSDKTHTCPCPPCGGSSGGSG(서열번호 26) 및 EPKSSDKTHTCPCPPCAPELLGGP(서열번호 25) 중 적어도 하나를 포함한다.
- [0009] 몇몇 양태에서, 아미노산 힌지 영역이 제공된다. 상기 아미노산 힌지 영역은 서열번호 2의 서열($X_{n1}X_{n2}X_{n3}X_{n4}X_{n5}X_{n6}CX_{n7}X_{n8}CX_{n9}X_{n10}C$)을 포함한다. X_{n1} 은 임의의 m개의 아미노산(여기서 m은 임의의 유형의 아미노산의 임의의 개수임)일 수 있다. X_{n2} 는 임의의 아미노산일 수 있다. X_{n3} 은 임의의 아미노산일 수 있다. X_{n4} 는 임의의 아미노산일 수 있다. X_{n5} 는 임의의 아미노산일 수 있다. X_{n6} 은 시스테인이 아닌 임의의 아미노산일 수 있다. X_{n7} 은 임의의 아미노산일 수 있다. X_{n8} 은 임의의 아미노산일 수 있다. X_{n9} 는 임의의 아미노산일 수 있다. X_{n10} 은 임의의 아미노산일 수 있다(예를 들어, 서열번호 212 참조). 몇몇 양태에서, X_{n1} 은 시스테인이 아니다(예를 들어, 서열번호 213 참조). 몇몇 양태에서, X_{n2} 는 시스테인이 아니다(예를 들어, 서열번호 214 참조). 몇몇 양태에서, X_{n2} 는 D이다(예를 들어, 서열번호 215 참조). 몇몇 양태에서, X_{n3} 은 K이다(예를 들어, 서열번호 216 참조). 몇몇 양태에서, X_{n4} 는 T이다(예를 들어, 서열번호 217 참조). 몇몇 양태에서, X_{n5} 는 H이다(예를 들어, 서열번호 218 참조). 몇몇 양태에서, X_{n6} 은 T이다(예를 들어, 서열번호 219 참조). 몇몇 양태에서, X_{n7} 은 P 또는 V이다(예를 들어, 서열번호 220 참조). 몇몇 양태에서, X_{n8} 은 P 또는 E이다(예를 들어, 서열번호 221 참조). 몇몇 양태에서,

X_{n9} 는 P 또는 V이다(예를 들어, 서열번호 222 참조). 몇몇 양태에서, X_{n10} 는 P 또는 E이다(예를 들어, 서열번호 223 참조). 몇몇 양태에서, 상기 아미노산 힌지 영역은 X_{n1} 전방에 위치한 CXXC(예를 들어, 서열번호 224 참조) 또는 CXXC(예를 들어, 서열번호 225 참조) 모티프를 더 포함한다. 몇몇 양태에서, 상기 아미노산 힌지 영역은 서열번호 2에서 C-말단 시스테인에 바로 부착된 $X_{n11}X_{n12}C$ 를 더 포함하되, X_{n11} 은 임의의 아미노산일 수 있고 X_{n12} 는 임의의 아미노산일 수 있다(예를 들어, 서열번호 226 참조). 몇몇 양태에서, X_{n11} 은 P 또는 V이고 X_{n12} 는 P 또는 E이다(예를 들어, 서열번호 227 참조). 몇몇 양태에서, X_{n1} 은 세린이고, X_{n2} 는 D이고, X_{n3} 은 K이고, X_{n4} 는 T이고, X_{n5} 는 H이고, X_{n6} 은 T이고, X_{n7} 은 P이고, X_{n8} 은 P이고, X_{n9} 은 P이고, X_{n10} 은 P이다(예를 들어, 서열번호 228 참조). 몇몇 양태에서, 상기 힌지 영역은 하기 서열, 즉 CPPCPPC(서열번호 52), CPPVECP(서열번호 53) 및 CPPCPPC(서열번호 54) 중 적어도 하나를 포함한다. 몇몇 양태에서, 상기 힌지 영역은 하기 서열, 즉 EPKSSDKTHTCPPCPPC(서열번호 168), EPKSSDKTHTCPPVECP(서열번호 169) 및 EPKSSDKTHTCPPCPPC(서열번호 170) 중 적어도 하나를 포함한다. 몇몇 양태에서, 상기 힌지 영역은 하기 서열, 즉 EPKSSDKTHTCPPCPPCGGGSSGGSG(서열번호 26), EPKSSDKTHTCPPVECP(서열번호 28) 및 EPKSSDKTHTCPPCPPCGGGSSGGSG(서열번호 30) 중 적어도 하나를 포함한다.

[0010] 몇몇 양태에서, 아미노산 힌지 영역이 제공된다. 상기 힌지 영역은 ELKTPLGDTHT(서열번호 48) 또는 EPKSSDKTHT(서열번호 46)의 상부 힌지 서열에 연결된 CVECPPC(서열번호 57), CPPCPPC(서열번호 52), CPPCPPC(서열번호 54) 및 CPPVECP(서열번호 53) 중 적어도 하나를 갖는 코어 힌지 서열을 포함한다.

[0011] 몇몇 양태에서, 항체에 대한 아미노산 힌지 영역이 제공되며, 이는 상응하는 아미노산과 가교 결합할 수 있는 아미노산을 포함하지 않은 상부 힌지 영역; 및 상기 상부 힌지 영역의 C-말단에 연결된 코어 힌지 영역을 포함할 수 있되, 상기 코어 힌지 영역은 가닥 당 적어도 3개의 시스테인을 포함한다. 몇몇 양태에서, 상기 아미노산 힌지 영역은 상기 코어 힌지 영역에 대해 C-말단에 연결된 하부 힌지 또는 연장 영역을 더 포함하되, 상기 하부 힌지 또는 연장 서열은 APPVAGP(서열번호 60), APELLGGP(서열번호 58) 및/또는 GGGSSGGSG(서열번호 59) 중 적어도 하나이다. 몇몇 양태에서, 상기 상부 힌지 영역은 상기 상부 힌지 영역 내에서 가교 결합하는 시스테인을 포함하지 않는다. 몇몇 양태에서, 상기 상부 힌지 영역은 시스테인을 포함하지 않는다. 몇몇 양태에서, 이는 하부 힌지 또는 연장 영역을 더 포함한다. 몇몇 양태에서, 상기 하부 힌지 또는 연장 영역은 GGGSSGGSG(서열번호 59), APPVAGP(서열번호 60) 및 APELLGGP(서열번호 58) 중 적어도 하나를 포함한다. 몇몇 양태에서, 상기 힌지 영역이 미니바디(minibody) 내에 위치하고 상기 미니바디를 인간 개체에 투여하는 경우, 상기 개체로부터 상기 미니바디의 제거는 주로 간을 통해 일어난다. 몇몇 양태에서, 상기 힌지 영역이 미니바디 내에 위치하고 상기 미니바디를 인간 개체에 투여하는 경우, 상기 개체로부터 상기 미니바디의 제거는 주로 신장을 통해 일어나지 않는다. 몇몇 양태에서, 상기 힌지 영역은 항체 내에 있다. 몇몇 양태에서, 상기 힌지 영역은 항체 결합 단편 내에 있다. 몇몇 양태에서, 상기 힌지 영역은 미니바디 내에 있다. 몇몇 양태에서, 상기 힌지 영역은 단일 특이성 항체 내에 있다. 몇몇 양태에서, 상기 힌지 영역은 가닥 당 적어도 3개의 시스테인을 포함한다. 몇몇 양태에서, 상기 힌지 영역은 가닥 당 적어도 4개의 시스테인을 포함한다. 몇몇 양태에서, 시스테인은 상기 아미노산 힌지 영역 전역에서 반복 CXX 또는 CXY 모티프 내에 분포되어 있다. 몇몇 양태에서, 상기 힌지 영역은 이중 특이성 항체 내에 있다. 몇몇 양태에서, 상기 이중 특이성 항체는 1:1의 비율로 조립된다. 몇몇 양태에서, 상기 이중 특이성 항체는 항체 단편을 포함한다. 몇몇 양태에서, 상기 이중 특이성 항체는 미니바디이다.

[0012] 몇몇 양태에서, 약학 조성물이 제공된다. 상기 약학 조성물은 본원에서 개시된 임의의 힌지 영역과 동일한 아미노산 힌지 영역을 포함할 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 이로 인해 항체의 5% 미만의 집성체가 상기 조성물 내에 존재하게 한다.

[0013] 몇몇 양태에서, 본원에서 제공된 임의의 힌지 영역과 동일한 아미노산 힌지 영역을 포함하는 약학 조성물이 제공된다. 몇몇 양태에서, 상기 항체는 적어도 1마이크로그램(μg) 내지 100mg으로 존재한다.

[0014] 몇몇 양태에서, 코어 힌지 영역을 포함하는 미니바디가 제공된다. 상기 코어 힌지 영역은 가닥 당 적어도 3개의 시스테인을 포함하며, 이때 상기 시스테인은 상기 코어 힌지 영역 내에서 적어도 3개의 이황화 결합을 형성한다. 몇몇 양태에서, 상기 코어 영역의 첫 번째 잔기는 세린이다. 몇몇 양태에서, 상기 코어 힌지 영역은 SCVECPPC(서열번호 56)을 포함한다.

[0015] 몇몇 양태에서, 미니바디가 제공된다. 상기 미니바디는 $X_{n1}CX_{n2}X_{n3}CX_{n4}X_{n5}C$ 의 서열(서열번호 3)을 포함할 수 있다.

이러한 서열은 상기 미니바디의 코어 힌지 영역으로서 위치할 수 있다. X_{n1} 은 임의의 아미노산일 수 있거나 아미노산이 아닐 수 있다. X_{n2} 은 임의의 아미노산일 수 있다. X_{n3} 은 임의의 아미노산일 수 있다. X_{n4} 은 임의의 아미노산일 수 있다. X_{n5} 은 임의의 아미노산일 수 있다. 몇몇 양태에서, X_{n1} 은 시스테인이 아닌 임의의 아미노산이다(서열번호 229). 몇몇 양태에서, X_{n1} 은 세린이다(서열번호 230).

[0016] 몇몇 양태에서, 변이체 미니바디 힌지가 제공된다. 상기 변이체 힌지는 제 1 변경 아미노산 위치를 포함할 수 있다. 상기 제 1 변경 위치는 천연 항체 힌지에서 시스테인일 수 있는 아미노산이고, 이황화 결합을 형성하지 않도록 상기 제 1 변경 위치에서 변경되어 있다. 상기 변이체 힌지는 또한 상기 제 1 변경 아미노산 위치에 대해 C-말단에 있는 가닥 당 적어도 3개의 시스테인을 포함할 수 있다. 몇몇 양태에서, 상기 힌지 영역은 서열번호 1로 이루어져 있다. 몇몇 양태에서, 서열번호 1은 코어 힌지 영역이며, 이때 상기 코어 힌지 영역은 본질적으로는 서열번호 1로 이루어져 있다. 몇몇 양태에서, 상기 코어 힌지 영역은 서열번호 1로 이루어져 있다.

[0017] 몇몇 양태에서, 미니바디가 제공된다. 상기 미니바디는 표적 항원에 결합하며, 이때 상기 표적 항원은 CD3, CD8, 5T4, PSMA 및 PSCA 중 적어도 하나이다. 상기 미니바디는 폴리펩티드를 포함하며, 여기서 상기 폴리펩티드는 상기 표적 항원에 결합하는 단일 사슬 가변 단편(scFv); 및 변이체 힌지 영역을 포함하되, 상기 scFv는 가변 경쇄(V_L) 도메인에 연결된 가변 중쇄(V_H) 도메인을 포함하고, 상기 변이체 힌지 영역은 상기 힌지의 각각의 가닥 상에 적어도 3개의 시스테인을 포함한다.

[0018] 몇몇 양태에서, 상기 미니바디는 인간 IgG C_H3 서열을 더 포함한다. 몇몇 양태에서, 상기 미니바디는 방사성 물질, 염료, 조영제, 형광 화합물, 생물 발광 화합물, 효소, 증강제 및 나노입자로 이루어진 군으로부터 선택된 검출 가능한 마커를 더 포함한다.

[0019] 몇몇 양태에서, 상기 미니바디는 본원에서 개시된 바와 같은 HCDR1과 동일한 HCDR1; 본원에서 개시된 바와 같은 HCDR2와 동일한 HCDR2; 본원에서 개시된 바와 같은 HCDR3과 동일한 HCDR3; 본원에서 개시된 바와 같은 LCDR1과 동일한 LCDR1; 본원에서 개시된 바와 같은 LCDR2와 동일한 LCDR2; 및 본원에서 개시된 바와 같은 LCDR3과 동일한 LCDR3을 포함한다.

[0020] 몇몇 양태에서, 상기 가변 중쇄(V_H) 도메인 및 가변 경쇄(V_L) 도메인은 인간 서열이다.

[0021] 몇몇 양태에서, 본원에서 개시된 바와 같은 미니바디를 암호화하는 핵산이 제공된다.

[0022] 몇몇 양태에서, 본원에서 개시된 바와 같은 미니바디를 생산하는 세포주가 제공된다.

[0023] 몇몇 양태에서, 본원에서 제공된 임의의 미니바디 및 검출 가능한 마커를 포함하는 키트가 제공된다.

[0024] 몇몇 양태에서, 표적 항원의 존재 유무를 검출하는 방법이 제공된다. 상기 표적 항원은 CD3, CD8, 5T4, PSMA 및 PSCA 중 적어도 하나이다. 상기 방법은 본원에서 개시된 바와 같은 미니바디를 시료에 적용하는 단계; 및 상기 표적 항원에 대한 항원 결합 구조체의 결합 또는 이의 결합의 부재를 검출하는 단계를 포함한다.

[0025] 몇몇 양태에서, 상기 미니바디는 방사성 물질, 염료, 조영제, 형광 화합물, 생물 발광 화합물, 효소, 증강제 및 나노입자로 이루어진 군으로부터 선택된 검출 가능한 마커를 포함한다. 몇몇 양태에서, 상기 미니바디를 적용하는 단계는 상기 미니바디를 개체에 투여하는 단계를 포함한다. 몇몇 양태에서, 상기 표적 항원에 대한 상기 미니바디의 결합 또는 이의 결합의 부재를 검출하는 단계는 양전자 방출 단층촬영을 포함한다. 몇몇 양태에서, 상기 방법은 이차 항체 또는 이의 단편을 상기 시료에 적용하는 단계를 더 포함하되, 상기 이차 항체 또는 이의 단편은 상기 미니바디에 특이적으로 결합한다. 몇몇 양태에서, 이의 미니바디는 1시간 이내로 상기 시료와 함께 배양된다.

[0026] 몇몇 양태에서, 치료제를 표적 항원에 표적화하는 방법이 제공된다. 상기 표적 항원은 CD3, CD8, 5T4, PSMA 및 PSCA 중 적어도 하나이다. 상기 방법은 본원에서 개시된 바와 같은 미니바디를 개체에 투여하는 단계를 포함하되, 상기 미니바디는 치료제에 접합되어 있다.

[0027] 몇몇 양태에서, B 또는 T 림프구 세포를 이를 필요로 하는 개체에서 중화시키는 방법이 제공된다. 상기 방법은 본원에서 개시된 바와 같은 미니바디를 개체에 투여하는 단계를 포함하며, 이때 상기 미니바디는 CD8 및/또는 CD3에 결합한다. 몇몇 양태에서, 상기 개체는 본원에 언급된 바와 같은 질환들 중 적어도 하나를 앓고 있다.

[0028] 몇몇 양태에서, 표적 항원(예를 들어, CD8, CD3, 5T4, PSMA, PSCA)에 결합하는 항체 및/또는 미니바디가 제공된

다. 상기 항체 및/또는 미니바디는 힌지 영역을 포함하되, 상기 힌지 영역은 하기 서열들 중 적어도 하나를 포함한다:

- [0029] a) 서열번호 1의 서열($X_{n1}CX_{n2}X_{n3}CX_{n4}X_{n5}C$)을 포함하되, X_{n1} 은 자연적으로는 공유성 가교결합을 형성하지 않는 임의의 아미노산일 수 있고, X_{n2} 는 A, R, N, D, E, Q, G, H, I, L, K, M, F, P, S, T, W, Y 및 V 중 하나이고, X_{n3} 은 임의의 아미노산일 수 있고, X_{n4} 는 임의의 아미노산일 수 있고, X_{n5} 는 임의의 아미노산일 수 있는 아미노산 힌지 영역;
- [0030] b) 서열번호 2의 서열($X_{n1}X_{n2}X_{n3}X_{n4}X_{n5}X_{n6}CX_{n7}X_{n8}CX_{n9}X_{n10}C$)을 포함하되, X_{n1} 은 임의의 m개의 아미노산(여기서 m은 임의의 유형의 아미노산의 임의의 개수임)일 수 있고, X_{n2} 는 임의의 아미노산일 수 있고, X_{n3} 은 임의의 아미노산일 수 있고, X_{n4} 는 임의의 아미노산일 수 있고, X_{n5} 는 임의의 아미노산일 수 있고, X_{n6} 은 시스테인이 아닌 임의의 아미노산일 수 있고, X_{n7} 은 임의의 아미노산일 수 있고, X_{n8} 은 임의의 아미노산일 수 있고, X_{n9} 는 임의의 아미노산일 수 있고, X_{n10} 은 임의의 아미노산일 수 있는 아미노산 힌지 영역;
- [0031] c) ELKTPGLDTHHT(서열번호 48) 또는 EPKSSDKTHHT(서열번호 46)의 상부 힌지 서열에 연결된 CVECPPCP(서열번호 57), CPPCPPC(서열번호 52), CPPCPPPC(서열번호 54) 및 CPPCVECPPC(서열번호 53) 중 적어도 하나를 갖는 코어 힌지 서열;
- [0032] d) 상응하는 아미노산과 가교 결합할 수 있는 아미노산을 포함하지 않는 상부 힌지 영역; 및 상기 상부 힌지 영역의 C-말단에 연결된 코어 힌지 영역(여기서, 상기 코어 힌지 영역은 가닥 당 적어도 3개의 시스테인을 포함함);
- [0033] e) 코어 힌지 영역을 포함하는 항체 및/또는 미니바디(여기서, 상기 코어 힌지 영역은 가닥 당 적어도 3개의 시스테인을 포함하며, 이때 상기 시스테인은 상기 코어 힌지 영역 내에 적어도 3개의 이황화 결합을 형성함); 및
- [0034] f) 제 1 변경 아미노산 위치(여기서, 상기 제 1 변경 위치는 천연 항체 힌지에서 시스테인일 수 있는 아미노산이고, 이황화 결합을 형성하지 않도록 상기 제 1 변경 위치에서 변경되어 있음); 및 제 1 변경 아미노산 위치에 대해 C-말단에 있는 가닥 당 적어도 3개의 시스테인.
- [0035] 몇몇 양태에서, 본원에서 제공된 임의의 미니바디는 대신에 전장 항체로서 포매팅(formatting)될 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 상기 미니바디는 인간화 아미노산 서열을 포함한다.
- [0036] 몇몇 양태에서, 본원에서 제공된 미니바디를 제조하는 방법은 상기 미니바디를 세포주에서 발현하는 단계를 포함한다.
- [0037] 몇몇 양태에서, 치료를 필요로 하는 개체에서 병태를 치료하는 방법이 제공된다. 상기 방법은 본원에서 제공된 CD3, CD8, PSMA, PSMA 및/또는 5T4 질환들 중 임의의 하나 이상을 치료하기 위해 상기 개체에 본원에서 제공된 미니바디들 중 임의의 하나 이상을 투여하는 단계를 포함한다.

도면의 간단한 설명

- [0038] 도 1은 조작된 미니바디(Mb)의 예시도를 나타낸다.
- 도 2는 인간 IgG1(상단: $\gamma 1$ EH1 및 하단: $\gamma 1$ EH2)에 기초한 Mb 힌지의 다양한 실시형태의 예시도를 나타낸다.
- 도 3은 인간 IgG2(상단: $\gamma 2$ EH1 및 하단: $\gamma 2$ EH2)에 기초한 Mb 힌지의 다양한 실시형태의 예시도를 나타낸다.
- 도 4는 인간 IgG2(상단: $\gamma 2$ NH1 및 하단: $\gamma 2$ NH2)에 기초한 부가적인 Mb 힌지의 다양한 실시형태의 예시도를 나타낸다.
- 도 5a는 IAB2M 힌지 변이체들의 비환원 SDS-PAGE 분석 이미지를 나타낸다.
- 도 5b는 IAB2M $\gamma 1$ EH1의 몇몇 실시형태에 대한 단백질 서열 정보를 나타낸다.
- 도 5c는 IAB2M $\gamma 1$ EH2의 몇몇 실시형태에 대한 단백질 서열 정보를 나타낸다.
- 도 5d는 IAB2M $\gamma 2$ EH2의 몇몇 실시형태에 대한 단백질 서열 정보를 나타낸다.
- 도 5e는 IAB2M- $\gamma 2$ EH1의 몇몇 실시형태에 대한 단백질 서열 정보를 나타낸다.

도 6a는 IAB2M γ 1 EH1 변이체의 원형 질량 분석을 나타낸다. 상부 패널은 역상 조건 하에서의 총 이온 크로마토그램(total ion chromatogram)을 나타낸다. 중간 패널은 반분자(half molecule)의 존재를 확인한 탈회선(deconvolution)된 원형 질량을 나타내고, 하부 패널은 상기 확인된 실치수 질량(full size mass)을 나타낸다.

도 6b는 IAB2M γ 2 EH1 변이체의 원형 질량 분석을 나타낸다. 상부 패널은 역상 조건 하에서의 총 이온 크로마토그램을 나타낸다. 중간 패널은 반분자의 존재를 확인한 탈회선된 원형 질량을 나타내고, 하부 패널은 상기 확인된 실치수 분자 질량을 나타낸다.

도 6c는 IAB2M γ 1 EH2 변이체의 원형 질량 분석을 나타낸다. 상부 패널은 역상 조건 하에서의 총 이온 크로마토그램을 나타낸다. 중간 패널은 반분자의 존재를 확인한 탈회선된 원형 질량을 나타내고, 하부 패널은 상기 확인된 실치수 분자 질량을 나타낸다.

도 6d는 IAB2M γ 2 EH2 변이체의 원형 질량 분석을 나타낸다. 상부 패널은 총 이온 크로마토그램을 나타낸다. 하부 패널은 실치수 질량 분자들의 존재를 확인한 탈회선된 원형 질량을 나타낸다. 반분자는 검출되지 않았다.

도 7a는 LNCaP-AR 세포를 이용하여 FACS에 의해 결정된 IAB2M-조작된 힌지 변이체들의 결합 곡선 및 EC50 결합 값들을 나타낸다.

도 7b는 C4-2 XCL 세포를 이용하여 FACS에 의해 결정된 IAB2M-조작된 힌지 변이체들의 결합 곡선 및 EC50 결합 값들을 나타낸다.

도 7c는 표준 신호 서열이 없는 IAB2M γ 1 EH3의 몇몇 실시형태에 대한 단백질 서열 정보를 나타낸다.

도 7d는 표준 신호 서열이 없는 IAB2M γ 1 EH3의 몇몇 실시형태에 대한 단백질 서열 정보를 나타낸다.

도 7e는 표준 신호 서열이 없는 IAB2M γ 1 EH3에 대한 DNA 서열 정보를 나타낸다.

도 8은 IAB2M γ 1 EH1 이량체 내에서 확인된 이황화물 함유 펩티드들의 목록을 나타낸다.

도 9는 미스페어링(mispairing)된 시스테인이 형성되는 장소를 나타내는 IAB2M γ 1 EH1의 이황화 결합의 지도 제작의 예시도를 나타낸다.

도 10은 미스페어링된 시스테인의 부재를 제시하는 IAB2M γ 2 EH1의 이황화 결합의 지도 제작의 예시도를 나타낸다.

도 11a는 22Rv1(PSMA+) 종양 이종 이식편을 갖고 있는 누드 마우스에서 ^{89}Zr -Df-IAB2M γ 1 EH1의 PET/CT 스캔 이미지를 나타낸다.

도 11b는 누드 마우스에서 ^{89}Zr -Df-IAB2M γ 1 EH1의 생물 분포에 대한 그래프를 나타낸다.

도 12a는 22Rv1(PSMA+) 종양 이종 이식편을 갖고 있는 누드 마우스에서 ^{89}Zr -Df-IAB2M γ 1 EH2의 PET/CT 스캔 이미지를 나타낸다.

도 12b는 누드 마우스에서 ^{89}Zr -Df-IAB2M γ 1 EH2의 생물 분포에 대한 그래프를 나타낸다.

도 13a는 22Rv1(PSMA+) 종양 이종 이식편을 갖고 있는 누드 마우스에서 ^{89}Zr -Df-IAB2M γ 2 EH2의 PET/CT 스캔 이미지를 나타낸다.

도 13b는 누드 마우스에서 ^{89}Zr -Df-IAB2M γ 2 EH2의 생물 분포에 대한 그래프를 나타낸다.

도 14a는 IAB22M γ 2 EH1 변이체의 원형 질량 분석을 나타낸다. 상부 패널은 총 이온 크로마토그램을 나타낸다. 중간 패널은 반분자의 존재를 확인한 탈회선된 원형 질량을 나타내고, 하부 패널은 상기 확인된 실치수 질량을 나타낸다.

도 14b는 IAB22M γ 2 EH1의 몇몇 실시형태에 대한 단백질 서열 정보를 나타낸다.

도 15a는 IAB22 γ 2 EH2 변이체의 원형 질량 분석을 나타낸다. 단백질은 역상 조건 하에서 분리되었다. 상부 패널은 전체 질량 범위의 스캔을 나타낸다. 확대된 실치수 질량 영역은 온전한 단백질, 즉 이황화 브릿지 결합된 단백질의 존재를 강조하는 반면(중간 패널), 확대된 반분자 영역은 반분자가 본질적으로 존재하지 않는다는 것을 나타낸다(하부 패널).

도 15b는 IAB22M γ 2 EH2 변이체의 몇몇 실시형태에 대한 단백질 서열 정보를 나타낸다.

도 16a는 인간 IgG1-유래 및 인간 IgG2-유래 힌지 서열을 갖는 ^{89}Zr -Df-IAB22M 미니바디를 비교한, HPB-ALL (CD8+) 종양 이종 이식편을 갖고 있는 마우스들의 PET/CT 스캔 이미지를 나타낸다.

도 16b는 IAB22M γ 1 EH1의 몇몇 실시형태에 대한 단백질 서열 정보를 나타낸다.

도 16c는 IAB22M γ 2 NH1의 몇몇 실시형태에 대한 단백질 서열 정보를 나타낸다.

도 16d는 IAB22M γ 2 NH2의 몇몇 실시형태에 대한 단백질 서열 정보를 나타낸다.

도 17은 항원-양성 HPB-ALL 종양 및 항원-음성 다우디 종양(Daudi tumor)(우측 패널 단독)을 갖는 NOD-SCID 마우스에서 ^{89}Zr -Df-IAB22M γ 1 EH1의 흡수를 비교한 PET/CT 스캔 이미지를 나타낸다.

도 18은 항원-양성 HPB-ALL 종양 및 항원-음성 다우디 종양을 갖는 마우스들에서 ^{89}Zr -Df-IAB22M γ 1 EH1의 생물 분포에 대한 그래프를 나타낸다. 숫자는 우측에 나타나 있다.

도 19는 표 3에 나열된 힌지 변이체의 몇몇 실시형태의 예시도이다(상단: γ 1 EH1, 중간: γ 1 EH3 및 하단: γ 1 EH4).

도 20a는 질량 분광분석법에 의해 결정할 때 IAB2M에 대한 상이한 힌지 변이체에 존재하는 반분자의 비율(%)을 요약한 그래프를 나타낸다.

도 20b는 질량 분광분석법에 의해 결정할 때 IAB22M에 대한 상이한 힌지 변이체에 존재하는 반분자의 비율(%)을 요약한 그래프를 나타낸다.

도 20c는 IAB22M γ 1 EH3의 몇몇 실시형태에 대한 단백질 서열 정보를 나타낸다.

도 20d는 IAB22M γ 1 EH5의 몇몇 실시형태에 대한 단백질 서열 정보를 나타낸다.

도 20e는 IAB22M γ 3/ γ 1 EH6의 몇몇 실시형태에 대한 단백질 서열 정보를 나타낸다.

도 20f는 IAB22M γ 3/ γ 1 EH7의 몇몇 실시형태에 대한 단백질 서열 정보를 나타낸다.

도 20g는 IAB22M γ 3/ γ 1 EH8의 몇몇 실시형태에 대한 단백질 서열 정보를 나타낸다.

도 21a는 밀도 측정법에 의해 정량화된 IAB2M 힌지 Mb 변이체들의 비환원 SDS-PAGE 분석 이미지(좌측 패널) 및 반분자의 비율(%) (우측 패널)을 나타낸다.

도 21b는 IAB2M γ 1 EH5의 몇몇 실시형태에 대한 단백질 서열 정보를 나타낸다.

도 21c는 IAB2M γ 3/ γ 1 EH6의 몇몇 실시형태에 대한 단백질 서열 정보를 나타낸다.

도 21d는 IAB2M γ 3/ γ 1 EH7의 몇몇 실시형태에 대한 단백질 서열 정보를 나타낸다.

도 21e는 IAB2M γ 3/ γ 1 EH8의 몇몇 실시형태에 대한 단백질 서열 정보를 나타낸다.

도 22a는 밀도 측정법에 의해 정량화된 IAB22M 힌지 Mb 변이체들의 비환원 SDS-PAGE 분석 이미지(좌측 패널) 및 반분자의 비율(%) (우측 패널)을 나타낸다.

도 22b는 IAB22M γ 1 EH2의 몇몇 실시형태에 대한 단백질 서열 정보를 나타낸다.

도 23은 IAB22M γ 1 EH1 변이체의 원형 질량 분석을 나타낸다. 상부 패널은 총 이온 크로마토그램을 나타낸다. 중간 패널은 반분자의 존재를 확인한 탈회선된 원형 질량을 나타내고, 하부 패널은 상기 확인된 실치수 질량을 나타낸다.

도 24는 IAB22M γ 1 EH3 변이체의 원형 질량 분석을 나타낸다. 단백질은 역상 조건 하에서 분리되었다. 상부 패널은 전체 질량 범위의 스캔을 나타낸다. 확대된 실치수 질량 영역은 온전한 단백질의 존재를 강조한다(중간 패널). 확대된 반분자 영역은 반분자가 본질적으로 존재하지 않는다는 것을 나타낸다(하부 패널).

도 25a 및 도 25b는 IAB22M γ 2 힌지 변이체들의 원형 질량 분석을 나타낸다. 도 25a는 역상 조건 하에서의 IAB22M γ 2 EH1 변이체(도 14b)의 총 이온 크로마토그램을 나타낸다(상부 패널). 중간 패널은 반분자의 존재를 확인한 탈회선된 원형 질량을 나타내고, 하부 패널은 상기 확인된 실치수 질량을 나타낸다. 이중성

(heterogeneity)은 말단 리신 클리핑(clipping)으로부터 유래한다는 것을 주목한다. 도 25b는 IAB22M γ 2 EH2 변이체(도 15b)의 탈회선된 전체 범위 스캔(상부 패널)에서 79053.1Da의 m/z를 갖는 유일 종이 확인된다는 것을 나타낸다. 확대된 실시수 분자량은 중간 패널 상에 나타나 있고, 반분자는 낮은 빈도로 존재하고 잡음 수준 바로 위에 있다(하단 패널).

도 26은 C4-2 XCL 세포를 이용하여 FACS에 의해 결정된 IAB2M-조작된 힌지 변이체들의 결합 곡선 및 EC50 결합 값을 나타낸다.

도 27은 HPB-ALL 세포를 이용하여 FACS에 의해 결정된 IAB2M-조작된 힌지 변이체들의 결합 곡선 및 EC50 결합 값을 나타낸다.

도 28a는 밀도 측정법에 의해 정량화된 IAB20M 힌지 Mb 변이체들의 비환원 SDS-PAGE 분석 이미지(좌측 패널) 및 반분자의 비율(%)(우측 패널)을 나타낸다.

도 28b는 IAB20M γ 1 EH1의 몇몇 실시형태에 대한 단백질 서열 정보를 나타낸다.

도 28c는 IAB20M γ 1 EH3의 몇몇 실시형태에 대한 단백질 서열 정보를 나타낸다.

도 28d는 IAB20M γ 1 EH2의 몇몇 실시형태에 대한 단백질 서열 정보를 나타낸다.

도 28e는 IAB20M γ 1 EH5의 몇몇 실시형태에 대한 단백질 서열 정보를 나타낸다.

도 29a는 밀도 측정법에 의해 정량화된 IAB1M 힌지 Mb 변이체들의 비환원 SDS-PAGE 분석 이미지(좌측 패널) 및 반분자의 비율(%)(우측 패널)을 나타낸다.

도 29b는 IAB1M γ 1 EH1의 몇몇 실시형태에 대한 단백질 서열 정보를 나타낸다.

도 29c는 IAB1M γ 2 EH2의 몇몇 실시형태에 대한 단백질 서열 정보를 나타낸다.

도 29d는 IAB1M γ 1 EH3의 몇몇 실시형태에 대한 단백질 서열 정보를 나타낸다.

도 30은 좌측 어깨 상에 항원-양성 HPB-ALL 이종 이식편을 갖고 있는 NOD-SCID 마우스들에서 상이한 힌지 서열을 갖는 ^{89}Zr -방사성 표지된 IAB22 Mb의 흡수를 비교한 PET/CT 스캔 이미지를 나타낸다.

도 31은 좌측 어깨 상에 항원-양성 HPB-ALL 이종 이식편을 갖고 있는 NOD-SCID 마우스들에서 상이한 힌지 서열을 갖는 ^{89}Zr -방사성 표지된 IAB22 Mb의 생물 분포 데이터에 대한 그래프를 나타낸다.

도 32는 IAB20M γ 2 EH2의 몇몇 실시형태에 대한 단백질 서열 정보를 나타낸다.

도 33은 IAB25M- γ 2 EH2의 몇몇 실시형태에 대한 단백질 서열 정보를 나타낸다.

도 34a는 IAB2M Mb의 몇몇 실시형태를 암호화하는 DNA 서열을 나타낸다.

도 34b는 IAB2M Mb의 몇몇 실시형태를 암호화하는 DNA 서열을 나타낸다.

도 34c는 IAB2M Mb의 몇몇 실시형태를 암호화하는 DNA 서열을 나타낸다.

도 34d는 IAB2M Mb의 몇몇 실시형태를 암호화하는 DNA 서열을 나타낸다.

도 34e는 IAB2M Mb의 몇몇 실시형태를 암호화하는 DNA 서열을 나타낸다.

도 34f는 IAB2M Mb의 몇몇 실시형태를 암호화하는 DNA 서열을 나타낸다.

도 35a는 IAB2M Mb 힌지 변이체들의 단백질 서열 정보를 나타낸다.

도 35b는 IAB2M Mb 힌지 변이체들의 단백질 서열 정보를 나타낸다.

도 35c는 IAB2M Mb 힌지 변이체들의 단백질 서열 정보를 나타낸다.

도 36a는 상이한 항원 특이성을 갖는 Mb의 VL 및 VH 도메인의 단백질 서열 정보를 나타낸다.

도 36b는 상이한 항원 특이성을 갖는 Mb의 VL 및 VH 도메인의 단백질 서열 정보를 나타낸다.

도 36c는 상이한 항원 특이성을 갖는 Mb의 VL 및 VH 도메인의 단백질 서열 정보를 나타낸다.

도 36d는 상이한 항원 특이성을 갖는 Mb의 VL 및 VH 도메인의 단백질 서열 정보를 나타낸다.

도 36e는 상이한 항원 특이성을 갖는 Mb의 VL 및 VH 도메인의 단백질 서열 정보를 나타낸다.

도 37은 링커 서열의 다양한 실시형태의 단백질 서열 정보를 나타낸다.

도 38은 힌지 영역의 다양한 실시형태의 단백질 서열 정보를 나타낸다.

도 39는 C_H3 도메인의 다양한 실시형태의 단백질 서열 정보를 나타낸다.

도 40은 IAB22M γ 1 EH1(M1) 및 IAB22M γ 1 EH3(M1)의 실시형태 각각의 단백질 서열의 정렬을 나타낸다. 서열의 차이는 박스 안에 나타나 있다.

도 41은 IAB22M γ 1 EH3(M1)의 실시형태의 DNA 및 번역된 단백질 서열을 나타낸다. 신호, CDR, 링커 및 힌지 서열들은 박스 안에 나타나 있다.

도 42는 IAB22M γ 1 EH5(M1)의 실시형태의 DNA 및 번역된 단백질 서열을 나타낸다.

도 43은 IAB22M γ 1 EH7(M1)의 실시형태의 DNA 및 번역된 단백질 서열을 나타낸다.

도 44는 IAB22M γ 1 EH8(M1)의 실시형태의 DNA 및 번역된 단백질 서열을 나타낸다.

도 45는 IAB22M γ 2 EH2(M1)의 실시형태의 DNA 및 번역된 단백질 서열을 나타낸다.

도 46은 VH-K67R 다형성(polymorphism)을 갖는 IAB22M γ 2 EH2(M1)의 실시형태의 DNA 및 번역된 단백질 서열을 나타낸다.

도 47은 IAB2M γ 1 EH1(M2) 및 IAB2M γ 1 EH3(M2)의 실시형태 각각의 단백질 서열의 정렬을 나타낸다. 서열의 차이는 박스 안에 나타나 있다.

도 48은 IAB2M γ 1 EH3(M2)의 실시형태의 DNA 및 번역된 단백질 서열을 나타낸다. 신호, CDR, 링커 및 힌지 서열들은 박스 안에 나타나 있다.

도 49는 IAB2M γ 1 EH3 (M2)(G1m1)의 실시형태의 DNA 및 번역된 단백질 서열을 나타낸다.

도 50은 IAB2M γ 1 EH5(M2)의 실시형태의 DNA 및 번역된 단백질 서열을 나타낸다.

도 51은 IAB2M γ 1 EH7(M2)의 실시형태의 DNA 및 번역된 단백질 서열을 나타낸다.

도 52는 IAB2M γ 1 EH8(M2)의 실시형태의 DNA 및 번역된 단백질 서열을 나타낸다.

도 53은 IAB2M γ 1 EH3(M1)의 실시형태의 DNA 및 번역된 단백질 서열을 나타낸다.

도 54는 VL-Q79E, V83E; VH-Q1E, Q6E 다형성을 갖는 IAB20M γ 1 EH1(M2) 및 IAB20M γ 1 EH3(M2)의 실시형태 각각의 단백질 서열의 정렬을 나타낸다. 서열의 차이는 박스 안에 나타나 있다.

도 55는 VL-Q79E, V83E; VH-Q1E, Q6E 다형성을 갖는 IAB20M γ 1 EH3(M2)의 실시형태의 DNA 및 번역된 단백질 서열을 나타낸다. 신호, CDR, 링커 및 힌지 서열들은 박스 안에 나타나 있다.

도 56은 IAB20M γ 1 EH3(M2)의 실시형태의 DNA 및 번역된 단백질 서열을 나타낸다.

도 57은 VL-A9D, T10S, S12A, P15L, L21I, S22N; VH-Q1E, Q6E 다형성을 갖는 IAB20M γ 1 EH3(M2)의 실시형태의 DNA 및 번역된 단백질 서열을 나타낸다.

도 58은 VL-Q79E, V83E; VH-Q1E, Q6E 다형성을 갖는 IAB20M γ 1 EH5(M2)의 실시형태의 DNA 및 번역된 단백질 서열을 나타낸다.

도 59는 VL-A9D, T10S, S12A, P15L, L21I, S22N; VH-Q1E, Q6E 다형성을 갖는 IAB20M γ 1 EH5(M2)의 실시형태의 DNA 및 번역된 단백질 서열을 나타낸다.

도 60은 IAB1M γ 1 EH1(M1) 및 IAB1M γ 1 EH3(M1)의 실시형태 각각의 단백질 서열의 정렬을 나타낸다. 서열의 차이는 박스 안에 나타나 있다.

도 61은 IAB 1M- γ 1 EH3(M1)의 실시형태의 DNA 및 번역된 단백질 서열을 나타낸다. 신호, CDR, 링커 및 힌지 서열들은 박스 안에 나타나 있다.

도 62는 IAB1M γ 2 EH2(M1)의 실시형태의 DNA 및 번역된 단백질 서열을 나타낸다.

- 도 63은 IAB1M γ 1 EH5(M1)의 실시형태의 DNA 및 번역된 단백질 서열을 나타낸다.
- 도 64는 IAB1M γ 1 EH7(M1)의 실시형태의 DNA 및 번역된 단백질 서열을 나타낸다.
- 도 65a는 IAB1M γ 1 EH8(M1)의 실시형태의 DNA 및 번역된 단백질 서열을 나타낸다.
- 도 65b는 IAB25M γ 2 NH(M1)의 실시형태의 DNA 및 번역된 단백질 서열을 나타낸다.
- 도 65c는 IAB25M γ 2 EH(M1)의 실시형태의 DNA 및 번역된 단백질 서열을 나타낸다.
- 도 66은 IAB22M VH 도메인의 실시형태의 단백질 서열을 나타낸다.
- 도 67은 IAB20 VL 도메인의 몇몇 실시형태의 단백질 서열을 나타낸다.
- 도 68은 IAB20 VH 도메인의 실시형태의 단백질 서열을 나타낸다.
- 도 69는 항-CD3 VL 및 VH 도메인의 몇몇 실시형태의 단백질 서열을 나타낸다.
- 도 70은 호모 사피엔스(Homo sapiens)에서 유래한 글루타메이트 카르복시펩티다아제 2로도 공지된 PSMA(전립선-특이적 막항원)의 실시형태의 단백질 서열을 나타낸다.
- 도 71은 호모 사피엔스에서 유래한 PSCA(전립선 줄기세포 항원)의 실시형태의 단백질 서열을 나타낸다.
- 도 72는 호모 사피엔스에서 유래한 5T4 종양 태아성 영양막 당단백질(5T4 oncofetal trophoblast glycoprotein)의 실시형태의 단백질 서열을 나타낸다.
- 도 73은 호모 사피엔스에서 유래한 T 세포 표면 당단백질 CD8 알파 사슬의 실시형태의 단백질 서열을 나타낸다.
- 도 74는 호모 사피엔스에서 유래한 T 세포 표면 당단백질 CD8 베타 사슬의 실시형태의 단백질 서열을 나타낸다.
- 도 75는 호모 사피엔스에서 유래한 T 세포 표면 당단백질 CD3 델타 사슬의 실시형태의 단백질 서열을 나타낸다.
- 도 76은 호모 사피엔스에서 유래한 T 세포 표면 당단백질 CD3 감마 사슬의 실시형태의 단백질 서열을 나타낸다.
- 도 77은 호모 사피엔스에서 유래한 T 세포 표면 당단백질 CD3 엡실론 사슬의 실시형태의 단백질 서열을 나타낸다.
- 도 78은 호모 사피엔스에서 유래한 T 세포 표면 당단백질 CD3 제타 사슬의 실시형태의 단백질 서열을 나타낸다.
- 도 79는 IAB25M- γ 2 EH2의 몇몇 실시형태에 대한 단백질 서열 정보를 나타낸다.
- 도 80은 IAB20M- γ 2 EH2의 몇몇 실시형태에 대한 단백질 서열 정보를 나타낸다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0039] 항원 결합 구조체를 위한 구성성분들이 본원에 개시되어 있으며, 상기 구성성분들로는 표적 분자에 결합하는 미니바디와 같은 항체 및 이의 단편들을 들 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 이들 구성성분은 신규한 힌지 서열 및/또는 상기 힌지 서열과 연관되고/되거나 상기 힌지 서열의 일부와 연관된 서열이다. 이들 힌지 서열은 다양한 이점을 제공할 수 있다. 본원에서 제공된 힌지 서열 또는 부분 서열들 중 하나 이상을 포함하는 항원 결합 구조체(예를 들어, 항체, 미니바디 등)들이 또한 본원에서 제공된다.
- [0040] 몇몇 실시형태에서, 상기 항원 결합 구조체들은 표적 분자를 발현하는 세포에 대해 치료제를 표적화하는데 유용할 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 항원 결합 구조체(항체, 및 미니바디와 같은 구조체를 포함함)들을 이용하여 표적 분자(또는 "표적")의 존재 유무를 검출하기 위한 방법들이 제공된다. 몇몇 실시형태에서, 치료 목적으로 상기 항원 결합 구조체를 이용하기 위한 방법들이 제공된다.
- [0041] 몇몇 실시형태에서, scFv 및 미니바디 항체는 부모 항체의 결합 특이성 및 친화도를 유지하면서도 보다 신속한 진단용 이미징을 위한 우수한 약동학적 특성을 가질 수 있다. 현재 기술은 전장 항체를 이용한 이미징을 이용하며, 이때 상기 이미징은 종종 온전한 항체의 느린 혈청 제거로 인해 고대비 이미지를 생성하기 위해서는 훨씬 더 긴 시간(주사 후 약 7 내지 8일)을 요구한다. 본원에서 제공된 미니바디의 몇몇 실시형태는 당일 또는 다음날 이미징을 위한 기회를 제공한다. 당일 또는 다음날 이미징은 또한 치료/진단을 받기 위해 상당한 거리를 이동하는 많은 환자들이 직면하는 문제점에 대한 논리적 해결안을 제공하는데, 이는 온전한 항체에 대한 미니바디를 사용하여 이미징하는 경우 이동/숙박 기간 또는 1주일 후에 되돌아올 필요성이 해소될 수 있기 때문이다.

- [0042] 하기에 설명된 바와 같이, 몇몇 실시형태에서 상기 항원 결합 구조체들은 진단용이다. 적절한 방사성 핵종(예를 들어, PET 이미징을 위한 양전자 에미터인 요오드-124, 구리-64, 붐소-18, 갈륨-68 및/또는 지르코늄-89) 또는 형광단(fluorophore; 형광 이미징용)으로 표시되는 경우, 상기 항체 단편들은 본원에 나타낸 바와 같은 전임상적 이미징용으로 사용될 수 있고, 환자에서 임상적 이미징용으로 사용될 수 있다. 이들 항원 결합 구조체들은 또한 방사선 표지를 인듐-111, 요오드-123 및 루테튬-177과 같은 단일 광자 방출 방사성 핵종으로 단순히 변경함으로써 잠재적인 SPECT 이미징제(imaging agent)로서 사용될 수 있다.
- [0043] 몇몇 실시형태에서, 상기 항원 결합 구조체들은 인간에서 임상적 이미징제(PET/SPECT)일 수 있다. 따라서 몇몇 실시형태에서 항원 결합 구조체들은 이들 질환에 대한 표적화된 진단 검출용으로 사용될 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 상기 항원 결합 구조체는 치료제로서 사용될 수 있다.
- [0044] **정의 및 다양한 실시형태**
- [0045] "힌지"란 용어는 항체 또는 미니바디와 같은 항원 결합 구조체를 위한 힌지 영역의 적어도 일부분을 나타낸다. 힌지 영역은 상부 힌지, 코어(또는 중간) 힌지 및 하부 힌지 영역의 조합을 포함할 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 상기 힌지는 상기 항체 힌지에 대한 임의의 정의에 따라 정의된다. 천연 IgG1, IgG2 및 IgG4 항체는 12 내지 15개의 아미노산을 갖는 힌지 영역을 갖는다. IgG3은 21개의 프롤린 및 11개의 시스테인을 포함한 62개의 아미노산을 갖는 연장된 힌지 영역을 갖는다. 결정학 연구로부터 유도된 자연적으로 발생하는 항체의 작용성 힌지 영역은 IgG1 중쇄의 216번 내지 237번째 아미노산 잔기들로부터 연장되고(EU 넘버링(EU numbering); 참고문헌 12), 하부 힌지에 CH2 도메인의 N 말단의 작은 분절을 포함하며, 이때 상기 하부 힌지는 CH2 도메인의 N 말단이다. 상기 힌지는 3개의 영역, 즉 "상부 힌지," "코어" 및 "하부 힌지"로 분할될 수 있다.
- [0046] 힌지(또는 이의 서브파트(subpart))를 개질하는 경우 "인공적인" 또는 "비자연적인"이란 용어는 당해 서열이 자연에서 상술한 상태로 존재하지 않는다는 것을 의미한다. 본 발명의 문맥에서, 상기 힌지들은 이들의 천연 상태로부터 변경되어 있어, 이들의 서열은 야생형 항체에서는 더 이상 발견되는 것이 아니다. 당해 기술분야의 숙련자에 의해 인지되는 바와 같이, 미니바디는 자연에서 자연적으로 발생하지 않으며, 따라서 미니바디 구조체인 임의의 구조체는 또한 자연에서 발견되지 않는다. 이는 또한 본원에서 제공된 임의의 힌지 서열 표(예를 들어, 표 0.2)에서 발견되는 구조체 및/또는 상기 표에 있는 서열들을 혼입한 구조체들 중 적어도 일부분에 적용된다. 몇몇 실시형태에서, 표 0.1에 있는 임의의 힌지 서브파트 또는 전체 힌지 서열들은 상기 서열(또는 상기 힌지에 대한 결과적인 조합)이 자연에서 발생하지 않는 한 인공적인 힌지 서열일 수 있다.
- [0047] "전체 힌지 영역" 또는 "힌지 영역 전체"란 용어는 단일 구조체로서 상부, 코어, 및 하부 힌지 영역 전체의 존재를 나타낸다. 상기 상부, 코어 및 하부 영역은 서로에 대해 바로 인접하게 위치할 수 있거나, 부가적인 잔기들이 상기 영역들 사이에 부가되거나 상기 영역의 N-말단 또는 C-말단에 부가될 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 상기 천연 하부 힌지는 연장 서열로 치환될 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 당업자라면 천연 하부 힌지를 상기 연장 서열과 조합할 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 연장 서열 또는 기타 서열 세트는 상부 및/또는 코어 서열 다음에 부가될 수 있다.
- [0048] "유효 힌지 영역"이란 문구는 상기 힌지 영역이 이의 의도된 목적으로 인해 유효성이 있도록 하기 위해 상기 상부, 코어 및 하부 힌지 영역 중 적어도 하나의 일부가 적절한 양으로 존재한다는 것을 의미한다. 따라서 상기 문구는 힌지 영역의 변이체 및 다양한 힌지 영역의 단편들을 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 상기 힌지 영역의 기능으로는 하나 이상의 하기 기능이 있다: C_H3 도메인과 scFv를 연결하기, 표적과 적절히 결합하기 위해 2개의 scFv를 위한 가요성(flexibility) 및 간격(spacing)을 제공하기, 2개의 반분자를 함께 연결하기, 분자에 대한 전체 안정성을 제공하기, 및/또는 이의 용매 노출로 인한 부위-특이적 접합을 위한 부위를 제공하기. 몇몇 실시형태에서, 상기 힌지는 잠재적인 면역원성을 감소시키기 위해 천연에 가까워야 한다. 몇몇 실시형태에서, 상기 상부 힌지는 scFv(천연 IgG에서는 216번째 잔기에서 시작함)에 대한 가요성을 제공하고, 상기 중간 힌지는 안정성을 제공하며, 상기 하부 힌지는 C_H3(천연 IgG에서는 213번째 잔기에서 시작함)에 대한 가요성을 중재한다.
- [0049] "상부 힌지"란 용어는 scFv의 말단에서 시작하는 힌지의 첫 번째 부분을 나타낸다. 상부 힌지 영역의 예는 표 0.1에서 찾아볼 수 있다. 상기 상부 힌지는 상기 scFv의 말단으로부터 표 0.1에 나타낸 바와 같은 코어 힌지 내의 첫 번째 시스테인 잔기에 이르기까지의 아미노산을 포함하지만, 상기 첫 번째 시스테인 잔기를 포함하지 않는다. 상기와 같이, "유효 상부 힌지"란 용어는 상기 절편이 상부 힌지로서 기능을 하도록 하기 위해 상기 서열이 충분한 양으로 존재한다는 것을 의미하며, 이때 상기 용어는 상기 지정된 힌지 절편의 작용성 변이체 및 단편들을 포함한다.

- [0050] "코어 힌지"란 용어는 상기 상부 힌지에 대해 C-말단에 있는 힌지 영역의 두 번째 부분을 나타낸다. 코어 힌지 영역의 예는 표 0.1에서 찾아볼 수 있다. 상기 코어 힌지는 사슬간 이황화 브릿지(inter chain disulfide bridge) 및 높은 함량의 프롤린을 함유한다. 상기와 같이, "유효 코어 힌지"란 용어는 상기 절편이 코어 힌지로서 기능을 하도록 하기 위해 상기 서열이 충분한 양으로 존재한다는 것을 의미하며, 이때 상기 용어는 상기 지정된 힌지 절편의 작용성 변이체 및 단편들을 포함한다.
- [0051] "하부 힌지"란 용어는 상기 코어 힌지에 대해 C-말단에 있는 힌지 영역의 제 3의 부분을 나타낸다. 하부 힌지 영역의 예는 표 0.1에서 찾아볼 수 있다. 미니바디 또는 항체 단편의 문맥에서, 상기 하부 힌지는 C_H3 도메인 Mb에 결합된다. 상기와 같이, "유효 하부 힌지"란 용어는 상기 절편이 하부 힌지로서 기능을 하도록 하기 위해 상기 서열이 충분한 양으로 존재한다는 것을 의미하며, 이때 상기 용어는 상기 지정된 힌지 절편의 작용성 변이체 및 단편들을 포함한다. 본원에서 사용된 바와 같은 "하부 힌지"란 용어는 본원에서 제공된 자연적으로 발생하는 IgG 하부 힌지 서열 및 인공적인 연장 서열(서로에 대해 대신함) 또는 이들의 조합을 포함하는 다양한 아미노산 서열들을 포함할 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 상기 다양한 연장은 그 전체 또는 교체부분에서 하부 힌지 영역인 것으로 고려될 수 있다.
- [0052] 병태의 "치료하기" 또는 "치료"란 용어는 상기 병태의 예방, 상기 병태의 발병 및/또는 진행율의 감속, 상기 병태의 발병 위험성의 감소, 상기 병태와 연관된 증상의 발병의 예방 및/또는 지연, 상기 병태와 연관된 증상의 감소 또는 종식, 상기 병태의 완전 또는 부분적인 퇴행의 발생 또는 이들의 몇몇 조합을 지칭할 수 있다. "예방"이란 용어는 질환 또는 질병의 절대적인 금지를 요구하지 않는다.
- [0053] "치료학적 유효량" 또는 "치료학적 유효 투여량"은 표적 병태를 예방하고 치료하기, 질환 및/또는 증상의 발병을 연기하기, 및/또는 상기 병태와 연관된 증상들을 완화하기와 같이 개체에서 목적하는 치료 효과를 발휘하는 양이다. 이러한 양은 치료용 화합물의 특성(활성, 약동학, 약역학 및 생체 이용 가능성을 포함함), 개체의 생리학적 조건(나이, 성별, 질병의 유형 및 단계, 전신 상태, 주어진 투여량에 대한 반응성 및 투약 유형을 포함함), 제형 내 약학적으로 허용 가능한 담체 또는 담체들의 본성 및/또는 투여 경로를 포함하지만 이에 제한되지 않는 다양한 인자에 따라 다를 것이다. 임상 및 약학 분야에서의 숙련자라면, 예를 들어 본 발명의 개시내용을 고려할 때, 예를 들어 화합물의 투여에 대한 개체의 반응을 모니터링하고 이에 따라 투여량을 조절함으로써 통상의 실험을 통해 치료학적 유효량을 결정할 수 있을 것이다. 부가적인 지침을 위해 문헌[Remington: The Science and Practice of Pharmacy 21st Edition, Univ. of Sciences in Philadelphia (USIP), Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, PA, 2005]을 참고한다.
- [0054] "항원 결합 구조체"란 용어는 매우 다양한 항체(이의 결합 단편들을 포함함)를 포함한다. 1개, 2개, 3개, 4개, 5개 및/또는 6개의 CDR을 포함하는 구조체들이 더 포함된다. 몇몇 실시형태에서, 탠덤(tandem) scFv가 제공될 수 있으며, 이때 상기 탠덤 scFv는 2개의 암(arm)에 2가 결합을 제공할 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 이들 CDR은 통상의 항체에서 이들의 적절한 골격 영역 사이에 분포할 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 상기 CDR은 중쇄 및/또는 경쇄 가변 영역 내에 포함될 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 상기 CDR은 중쇄 및/또는 경쇄 내에 있을 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 상기 CDR은 단일 펩티드 사슬 내에 있을 수 있다. 본원에서 달리 언급하지 않는 한, 본원에 개시된 항원 결합 구조체들은 상술한 표적 분자에 결합한다. "표적" 또는 "표적 분자"란 용어는 항원 결합 구조체가 결합하는 단백질을 나타낸다. 표적 단백질의 예는 당해 기술분야에 공지되어 있으며, 예를 들어 PSMA(예를 들어, FOLH1)(도 70; 서열번호 131), PSCA(도 71; 서열번호 132), 5T4(예를 들어, TPBG)(도 72; 서열번호 133), CD8(예를 들어, α 사슬)(도 73; 서열번호 134), CD8(예를 들어, β 사슬)(도 74; 서열번호 135), CD3(예를 들어, δ 사슬)(도 75; 서열번호 136), CD3(예를 들어, γ 사슬)(도 76; 서열번호 137), CD3(예를 들어, ε 사슬)(도 77; 서열번호 138), CD3(예를 들어, ζ 사슬)(도 78; 서열번호 139)을 들 수 있다.
- [0055] "항체"란 용어는 인트라바디(intrabody), 키메라 항체, 완전 인간 항체, 인간화 항체, 항체 단편, scFv 및 이형 접합 항체(예를 들어, 이중 특이성 항체, 다이바디(diabody), 트리바디(triabody), 테트라바디(tetrabody) 등)와 같이 면역 글로불린의 유전적으로 조작되거나 그렇지 않은 경우에 개질된 형태를 포함하지만, 이에 제한되지 않는다. "항체"란 용어는 scFv 및 미니바디를 포함한다. 따라서 "항체"와 관련하여 본원에서 제공된 실시 형태 각각 및 이들 모두는 달리 명백하게 언급하지 않는 한 scFv 및/또는 미니바디의 실시형태로서 구현된다. "항체"란 용어는 면역 글로불린 패밀리(family)의 폴리펩티드 또는 상응하는 항원과 비공유적 및 가역적으로 결합하고 특정 방식으로 결합할 수 있는 면역 글로불린의 단편들을 포함하는 폴리펩티드를 포함한다. 예시적인 항체 구조 단위는 사량체를 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 전장 항체는 2개의 동일한 폴리펩티드 사슬 쌍으로 구성될 수 있으며, 각각의 쌍은 1개의 "경쇄" 및 1개의 "중쇄"(이황화 결합을 통해 결합됨)를 갖는다. 상기 알

려진 면역 글로불린 유전자들은 매우 다양한 면역 글로불린 가변 영역 유전자들뿐만 아니라 카파, 람다, 알파, 감마, 델타, 엡실론, 힌지 및 뮤(mu) 불변 영역 유전자들을 포함한다. 전장 사슬에 있어서, 경쇄는 카파 및 람다 중 하나로 분류된다. 전장 사슬에 있어서, 중쇄는 감마, 뮤, 알파, 델타 또는 엡실론으로서 분류되며, 이어 이는 각각 면역 글로불린 부류인 IgG, IgM, IgA, IgD 및 IgE를 한정한다. 각각 사슬의 N-말단은 주로 항원 인식에 책임이 있는 약 100개 내지 110개 또는 그 이상의 아미노산으로 이루어진 가변 영역을 한정한다. 가변 경쇄(V_L) 및 가변 중쇄(V_H)란 용어들은 각각 이들 경쇄 및 중쇄의 영역을 지칭한다. 본원에서 사용된 바와 같이, "항체"는 매우 다양한 항체 및 이들의 단편을 포함한다. 따라서 전장 항체, 키메라 항체, 인간화 항체, 단일 사슬 항체(scFv), Fab, Fab', 및 동일한 결합 특이성을 갖는 이들 단편의 다중 결합 버전(multimeric version; 예를 들어, $F(ab')_2$)이 이러한 개념의 범주 내에 있다. 몇몇 실시형태에서, 상기 항체는 목적하는 표적에 특이적으로 결합한다.

[0056] "상보성 결정 도메인" 또는 "상보성 결정 영역("CDR")"이란 용어는 V_L 및 V_H 의초가변 영역들을 상호 교환 가능하게 지칭한다. 상기 CDR은 이 같은 표적 분자에 대한 특이성을 갖는 항체 사슬들의 표적 분자 결합 부위이다. 몇몇 실시형태에서, 상기 가변 도메인의 약 15 내지 20%를 구성하는 V_L 및/또는 V_H 각각에는 3개의 CDR(CDR1 내지 CDR3; N-말단으로부터 연속적으로 넘버링됨)이 존재한다. 상기 CDR은 상기 표적 분자의 에피토프(epitope)에 대해 구조적으로 상보적이며, 따라서 결합 특이성에 직접적으로 책임이 있다. 상기 V_L 또는 V_H 의 나머지 영역, 소위 골격 영역(FR)은 보다 적은 아미노산 서열에서의 변이를 나타낸다(문헌[Kuby, Immunology, 4th ed., Chapter 4. W.H. Freeman & Co., NewYork, 2000]).

[0057] 상기 CDR 및 골격 영역의 위치는 당해 기술분야에 널리 공지된 다양한 정의, 예를 들어 카바트(Kabat)(문헌[Wu, T. T. 등, "An analysis of the sequences of the variable regions of Bence Jones proteins and myeloma light chains and their implications for antibody complementarity," J. Exp. Med., Vol. 132, No. 2, pp. 211-250, 1970]; 문헌[Kabat, E. A. 등, "Sequences of Proteins of Immunological Interest," 5th Ed., NIH Publication No. 91-73242, Bethesda, MD, 1991], 문헌[Chothia C. 등, "Canonical structures for the hypervariable regions of immunoglobulins," J. Mol. Biol., Vol. 196, No. 4, pp. 901-917, 1987]; 문헌[Chothia C. 등, "Conformations of immunoglobulin hypervariable regions," Nature, Vol. 342, No. 6252, pp. 877-883, 1989]; 문헌[Chothia C. 등, "Structural repertoire of the human VH segments," J. Mol. Biol., Vol. 227, No. 3, pp. 799-817, 1992]; 문헌[Al-Lazikani B. 등, "Standard conformations for the canonical structures of immunoglobulins," J. Mol. Biol., Vol. 273, No. 4, pp. 927-748, 1997]), 이뮤노제네틱스(ImMunoGeneTics) 데이터베이스(IMGt)(www.imgt.org/상)(문헌[Giudicelli, V. 등, "IMGt/LIGM-DB, the IMGt[®] comprehensive database of immunoglobulin and T cell receptor nucleotide sequences," Nucleic Acids Res., Vol. 34 (Database Issue), pp. D781-D784, 2006]; 문헌[Lefranc, M. P. 등, "IMGt unique numbering for immunoglobulin and T cell receptor variable domains and Ig superfamily V-like domains," Dev. Comp. Immunol., Vol. 27, No. 1, pp. 55-77, 2003]; 문헌[Brochet, X. 등, "IMGt/V-QUEST: the highly customized and integrated system for IG and TR standardized V-J and V-D-J sequence analysis," Nucleic Acids Res., Vol. 36 (Web Server Issue), pp. W503-508, 2008]; AbM(문헌[Martin, A. C. 등, "Modeling antibody hypervariable loops: a combined algorithm," Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., Vol. 86, No. 23, pp. 9268-9272, 1989]); 접촉 정의(contact definition)(문헌[MacCallum, R. M. 등, "Antibody-antigen interactions: contact analysis and binding site topography," J. Mol. Biol., Vol. 262, No. 5, pp. 732-745, 1996]), 및/또는 자동 모델링 및 분석 도구(Honegger, A. 등, www/bioc.uzh.ch/plueckthun/antibody/Numbering/상에서 접속 가능함)를 이용하여 결정될 수 있다.

[0058] "결합 특이성 결정인자" 또는 "BSD"란 용어는 항체의 결합 특이성을 결정하기 위해 필요한 상보성 결정 영역 내의 최소의 인접하거나 인접하지 않은 아미노산 서열을 상호 교환 가능하게 지칭한다. 최소의 결합 특이성 결정인자는 하나 이상의 CDR 서열 내에 있을 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 상기 최소의 결합 특이성 결정인자들은 항체의 중쇄 및 경쇄의 CDR3 서열의 일부분 또는 전체(즉, 이들에 의해서만 결정됨) 내에 존재한다. 몇몇 실시형태에서, 상기 중쇄 가변 영역의 CDR3은 항원 결합 구조체 특이성을 위해 충분하다.

[0059] 본원에서 사용된 바와 같은 "항체 가변 경쇄" 또는 "항체 가변 중쇄"는 V_L 또는 V_H 각각을 포함하는 폴리펩티드를 지칭한다. 내생성 V_L 은 유전자 분절인 V(가변) 및 J(접합)에 의해 암호화되고, 내생성 V_H 는 V, D(다양성) 및 J에 의해 암호화된다. V_L 또는 V_H 각각은 골격 영역뿐만 아니라 CDR을 포함한다. 본 명세서에서, 항체 가변 경쇄

및/또는 항체 가변 중쇄는 때때로 총괄하여 "항체 사슬"로 지칭될 수 있다. 이들 용어들은 당해 기술분야의 숙련자가 용이하게 인지하는 바와 같이 V_L 또는 V_H 의 기본 구조를 파괴하지 않는 돌연 변이를 함유한 항체 사슬들을 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 전장 중쇄 및/또는 경쇄가 고려된다. 몇몇 실시형태에서, 상기 중쇄 및/또는 경쇄의 가변 영역만이 존재하는 것으로 고려된다.

[0060] 항체는 온전한 면역 글로불린으로서 존재할 수 있거나 다양한 펩티다아제에 의한 분해(digestion)에 의해 생성된 다수의 단편으로서 존재할 수 있다. 따라서, 예를 들어 펩신은 힌지 영역 내의 이황화 연결 하부에서 항체를 분해하여 $F(ab)'_2$ 를 생성하며, 이때 상기 $F(ab)'_2$ 는 그 자체가 이황화 결합에 의해 V_H-C_H1 에 접합된 경쇄(V_L-C_L)인 Fab'의 이량체이다. 상기 $F(ab)'_2$ 는 상기 힌지 영역 내의 이황화 연결을 파괴하기 위한 온화한 조건 하에서 환원될 수 있으며, 그 결과 $F(ab)'_2$ 이량체는 Fab' 단량체로 변환된다. 상기 Fab' 단량체는 힌지 영역의 일부를 갖는 Fab이다(문헌[Paul, W. E., "Fundamental Immunology," 3d Ed., New York: Raven Press, 1993]). 다양한 항체 단편들이 온전한 항체의 분해와 관련하여 정의될지라도 숙련자라면 이 같은 단편들이 화학적으로 또는 재조합 DNA 방법론을 이용하여 신생 합성될 수 있다는 것을 인지할 것이다. 따라서 본원에서 사용된 바와 같은 "항체"이란 용어는 또한 항체 전체의 개질에 의해 생성된 항체 단편들을 포함하거나, 재조합 DNA 방법론을 이용하여 신생 합성된 항체 단편(예를 들어, 단일 사슬 Fv) 또는 파지 디스플레이 라이브러리(phage display library)를 이용하여 확인된 항체 단편을 포함한다(예를 들어, 문헌[McCafferty, J. 등, "Phage antibodies: filamentous phage displaying antibody variable domains," Nature, Vol. 348, No. 66301, pp. 552-554, 1990] 참조).

[0061] 단클론성 또는 다클론성 항체의 제조를 위해, 당해 기술분야에 공지된 임의의 기법이 사용될 수 있다(예를 들어, 문헌[Kohler, G. 등, "Continuous cultures of fused cells secreting antigen of predefined specificity," Nature, Vol. 256, No. 5517, pp. 495-497, 1975]; 문헌[Kozbor, D. 등, "The production of monoclonal antibodies from human lymphocytes," Immunology Today, Vol. 4, No. 3, pp. 72-79, 1983]; 문헌[Cole, 등, "Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy," Alan R. Liss, Inc., pp. 77-96, 1985]; 문헌[Wang, S., "Advances in the production of human monoclonal antibodies," Antibody Technology Journal, Vol. 1, pp. 1-4, 2011]; 문헌[Sharon, J. 등, "Recombinant polyclonal antibodies for cancer therapy," J. Cell Biochem., Vol. 96, No. 2, pp. 305-313, 2005]; 문헌[Haurum, J. S., "Recombinant polyclonal antibodies: the next generation of antibody therapeutics?," Drug Discov. Today, Vol. 11, No. 13-14, pp. 655-660, 2006] 참조). 단일 사슬 항체의 제조를 위한 기법(미국 특허 제 4,946,778 호)들은 본 발명의 폴리펩티드에 대한 항체를 생성하기 위해 조정될 수 있다. 또한 형질전환 마우스, 또는 기타 포유동물들과 같은 기타 유기체들은 완전 인간 단클론성 항체를 발현하기 위해 사용될 수 있다. 대안적으로는, 파지 디스플레이 기술은 선택된 항원에 대한 고친화도 결합체를 확인하기 위해 사용될 수 있다(예를 들어, 문헌[McCafferty 등, 상기와 동일]; 문헌[Marks, J. D. 등, "By-passing immunization: building high affinity human antibodies by chain shuffling," Biotechnology (N. Y.), Vol. 10, No. 7, pp. 779-783, 1992] 참조).

[0062] 비인간 항체를 인간화하거나 영장류화(primatization)하기 위한 방법들이 당해 기술분야에 널리 공지되어 있다. 일반적으로, 인간화 항체는 비인간인 공급원으로부터 그 내부로 도입된 하나 이상의 아미노산 잔기를 갖는다. 이들 비인간 아미노산 잔기들은 종종 외래 잔기(import residue)로서 지칭되며, 상기 외래 잔기는 전형적으로 외래 가변 도메인으로부터 인출된다. 몇몇 실시형태에서, "도너(donor)" 및 "수용체(acceptor)" 서열이란 용어들이 사용될 수 있다. 인간화는 본질적으로는 인간 항체의 상응하는 서열을 대신하여 설치류 CDR 또는 CDR 서열을 치환함으로써 윈터(Winter)와 그 동료들에 의한 상기 방법에 따라 수행될 수 있다(예를 들어, 문헌[Jones, P. T. 등, "Replacing the complementarity-determining regions in a human antibody with those from a mouse," Nature, Vol. 321, No. 6069, pp. 522-525, 1986]; 문헌[Riechmann, L. 등, "Reshaping human antibodies for therapy," Nature, Vol. 332, No. 6162, pp. 323-327, 1988]; 문헌[Verhoeven, M. 등, "Reshaping human antibodies: grafting an antilysozyme activity," Science, Vol. 239, No. 4847, pp. 1534-1536, 1988]; 문헌[Presta, L. G., "Antibody engineering," Curr. Op. Struct. Biol., Vol. 2, No. 4, pp. 593-596, 1992] 참조). 따라서 이 같은 인간화 항체들은 키메라 항체(미국 특허 제 4,816,567)이며, 여기서 실질적으로 보다 적은 온전한 인간 가변 도메인이 비인간 종에서 유래한 상응하는 서열에 의해 치환된다. 실제로는, 인간화 항체는 전형적으로는 몇몇 상보성 결정 영역("CDR") 잔기 및 가능하게는 몇몇 골격("FR") 잔기들이 설치류 항체 내 유사한 부위에서 유래한 잔기에 의해 치환된 인간 항체이다.

[0063] "키메라 항체"는, (a) 항원 결합 부위(가변 영역)가 상이하거나 변경된 부류, 작동자(effector) 기능 및/또는

종의 불변 영역, 또는 상기 키메라 항체에 새로운 특성을 부여하는 완전히 상이한 분자, 예를 들어 효소, 독소, 호르몬, 성장 인자 및 약물에 연결되도록 불변 영역 또는 이의 일부분이 변경, 교체 또는 교환된 항체 분자; 또는 (b) 가변 영역 또는 이의 일부분이 상이하거나 변경된 항원 특이성을 갖는 가변 영역에 의해 변경, 교체 또는 교환된 항체 분자이다.

[0064] 항체는 기타 단백질과의 융합 단백질에 화학적으로 접합되어 있거나 상기 융합 단백질로서 발현되는 하나 이상의 면역 글로불린 사슬을 더 포함한다. 이는 또한 이중 특이성 항체를 포함한다. 이중 특이성 또는 이작용성 항체는 2개의 상이한 중쇄/경쇄 쌍 및 2개의 상이한 결합 부위를 갖는 인공적인 하이브리드 항체이다.

[0065] 본 발명의 기타 항원 결합 단편 또는 항체 부분들은 이중 특이성 scFv 항체를 포함하며, 여기서 항체 분자는 2개의 상이한 에피토프, 단일 결합 도메인(sdAb 또는 나노바디(nanobody)) 및 미니바디를 인식한다.

[0066] "항체 단편"이란 용어는 항체의 하나 이상의 항원 결합 단편을 포함하지만 이에 제한되지 않으며, 이때 상기 항체는 단독 또는 Fab', F(ab')₂, Fab, Fv, rIgG(환원된 IgG), scFv 단편, 단일 도메인 단편(나노바디), 펩티바디(peptibody), 미니바디를 포함하지만 이에 제한되지 않는 기타 분자들과 함께 포함된다. "scFv"란 용어는 통상 2개의 사슬 항체의 중쇄 및 경쇄의 가변 도메인들이 연결되어 하나의 사슬을 형성하는 단일 사슬 Fv("단편 가변") 항체를 지칭한다.

[0067] 약학적으로 허용 가능한 담체는 약학적으로 허용 가능한 물질, 조성물, 또는 당해 화합물을 하나의 조직, 기관 또는 신체의 일부분으로부터 다른 조직, 기관 또는 신체의 일부분으로 이송하거나 전달하는 것과 관련이 있는 비히클(vehicle)일 수 있다. 예를 들어, 상기 담체는 액체 또는 고체 충전제, 희석제, 부형제, 용매, 봉지재 또는 이들의 몇몇 조합일 수 있다. 상기 담체의 구성성분 각각은 제형의 기타 성분들과 양립할 수 있도록 "약학적으로 허용 가능"하다. 이는 또한 상기 구성성분이 우연히 접할 수 있는 임의의 조직, 기관 또는 신체의 일부분과의 접촉에 적합해야 하며, 이는 상기 구성성분이 독성, 자극, 알레르기 반응, 면역원성, 또는 이의 치료학적 이점을 지나치게 증가하는 임의의 기타 조합의 위험성을 갖지 않는다는 것을 의미한다. 본원에 개시된 약학 조성물들은 임의의 적합한 투여 경로로 투여될 수 있다. 투여 경로는 당해 기술분야에 공지된 임의의 투여 경로를 지칭할 수 있으며, 이때 상기 투여 경로는 에어로졸, 장관, 비강, 안구, 경구, 비경구, 직장, 경피(예를 들어, 국소용 크림 또는 연고, 패치), 또는 질을 포함하지만 이에 제한되지 않는다. "경피" 투여는 국소용 크림 또는 연고를 사용하거나 경피 패치에 의해 달성될 수 있다. "비경구"는 일반적으로 주사와 연관된 투여 경로를 지칭하며, 이때 상기 투여 경로로는 안와하(infraorbital), 주입, 동맥 내, 낭 내, 심장 내, 진피 내, 근육 내, 복강 내, 폐 내, 척수 내, 흉골 내, 척수강 내, 자궁 내, 정맥 내, 지주막하(subarachnoid), 피막하(subcapsular), 피하, 경점막(transmucosal) 또는 경기관(transtracheal)을 들 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 상기 항원 결합 구조체는 중재기술 또는 절제 도중에 국부 투여로서 외과적 수술에 의해 전달될 수 있다.

[0068] "표적 분자 의존 질환" 또는 "표적 분자 연관 질환"이란 용어는 상기 표적 분자가 질환 그 자체에서 역할을 하는 임의의 질환을 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 이는 상기 표적 분자의 과발현을 나타낸다. 몇몇 실시형태에서, 상기 질환으로는 본원에서 토의된 임의의 질환들을 들 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 상기 질환은 결합에 의해 표적화될 수 있는 표적 분자가 존재하는 임의의 질환일 수 있으며, 이러한 결합은 상기 질환의 검출 및/또는 치료를 초래할 것이다. 상기 표적 분자는, 예를 들어 CD8, CD3, 5T4, PSMA 및/또는 PSCA일 수 있지만, 이에 제한되지 않는다.

[0069] 미니바디는 항원에 대한 2가 결합 특성을 유지하면서 전장 항체보다 작은 분자량을 갖는 항체 포맷(antibody format)이다. 이의 보다 작은 크기, Fc-감마 및 FcR γ 수용체를 결합시키는 CH2 도메인의 부재, 글리코실화의 부재로 인해, 상기 미니바디는 종양 조직을 표적화하는 경우에 상기 시스템으로부터의 보다 신속한 제거 및 잠재적으로 증강된 침투를 나타낸다. 강력한 표적화 능력이 신속한 제거와 결합되는 경우, 상기 미니바디는 진단용 이미징 및 방사성 탑재물(payload)의 전달에 유리하며, 이로 인해 순환 시간의 연장이 환자 투약 및 투약 측정(dosimetry)에서의 어려움을 초래할 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 이는 또한 종양 침투 및 보다 신속한 제거와 같은 상술한 특징으로 인해 세포 독성 탑재물의 전달에 유리할 수도 있다. 본원에 개시된 "미니바디"는 동종 이량체를 포함하며, 여기서 단량체 각각은 힌지 서열에 의해 인간 IgG C μ 3 도메인에 연결된 단일 사슬 가변 단편(scFv)이다. 몇몇 실시형태에서, 미니바디는 80kDa의 2가 또는 이중 특이성의 공유 결합된 동종 이량체이다. 몇몇 실시형태에서, 단량체(반분자) 각각은 대략 15개 내지 18개의 아미노산으로 이루어진 Gly-Ser-풍부 링커 서열에 의해 상응하는 가변 경쇄(V_L) 도메인에 연결된 가변 중쇄(V_H)로 구성되어 있다.

[0070] 몇몇 실시형태에서, 단일 사슬 가변 단편(scFv) 각각은 힌지 서열에 의해 인간 IgG1, IgG2, IgG3 또는 IgG4 C μ 3

도메인에 연결되어 있다.

- [0071] 몇몇 실시형태에서, 하부 힌지/연장 서열은 천연 IgG1, IgG2, IgG3 또는 IgG4 하부 힌지, 및/또는 $(G_3)_n$ 또는 $(G_4)_n$ (n 은 S의 임의의 개수일 수 있고; 몇몇 실시형태에서 이는 1 또는 2임)일 수 있고/있거나 하부 힌지가 아닐 수도 있고/있거나, 아미노산(G 및 S이어서는 안됨)의 임의의 조합일 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 상기 하부 힌지/연장 서열은 GGGSSGGSG(서열번호 59)를 포함할 수 있다.
- [0072] 몇몇 실시형태에서, 링커는 기능을 나타내는 임의의 링커일 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 링커 서열은 $(G_3)_n$ 또는 $(G_4)_n$ (n 은 S의 임의의 개수일 수 있고; 몇몇 실시형태에서 이는 1 또는 2임)인 모티프를 포함할 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 상기 링커는 GSTSGGGSGGGSGGGSS(서열번호 62)를 포함할 수 있다.
- [0073] 항체 또는 항체-유래 결합제에 대한 항원, 예를 들어 단백질과의 상호작용을 설명하는 문맥에서 사용되는 경우에 "특이적으로(또는 선택적으로) 결합하기"란 용어는 단백질 및 기타 생물체제의 이중성 개체에서의 항원의 존재, 예를 들어 생물 시료, 예를 들어 혈액, 혈청, 혈장 또는 조직 시료에서의 항원의 존재를 결정하는 결합 반응을 지칭한다. 따라서 몇몇 실시형태에서 지정된 면역 검정 조건 하에 특정한 결합 특이성을 갖는 항체 또는 결합제들은 배경에 비해 적어도 2배 정도 특정 항원에 결합하고, 상기 시료에 존재하는 기타 항원에 대해 실질적으로는 유의한 양으로 결합하지 않는다. 이 같은 조건 하에 항체 또는 결합제에 대한 특이적 결합은 특정 단백질에 대한 이의 특이성으로 인해 선택되어야 하는 상기 항체 또는 결합제를 필요로 할 수 있다. 다양한 면역 검정 포맷은 특정 단백질과 특이적으로 면역 반응하는 항체를 선별하기 위해 사용될 수 있다. 예를 들어, 고체상 ELISA 면역 검정은 단백질과 특이적으로 면역 반응하는 항체를 선별하기 위해 통상 사용된다(예를 들어, 특이적 면역 반응성을 결정하기 위해 사용될 수 있는 면역 검정 포맷 및 조건의 설명을 위해 문헌{Harlow, E. & Lane D., "Using Antibodies, A Laboratory Manual," Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1998} 참고). 전형적으로는, 특이적 또는 선택적 결합 반응은 배경 신호에 대해 적어도 2배, 보다 전형적으로는 상기 배경에 대해 적어도 10배 내지 100배 이상으로 신호를 생성할 것이다.
- [0074] "평행 해리 상수(K_D , M)"란 용어는 결합 속도 상수(k_a , 시간⁻¹M⁻¹)로 나눈 해리 속도 상수(k_d , 시간⁻¹)를 지칭한다. 평행 해리 상수는 당해 기술분야에 공지된 임의의 방법을 이용하여 측정될 수 있다. 본 발명의 항체는 일반적으로는 약 10^{-7} 또는 10^{-8} M 미만, 예를 들어 약 10^{-9} M 또는 10^{-10} M 미만의 평행 해리 상수를 가질 것이며, 몇몇 실시형태에서 약 10^{-11} M, 10^{-12} M 또는 10^{-13} M 미만의 평행 해리 상수를 가질 것이다.
- [0075] 핵산 또는 단백질에 적용하는 경우에 "단리된"이란 용어는 천연 상태에서 핵산 또는 단백질이 결합하는 기타 세포 구성성분이 상기 핵산 또는 단백질에는 본질적으로 존재하지 않는다는 것을 의미한다. 몇몇 실시형태에서, 이는 건조 용액이거나 수용액 일 수 있다. 순도 및 동종성은 폴리아크릴아미드 겔 전기영동 또는 고성능 액체 크로마토그래피와 같은 분석 화학 기법들을 이용하여 결정될 수 있다. 제제 내에 존재하는 우점종인 단백질이 실질적으로 정제된다. 특히, 단리된 유전자는 상기 유전자 옆에 있고 당해 유전자가 아닌 단백질을 암호화하는 오픈 리딩 프레임(open reading frame)으로부터 분리된다. "정제된"이란 용어는 핵산 또는 단백질이 전기영동 겔에 본질적으로 하나의 밴드를 생성한다는 것을 의미한다. 몇몇 실시형태에서, 이는 상기 핵산 또는 단백질은 생체 내(*in vivo*) 조건 하에 존재하는 분자의 경우에 적어도 85% 순수하고, 보다 바람직하게는 적어도 95% 순수하고, 가장 바람직하게는 적어도 99% 순수하다는 것을 의미할 수 있다.
- [0076] "핵산" 또는 "폴리뉴클레오티드"란 용어는 단일 가닥 형태이거나 이중 가닥 형태인 데옥시리보핵산(DNA) 또는 리보핵산(RNA) 및 이의 중합체를 지칭한다. 특별히 제한되지 않는 한, 상기 용어는 기준 핵산으로서 유사한 결합 특성을 갖고 자연적으로 발생하는 뉴클레오티드와 유사한 방식으로 대사 작용하는 천연 뉴클레오티드의 공지된 유사체를 함유하는 핵산을 포함한다. 달리 표시하지 않는 한, 특정 핵산 서열은 또한 상기 명백히 나타낸 서열뿐만 아니라 이의 보존적으로 개질된 변이체(예를 들어, 동의 코돈 치환(degenerate codon substitution)), 대립 유전자, 오솔로그(ortholog), SNP 및 상보성 서열을 내재적으로 포함한다. 특히, 동의 코돈 치환은 하나 이상의 선택된(또는 모든) 코돈의 세 번째 위치가 혼합된 염기 및/또는 데옥시이노신 잔기로 치환된 서열을 생성함으로써 구현될 수 있다(문헌[Batzer, M. A. 등, "Enhanced evolutionary PCR using oligonucleotides with inosine at the 3'-terminus," Nucleic Acid Res., Vol. 19, No. 18, pp. 5081, 1991]; 문헌[Ohtsuka, E. 등, "An alternative approach to deoxyoligonucleotides as hybridization probes by insertion of deoxyinosine at ambiguous codon positions," J. Biol. Chem., Vol. 260, No. 5, pp. 2605-2608, 1985]; 문헌[Rossolini, G. M. 등, "Use of deoxyinosine-containing primers vs degenerate primers for polymerase chain reaction

based on ambiguous sequence information," Mol. Cell. Probes, Vol. 8, No. 2, pp. 91-98, 1994])

- [0077] "폴리펩티드", "펩티드" 및 "단백질"이란 용어는 아미노산 잔기의 중합체를 지칭하는 것으로 본원에서 상호 교환 가능하게 사용된다. 상기 용어는 자연적으로 발생하는 아미노산 중합체 및 비자연적으로 발생하는 아미노산 중합체들에 적용될 뿐만 아니라, 하나 이상의 아미노산 잔기가 상응하는 자연적으로 발생하는 아미노산의 인공적인 화학 모방체인 아미노산 중합체에 적용된다.
- [0078] "아미노산"이란 용어는 자연적으로 발생하는 아미노산과 유사한 방식으로 기능을 하는 아미노산 유사체 및 아미노산 모방체뿐만 아니라 자연적으로 발생하는 아미노산 및 합성 아미노산을 지칭한다. 자연적으로 발생하는 아미노산으로는 추후에 개질되는 이들 아미노산, 예를 들어 하이드록시프롤린, 감마-카르복시글루타메이트 및 O-포스포세린뿐만 아니라, 유전자 코드에 의해 암호화된 아미노산이 있다. 아미노산 유사체는 자연적으로 발생하는 아미노산, 예를 들어 수소, 카르복실기, 아미노기 및 R 기에 결합된 알파-탄소, 예를 들어 호모세린, 노르류신, 메티오닌설폭시드, 메티오닌메틸설폭시드와 동일한 기본적인 화학 구조를 갖는 화합물을 지칭한다. 이 같은 유사체는 개질된 R 기(예를 들어, 노르류신) 또는 개질된 펩티드 백본(backbone)을 갖지만 자연적으로 발생하는 아미노산과 동일한 기본적인 화학 구조를 유지한다. 아미노산 모방체는 아미노산의 일반적인 화학 구조와는 상이한 구조를 갖지만 자연적으로 발생하는 아미노산과 유사한 방식으로 기능을 하는 화학적 화합물을 지칭한다.
- [0079] "보존적으로 개질된 변이체"란 용어는 아미노산 및 핵산 서열 둘 모두에 적용된다. 특정 핵산 서열과 관련하여, 보존적으로 개질된 변이체는 동일하거나 본질적으로 동일한 아미노산 서열을 암호화하는 이들 핵산을 지칭하거나, 상기 핵산이 아미노산 서열을 암호화하지 않는 경우에 본질적으로 동일한 서열을 지칭한다. 상기 유전자 코드의 축퇴성(degeneracy)으로 인해, 대다수의 기능적으로 동일한 핵산은 임의의 주어진 단백질을 암호화한다. 예를 들어, GCA, GCC, GCG 및 GCU 코돈 모두는 알라닌이란 아미노산을 암호화한다. 따라서 코돈에 의해 알라닌이 지정되는 모든 위치에서 상기 코돈은 상기 암호화된 폴리펩티드를 변경하지 않으면서 개시된 임의의 상응하는 코돈으로 변경될 수 있다. 이 같은 핵산 변이는 "침묵 변이"이며, 이는 보존적으로 개질된 하나의 변이종이다. 폴리펩티드를 암호화하는 본원에 개시된 모든 핵산 서열은 또한 상기 핵산의 모든 가능한 침묵 변이를 설명한다. 숙련자라면 핵산 내의 코돈 각각(보통 메티오닌에 대한 유일한 코돈인 AUG 및 보통 트립토판에 대한 유일한 코돈인 TGG은 제외함)은 기능적으로 동일한 분자를 획득하기 위해 개질될 수 있다는 것을 인지할 것이다. 따라서 폴리펩티드를 암호화하는 핵산의 침묵 변이 각각은 상술한 서열 각각에 내포되어 있다.
- [0080] 아미노산 서열에 관련하여, 숙련자라면 상기 암호화된 서열 내의 단일 아미노산 또는 낮은 비율(%)의 아미노산들을 변경, 부가 또는 결실하는 핵산, 펩티드, 폴리펩티드 또는 단백질 서열에 대한 개개의 치환, 결실 또는 부가가 "보존적으로 개질된 변이체"이며, 여기서 상기 변이가 화학적으로 유사한 아미노산에 의한 아미노산의 치환을 초래한다는 것을 인지할 것이다. 기능적으로 유사한 아미노산을 제공하는 보존적 치환표가 당해 기술분야에 널리 공지되어 있다. 이 같은 보존적으로 개질된 변이체들은 본 발명의 다형성 변이체, 중간 동종체 및 대립 유전자에 추가된 것이고, 이들을 제외하지 않는다.
- [0081] 하기 8개의 그룹 각각은 서로에 대해 보존적으로 치환된 아미노산을 함유한다: 1) 알라닌(A), 글리신(G); 2) 아스파르트산(D), 글루탐산(E); 3) 아스파라긴(N), 글루타민(Q); 4) 아르기닌(R), 리신(K); 5) 이노류신(I), 류신(L), 메티오닌(M), 발린(V); 6) 페닐알라닌(F), 티로신(Y), 트립토판(W); 7) 세린(S), 트레오닌(T); 및 8) 시스테인(C), 메티오닌(M)(예를 들어, 문헌[Creighton, T. E., "Proteins - Structures and Molecular Properties," W. H. Freeman & Co. Ltd., 1984] 참조).
- [0082] "서열 동일성의 비율(%)"이란 용어는 비교창 위에서 2개의 최적으로 정렬된 서열을 비교함으로써 결정될 수 있으며, 여기서 상기 비교창 내의 폴리뉴클레오티드 서열의 일부는 상기 2개의 서열의 최적 정렬을 위해 부가 또는 결실을 포함하지 않는 참고 서열(예를 들어, 본 발명의 폴리펩티드)과 비교할 때 부가 또는 결실(즉, 간극)을 포함할 수 있다. 상기 비율(%)은 매칭된 위치의 개수를 산출하기 위해 동일한 핵산 염기 또는 아미노산 잔기가 상기 서열 둘 모두에서 나타나는 위치의 개수를 결정하고, 상기 매칭된 위치의 개수를 비교창 내의 전체 위치의 개수로 나누고, 서열 동일성의 비율(%)을 산출하기 위해 상기 결과를 100으로 곱함으로써 산정된다.
- [0083] 2개 이상의 핵산 또는 폴리펩티드 서열의 문맥에서 "동일한" 또는 "동일성" 비율이란 용어는 동일한 서열인 2개 이상의 서열 또는 부분 서열을 지칭한다. 2개의 서열이 소정의 비율(%)의 아미노산 잔기 또는 뉴클레오티드를 갖는 경우에 상기 2개의 서열은 "실질적으로 동일"하며, 이때 상기 아미노산 잔기 또는 뉴클레오티드는 하기 서열 비교 알고리즘들 중 하나를 이용하여 측정하거나 수동 정렬 및 시각 검사에 의해 측정할 때 비교창 상의 최대 상응성(maximum correspondence)을 위해 비교하고 정렬하거나 지정된 영역에 대해 비교하고 정렬하는 경우에 동일(예를 들어, 소정의 영역, 또는 지정되지 않는 경우에 참고 서열의 서열 전체에 대한 70%, 75%, 80%,

85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성)하다. 본원에서 제공된 몇몇 실시형태는 폴리펩티드 또는 폴리뉴클레오티드를 제공하며, 이때 상기 폴리펩티드 또는 폴리뉴클레오티드는 본원에서 각각 예시된 폴리펩티드 또는 폴리뉴클레오티드(예를 들어, 표 0.1, 표 0.2, 표 1, 표 2 또는 표 3 및 도 5b 내지 도 5e, 도 7c, 도 7d, 도 14b, 도 15b, 도 16b 내지 도 16d, 도 20c 내지 도 20g, 도 21b 내지 도 21e, 도 22b, 도 28b 내지 도 28e, 도 29b 내지 도 29d, 도 32, 도 33, 도 35a 내지 도 35c, 도 36a 내지 도 36e, 도 40 내지 도 69, 도 79 및 도 80 중 임의의 하나에 예시된 가변 영역들 중 임의의 하나 이상, 및 도 7e, 도 34a 내지 도 34f, 도 41 내지 도 46, 도 48 내지 도 53, 도 55 내지 59, 도 61 내지 64, 도 65a, 도 65b 및 도 65c 중 임의의 하나에 예시된 핵산 서열들 중 임의의 하나 이상)와 실질적으로 동일하다. 임의적으로는, 적어도 약 15개, 25개 또는 50개의 뉴클레오티드의 길이, 또는 보다 바람직하게는 100개 내지 500개 또는 1000개 이상의 뉴클레오티드의 길이를 갖는 영역에 대해 동일성이 존재하거나, 상기 참고 서열의 전장에 대해 동일성이 존재한다. 아미노산 서열들과 관련하여, 적어도 5개, 10개, 15개 또는 20개의 아미노산의 길이, 임의적으로는 적어도 약 25개, 30개, 35개, 40개, 50개, 75개 또는 100개의 아미노산의 길이, 또는 임의적으로는 적어도 약 150개, 200개 또는 250개의 아미노산의 길이를 갖는 영역에 대해 동일성 또는 실질적인 동일성이 존재할 수 있거나, 상기 참고 서열의 전장에 대해 동일성 또는 실질적인 동일성이 존재할 수 있다. 보다 짧은 아미노산 서열, 예를 들어 20개 이하의 아미노산을 갖는 아미노산 서열들과 관련하여, 몇몇 실시형태에서 하나 또는 2개의 아미노산 잔기가 본원에서 개시된 보존적 치환에 의해 보존적으로 치환되는 경우에 실질적인 동일성이 존재한다.

[0084] 몇몇 실시형태에서, 상기 동일성 비율은 본원에 언급된 힌지 영역(상부, 코어, 및 하부 힌지 영역들과 동일한 힌지 영역 및/또는 이의 서브파트들)을 초과한다. 이 같은 상황에서, 상기 힌지 영역 또는 이의 서브파트의 동일성 비율은 상기 단백질 또는 핵산 서열의 나머지로써 개별적으로 확인될 수 있다. 따라서 2개의 힌지 영역(또는 상부, 코어 및/또는 하부 영역)은 상기 단백질의 나머지가 비교 단백질에 대해 100% 동일하게 유지하거나 또한 상기 단백질의 나머지가 소정의 동일성 비율로 또한 변이를 갖도록 하면서 동일(예를 들어, 소정의 영역, 또는 지정되지 않는 경우에 참고 서열의 서열 전체에 대한 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성)한 아미노산 잔기 또는 뉴클레오티드들의 소정의 비율을 가질 수 있다.

[0085] 서열의 비교를 위해, 전형적으로는 하나의 서열은 참고 서열로서 작용하며, 이때 상기 참고 서열과 시험 서열들을 비교한다. 서열 비교 알고리즘을 이용하는 경우, 시험 및 참고 서열들은 컴퓨터에 입력되고, 필요한 경우 부분 서열 좌표가 지정되며, 서열 알고리즘 프로그램 매개변수들이 지정된다. 디폴트(default) 프로그램 매개변수들이 사용될 수 있거나, 대안적인 매개변수들이 지정될 수 있다. 이어 상기 서열 비교 알고리즘은 상기 프로그램 매개변수들에 기초하여 참고 서열 대비 시험 서열들에 대한 서열 동일성 비율을 산정한다.

[0086] 본원에서 사용된 바와 같이, "비교창"은 20개 내지 600개, 일반적으로는 약 50개 내지 약 200개, 보다 일반적으로는 약 100개 내지 약 150개로 이루어진 군으로부터 선택된 인접한 위치들의 개수 중 임의의 하나를 갖는 분절에 대한 참고를 포함하며, 이러한 위치에서 2개의 서열이 최적으로 정렬된 이후에 하나의 서열은 인접한 위치의 동일한 개수의 참고 서열과 비교된다. 비교용 서열들을 정렬하는 방법이 당해 기술분야에 널리 공지되어 있다. 비교용 서열들에 대한 최적의 정렬은, 예를 들어 스미스(Smith) 및 워터먼(Waterman)의 국부 상동성 알고리즘(문헌[Smith and Waterman (1970) Adv. Appl. Math. 2:482c]), 니들만(Needleman, S. B.) 등의 상동성 정렬 알고리즘(문헌[Needleman, S. B. 등, "A general method applicable to the search for similarities in the amino acid sequence of two proteins," J. Mol. Biol., Vol. 48, No. 3, pp. 443-453, 1970]), 피어슨(Pearson, W. R.) 등의 유사성 방법(문헌[Pearson, W. R. 등, "Improved tools for biological sequence comparison," Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., Vol. 85, No. 8, pp. 2444-2448, 1988])의 검색, 이들 알고리즘(위스콘신 주 매디슨, 575 사이언스 디알 소재의 제네틱스 컴퓨터 그룹(Genetics Computer Group)의 위스콘신 제네틱스 소프트웨어 패키지(Wisconsin Genetics Software Package)의 GAP, BESTFIT, FASTA 및 TFASTA)의 전산화 실행, 또는 수동 정렬 및 시각 검사(예를 들어, 문헌[Ausubel, F. M. 등, Current Protocols in Molecular Biology, Supplement, 1995] 참조)에 의해 수행될 수 있다.

[0087] 서열 동일성 및 서열 유사성 비율을 결정하기에 적합한 알고리즘의 2개의 예로는 문헌[Altschul, S. F. 등, "Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs," Nucleic Acids Res., Vol. 25, No. 17, pp. 3389-3402, 1997] 및 문헌[Altschul, S. F. 등, "Basic local alignment search tool," J. Mol. Biol., Vol. 215, No. 3, pp. 403-410, 1990]에 각각 개시되어 있는 BLAST 및 BLAST 2.0 알고리즘이 있다. BLAST 분석을 수행하기 위한 소프트웨어는 국립 생물공학 정보 센터(National Center for Biotechnology Information)를 통해 공개적으로 이용 가능하다. 이러한 알고리즘은 먼저 질의 서열(query sequence) 내의 길이(W)의 약어를 확인함으로써 고득점 서열 쌍(HSP)을 확인하는 단계를 포함하며, 여기서 상기

질의 서열은 데이터베이스 서열에서 동일한 길이의 단어로 정렬되는 경우에 몇몇 양의 값의 임계값 점수(T)와 일치하거나 이를 만족시킨다. T는 인근 단어 점수 임계값(neighborhood word score threshold)으로 지칭된다(Altschul, S. F. 등 상기와 동일 참조). 이들 초기 인근 단어 히트(word hit)들은 이들을 포함하는 보다 긴 HSP를 찾기 위한 검색을 개시하는 시드(seed)로 작용한다. 단어 히트는 누적 정렬 점수(cumulative alignment score)가 증가할 수 있는 한 각 서열을 따라 양 방향으로 연장된다. 누적 점수는 뉴클레오타이드 서열에 대한 매개변수(M)(매칭 잔기 쌍에 대한 보상 점수; 항상 0 초과) 및 매개변수(N)(미스매칭 잔기에 대한 벌칙 점수; 항상 0 미만)를 이용하여 산정된다. 아미노산 서열에 있어서, 점수 행렬(scoring matrix)은 누적 점수를 산정하기 위해 사용된다. 각 방향에서 단어 히트의 연장은 하기와 같은 경우에 중단된다: 상기 누적 정렬 점수가 이의 최대 성취값으로부터 X의 양만큼 떨어질 때: 상기 누적 점수가 하나 이상의 음성 점수 잔기 정렬의 누적으로 인해 0 이하까지 떨어져 있을 때; 또는 각 서열의 말단에 도달할 때. BLAST 알고리즘 매개변수(W, T 및 X)는 정렬의 민감도 및 속도를 결정한다. BLASTN 프로그램(뉴클레오타이드 서열용)은 디폴트로서 11의 단어길이(W), 기대치(E) 또는 10, M = 5, N = 4 및 양 가닥의 비교치를 사용한다. 아미노산 서열에 있어서, 상기 BLASTP 프로그램은 디폴트로서 3의 단어 길이 및 10의 기대치(E)를 이용하고, 50의 BLOSUM62 점수 행렬(문헌[Henikoff, S. 등, "Amino acid substitution matrices from protein blocks," Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., Vol. 89, No. 22, pp. 10915-10919, 1992] 참고) 정렬(B), 10의 기대치(E), M = 5, N = 4 및 양 가닥의 비교치를 사용한다.

[0088] 상기 BLAST 알고리즘은 또한 2개의 서열 사이의 유사성에 대한 통계 분석을 수행한다(예를 들어, 문헌[Karlin, S. 등, "Applications and statistics for multiple high-scoring segments in molecular sequences," Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., Vol. 90, No. 12, pp. 5873-5787, 1993] 참고). 상기 BLAST 알고리즘에 의해 제공된 하나의 유사성 척도는 최소 합계 확률(P(N))이며, 이는 2개의 뉴클레오타이드 또는 아미노산 서열 사이의 짝이 우연히 나타날 수 있는 가능성의 지표를 제공한다. 예를 들어, 기준 핵산에 대한 시험 핵산의 비교에서 최소 합계 확률이 약 0.2 미만, 보다 바람직하게는 약 0.01 미만, 가장 바람직하게는 약 0.001 미만인 경우에 핵산은 참고 서열과 유사한 것으로 고려된다.

[0089] 2개의 핵산 서열 또는 폴리펩티드가 실질적으로 동일하다는 지표는, 후술한 바와 같이 첫 번째 핵산에 의해 암호화된 폴리펩티드가 두 번째 핵산에 의해 암호화된 폴리펩티드에 대한 항체와 면역학적으로 교차 반응한다는 것이다. 따라서 몇몇 실시형태에서 폴리펩티드는 전형적으로는 제 2 폴리펩티드, 예를 들어 2개의 펩티드가 보 존적 치환에 의해서만 다르게 되는 폴리펩티드와 실질적으로 동일하다. 2개의 핵산 서열이 실질적으로 동일하다는 다른 지표는, 후술한 바와 같이 2개의 분자 또는 이들의 보체들이 엄격한 조건 하에 서로 교배(hybridization)한다는 것이다. 2개의 핵산 서열이 실질적으로 동일하다는 또 다른 지표는, 동일한 프라이머(primer)가 상기 서열을 증폭하기 위해 사용될 수 있다는 것이다.

[0090] "개체", "환자" 및 "개인"이란 용어는 검진 및/또는 치료 중인 실체(entity)를 상호 교환 가능하게 지칭한다. 이는, 예를 들어 포유동물, 예를 들어, 인간 또는 비인간 영장류를 포함할 수 있다. 상기 포유동물은 또한 실험용 포유동물, 예를 들어 마우스, 래트, 토끼, 햄스터일 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 상기 포유동물은 농업용 포유동물(예를 들어, 말, 양, 소, 돼지, 낙타) 또는 애완용 포유동물(예를 들어, 개, 고양이)일 수 있다.

[0091] "공-투여"란 용어는 개인의 혈액 또는 시험될 시료 중의 2개의 활성제의 투여를 지칭한다. 공-투여되는 활성제 들은 동시에 또는 연속적으로 전달될 수 있다.

[0092] 항원 결합 구조체

[0093] 힌지 영역 내의 서열들이 다양한 항원 결합 구조체들과 특별히 관련이 있을 수 있는 것으로 본원에서 인지된다. 몇몇 실시형태에서, 상기 힌지 영역의 값은 미니바디 배열에서와 같이 특히 높을 수 있다. 상기 힌지 내의 서열 들은 힌지 기능에 있어서 유용하지만 변경되는 경우에 다양한 결과를 초래할 수 있는 이황화 결합을 포함할 수 있다. 본원에서 개시되고 하기 실시예에서 나타난 바와 같이, 몇몇 실시형태에서 상기 힌지 영역 서열들은 상기 단백질의 기타 영역에 존재하는 시스테인 잔기들과의 바람직하지 못한 이황화물 스क्र램블링(disulfide scrambling)을 방지 및/또는 감소시키고/시키거나 생체 내에서 이량체 완전성을 유지하기 위해 충분한 개수의 시스테인 쌍을 함유하도록 구성될 수 있으며, 콘카테머(concatemer)가 쌍을 이룬 시스테인들 중 하나에 대한 부 위 특이적 접합을 형성하고/하거나 이를 허용하는 것을 방지할 수 있다.

[0094] 몇몇 실시형태에서, 미니바디 이량체의 생체 내 안정성은 C_H3 도메인 사이의 천연 반데르발스 결합(Van-der-Waals association), 힌지 영역 내의 이황화 결합의 형성 및/또는 V_H과 V_L 사이의 상호작용에 기여할 수 있다. 지금까지 대부분의 미니바디는 인간 IgG1 C_H3 도메인에 연결된 연장 서열과 함께 인간 IgG1 상부 및 코어 힌지

영역을 이용하여 조작되었다. 상술한 변수 이외에도, 상기 구조체들의 배향이 이들의 특성을 변경할 수 있기 때문에 미니바디의 양쪽 배향(예를 들어, $V_L-V_H(M1)$ 및 $V_H-V_L(M2)$ SCFV 변이체)이 본원에서 제공되고 특성화된 다(하기 실시예에 나타난 바와 같음).

[0095] 몇몇 이전의 힌지(예를 들어, huIgG1 힌지-연장 또는 $\gamma 1$ EH1)는 상부 힌지 내에 천연 huIgG1을 포함하고 있었다(도 2). 카바츠에 의해 한정되고 첫 번째 원으로 표시된 바와 같이 인간 IgG1의 문맥에서 245번째 위치에 있는 이러한 시스테인은 LC/MS, SDS-PAGE 분석 및 생체 내 생물 분포 데이터에 의한 이황화 매핑(disulfide mapping)에 기초하여 미니바디 포맷에서 단백질 이중성 및 안정성 둘 모두에 대한 문제점을 유발한다. 하기 실시예에 나타난 바와 같이, 몇몇 실시형태에서 Cys245는 세린으로 돌연 변이될 수 있으며, 그 결과 본원에 개시된 바와 같이 인공적인 힌지 또는 "EH2 힌지"를 초래할 수 있다. 따라서 가닥(하기 실시예에 나타난 바와 같음)에서 이러한 시스테인의 제거는 힌지 영역의 개선을 초래하였다. 몇몇 실시형태에서, 상기 얻어진 구조체(힌지 영역에서 첫 번째 시스테인이 없음)는 ($\gamma 1$ EH/EH2 관련하여) 2개의 나머지 이황화 브릿지와 함께 생체 내에서 미니바디 이량체의 안정성을 유지하기에 충분히 강하지 않다. 따라서, 하기 실시예에 나타난 바와 같이, 개선된 구조체를 만들기 위해 가닥 당 제 3 또는 그 이상의 개수의 시스테인의 도입이 이루어질 수 있다(예를 들어, 코어 영역 내부). 몇몇 실시형태에서, 상기 힌지 내의 세 번째(또는 그 이상의) 시스테인(가닥 당 IgG1 천연 힌지에 대한 부가적인 시스테인)을 제공하면 이황화 결합이 증가하고 단백질 안정성이 증가한다. 몇몇 실시형태에서, 상기 힌지 영역에서의 이황화 결합을 증가시킴으로서 제공된 안정성 증가는 온전한 이량체를 유지하면서 상기 시스테인들 중 하나 이상에 대한 부위 특이적 접합을 가능케 한다. 몇몇 실시형태에서, 상기 IAB2M, IAB2OM, IAB1M 및 IAB22M의 huIgG2 미니바디들은 huIgG2 C_H3 도메인에 연결된 인간 IgG2(huIgG2) 힌지/연장 서열을 갖는다. 따라서 몇몇 실시형태에서 상기 C_H3 도메인은 huIgG2 C_H3 도메인일 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 상기 펩티드의 2개의 가닥 사이의 공유결합을 생성하기 위한 임의의 옵션(option)은 이황화 결합을 형성하기 위한 시스테인 대신 이용될 수 있다.

[0096] 본 명세서에서, 시스테인의 도입을 인용하는 경우(달리 언급하지 않음), 이는 상기 힌지(2개의 가닥을 포함함)의 가닥 당 시스테인의 도입을 의미한다. 따라서 하나의 가닥 내의 3개, 4개, 5개 또는 6개의 시스테인은 힌지 내의 6개, 8개, 10개 또는 12개의 시스테인을 의미할 것이며, 3개, 4개, 5개 또는 6개의 가능한 이황화 결합이 존재한다(물론 달리 언급하지 않는 한, 일부가 표지 및 기타 용도로 사용될 수 있기 때문에 이황화 결합의 개수는 서로 다를 수 있음).

[0097] 몇몇 실시형태에서, 상기 IgG2 힌지/연장($\gamma 2$ EH1)은 집성체의 증가를 초래하며, 여기서 첫 번째 반응성 힌지 시스테인은 IAB2M- $\gamma 2$ EH1 포맷에서 콘카테머의 형성에 책임이 있다. 이 같은 실시형태에서, 상기 천연 huIgG2 상부 힌지가 이용될 수 있다.

[0098] 이어 상술한 양태들은 힌지 구조체의 실시형태들 중 일부에 대한 제 2 구성을 전개할 때 고려되었다. 이러한 제 2 배열에서, 상기 첫 번째 힌지 시스테인(천연 항원에서 카파 경쇄와 쌍을 이루는 시스테인)은 세린으로 돌연 변이되었으며, 그 결과 IgG2 EH2($\gamma 2$ EH2)를 초래하였다. 이러한 구조체는 잘 발현되고, 양호한 생체 내 안정성을 갖고, 원형 질량 분석에 의해 나타난 바와 같이 적절히 형성된 3개의 이황화 결합 모두를 가지며, IAB2M 및 IAB22M 구조체 둘 모두에 의해 증명된 안정성을 가졌다(하기 실시예에서 나타난 바와 같음). 따라서 몇몇 실시형태에서 첫 번째 시스테인이 변경되어 있는 인공적이거나 개질된 IgG2 힌지가 본원에서 제공되며, 개선된 미니바디 구조체를 제공한다.

[0099] 하기 실시예에서 증명된 바와 같이, 상기 결과에 따르면 시스테인 미스페어링을 예방하기 위해 IgG1 및 IgG2 힌지의 첫 번째 시스테인을 돌연 변이시키는 것이 유리한 것으로 나타났다. 하기 실시예에서 증명된 바와 같이, 상기 결과에 따르면 단백질의 구조적 완전성을 유지하기 위해 가닥 당 코어 힌지 영역 내에 2개 이상의 시스테인 잔기를 갖는 것이 유리한 것으로 나타났다. 하기 실시예에서 증명된 바와 같이, 상기 결과에 따르면 상기 IgG2 힌지는 생체 내 안정성을 증가시키기 위해 하나의 해결안을 제공하는 것으로 나타났다. 따라서 미니바디와 같이 보다 높은 생체 내 안정성을 나타내는 항원 결합 구조체들이 본원에서 제공된다.

[0100] 몇몇 실시형태에서, IgG2 힌지가 이용될 수 있다. 몇몇 실시형태에서, IgG2 힌지가 이용될 수 있으며, 여기서 첫 번째 힌지 시스테인이 돌연 변이되어 있다. 몇몇 실시형태에서, Mb 구조체에서 말단 리신(K)의 돌연 변이는 단백질 발현에 영향을 미치지 않았지만, 보다 균일한 전하를 갖는 단백질을 생성하였다.

[0101] 실시예에 토의된 바와 같이, 부가적인 Mb 변이체들은 상부 IgG3 힌지 및 개질된 IgG1 코어 힌지 서열에 의해 평가되었으며, 이때 상기 코어 힌지 영역 내에는 가닥 당 적어도 3개의 시스테인 잔기가 존재하였다. 하기 실시예

에서 나열된 바와 같이, IAB2M, IAB22M 및 IAB20M 구조체들은 상이한 배향 및 상이한 표적을 갖는 다양한 구조체 전반에 걸쳐 발견 보편성(universality of finding)을 증명하기 위해 평가되었다. 상기 결과에 따르면 본 발명에 개시된 힌지와 관련하여 본원에 개시된 이점은 특히 임의의 모든 항원 결합 구조체 및 미니바디들에 이용 및 적용 가능한 것으로 나타난다.

[0102]

몇몇 실시형태에서, 상기 힌지들은 펩티드 힌지들을 암호화하는 펩티드 힌지 및/또는 핵산 서열들일 수 있다. 본원에서 제공된 힌지들의 펩티드 형태와 관련한 모든 토의에는 상기 펩티드들을 암호화하는 핵산 서열들에 대한 상응하는 구조 및 기능이 나타나 있다. 몇몇 실시형태에서, 상기 힌지들은 항체, 예를 들어 미니바디와 같은 항원 결합 구조체 내로 혼입될 수 있다. 임의의 힌지 또는 힌지의 서브파트(예를 들어, 상부 힌지, 코어 힌지 및/또는 하부 힌지 영역)는 본원에서 제공된 임의의 항원 결합 구조체 내로 혼입될 수 있으며, 이들로는 표 0.1, 표 0.2, 표 1, 표 2 또는 표 3 및 도 5b 내지 도 5e, 도 7c, 도 7d, 도 14b, 도 15b, 도 16b 내지 도 16d, 도 20c 내지 도 20g, 도 21b 내지 도 21e, 도 22b, 도 28b 내지 도 28e, 도 29b 내지 도 29d, 도 32, 도 33, 도 35a 내지 도 35c, 도 36a 내지 도 36e, 도 40 내지 도 69, 도 79 또는 도 80에 나타난 것을 들 수 있지만 이에 제한되지 않으며, 도 7e, 도 34a 내지 도 34f, 도 41 내지 도 46, 도 48 내지 도 53, 도 55 내지 도 59, 도 61 내지 도 64, 도 65a, 도 65b 및 도 65c 중 임의의 하나에 예시된 핵산 서열들 중 임의의 하나 이상을 들 수 있지만 이에 제한되지 않는다. 몇몇 실시형태에서, 상기 힌지는 표 0.1에 나타난 서열 또는 서브파트들 중 임의의 하나 이상을 포함할 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 상기 임의의 하부 힌지들은 이어서 C_H3 도메인에 직접 또는 간접적으로 연결될 수 있다.

【표 0.1】

[0103]

한지 변이체(도 38)			
전체 한지	상부 한지	코어 한지	하부 한지
인간 IgG1 NH1 (서열번호 21)	EPKSSDKTHT(서열번호 45)	CPPCP(서열번호 51)	APELLGGP(서열번호 58)
인간 IgG1 EH1(서열번호 22)	EPKSSDKTHT(서열번호 45)	CPPC(서열번호 50)	GGGSSGGSG(서열번호 59)
인간 IgG1 NH2(서열번호 23)	EPKSSDKTHT(서열번호 46)	CPPCP(서열번호 51)	APELLGGP(서열번호 58)
인간 IgG1 EH2(서열번호 24)	EPKSSDKTHT(서열번호 46)	CPPC(서열번호 50)	GGGSSGGSG(서열번호 59)
인간 IgG1 NH3(서열번호 25)	EPKSSDKTHT(서열번호 46)	CPPCPPC(서열번호 52)	APELLGGP(서열번호 58)
인간 IgG1 EH3(서열번호 26)	EPKSSDKTHT(서열번호 46)	CPPCPPC(서열번호 52)	GGGSSGGSG(서열번호 59)
인간 IgG1 NH4(서열번호 27)	EPKSSDKTHT(서열번호 46)	CPPCECPPC(서열번호 53)	APELLGGP(서열번호 58)
인간 IgG1 EH4(서열번호 28)	EPKSSDKTHT(서열번호 46)	CPPCECPPC(서열번호 53)	GGGSSGGSG(서열번호 59)
인간 IgG1 NH5(서열번호 29)	EPKSSDKTHT(서열번호 46)	CPPCPPPPC(서열번호 54)	APELLGGP(서열번호 58)
인간 IgG1 EH5(서열번호 30)	EPKSSDKTHT(서열번호 46)	CPPCPPPPC(서열번호 54)	GGGSSGGSG(서열번호 59)
인간 IgG2 NH1(서열번호 31)	ERK(서열번호 47)	CCVECPPCP(서열번호 55)	APPVAGP(서열번호 60)
인간 IgG2 EH1(서열번호 32)	ERK(서열번호 47)	CCVECPPCP(서열번호 55)	GGGSSGGSG(서열번호 59)
인간 IgG2 NH2(서열번호 33)	ERK(서열번호 47)	SCVECPPCP(서열번호 56)	APPVAGP(서열번호 60)
인간 IgG2 EH2(서열번호 34)	ERK(서열번호 47)	SCVECPPCP(서열번호 56)	GGGSSGGSG(서열번호 59)
IgG3/IgG1 EH6(서열번호 35)	ELKTPLEGDTHT(서열번호 48)	CVCEPPC(서열번호 57)	GGGSSGGSG(서열번호 59)
IgG3/IgG1 EH7(서열번호 36)	ELKTPLEGDTHT(서열번호 48)	CPPCPPC(서열번호 52)	GGGSSGGSG(서열번호 59)
IgG3/IgG1 EH8(서열번호 37)	ELKTPLEGDTHT(서열번호 48)	CPPCPPPPC(서열번호 54)	GGGSSGGSG(서열번호 59)
IgG4 NH(서열번호 38)	ESKYGPP(서열번호 49)	CPPCP(서열번호 51)	APELLGGP(서열번호 61)
IgG4 EH(서열번호 39)	ESKYGPP(서열번호 49)	CPPCP(서열번호 51)	GGGSSGGSG(서열번호 59)

[0104]

[0105]

몇몇 실시형태에서, 상기 한지는 상기 표 0.1의 임의의 서열들을 포함하거나, 상기 서열들로 이루어지거나, 본질적으로는 상기 서열들로 이루어져 있다. 몇몇 실시형태에서, 상기 한지는 표 0.1의 지정된 상부, 코어 및 하부 한지 영역 각각으로 이루어져 있다. 몇몇 실시형태에서, 상술한 서브파트(예를 들어, 상부, 코어 및/또는 하부 한지)들 중 임의의 하나는 이의 변이체로서 제공될 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 상기 변이체들은 상술한 서열들에 대해 실질적인 동일성을 갖는다. 몇몇 실시형태에서, 상기 변이체들은 상술한 서열들에 대해 1개, 2개 또는 3개의 아미노산 차이를 갖는다. 몇몇 실시형태에서, 상기 변이체들은 상술한 서열들에 대해 1개, 2개 또는 3개의 아미노산 차이를 가지며, 상기 차이는 보존적 차이이다.

[0106]

몇몇 실시형태에서, 상기 코어 영역 내의 CPPC(서열번호 50) 모티프는 상기 표에 나타난 공유결합의 개수 및/또는 유효성이 적절히 교체되는 한 임의의 기타 유효 코어 모티프로 변경될 수 있다.

[0107]

몇몇 실시형태에서, 항체에 대한 펩티드 한지 영역이 제공된다. 상기 한지 영역은 상응하는 아미노산과 가교 결합할 수 있는 아미노산을 포함하지 않는 상부 한지 영역을 포함할 수 있다. 상기 아미노산 한지 영역은 상기 상부 한지 영역에 대해 C-말단에 연결된 코어 한지 영역을 더 포함할 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 상기 코어 한지 영역은 상기 한지의 각 측면 상에 적어도 3개의 시스테인(그 결과로 조립된 구조에 대해 적어도 6개의 시스테인)을 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 상기 아미노산 한지 영역은 상기 코어 한지 영역에 대해 C-말단에 연결된 하부 한지 또는 연장 영역을 더 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 상기 하부 한지 또는 연장 영역은 APPVAGP(서열번호 60), APELLGGP(서열번호 58) 및 GGGSSGGSG(서열번호 59) 중 적어도 하나를 포함할 수 있다.

- [0108] 몇몇 실시형태에서, 상기 상부 힌지 영역은 상기 상부 힌지 영역 내에서 가교 결합하는 시스테인을 포함하지 않는다. 몇몇 실시형태에서, 상기 상부 힌지 영역은 시스테인을 포함하지 않는다. 몇몇 실시형태에서, 상기 아미노산 힌지 영역은 하부 힌지 영역을 더 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 이들 구조체는 비자연적으로 발생하는 구조체이다.
- [0109] 몇몇 실시형태에서, 변이체 미니바디 힌지 영역이 제공된다. 상기 변이체 미니바디 힌지 영역은 제 1 변경 아미노산 위치를 포함한다. 상기 제 1 변경 아미노산 위치는 천연 항체 힌지에서 시스테인일 수 있는 아미노산이고, 이황화 결합을 형성하지 않도록 상기 제 1 변경 위치에 변경되어 있다. 상기 변이체 미니바디 힌지 영역은 가닥 당 상기 제 1 변경 아미노산 위치에 대해 C-말단에 있는 적어도 3개의 시스테인을 더 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 4개, 5개, 6개 또는 그 이상의 시스테인이 가닥 당 상기 제 1 변경 아미노산 위치에 대해 C-말단에 존재할 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 이들 부가적인 시스테인은 전적으로 상기 힌지의 코어 영역 내에 포함된다(물론, 상기 코어 힌지는 부가적인 시스테인이 부가될 수 있도록 개질될 수 있고 야생형 서열을 초과하여 확장될 수 있음). 몇몇 실시형태에서, 상기 힌지 영역은 서열번호 1($X_{n1}CX_{n2}X_{n3}CX_{n4}X_{n5}C$)로 이루어져 있다. 몇몇 실시형태에서, 서열번호 1은 코어 힌지 영역이고, 상기 코어 힌지 영역은 본질적으로는 서열번호 1로 이루어져 있다. 몇몇 실시형태에서, 상기 코어 힌지 영역은 서열번호 1로 이루어져 있다. 상술한 설명에서, 상기 시스테인의 개수는 펩티드 사슬의 단일 힌지 영역의 시스테인의 개수와 관련이 있다. 상기 힌지(여기서 상기 펩티드 사슬들은 서로 가교 결합되어 있음)의 이량체 형태 내의 시스테인의 개수는 상술한 시스테인이 각각 2개의 시스테인을 포함한 이황화결합의 일부이기 때문에 적어도 2배일 것으로 이해될 것이다.
- [0110] 몇몇 실시형태에서, Mb 구조체들은 V_L - V_H 또는 V_H - V_L 배향으로 있을 수 있는 가변 링커 길이를 갖는 항원 결합 scFv를 함유한다. 하나의 배향과 관련하여 본원에서 제공된 임의의 개시내용에서는 또한 역 배향 및 양쪽 배향이 고려된다. 몇몇 실시형태에서, 표 0.1에 개시된 임의의 힌지 서열은 scFv에 대해 C-말단에 부가될 수 있다. 몇몇 실시형태에서, IgG1, IgG2, IgG3 또는 IgG4 항체로부터의 임의의 C_H3 도메인은 scFv 및 적절한 힌지에 대해 C-말단에 부가될 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 적절한 이황화 결합을 확보하기 위해 상기 첫 번째 힌지 시스테인(일반적으로는 천연 IgG1, IgG2, IgG3 및 IgG4 항체에서 경쇄와 쌍을 이룬 시스테인)은 이황화 스캐램블링 및/또는 콘카테머화(concatemerization)를 예방하기 위해 세린 또는 알라닌 또는 기타 적절한 아미노산으로 돌연 변이된다. 몇몇 실시형태에서, 반분자의 존재를 감소시키거나 이의 형성을 예방하고 생체 내 최적의 안정성을 확보하기 위해 상기 힌지 영역은 적어도 3개의 이황화 결합을 함유할 수 있고, 몇몇 실시형태에서 이는 그 이상의 이황화 결합을 가질 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 상기 힌지 내에 존재하는 적어도 3개의 이황화 결합은 서로에 대해 적절한 거리에 위치하며, 부적절한 이황화 결합이 형성되는 것을 예방하고 적절한 이황화 결합 형성을 보장하기 위해 포함된다. 몇몇 실시형태에서, 상기 힌지 내의 3개의 이황화 결합은 서로에 대해 적절한 거리에 위치하며, 생체 내 단백질 안정성 및 신장 제거가 아닌 간을 통한 제거를 위해 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 상기 힌지 내의 적어도 3개(예를 들어, 4개 이상)의 이황화 결합은 핸들(handle)로서의 시스테인의 사용을 제공하기 위해 제공된 후, 약물, 금속 킬레이터(metal chelator), 방사성 핵종, 방사성 동위원소의 이황화물의 온화한 감소, 킬레이터의 부위 특이적 접합 후 부착 부위로서 시스테인을 이용한 킬레이터 또는 형광 염료에 대한 방사성 동위원소의 부착이 이어진다. 당해 기술분야의 숙련자에 의해 인지된 바와 같이, 단일 이황화 결합 각각의 존재는 2개의 시스테인의 존재를 나타내며, 상기 힌지의 펩티드 서열 상에 각각 하나씩 있다.
- [0111] 몇몇 실시형태에서, Mb는 본원에서 제공된 임의의 힌지 구성성분들을 포함하고 부모 항체에 대한 유사한(또는 동일한) 친화도를 유지하도록 구성된다. 몇몇 실시형태에서, 상술한 바와 같이 구성된 Mb는 2개의 상이한 항원 결합 도메인을 함유하도록 조작될 수 있다.
- [0112] 몇몇 실시형태에서, 항원 결합 구조체를 위한 보다 우수한 힌지들은 상기 표 0.1에서 언급되고 하기 실시예에서 언급된 바와 같이 상기 힌지 영역 내의 첫 번째 시스테인을 제거함으로써 획득될 수 있다. 따라서 몇몇 실시형태에서 이러한 시스테인(다르게는 상기 천연 힌지 내제 존재할 수 있음)이 제거되거나 다른 잔기(예를 들어, 공유결합을 형성할 수 없는 잔기)로 변경된 힌지 영역이 제공될 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 이러한 조절은 인간 IgG1 문맥 내에서 이루어지거나, 표 0.1에서 상술한 위치에서의 시스테인을 포함하는 임의의 기타 힌지 영역 내에서 이루어진다(예를 들어, $\gamma 2$ EH2 내에서 변경된 $\gamma 2$ EH1(Cys에서 Ser로의 변경) 및 $\gamma 2$ NH2에서 변경된 $\gamma 2$ NH1(Cys에서 Ser로의 변경)).
- [0113] 몇몇 실시형태에서, 서열번호 1의 서열($X_{n1}CX_{n2}X_{n3}CX_{n4}X_{n5}C$)을 포함하는 아미노산 힌지 영역이 제공된다. X_{n1} 은 공유성 가교결합을 형성하지 않는 임의의 아미노산일 수 있다. 몇몇 실시형태에서, X_{n2} 는 A, R, N, D, E, Q, G,

H, I, L, K, M, F, P, S, T, W, Y 및 V 중 임의의 하나이다. X_{n3} 은 임의의 아미노산일 수 있다. X_{n4} 는 임의의 아미노산이다. X_{n5} 는 임의의 아미노산이다. 몇몇 실시형태에서, X_{n1} 은 세린 또는 알라닌을 포함한다(서열번호 235). 몇몇 실시형태에서, X_{n1} 은 세린을 포함한다(서열번호 210). 몇몇 실시형태에서, X_{n1} 은 알라닌을 포함한다(서열번호 211). 몇몇 실시형태에서, X_{n1} 은 T를 포함한다(서열번호 236). 몇몇 실시형태에서, 변경된 서열번호 1에서의 첫 번째 시스테인은 $\gamma 2$ 도메인 내의 시스테인이다. 몇몇 실시형태에서, 상기 아미노산 힌지 영역은 서열번호 1($X_{n1}CX_{n2}X_{n3}CX_{n4}X_{n5}C$)의 앞부분에 추가적인 아미노산을 더 포함한다.

[0114] $X_{n1}CX_{n2}X_{n3}CX_{n4}X_{n5}C$ (서열번호 1)의 몇몇 실시형태에서, X_{n1} 은 다른 아미노산과 공유성 가교결합을 형성하지 않는다(서열번호 191). 몇몇 실시형태에서, X_{n1} 은 시스테인이 아니다(서열번호 192). 서열번호 1의 몇몇 실시형태에서, X_{n1} 은 A, R, N, D, E, Q, G, H, I, L, K, M, F, P, S, T, W, Y 및 V 중 하나이다(서열번호 193). 서열번호 1의 몇몇 실시형태에서, X_{n2} 는 P, V 또는 E이다(서열번호 194). 서열번호 1의 몇몇 실시형태에서, X_{n4} 는 P, V 또는 E이다(서열번호 196). 서열번호 1의 몇몇 실시형태에서, X_{n4} 는 P 또는 V이다(서열번호 197). 서열번호 1의 몇몇 실시형태에서, X_{n2} 는 P 또는 V이다(서열번호 195). 서열번호 1의 몇몇 실시형태에서, X_{n3} 은 P 또는 E이다(서열번호 198). 서열번호 1의 몇몇 실시형태에서, X_{n5} 는 P 또는 E이다(서열번호 199). 서열번호 1의 몇몇 실시형태에서, X_{n3} 은 P 또는 E이고, X_{n5} 는 P 또는 E이다(서열번호 237). 서열번호 1의 몇몇 실시형태에서, $X_{n2}X_{n3}$ 은 VE이다(서열번호 201). 서열번호 1의 몇몇 실시형태에서, $X_{n2}X_{n3}$ 은 PP이다(서열번호 202). 서열번호 1의 몇몇 실시형태에서, $X_{n4}X_{n5}$ 는 VE이다(서열번호 203). 서열번호 1의 몇몇 실시형태에서, $X_{n4}X_{n5}$ 는 PP이다(서열번호 204). 서열번호 1의 몇몇 실시형태에서, $X_{n2}X_{n3}$ 은 VE이고, $X_{n4}X_{n5}$ 는 PP이다(서열번호 205). 서열번호 1의 몇몇 실시형태에서, $X_{n2}X_{n3}$ 은 VE 또는 PP이다(서열번호 238). 서열번호 1의 몇몇 실시형태에서, $X_{n2}X_{n3}$ 은 VE이다(서열번호 239).

[0115] 몇몇 실시형태에서, 임의의 상술한 힌지 영역들은 $X_{n1}CX_{n2}X_{n3}CX_{n4}X_{n5}C$ (서열번호 1) 내의 마지막 시스테인에 대해 C-말단에 있는 하부 힌지 또는 연장 서열을 더 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 임의의 하부 힌지 영역이 사용될 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 임의의 상술한 힌지 영역들은 $X_{n1}CX_{n2}X_{n3}CX_{n4}X_{n5}C$ (서열번호 1) 내의 마지막 시스테인에 대해 C-말단에 있는 연장 또는 하부 힌지 서열을 더 포함한다.

[0116] 몇몇 실시형태에서, 상기 서열번호 1 및/또는 서열번호 2의 힌지 영역은 코어 힌지 영역이다. 몇몇 실시형태에서, 상기 힌지는 상기 코어 힌지 영역에 인접한 상부 힌지 영역을 더 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 상기 힌지는 상기 코어 힌지 영역에 인접한 하부 힌지 또는 연장 영역을 더 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 상기 아미노산 힌지 영역은 상기 코어 힌지 영역에 인접한 상부 힌지 영역을 더 포함한다.

[0117] 몇몇 실시형태에서, 상기 아미노산 힌지 영역은 하기 서열, 즉 SCVECPPCP(서열번호 56)를 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 상기 아미노산 힌지 영역은 하기 서열, 즉 ERKSCVECPPCP(서열번호 167)을 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 상기 아미노산 힌지 영역은 하기 서열, 즉 EPKSSDKTHTCPPCPPC(서열번호 168)를 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 상기 아미노산 힌지 영역은 하기 서열, 즉 ERKSCVEPPCPGGGSSGGGSG(서열번호 34) 및 ERKSCVEPPCPAPPVAGP(서열번호 33) 중 적어도 하나를 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 상기 아미노산 힌지 영역은 적어도 TCPPCPPC(서열번호 166)를 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 상기 아미노산 힌지 영역은 적어도 EPKSSDKTHTCPPCPPCGGGSSGGGSG(서열번호 26) 또는 EPKSSDKTHTCPPCPAPELLGGP(서열번호 25)를 포함한다.

[0118] 몇몇 실시형태에서, 표 0.1 및 표 3(예를 들어, $\gamma 1$ EH1 내지 $\gamma 1$ EH2)에 나타난 바와 같이 IgG1, IgG2, IgG3 및 IgG4의 중쇄 및 경쇄를 각각 연결하는데 책임이 있는 힌지 시스테인을 제거함으로써 보다 우수한 힌지들이 제공될 수 있다. 더욱이, 몇몇 실시형태에서 가닥 당 적어도 3개의 시스테인(예를 들어, $\gamma 1$ EH3, $\gamma 1$ EH4 및 $\gamma 1$ EH5)을 갖는 코어 영역을 이용하면 보다 우수한 구조체를 초래할 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 표 0.1 및 표 3(예를 들어, $\gamma 1$ EH1 내지 $\gamma 1$ EH2)에 나타난 바와 같이 상부 힌지 영역으로부터 시스테인을 제거함으로써 힌지가 제공될 수 있다.

[0119] 몇몇 실시형태에서, 이 같은 구조체들은 서열번호 2의 서열($X_{n1}X_{n2}X_{n3}X_{n4}X_{n5}X_{n6}CX_{n7}X_{n8}CX_{n9}X_{n10}C$)을 포함하는 아미노산 힌지 영역으로서 개시될 수 있으며, 여기서 X_{n1} 은 다른 아미노산과 공유성 가교결합을 형성하지 않는 임의의 아미노산이고, X_{n2} 는 임의의 아미노산이고, X_{n3} 은 임의의 아미노산이고, X_{n4} 는 임의의 아미노산이고, X_{n5} 는 임의의

아미노산이고, X_{n6} 은 임의의 아미노산이고, X_{n7} 은 임의의 아미노산이고, X_{n8} 은 임의의 아미노산이고, X_{n9} 는 임의의 아미노산이고, X_{n10} 은 임의의 아미노산이다(서열번호 240).

[0120] 몇몇 실시형태에서, 이 같은 구조체들은 서열번호 2의 서열($X_{n1}X_{n2}X_{n3}X_{n4}X_{n5}X_{n6}CX_{n7}X_{n8}CX_{n9}X_{n10}C$)을 포함하는 아미노산 힌지 영역으로서 개시될 수 있으며, 여기서 X_{n1} 은 임의의 아미노산일 수 있고, X_{n2} 는 임의의 아미노산일 수 있고, X_{n3} 은 임의의 아미노산일 수 있고, X_{n4} 는 임의의 아미노산일 수 있고, X_{n5} 는 임의의 아미노산일 수 있고, X_{n6} 은 시스테인이 아닌 임의의 아미노산일 수 있고, X_{n7} 은 임의의 아미노산일 수 있고, X_{n8} 은 임의의 아미노산일 수 있고, X_{n9} 는 임의의 아미노산일 수 있고, X_{n10} 은 임의의 아미노산일 수 있다(서열번호 241).

[0121] 서열번호 2의 몇몇 실시형태에서, X_{n1} 은 시스테인이 아니다(서열번호 213). 서열번호 2의 몇몇 실시형태에서, X_{n1} 은 세린 또는 알라닌이다(서열번호 242). 서열번호 2의 몇몇 실시형태에서, X_{n2} 는 시스테인이 아니다(서열번호 214). 서열번호 2의 몇몇 실시형태에서, X_{n2} 는 D이다(서열번호 215). 몇몇 실시형태에서, X_{n3} 은 K이다(서열번호 216). 서열번호 2의 몇몇 실시형태에서, X_{n4} 는 T이다(서열번호 217). 서열번호 2의 몇몇 실시형태에서, X_{n5} 는 H이다(서열번호 218). 서열번호 2의 몇몇 실시형태에서, X_{n6} 은 T이다(서열번호 219). 서열번호 2의 몇몇 실시형태에서, X_{n7} 은 P 또는 V이다(서열번호 220). 서열번호 2의 몇몇 실시형태에서, X_{n8} 은 P 또는 E이다(서열번호 221). 서열번호 2의 몇몇 실시형태에서, X_{n9} 는 P 또는 V이다(서열번호 222). 서열번호 2의 몇몇 실시형태에서, X_{n10} 은 P 또는 E이다(서열번호 223). 서열번호 2의 몇몇 실시형태에서, X_{n2} 는 D이고, X_{n3} 은 K이고, X_{n4} 는 T이고, X_{n5} 는 H이고, X_{n6} 은 T이고, X_{n7} 은 P 또는 V이고, X_{n8} 은 P 또는 E이고, X_{n9} 는 P 또는 V이다(서열번호 243).

[0122] 몇몇 실시형태에서, 상기 아미노산 힌지 영역은 $X_{n11}X_{n12}C$ 서열을 더 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 이는 서열번호 1(서열번호 244) 또는 서열번호 2(서열번호 245)에서 C-말단 시스테인에 바로 부착될 수 있다. 서열번호 2의 몇몇 실시형태에서, X_{n11} 은 임의의 아미노산일 수 있고, X_{n12} 는 임의의 아미노산일 수 있다(서열번호 245). 서열번호 2의 몇몇 실시형태에서, X_{n11} 은 P 또는 V이고, X_{n12} 는 P 또는 E이다(서열번호 246). 서열번호 2의 몇몇 실시형태에서, X_{n1} 은 세린이고, X_{n2} 는 D이고, X_{n3} 은 K이고, X_{n4} 는 T이고, X_{n5} 는 H이고, X_{n6} 은 T이고, X_{n7} 은 P이고, X_{n8} 은 P이고, X_{n9} 는 P이고, X_{n10} 은 P이다(서열번호 247).

[0123] 몇몇 실시형태에서, 임의의 상기 힌지 서열들에는 임의의 개수의 초기 아미노산이 선행할 수 있다. 따라서 부가적인 아미노산의 링커 또는 스페이스(spacer)들은 상술한 서열(예를 들어, 서열번호 1 및/또는 서열번호 2) 앞에 있는 분자에 부착될 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 임의의 상기 힌지 서열들 다음에는 임의의 개수의 부가적인 아미노산이 존재할 수 있다. 따라서 부가적인 아미노산의 링커 또는 스페이스들은 상술한 서열(예를 들어, 서열번호 1 및/또는 서열번호 2) 다음에 있는 분자에 부착될 수 있다.

[0124] 몇몇 실시형태에서, 상기 힌지 영역은 하기 서열, 즉 CPPCPPC(서열번호 52), CPPVECPPC(서열번호 53) 및 CPPCPPPPC(서열번호 54) 중 적어도 하나를 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 상기 힌지 영역은 하기 서열, 즉 ERKSCVEPPCPGGSSGGSG(서열번호 34), EPKSSDKTHTCPPCPPC(서열번호 168), EPKSSDKTHTCPPVECPPC(서열번호 169) 및 EPKSSDKTHTCPPCPPPPC(서열번호 170) 중 적어도 하나를 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 상기 힌지 영역은 하기 서열, 즉 EPKSSDKTHTCPPCPPCGGSSGGSG(서열번호 26), EPKSSDKTHTCPPVECPPCGGSSGGSG(서열번호 28) 및 EPKSSDKTHTCPPCPPPPCGGSSGGSG(서열번호 30) 중 적어도 하나를 포함한다.

[0125] 몇몇 실시형태에서, 상기 하부 힌지 영역/서열은 연장 서열(예를 들어, 8개 내지 25개의 아미노산, 예를 들어 8개 내지 20개, 10개 내지 25개, 10개 내지 22개, 12개 내지 20개, 14개 내지 16개, 8개, 9개, 10개, 11개, 12개, 13개, 14개, 15개, 16개, 17개, 18개, 19개, 20개, 21개, 22개, 23개, 24개 또는 25개의 아미노산을 가짐)일 수 있다. 상기 하부 힌지의 예는 표 0.1 및 표 3에 나타나 있다. 몇몇 실시형태에서, 상기 하부 힌지는 x_1 , x_2 , x_3 또는 x_4 로부터 유래한 천연 하부 힌지일 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 하나는 천연 힌지 서열을 가질 수 있고, 하나 이상의 스페이스 아미노산(예를 들어, G 또는 S와 같은 1개, 2개, 3개, 4개 또는 그 이상의 아미노산)을 부가할 수 있다.

[0126] 몇몇 실시형태에서, 아미노산 힌지 영역은 ELKTPGLDTH(서열번호 48) 또는 EPKSSDKTH(서열번호 46)의 상부 힌지 서열에 연결된 CVECPPC(서열번호 57), CPPCPPC(서열번호 52), CPPCPPPPC(서열번호 54) 및 CPPVECPPC(서

열번호 53) 중 적어도 하나를 갖는 코어 힌지 서열을 포함한다.

- [0127] 몇몇 실시형태에서, 본원에 개시된 임의의 상기 실시형태들은 하기 옵션들 중 임의의 하나 이상에 의해 개질되거나 보완될 수 있다.
- [0128] 몇몇 실시형태에서, 상기 힌지 영역은 적어도 3개의 시스테인(각 사슬에 대해: 상기 이량체성 힌지 구조체 내의 2개의 가닥 사이에 적어도 총 6개의 시스테인)을 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 상기 힌지 영역은 적어도 4개의 시스테인(각 사슬에 대해)을 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 상기 힌지 영역은 적어도 5개의 시스테인(각 사슬에 대해)을 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 6개, 7개, 8개, 9개, 10개 또는 그 이상의 시스테인(각 사슬에 대해)이 존재한다. 몇몇 실시형태에서, 상기 힌지 영역은 (각 사슬에 대해 및/또는 상기 이량체성 구조체 내에) 전체로서 상술한 개수의 시스테인을 갖는다. 몇몇 실시형태에서, 상술한 시스테인 모두는 상기 코어 힌지 영역 내에 존재한다. 몇몇 실시형태에서, 상술한 시스테인 모두는 상기 코어 힌지 영역 내에 존재하며, 상기 상부 힌지 영역 및/또는 하부 힌지 영역 내에 존재하는 부가적인 시스테인은 없다. 몇몇 실시형태에서, 상기 시스테인은 상기 아미노산 힌지 영역 전역에서 반복 "CXX" 모티프(예를 들어, CXXCXXCXX(서열번호 171) 또는 CXXCXX(서열번호 172) 또는 CXXCXXCXXCXX(서열번호 173) 내에 분포되어 있다. 몇몇 실시형태에서, 상기 시스테인은 상기 코어 힌지 영역 전역에서 반복 CXX 모티프 내에 분포되어 있다. 몇몇 실시형태에서, 상기 모티프는 1회, 2회, 3회, 4회, 5회, 6회, 7회, 8회, 9회, 10회 또는 그 이상 반복한다. 몇몇 실시형태에서, 각각의 X는 P, V 또는 E일 수 있다(서열번호 171, 서열번호 172, 서열번호 173). 몇몇 실시형태에서, X는 시스테인이 아니다(서열번호 248, 서열번호 249, 서열번호 250).
- [0129] 몇몇 실시형태에서, 상기 코어 힌지 영역은 상기 코어 힌지 영역 내에 적어도 3개의 이황화 결합을 형성하는 가닥 당 적어도 3개의 시스테인을 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 상기 구조체들은 포유동물 세포에 훨씬 양호하게 발현하며, 보다 낮은 집성체 및 보다 균일한 생성물뿐만 아니라 보다 높은 역가(titer)를 제공한다. 몇몇 실시형태에서, 상기 코어 힌지 영역에 존재하는 시스테인 각각은 상기 힌지 내에 쌍을 이룬 이의 사슬 상에서 상응하는 시스테인과 이황화 결합을 형성할 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 상기 이황화 결합은 2개의 별도의 단백질 사슬 상에 있는 상응하는 시스테인 사이에 존재하며, 이때 상기 단백질 사슬 각각은 힌지 영역이다. 몇몇 실시형태에서, 적어도 3개의 이황화 결합, 예를 들어 3개, 4개, 5개, 6개, 7개, 8개, 9개, 10개 또는 그 이상의 이황화 결합이 형성된다. 몇몇 실시형태에서, 적어도 3개의 이황화 결합이 형성될 수 있으며, 예를 들어, 3개, 4개, 5개, 6개, 7개, 8개, 9개, 10개 또는 그 이상의 이황화 결합이 상기 구조 내에 동시에 형성될 수 있다.
- [0130] 몇몇 실시형태에서, 상기 코어 힌지 영역의 첫 번째 잔기는 세린이다. 몇몇 실시형태에서, 상기 코어 힌지 영역은 SCVECPPCP(서열번호 56)를 포함한다.
- [0131] 몇몇 실시형태에서, 임의의 구조체를 위한 C₆₃ 도메인은 $\gamma 1$, $\gamma 2$ 또는 $\gamma 3$ 및 이의 임의의 자연적으로 발생하는 대립 유전자로부터 유래할 수 있다. 본원에서 사용된 바와 같이, " γ "는 감마에 대한 약어이다.
- [0132] 몇몇 실시형태에서, 상기 연장 또는 하부 힌지 영역은 S, G, A, P 및 V 중 적어도 하나를 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 상기 연장 서열은 적어도 GGGSSGGGSG(서열번호 59)를 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 상기 연장 또는 하부 힌지 영역은 적어도 APPVAGP(서열번호 60)를 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 상기 하부 힌지 영역은 GGGSSGGGSG(서열번호 59) 및 APPVAGP(서열번호 60) 중 적어도 하나를 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 상기 하부 힌지 서열은 GS 링커, 연장 서열, 및/또는 $\gamma 1$, $\gamma 2$, $\gamma 3$ 및 $\gamma 4$ 로부터 유래하는 임의의 천연 하부 힌지 영역일 수 있다.
- [0133] 특성
- [0134] 몇몇 실시형태에서, 본원에서 제공된 힌지들은 보다 낮은 비율(%)의 반분자가 형성되도록 할 수 있고/있거나 임의의 미니바디 또는 기타 항원 결합 구조체 조성물 내에 존재할 수 있다. 예를 들어, 상기 조성물의 7% 미만인 반분자일 수 있으며, 이때 이러한 범위는 상기 반분자가 조성물의 6% 미만, 5% 미만, 4% 미만, 3% 미만, 2% 미만, 1% 미만 및/또는 0.5% 미만인 범위를 포함한다.
- [0135] 몇몇 실시형태에서, 상기 힌지가 미니바디 내에 위치하고 상기 미니바디가 인간 개체에 투여되는 경우, 상기 개체로부터 미니바디의 제거는 간 및/또는 신장을 통해 일어날 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 상기 간을 통한 제거는 적어도 10% 이상이고, 예를 들어 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 99% 또는 100%이다. 몇몇 실시형태에서, 상기 힌지가 미니바디 내에 위치하고 상기 미니바디가 인간 개체에 투여되는 경우, 상기 개체로부터 미니바디의 제거는 주로 신장을 통해 일어날 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 상기 항체의 적어도 1배, 2

배, 3배, 4배, 5배, 6배, 7배, 8배, 9배, 10배 또는 그 이상이 신장을 통해 제거된다.

- [0136] 몇몇 실시형태에서, 미니바디의 30% 미만의 집성체가 미니바디 조성물 내에 존재한다. 몇몇 실시형태에서, 미니바디의 20% 미만의 집성체가 미니바디 조성물 내에 존재한다. 몇몇 실시형태에서, 미니바디의 10% 미만의 집성체가 미니바디 조성물 내에 존재한다. 몇몇 실시형태에서, 미니바디의 5% 미만의 집성체가 미니바디 조성물 내에 존재한다. 몇몇 실시형태에서, 미니바디의 1% 미만의 집성체가 미니바디 조성물 내에 존재한다.
- [0137] 상기 미니바디가 생체 내 순환 중인 이량체로서 잔류하는 경우, 단백질 제거는 주로 간을 통해 일어나는 것으로 예상된다. 이에 반해, 상기 반분자가 존재하는 경우 이의 제거는 신장을 통해 일어날 것이다. 따라서 몇몇 실시형태에서 상술한 제거 양태가 생체 내에서 개체에 존재하는 상기 얻어진 반분자의 양을 생체 내에서 특화하는 방법으로, 당업자가 상기 투여된 온전한 분자가 생체 내에서 온전한 분자로 잔류하거나 상기 반분자로 분해되는지를 결정하도록 한다. 몇몇 실시형태에서, 상기 미니바디 조성물은 상기 간을 통한 제거가 상기 신장을 통한 제거에 비해 상대적으로 높고 상기 미니바디의 종양 흡수가 상대적으로 높은 조성물이다. 몇몇 실시형태에서, 상기 간에 대한 신장의 비율은 1 미만이다. 몇몇 실시형태에서, 적어도 1% 이상의 흡수가 신장이 아닌 간을 통해 일어나며, 예를 들어, 적어도 1%, 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 100% 또는 그 이상의 흡수가 신장을 통해서가 아닌 간을 통해서 일어난다. 몇몇 실시형태에서, 간에 대한 신장의 흡수 비율은 0.9:1, 1:10, 1:100, 1:1000, 1:10,000 등이다. 몇몇 실시형태에서, 본원에서 제공된 다양한 힌지 구조체들은 IgG1로부터 유래한 EH1 힌지가 아닌 신장을 통한 보다 낮은 제거율을 갖는다.
- [0138] 몇몇 실시형태에서, 기타 쌍을 이루지 않은 시스테인과의 원하지 않은 상호작용을 예방하기 위해 IgG1 힌지 영역(γ 1 EH2)에서 첫 번째 힌지 시스테인의 세린으로의 돌연 변이로 인해 시험관 내(*in vitro*)에서 보다 양호한 프로파일(profile)을 갖는 단백질이 생성된다. 그러나 간과 비교하여 신장을 통한 높은 제거는 생체 내 단백질 불안정 및 반분자로의 해리를 나타낼 수 있다. 몇몇 실시형태에서, IgG2 힌지를 갖는 미니바디가 제공되며, 여기서 첫 번째 힌지 시스테인이 세린으로 돌연 변이되어 있고(γ 2 EH2 등), 대략 80kDa의 단백질에 대해 예상되는 바와 같이 간을 통해 제거되는 특성을 갖는다. 이는 상기 분자가 생체 내에서 온전하게 잔류한다는 것을 나타낸다. 몇몇 실시형태에서, 상기 분자는 48시간 이상 동안 온전하게 잔류한다.
- [0139] 몇몇 실시형태에서, 본원에서 제공된 힌지 구조체는 쌍을 이루지 않은 첫 번째 힌지 시스테인으로 인해 반분자가 9% 미만으로 존재한다. 몇몇 실시형태에서, 첫 번째 시스테인이 세린으로 돌연 변이된 IgG2 힌지는 γ 2 EH2에서와 같이 온전한 이량체 단백질이 99% 초과로 존재한다. 몇몇 실시형태에서, γ 2 힌지 변이체는 신장 흡수의 감소를 초래한다. 몇몇 실시형태에서, huIgG1 힌지(γ 1 EH1)에 의해 제조된 Mb는 신장을 통해 신속하게 제거되며, 그 결과 낮은 종양 표적화를 초래한다. 몇몇 실시형태에서, huIgG2 힌지 변이체, 즉 연장된 힌지(γ 2 EH2) 또는 천연 힌지(γ 2 NH1)에 의해 제조된 Mb는 높은 종양 표적화 및 보다 낮은 신장 제거와 더불어 보다 높은 생체 내 안정성을 나타낸다.
- [0140] 몇몇 실시형태에서, EH2 힌지를 갖는 γ 1 미니바디는 온전한 이량체성 분자로 적절히 조립되지만, 단지 2개의 시스테인이 포함되면 많은 양의 반분자를 갖는 단백질이 수득된다. 몇몇 실시형태에서, EH3 힌지를 갖는 γ 1 미니바디는 온전한 이량체성 분자로 적절히 조립되고, 가닥 당 세 번째 시스테인이 부가되면 매우 낮은 수준의 반분자를 갖는 단백질이 수득된다. 몇몇 실시형태에서, 상기 반분자의 수준은 15% 미만이며, 예를 들어 14% 미만, 13% 미만, 12% 미만, 11% 미만, 10% 미만, 9% 미만, 8% 미만, 7% 미만, 6% 미만, 5% 미만, 4% 미만, 3% 미만, 2% 미만 또는 1% 미만의 반분자가 존재한다.
- [0141] 몇몇 실시형태에서, 상기 힌지 영역이 변경되고 종래에 개시된 영역과 상이할지라도 상기 미니바디의 CDR, V_H/V_L 또는 전체 아미노산 서열은 이전 유형의 힌지를 갖는 항체(예를 들어, 미니바디)와 동일한 친화도로 상기 표적 분자에 여전히 결합한다. 따라서 몇몇 실시형태에서 본원에서 제공된 힌지의 존재가 항원 결합 구조체의 결합 친화도를 변경하지 않거나 이에 악영향을 미치지 않는 반면, 본원에서 제공된 이점 및/또는 구조들 중 하나 이상을 여전히 제공한다.
- [0142] 몇몇 실시형태에서, $X_{n1}CX_{n2}X_{n3}CX_{n4}X_{n5}C$ 의 서열(서열번호 3)을 포함하는 미니바디가 제공된다. 몇몇 실시형태에서, 서열번호 3은 상기 미니바디의 코어 힌지 영역으로서 위치한다. 몇몇 실시형태에서, X_{n1} 은 임의의 아미노산이거나 아미노산이 아닐 수 있고, X_{n2} 는 임의의 아미노산일 수 있고, X_{n3} 은 임의의 아미노산일 수 있고, X_{n4} 는 임의의 아미노산일 수 있고, X_{n5} 는 임의의 아미노산일 수 있다. 몇몇 실시형태에서, X_{n1} 은 시스테인이 아닐 수 있고, X_{n2} 는 시스테인이 아닐 수 있고, X_{n3} 은 시스테인이 아닐 수 있고, X_{n4} 는 시스테인이 아닐 수 있고/있거나, X_{n5} 는 시

스테인이 아닐 수 있다(서열번호 251). 몇몇 실시형태에서, X_{n1} 은 시스테인이 아닌 임의의 아미노산이다(서열번호 229). 몇몇 실시형태에서, X_{n1} 은 세린이다(서열번호 230).

[0143] 몇몇 실시형태에서, $X_{n1}CX_{n2}X_{n3}CX_{n4}X_{n5}CX_{n6}$ 의 서열(서열번호 4)을 포함하는 미니바디가 제공된다. 몇몇 실시형태에서, 서열번호 4는 상기 미니바디의 코어 힌지 영역으로서 위치한다. 몇몇 실시형태에서, X_{n1} 은 임의의 아미노산이거나 아미노산이 아닐 수 있고, X_{n2} 는 임의의 아미노산일 수 있고, X_{n3} 은 임의의 아미노산일 수 있고, X_{n4} 는 임의의 아미노산일 수 있고, X_{n5} 는 임의의 아미노산일 수 있다(서열번호 252). 몇몇 실시형태에서, X_{n1} 은 시스테인이 아닐 수 있고, X_{n2} 는 시스테인이 아닐 수 있고, X_{n3} 은 시스테인이 아닐 수 있고, X_{n4} 는 시스테인이 아닐 수 있고/있거나, X_{n5} 는 시스테인이 아닐 수 있다(서열번호 253). 몇몇 실시형태에서, X_{n1} 은 시스테인이 아닌 임의의 아미노산이다(서열번호 254). 몇몇 실시형태에서, X_{n1} 은 세린이다(서열번호 255). 몇몇 실시형태에서, X_{n6} 은 임의의 아미노산이거나 아미노산이 아닐 수 있거나, P일 수 있다(서열번호 256).

[0144] 몇몇 실시형태에서, 본원에서 제공된 임의의 상기 아미노산 힌지 영역 또는 전체 힌지들은 항체 내에 있다. 몇몇 실시형태에서, 본원에서 제공된 임의의 상기 아미노산 힌지 영역 또는 전체 힌지들은 항체 결합 단편 내에 있다. 몇몇 실시형태에서, 본원에서 제공된 임의의 상기 아미노산 힌지 영역 또는 전체 힌지들은 미니바디 내에 있다.

[0145] 몇몇 실시형태에서, 본원에서 제공된 임의의 상기 아미노산 힌지 영역 또는 전체 힌지들은 단일 특이성 항체 내에 있다.

[0146] 몇몇 실시형태에서, 본원에서 제공된 임의의 상기 아미노산 힌지 영역 또는 전체 힌지들은 이중 특이성 항체 내에 있다. 몇몇 실시형태에서, 본원에서 제공된 임의의 상기 아미노산 힌지 영역 또는 전체 힌지들은 1:1의 비율로 조립된다. 몇몇 실시형태에서, 본원에서 제공된 임의의 상기 아미노산 힌지 영역 또는 전체 힌지들은 이중 특이성 구조체인 항체 단편의 일부이다. 몇몇 실시형태에서, 상기 이중 특이성 항체는 미니바디이다.

[0147] 특정 항원 결합 구조체

[0148] 표적에 결합하는 항원 결합 구조체들이 본원에 개시되어 있다. 항원 결합 구조체는 표적 분자에 특이적으로 결합하거나 상기 표적 분자와 면역학적으로 반응성을 갖는 면역 글로불린 또는 면역 글로불린 관련 분자의 하나 이상의 부분을 포함하는 분자이다. 몇몇 실시형태에서, 본원에서 제공된 임의의 상기 실시형태의 힌지는 임의의 목적하는 항원 결합 구조체에 적용될 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 본원에서 제공된 임의의 상기 실시형태의 힌지는 미니바디에 적용될 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 본원에서 제공된 임의의 상기 실시형태의 힌지는 CD8, CD3, 5T4, PSMA 또는 PSMA에 결합하는 미니바디에 적용될 수 있다. PSMA 항원의 비제한적인 실시형태가 도 70에 도시되어 있다. PSMA 항원의 비제한적인 실시형태가 도 71에 도시되어 있다. 5T4 항원의 비제한적인 실시형태가 도 72에 도시되어 있다. 상기 CD8 항원의 몇몇 비제한적인 실시형태가 도 73 및 도 74에 도시되어 있다. 상기 CD3 항원의 몇몇 비제한적인 실시형태가 도 75 내지 도 78에 도시되어 있다. 몇몇 실시형태에서, 본원에서 제공된 임의의 상기 실시형태의 힌지는 CD8, CD3, 5T4, PSMA 또는 PSMA에 특이적 및/또는 선택적으로 결합하는 미니바디에 적용될 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 표 0.1 또는 표 3에서 제공된 임의의 상기 실시형태의 힌지는 CD8, CD3, 5T4, PSMA 또는 PSMA에 결합하는 미니바디에 적용될 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 임의의 상기 실시형태의 전체 힌지는 CD8, CD3, 5T4, PSMA 또는 PSMA에 결합하는 미니바디에 적용될 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 임의의 상기 실시형태의 상부 힌지는 CD8, CD3, 5T4, PSMA 또는 PSMA에 결합하는 미니바디에 적용될 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 임의의 상기 실시형태의 코어 힌지는 CD8, CD3, 5T4, PSMA 또는 PSMA에 결합하는 미니바디에 적용될 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 임의의 상기 실시형태의 하부 힌지는 CD8, CD3, 5T4, PSMA 또는 PSMA에 결합하는 미니바디에 적용될 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 임의의 상기 실시형태의 상부 및 코어 힌지는 CD8, CD3, 5T4, PSMA 또는 PSMA에 결합하는 미니바디에 적용될 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 임의의 상기 실시형태의 코어 및 하부 힌지는 CD8, CD3, 5T4, PSMA 또는 PSMA에 결합하는 미니바디에 적용될 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 임의의 상기 실시형태의 상부 및 하부 힌지는 CD8, CD3, 5T4, PSMA 또는 PSMA에 결합하는 미니바디에 적용될 수 있다.

[0149] 미니바디와 같은 부가적인 항체 단편들이 하기에 제공된다. 상기 항체 단편들은, 예를 들어 이미징 또는 치료 목적으로 사용될 수 있다. 예시적인 미니바디의 개략적인 도해가 도면에 나타나 있고/있거나 하기 표 0.2에 나열되어 있다(M1 배향 및 M2 배향 중 하나).

【표 0.2】

미니바디(N-말단 내지 C-말단) - M1 구조적 배향								
1	2	3	4	5	6	7	8	9
명칭	신호 펩티드	영역 1	링커	영역 2	전체 한지			나머지
					상부 한지	코어 한지	하부 한지	
IAE2M v1 EH1	(서열번 호 69)	V _L (서열번호 13)	18aa (서열번호 62)	V _H (서열번호 14)	(서열번호 22)			IgG1 CH3 도메인(서열번 호 40 또는 서열번호 41)
IAE2M v1 EH2	(서열번 호 69)	V _L (서열번호 13)	18aa (서열번호 62)	V _H (서열번호 14)	(서열번호 24)			IgG1 CH3 도메인(서열번 호 40 또는 서열번호 41)
IAE2M v2 EH1	(서열번 호 69)	V _L (서열번 호 13)	18aa(서열 번호 62)	V _H (서열번호 14)	(서열번호 32)			IgG2 CH3 도메인(서열번 호 42)
IAE2M v2 EH2	(서열번 호 69)	V _L (서열번호 13)	18aa (서열번호 62)	V _H (서열번호 14)	(서열번호 34)			IgG2 CH3 도메인(서열번 호 42)
IAE2M v1 EH3	(서열번 호 69)	V _L (서열번호 13)	18aa (서열번호 62)	V _H (서열번호 14)	(서열번호 26)			IgG1 CH3 도메인(서열번 호 40 또는 서열번호 41)
IAE22M v2 EH1	(서열번 호 69)	V _L (서열번호 15)	18aa (서열번호 62)	V _H (서열번호 16)	(서열번호 32)			IgG2 CH3 도메인(서열번 호 42)

IAB22M v 2 EH2	(서열번호 69)	V_L (서열번호 15)	18aa (서열번호 62)	V_S (서열번호 16)	(서열번호 34)			Ig α 2 CH3 도메인(서열번호 42)
					(서열번호 47)	(서열번호 56)	(서열번호 59)	
IAB22M v 1 EH1	(서열번호 69)	V_L (서열번호 15)	18aa (서열번호 62)	V_S (서열번호 16)	(서열번호 22)			Ig α 1 CH3 도메인(서열번호 40 또는 서열번호 41)
					(서열번호 45)	(서열번호 50)	(서열번호 59)	
IAB22M v 2 NH1	(서열번호 69)	V_L (서열번호 15)	18aa (서열번호 62)	V_S (서열번호 16)	(서열번호 31)			Ig α 2 CH3 도메인(서열번호 42)
					(서열번호 47)	(서열번호 55)	(서열번호 60)	
IAB22M v 2 NH2	(서열번호 69)	V_L (서열번호 15)	18aa (서열번호 62)	V_S (서열번호 16)	(서열번호 33)			Ig α 2 CH3 도메인(서열번호 42)
					(서열번호 47)	(서열번호 56)	(서열번호 60)	
IAB22M v 1 EH3	(서열번호 69)	V_L (서열번호 15)	18aa (서열번호 62)	V_S (서열번호 16)	(서열번호 26)			Ig α 1 CH3 도메인(서열번호 40 또는 서열번호 41)
					(서열번호 46)	(서열번호 52)	(서열번호 59)	
IAB22M v 1 EH5	(서열번호 69)	V_L (서열번호 15)	18aa (서열번호 62)	V_S (서열번호 16)	(서열번호 30)			Ig α 1 CH3 도메인(서열번호 40 또는 서열번호 41)
					(서열번호 46)	(서열번호 54)	(서열번호 59)	
IAB22M v 3/v 1 EH6	(서열번호 69)	V_L (서열번호 15)	18aa (서열번호 62)	V_S (서열번호 16)	(서열번호 35)			Ig α 1 CH3 도메인(서열번호 40 또는 서열번호 41)
					(서열번호 48)	(서열번호 57)	(서열번호 59)	
IAB22M v 3/v 1 EH7	(서열번호 69)	V_L (서열번호 15)	18aa (서열번호 62)	V_S (서열번호 16)	(서열번호 36)			Ig α 1 CH3 도메인(서열번호 40 또는 서열번호 41)
					(서열번호 48)	(서열번호 52)	(서열번호 59)	
IAB22M v 3/v 1 EH8	(서열번호 69)	V_L (서열번호 15)	18aa (서열번호 62)	V_S (서열번호 16)	(서열번호 37)			Ig α 1 CH3 도메인(서열번호 40 또는 서열번호 41)
					(서열번호 48)	(서열번호 54)	(서열번호 59)	
IAB2M v 1 EH5	(서열번호 69)	V_L (서열번호 13)	18aa (서열번호 62)	V_S (서열번호 14)	(서열번호 30)			Ig α 1 CH3 도메인(서열번호 40 또는 서열번호 41)
					(서열번호 46)	(서열번호 54)	(서열번호 59)	
IAB2M v 3/v 1 EH6	(서열번호 69)	V_L (서열번호 13)	18aa (서열번호 62)	V_S (서열번호 14)	(서열번호 35)			Ig α 1 CH3 도메인(서열번호 40 또는 서열번호 41)
					(서열번호 48)	(서열번호 57)	(서열번호 59)	

[0152]

IAB2M v 3/v 1 EH7	(서열번 호 69)	VL (서열번호 13)	18aa (서열번호 62)	VS (서열번호 14)	(서열번호 36)			IgG1 CH3 도메인(서열번 호 40 또는 서열번호 41)
					(서열 번호 48)	(서열 번호 52)	(서열 번호 59)	
IAB2M- v 3/v 1 EH8	(서열번 호 69)	VL (서열번호 13)	18aa (서열번호 62)	VS (서열번호 14)	(서열번호 37)			IgG1 CH3 도메인(서열번 호 40 또는 서열번호 41)
					(서열 번호 48)	(서열 번호 54)	(서열 번호 59)	
IAB22M v 1 EH2	(서열번 호 69)	VL (서열번호 15)	18aa (서열번호 62)	VS (서열번호 16)	(서열번호 24)			IgG1 CH3 도메인(서열번 호 40 또는 서열번호 41)
					(서열 번호 46)	(서열 번호 50)	(서열 번호 59)	
IAB20M v 1 EH1	(서열번 호 69)	VL (서열번호 13)	18aa (서열번호 62)	VS (서열번호 14)	(서열번호 22)			IgG1 CH3 도메인(서열번 호 40 또는 서열번호 41)
					(서열 번호 45)	(서열 번호 50)	(서열 번호 59)	
IAB20M v 1 EH3	(서열번 호 69)	VL (서열번호 17)	18aa (서열번호 62)	VS (서열번호 18)	(서열번호 26)			IgG1 CH3 도메인(서열번 호 40 또는 서열번호 41)
					(서열 번호 46)	(서열 번호 52)	(서열 번호 59)	
IAB20M v 1 EH2	(서열번 호 69)	VL (서열번호 17)	18aa (서열번호 62)	VS (서열번호 18)	(서열번호 24)			IgG1 CH3 도메인(서열번 호 40 또는 서열번호 41)
					(서열 번호 46)	(서열 번호 50)	(서열 번호 59)	
IAB20M v 1 EH5	(서열번 호 69)	VL (서열번호 17)	18aa (서열번호 62)	VS (서열번호 18)	(서열번호 30)			IgG1 CH3 도메인(서열번 호 40 또는 서열번호 41)
					(서열 번호 46)	(서열 번호 54)	(서열 번호 59)	
IAB1M v 1 EH1	(서열번 호 69)	VL (서열번호 67)	18aa (서열번호 62)	VS (서열번호 68)	(서열번호 22)			IgG1 CH3 도메인(서열번 호 40 또는 서열번호 41)
					(서열 번호 45)	(서열 번호 50)	(서열 번호 59)	
IAB1M v 1 EH2	(서열번 호 69)	VL (서열번호 67)	18aa (서열번호 62)	VS (서열번호 68)	(서열번호 24)			IgG1 CH3 도메인(서열번 호 40 또는 서열번호 41)
					(서열 번호 46)	(서열 번호 50)	(서열 번호 59)	
IAB1M v 1 EH3	(서열번 호 69)	VL (서열번호 67)	18aa (서열번호 62)	VS (서열번호 68)	(서열번호 26)			IgG1 CH3 도메인(서열번 호 40 또는 서열번호 41)
					(서열 번호 46)	(서열 번호 52)	(서열 번호 59)	
IAB20M v 2 EH2	(서열번 호 69)	VL (서열번호 17)	18aa (서열번호 62)	VS (서열번호 18)	(서열번호 34)			IgG2 CH3 도메인(서열번 호 42)
					(서열 번호 47)	(서열 번호 56)	(서열 번호 59)	

[0153]

IAB2CM v 2 BH2	(서열번호 69)	V_L (서열번호 17)	18aa (서열번호 62)	V_H (서열번호 18)	(서열번호 34)			IgG2 CH3 T26S, L28A, M57V 도메인(서열번호 181)
					(서열번호 47)	(서열번호 55)	(서열번호 59)	
IAB2CM v 2 EH2	(서열번호 69)	V_L (서열번호 17)	18aa (서열번호 62)	V_H (서열번호 18)	(서열번호 34)			IgG2 CH3 T26W 도메인(서열번호 182)
					(서열번호 47)	(서열번호 55)	(서열번호 59)	
IAB25M v 2 EH2	(서열번호 69)	V_L (서열번호 19)	18aa (서열번호 62)	V_H (서열번호 20)	(서열번호 34)			IgG2 CH3 도메인(서열번호 42)
					(서열번호 47)	(서열번호 56)	(서열번호 59)	
IAB25M v 2 EH2	(서열번호 69)	V_L (서열번호 19)	18aa (서열번호 62)	V_H (서열번호 20)	(서열번호 34)			IgG2 CH3 T26S, L28A, M57V 도메인(서열번호 181)
					(서열번호 47)	(서열번호 56)	(서열번호 59)	
IAB25M v 2 EH2	(서열번호 69)	V_L (서열번호 19)	18aa (서열번호 62)	V_H (서열번호 20)	(서열번호 34)			IgG2 CH3 T26W 도메인(서열번호 182)
					(서열번호 47)	(서열번호 56)	(서열번호 59)	

【표 0.2】 계속

미니바디(N-말단 내지 C-말단) - M1 구조적 배향								
1	2	3	4	5	6	7	8	9
명칭	신호 펩티드	영역 1	링크어	영역 2	전체 힌지			나머지
					상부 힌지	코어 힌지	하부 힌지	
IAB2M v1 EH1	(서열번호 69)	V_H (서열번호 14)	18aa (서열번호 62)	V_L (서열번호 13)	(서열번호 22)			IgG1 CH3 도메인(서열번호 40 또는 서열번호 41)
					(서열번호 45)	(서열번호 50)	(서열번호 59)	
IAB2M v1 EH2	(서열번호 69)	V_H (서열번호 14)	18aa (서열번호 62)	V_L (서열번호 13)	(서열번호 24)			IgG1 CH3 도메인(서열번호 40 또는 서열번호 41)
					(서열번호 46)	(서열번호 50)	(서열번호 59)	
IAB2M v2 EH1	(서열번호 69)	V_H (서열번호 14)	18aa (서열번호 62)	V_L (서열번호 13)	(서열번호 32)			IgG2 CH3 도메인(서열번호 42)
					(서열번호 47)	(서열번호 55)	(서열번호 59)	
IAB2M v2 EH2	(서열번호 69)	V_H (서열번호 14)	18aa (서열번호 62)	V_L (서열번호 13)	(서열번호 34)			IgG2 CH3 도메인(서열번호 42)
					(서열번호 47)	(서열번호 56)	(서열번호 59)	

IAB2M γ 1 EH3	(서열번호 69)	V_H (서열번호 14)	18aa (서열번호 62)	V_L (서열번호 13)	(서열번호 26)			IgG1 CH3 도메인(서열 번호 40 또는 서열번호 41)
					(서열 번호 46)	(서열 번호 52)	(서열 번호 59)	
IAB22M γ 2 EH1	(서열번호 69)	V_H (서열번호 16)	18aa (서열번호 62)	V_L (서열번호 15)	(서열번호 32)			IgG2 CH3 도메인(서열 번호 42)
					(서열 번호 47)	(서열 번호 55)	(서열 번호 59)	
IAB22M1 γ 2 EH2	(서열번호 69)	V_H (서열번호 16)	18aa (서열번호 62)	V_L (서열번호 15)	(서열번호 34)			IgG2 CH3 도메인(서열 번호 42)
					(서열 번호 47)	(서열 번호 56)	(서열 번호 59)	
IAB22M γ 1 EH1	(서열번호 69)	V_H (서열번호 16)	18aa (서열번호 62)	V_L (서열번호 15)	(서열번호 22)			IgG1 CH3 도메인(서열 번호 40 또는 서열번호 41)
					(서열 번호 45)	(서열 번호 50)	(서열 번호 59)	
IAB22M γ 2 NH1	(서열번호 69)	V_H (서열번호 16)	18aa (서열번호 62)	V_L (서열번호 15)	(서열번호 31)			IgG2 CH3 도메인(서열 번호 42)
					(서열 번호 47)	(서열 번호 55)	(서열 번호 60)	
IAB22M γ 2 NH2	(서열번호 69)	V_H (서열번호 16)	18aa (서열번호 62)	V_L (서열번호 15)	(서열번호 33)			IgG2 CH3 도메인(서열 번호 42)
					(서열 번호 47)	(서열 번호 56)	(서열 번호 60)	
IAB22M γ 1 EH3	(서열번호 69)	V_H (서열번호 16)	18aa (서열번호 62)	V_L (서열번호 15)	(서열번호 26)			IgG1 CH3 도메인(서열 번호 40 또는 서열번호 41)
					(서열 번호 46)	(서열 번호 52)	(서열 번호 59)	
IAB22M γ 1 EH5	(서열번호 69)	V_H (서열번호 16)	18aa (서열번호 62)	V_L (서열번호 15)	(서열번호 30)			IgG1 CH3 도메인(서열 번호 40 또는 서열번호 41)
					(서열 번호 46)	(서열 번호 54)	(서열 번호 59)	
IAB22M γ 3/ γ 1 EH6	(서열번호 69)	V_H (서열번호 16)	18aa (서열번호 62)	V_L (서열번호 15)	(서열번호 35)			IgG1 CH3 도메인(서열 번호 40 또는 서열번호 41)
					(서열 번호 48)	(서열 번호 57)	(서열 번호 59)	
IAB22M γ 3/ γ 1 EH7	(서열번호 69)	V_H (서열번호 16)	18aa (서열번호 62)	V_L (서열번호 15)	(서열번호 36)			IgG1 CH3 도메인(서열 번호 40 또는 서열번호 41)
					(서열 번호 48)	(서열 번호 52)	(서열 번호 59)	
IAB22M γ 3/ γ 1 EH8	(서열번호 69)	V_H (서열번호 16)	18aa (서열번호 62)	V_L (서열번호 15)	(서열번호 37)			IgG1 CH3 도메인(서열 번호 40 또는 서열번호 41)
					(서열 번호 48)	(서열 번호 54)	(서열 번호 59)	

[0157]

IAB2M γ 1 EH5	(서열번호 69)	V_H (서열번호 14)	18aa (서열번호 62)	V_L (서열번호 13)	(서열번호 30)			IgG1 CH3 도메인(서열 번호 40 또는 서열번호 41)
					(서열 번호 46)	(서열 번호 54)	(서열 번호 59)	
IAB2M γ 3/ γ 1 EH6	(서열번호 69)	V_H (서열번호 14)	18aa (서열번호 62)	V_L (서열번호 13)	(서열번호 35)			IgG1 CH3 도메인(서열 번호 40 또는 서열번호 41)
					(서열 번호 48)	(서열 번호 57)	(서열 번호 59)	
IAB2M γ 3/ γ 1 EH7	(서열번호 69)	V_H (서열번호 14)	18aa (서열번호 62)	V_L (서열번호 13)	(서열번호 36)			IgG1 CH3 도메인(서열 번호 40 또는 서열번호 41)
					(서열 번호 48)	(서열 번호 52)	(서열 번호 59)	
IAB2M γ 3/ γ 1 EH8	(서열번호 69)	V_H (서열번호 14)	18aa (서열번호 62)	V_L (서열번호 13)	(서열번호 37)			IgG1 CH3 도메인(서열 번호 40 또는 서열번호 41)
					(서열 번호 48)	(서열 번호 54)	(서열 번호 59)	
IAB22M γ 1 EH2	(서열번호 69)	V_H (서열번호 16)	18aa (서열번호 62)	V_L (서열번호 15)	(서열번호 24)			IgG1 CH3 도메인(서열 번호 40 또는 서열번호 41)
					(서열 번호 46)	(서열 번호 50)	(서열 번호 59)	
IAB20M γ 1 EH1	(서열번호 69)	V_H (서열번호 14)	18aa (서열번호 62)	V_L (서열번호 13)	(서열번호 22)			IgG1 CH3 도메인(서열 번호 40 또는 서열번호 41)
					(서열 번호 45)	(서열 번호 50)	(서열 번호 59)	
IAB20M γ 1 EH3	(서열번호 69)	V_H (서열번호 18)	18aa (서열번호 62)	V_L (서열번호 17)	(서열번호 26)			IgG1 CH3 도메인(서열 번호 40 또는 서열번호 41)
					(서열 번호 46)	(서열 번호 52)	(서열 번호 59)	
IAB20M γ 1 EH2	(서열번호 69)	V_H (서열번호 18)	18aa (서열번호 62)	V_L (서열번호 17)	(서열번호 24)			IgG1 CH3 도메인(서열 번호 40 또는 서열번호 41)
					(서열 번호 46)	(서열 번호 50)	(서열 번호 59)	
IAB20M γ 1 EH5	(서열번호 69)	V_H (서열번호 18)	18aa (서열번호 62)	V_L (서열번호 17)	(서열번호 30)			IgG1 CH3 도메인(서열 번호 40 또는 서열번호 41)
					(서열 번호 46)	(서열 번호 54)	(서열 번호 59)	
IAB1M γ 1 EH1	(서열번호 69)	V_H (서열번호 68)	18aa (서열번호 62)	V_L (서열번호 67)	(서열번호 22)			IgG1 CH3 도메인(서열 번호 40 또는 서열번호 41)
					(서열 번호 45)	(서열 번호 50)	(서열 번호 59)	
IAB1M γ 1 EH2	(서열번호 69)	V_H (서열번호 68)	18aa (서열번호 62)	V_L (서열번호 67)	(서열번호 24)			IgG1 CH3 도메인(서열 번호 40 또는 서열번호 41)
					(서열 번호 46)	(서열 번호 50)	(서열 번호 59)	

[0158]

IAB1M γ 1 EH3	(서열번호 69)	V_H (서열번호 68)	18aa (서열번호 62)	V_L (서열번호 67)	(서열번호 26) (서열 번호 46)	(서열 번호 52)	(서열 번호 59)	IgG1 CH3 도메인(서열 번호 40 또는 서열번호 41)
IAB2QM γ 2 EH2	(서열번호 69)	V_H (서열번호 18)	18aa (서열번호 62)	V_L (서열번호 17)	(서열번호 34) (서열 번호 47)	(서열 번호 56)	(서열 번호 59)	IgG2 CH3 도메인(서열 번호 42)
IAB2QM γ 2 EH2	(서열번호 69)	V_H (서열번호 18)	18aa (서열번호 62)	V_L (서열번호 17)	(서열번호 34) (서열 번호 47)	(서열 번호 56)	(서열 번호 59)	IgG2 CH3 T26S, L28A, M57V 도메인(서열 번호 181)
IAB2QM γ 2 EH2	(서열번호 69)	V_H (서열번호 18)	18aa (서열번호 62)	V_L (서열번호 17)	(서열번호 34) (서열 번호 47)	(서열 번호 56)	(서열 번호 59)	IgG2 CH3 T26W 도메인(서열 번호 182)
IAB2FM γ 2 EH2	(서열번호 69)	V_H (서열번호 20)	18aa (서열번호 62)	V_L (서열번호 19)	(서열번호 34) (서열 번호 47)	(서열 번호 56)	(서열 번호 59)	IgG2 CH3 도메인(서열 번호 42)
IAB2FM γ 2 EH2	(서열번호 69)	V_H (서열번호 20)	18aa (서열번호 62)	V_L (서열번호 19)	(서열번호 34) (서열 번호 47)	(서열 번호 56)	(서열 번호 59)	IgG2 CH3 T26S, L28A, M57V 도메인(서열 번호 181)
IAB2FM γ 2 EH2	(서열번호 69)	V_H (서열번호 20)	18aa (서열번호 62)	V_L (서열번호 19)	(서열번호 34) (서열 번호 47)	(서열 번호 56)	(서열 번호 59)	IgG2 CH3 T26W 도메인(서열 번호 182)

[0159]

[0160]

표 0.2에는 미니바디에 사용될 수 있는 단량체에 대한 서열들의 배열이 나열되어 있다(표 0.2). 표의 각각의 행은 단량체 구조체의 서열을 나타내며, 이때 N-말단 내지 C-말단을 좌우로 나타낸다. 몇몇 실시형태에서, 단량체 구조체 각각의 나열된 서열들은 서로에 대해 직접 연결되어 있다. 따라서 몇몇 실시형태에서 상기 구조체는 표 0.2에서 단일 행 상의 임의의 상기 구조체들을 포함할 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 상기 구조체들은 표 0.2에서의 임의의 조합을 포함할 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 예를 들어 제 1 행의 제 3 열에 있는 제 1 항목은 제 1 행의 제 4 열 내지 제 1 행의 제 5 열, 제 1 행의 제 6 열 내지 제 8 열, 제 1 행의 제 9 열과 조합될 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 제 3 열 내지 제 5 열은 서로 교체될 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 제 1 행의 제 3 열에 있는 제 1 항목은 제 1 행의 제 4 열 내지 제 2 행의 제 5 열, 제 2 행의 제 6 열 내지 제 8 열, 제 2 행의 제 9 열과 조합될 수 있다. 따라서 상기 표에는 단일 행 내의 조합 및 다양한 행을 통한 조합(및 열은 교체 가능함) 둘 모두를 포함한 모든 가능한 조합이 나타나 있다.

[0161]

몇몇 실시형태에서, CD8에 대한 항원 결합 구조체는 서열번호 75로 표시된 HCDR 1과 동일한 중쇄 CDR1(HCDR1); 서열번호 76으로 표시된 HCDR2와 동일한 중쇄 CDR2(HCDR2); 서열번호 77로 표시된 HCDR3과 동일한 중쇄 CDR3(HCDR3); 서열번호 78로 표시된 LCDR1과 동일한 경쇄 CDR1(LCDR1); 서열번호 79로 표시된 LCDR2와 동일한 경쇄 CDR2(LCDR2); 및/또는 서열번호 80으로 표시된 LCDR3과 동일한 경쇄 CDR3(LCDR3)을 포함한다. 몇몇 실시형태에서, PSMA에 대한 항원 결합 구조체는 서열번호 81로 표시된 HCDR 1과 동일한 중쇄 CDR1(HCDR1); 서열번호 82로 표시된 HCDR2와 동일한 중쇄 CDR2(HCDR2); 서열번호 83으로 표시된 HCDR3과 동일한 중쇄 CDR3(HCDR3); 서열번호 84로 표시된 LCDR1과 동일한 경쇄 CDR1(LCDR1); 서열번호 85로 표시된 LCDR2와 동일한 경쇄 CDR2(LCDR2); 및/또는 서열번호 86으로 표시된 LCDR3과 동일한 경쇄 CDR3(LCDR3)을 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 5T4에 대한 항원 결합 구조체는 서열번호 87로 표시된 HCDR1과 동일한 중쇄 CDR1(HCDR1); 서열번호 88로 표시된 HCDR2와 동일한 중쇄 CDR2(HCDR2); 서열번호 89로 표시된 HCDR3과 동일한 중쇄 CDR3(HCDR3); 서열번호 90으로 표시된 LCDR1과 동일한 경쇄 CDR1(LCDR1); 서열번호 91로 표시된 LCDR2와 동일한 경쇄 CDR2(LCDR2); 및/또는 서열번호 92로 표시된 LCDR3과 동일한 경쇄 CDR3(LCDR3)을 포함한다. 몇몇 실시형태에서, PSCA에 대한 항원 결합 구조체는 서열번호 93으로 표시된 HCDR1과 동일한 중쇄 CDR1(HCDR1); 서열번호 94로 표시된 HCDR2와 동일한 중쇄 CDR2(HCDR2); 서열번호 95로 표시된 HCDR3과 동일한 중쇄 CDR3(HCDR3); 서열번호 96으로 표시된 LCDR1과 동일한 경쇄 CDR1(LCDR1); 서열번호 97로 표시된 LCDR2와 동일한 경쇄 CDR2(LCDR2); 및/또는 서열번호 98로 표시된 LCDR3과 동일한 경쇄 CDR3(LCDR3)을 포함한다. 몇몇 실시형태에서, CD3에 대한 항원 결합 구조체는 도 65b 또는 도 65c에 도시된 HCDR1과 동일한 중쇄 CDR1(HCDR1); 도 65b 또는 도 65c에 도시된 HCDR2와 동일한

중쇄 CDR2(HCDR2); 도 65b 또는 도 65c에 도시된 HCDR3과 동일한 중쇄 CDR3(HCDR3); 도 65b 또는 도 65c에 도시된 LCDR1과 동일한 경쇄 CDR1(LCDR1); 도 65b 또는 도 65c에 도시된 LCDR2와 동일한 경쇄 CDR2(LCDR2); 및/또는 도 65b 또는 도 65c에 도시된 LCDR3과 동일한 경쇄 CDR3(LCDR3)을 포함한다. 본원에서 제공된 상기 한지 서열들 중 임의의 하나 이상과 함께 사용될 수 있는 CDR 서열들의 몇몇 실시형태가 표 8에 나타나 있다.

표 8

CDR 서열					
	IAB22M(CD8)	IAB2M(PSMA)	IAB20M(5T4)	IAB1M(PSCA)	IAB25M(CD3)
HCDR1	GFNIKDT (서열번호 75)	GYTFTEY (서열번호 81)	GYSFTGY (서열번호 87)	GFNIKDY (서열번호 93)	GYTFTRY (서열번호 174)
HCDR2	DPANDN (서열번호 76)	NINPNNGG (서열번호 82)	NPNNGV (서열번호 88)	DPENGD (서열번호 94)	NPSRGY (서열번호 175)
HCDR3	GYGYVFDH (서열번호 77)	GWNFYD (서열번호 83)	STMITNYVMDY (서열번호 89)	GGF (서열번호 95)	YYDDHYSLDY (서열번호 176)
LCDR1	RTSRISQYLA (서열번호 78)	KASQDVGTAVD (서열번호 84)	KASQSVSNDVA (서열번호 90)	SASSSVRFIH (서열번호 96)	SASSSVSYMN (서열번호 177)
LCDR2	SGSTLQS (서열번호 79)	WASTRHT (서열번호 85)	YTSSRYA (서열번호 91)	DTSKLAS (서열번호 97)	DTSKLAS (서열번호 97)
LCDR3	QQHNENPLT (서열번호 80)	QQYNSYPLT (서열번호 86)	QQDYNPPT (서열번호 92)	QQWGSSPFT (서열번호 98)	QQWSSNPFT (서열번호 178)

이들 구조체들은 본원에서 제공된 임의의 형태일 수 있으며, 이들로는 미니바디, scFv 등이 있다. 몇몇 실시형태에서, 상기 항원 결합 구조체는 6개, 5개, 4개, 3개, 2개 또는 1개의 상술한 CDR을 포함한다(상기 CDR의 몇몇 실시형태가 도 41, 도 48, 도 55, 도 61, 도 65b 또는 도 65c에 나타나 있음). 몇몇 실시형태에서, 본원에서 제공된 임의의 상기 한지 절편들은 본원에서 제공된 임의의 상기 CDR과 조합될 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 본원에서 제공된 임의의 상기 상부 한지 절편들은 본원에서 제공된 임의의 상기 CDR과 조합될 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 본원에서 제공된 임의의 상기 코어 한지 절편들은 본원에서 제공된 임의의 상기 CDR과 조합될 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 본원에서 제공된 임의의 상기 하부 한지 절편들은 본원에서 제공된 임의의 상기 CDR과 조합될 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 본원에서 제공된 임의의 상기 전체 한지 절편들은 본원에서 제공된 임의의 상기 CDR과 조합될 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 본원에서 제공된 임의의 상기 상부 및 코어 한지 절편들은 본원에서 제공된 임의의 상기 CDR과 조합될 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 본원에서 제공된 임의의 상기 상부 및 코어 한지 절편들은 본원에서 제공된 임의의 상기 CDR과 조합될 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 임의의 이들 CDR 기반 실시형태는 미니바디의 일부일 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 상기 항원 결합 구조체는 중쇄 CDR3(HCDR3)을 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 상기 항원 결합 구조체는 표적 분자에 특이적으로 결합한다. 몇몇 실시형태에서, 상기 항원 결합 구조체는 본원에서 제공된 CDR을 갖는 항체들 중 하나 이상과의 결합을 위해 경쟁한다. 몇몇 실시형태에서, 상기 항원 결합 구조체는 적어도 상술한 3개 중쇄 CDR을 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 상기 항원 결합 구조체는 중쇄 CDR3을 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 상기 항원 결합 구조체는 본원에서 제공된 중쇄 CDR2 서열들 중 임의의 하나를 더 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 임의의 이들 실시형태는 CD8, CD3, 5T4, PSCA 또는 PSMA에 결합하는 미니바디에 적용될 수 있다.

몇몇 실시형태에서, 상기 항원 결합 구조체는 인간이거나 인간화된다. 미니바디의 문맥에서 사용되는 경우, 인간이란 용어는 구조체가 인간에서 자연적으로 발견되는 구조체와 동일하다는 것을 의미하지 않지만, 오히려 상기 구조체가 인간의 서열을 갖는다는 것을 의미한다. 몇몇 실시형태에서, 상기 항원 결합 구조체는 적어도 하나의 인간 골격 영역(예를 들어, 도 41, 도 48, 도 55, 도 61, 도 65b 또는 도 65c에 도시된 CDR 이전, 사이 및 이후에 나타난 이들 절편) 또는 인간 골격 영역에 대해 적어도 약 80%의 서열 동일성, 예를 들어 적어도 약 80%, 85%, 90%, 93%, 95%, 97% 또는 99%의 동일성을 갖는 골격 영역을 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 상기 항원 결합 구조체는 8개, 7개, 6개, 5개, 4개, 3개, 2개 또는 1개의 상술한 FR를 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 본원에서 제공된 임의의 상기 한지 절편들은 본원에서 제공된 임의의 상기 FR과 조합될 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 본원에서 제공된 임의의 상기 상부 한지 절편들은 본원에서 제공된 임의의 상기 FR과 조합될 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 본원에서 제공된 임의의 상기 코어 한지 절편들은 본원에서 제공된 임의의 상기 FR과 조합될 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 본원에서 제공된 임의의 상기 하부 한지 절편들은 본원에서 제공된 임의의 상기 FR과 조합될 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 본원에서 제공된 임의의 상기 전체 한지 절편들은 본원에서 제

공된 임의의 상기 FR과 조합될 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 본원에서 제공된 임의의 상기 상부 및 코어 힌지 절편들은 본원에서 제공된 임의의 상기 FR과 조합될 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 본원에서 제공된 임의의 상기 코어 및 하부 힌지 절편들은 본원에서 제공된 임의의 상기 FR과 조합될 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 임의의 이들 FR 기반 실시형태는 미니바디의 일부일 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 임의의 이들 실시형태는 CD8, CD3, 5T4, PSCA 또는 PSMA에 결합하는 미니바디에 적용될 수 있다.

[0165] 몇몇 실시형태에서, 상기 항원 결합 구조체는 서열번호 14(PSMA), 서열번호 16 또는 서열번호 99(CD8), 서열번호 18 또는 서열번호 102(5T4), 서열번호 68(PSCA), 또는 서열번호 20 또는 서열번호 104(또는 도 65b 및 도 65c)(CD3)로 표시된 중쇄 가변 영역과 동일한 중쇄 가변 영역을 갖는다. 몇몇 실시형태에서, 상기 항원 결합 구조체는 서열번호 14(PSMA), 서열번호 16 또는 서열번호 99(CD8), 서열번호 18 또는 서열번호 102(5T4), 서열번호 68(PSCA), 또는 서열번호 20 또는 서열번호 104(또는 도 65b 및 도 65c)(CD3)에 대해 적어도 약 80% 동일성, 예를 들어 적어도 약 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 동일성을 갖는 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역을 갖는다. 몇몇 실시형태에서, 상기 항원 결합 구조체는 서열번호 13(PSMA), 서열번호 15(CD8), 서열번호 17 또는 서열번호 100 또는 서열번호 101(5T4), 서열번호 67(PSCA), 또는 서열번호 19 또는 서열번호 103(또는 도 65b 및 도 65c)(CD3)을 포함하는 경쇄 가변 영역을 갖는다. 몇몇 실시형태에서, 상기 항원 결합 구조체는 서열번호 13(PSMA), 서열번호 15(CD8), 서열번호 17 또는 서열번호 100 또는 서열번호 101(5T4), 서열번호 67(PSCA), 또는 서열번호 19 또는 서열번호 103(또는 도 65b 및 도 65c)(CD3)에 대해 적어도 약 80%의 동일성, 예를 들어 적어도 약 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 동일성을 갖는 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 갖는다. 몇몇 실시형태에서, 상기 항원 결합 구조체는 인간 항원 결합 구조체이고, 상기에서 나열한 적어도 중쇄 및/또는 경쇄 가변 서열과 적어도 동일한 중쇄 가변 영역, 경쇄 가변 영역 또는 중쇄 및 경쇄를 갖는다. 몇몇 실시형태에서, 상술한 실시형태들 중 임의의 하나는 본원에서 제공된 힌지 실시형태들 중 임의의 하나와 조합되며, 이들은, 예를 들어 미니바디의 문맥에서 포함된다. 몇몇 실시형태에서, 본원에서 제공된 임의의 상기 힌지 절편들은 본원에서 제공된 임의의 V_H 과 V_L 쌍과 조합될 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 본원에서 제공된 임의의 상기 상부 힌지 절편들은 본원에서 제공된 임의의 V_H 과 V_L 쌍과 조합될 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 본원에서 제공된 임의의 상기 코어 힌지 절편들은 본원에서 제공된 임의의 V_H 과 V_L 쌍과 조합될 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 본원에서 제공된 임의의 상기 하부 힌지 절편들은 본원에서 제공된 임의의 V_H 과 V_L 쌍과 조합될 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 본원에서 제공된 임의의 상기 전체 힌지 절편들은 본원에서 제공된 임의의 V_H 과 V_L 쌍과 조합될 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 본원에서 제공된 임의의 상기 상부 및 코어 힌지 절편들은 본원에서 제공된 임의의 V_H 과 V_L 쌍과 조합될 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 본원에서 제공된 임의의 V_H 과 V_L 쌍과 조합될 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 본원에서 제공된 임의의 상기 코어 및 하부 힌지 절편들은 본원에서 제공된 임의의 V_H 과 V_L 쌍과 조합될 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 임의의 이들 V_H 과 V_L 쌍 기반 실시형태는 미니바디의 일부일 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 임의의 이들 실시형태는 CD8, CD3, 5T4, PSCA 또는 PSMA에 결합하는 미니바디에 적용될 수 있다.

[0166] 몇몇 실시형태에서, 상기 항원 결합 구조체는 검출 가능한 마커를 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 상기 항원 결합 구조체는 치료제를 포함한다.

[0167] 몇몇 실시형태에서, 상기 항원 결합 구조체는 2가이다. 2가 항원 결합 구조체는 적어도 제 1 항원 결합 도메인, 예를 들어 제 1 scFv 및 적어도 제 2 항원 결합 도메인, 예를 들어 제 2 scFv를 포함할 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 2가 항원 결합 구조체는 적어도 2개의 단량체, 예를 들어 적어도 2개, 3개, 4개, 5개, 6개, 7개 또는 8개의 단량체를 포함하는 다량체이며, 상기 단량체 각각은 항원 결합 도메인을 갖는다. 몇몇 실시형태에서, 상기 항원 결합 구조체는 미니바디이다. 몇몇 실시형태에서, 본원에서 제공된 힌지의 하나 이상의 서브파트는 상기 2가 구조체에 포함된다. 상기 미니바디는 본원에서 제공된 임의의 CDR 및 중쇄 가변 영역 및/또는 경쇄 가변 영역의 실시형태들을 포함할 수 있다(예를 들어, 도 41, 도 48, 도 55, 도 61, 도 65b 또는 도 65c에 제공된 CDR 서열). 몇몇 실시형태에서, 상기 항원 결합 구조체는 1가 scFv이다. 몇몇 실시형태에서, 1가 scFv가 제공되며, 이때 상기 1가 scFv는 도 41, 도 48, 도 55, 도 61, 도 65b 또는 도 65c의 HCDR1에서의 중쇄 CDR1(HCDR1), 도 41, 도 48, 도 55, 도 61, 도 65b 또는 도 65c의 HCDR2에서의 중쇄 CDR2(HCDR2), 도 41, 도 48, 도 55, 도 61, 도 65b 또는 도 65c의 HCDR3에서의 HCDR3, 도 41, 도 48, 도 55, 도 61, 도 65b 또는 도 65c의 LCDR1에서의 경쇄 CDR1(LCDR1), 도 41, 도 48, 도 55, 도 61, 도 65b 또는 도 65c의 LCDR2에서의 경쇄 CDR2(LCDR2), 및 도 41, 도 48, 도 55, 도 61, 도 65b 또는 도 65c의 LCDR3에서의 경쇄 CDR3(LCDR3)을 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 상기 1가 scFv는 도 36a, 도 36b, 도 36c, 도 36d, 도 36e, 도 65b 또는 도 65c에 도시된 중쇄 가변 영역

과 동일한 중쇄 가변 영역을 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 상기 1가 scFv는 도 36a, 도 36b, 도 36c, 도 36d, 도 36e, 도 65b 또는 도 65c에 도시된 경쇄 가변 영역과 동일한 경쇄 가변 영역을 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 상기 1가 scFv는 도 66, 도 68 또는 도 69에 도시된 중쇄 가변 영역과 동일한 중쇄 가변 영역, 및 도 67 또는 도 69에 도시된 경쇄 가변 영역과 동일한 경쇄 가변 영역을 포함한다.

[0168] 몇몇 실시형태에서, 상기 항원 결합 구조체는 이중 특이적이다. 이중 특이성 구조체들은 적어도 제 1 결합 도메인, 예를 들어 제 1 에피토프에 특이적으로 결합하는 scFv, 및 적어도 제 2 결합 도메인, 예를 들어 제 2 에피토프에 특이적으로 결합하는 scFv를 포함할 수 있다. 따라서 이중 특이성 항원 결합 구조체들은 2개 이상의 에피토프에 결합할 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 상기 제 1 에피토프 및 제 2 에피토프는 동일한 항원의 일부이고, 따라서 상기 이중 특이성 항원 결합 구조체는 동일한 항원의 2개의 에피토프에 결합할 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 상기 제 1 에피토프는 제 1 항원의 일부이고, 상기 제 2 에피토프는 제 2 항원의 일부이며, 따라서 상기 이중 특이성 항원 결합 구조체는 2개의 상이한 항원에 결합할 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 상기 항원 결합 구조체는 2개의 에피토프에 동시에 결합한다.

[0169] 몇몇 실시형태에서, 상기 항원 결합 구조체는 서열번호 14, 서열번호 16, 서열번호 18, 서열번호 20, 서열번호 68, 서열번호 99, 서열번호 102 또는 서열번호 104로 표시된 중쇄 가변 영역과 동일한 중쇄 가변 영역, 및/또는 도 65b 및 도 65c에 나타난 서열들을 갖는다. 몇몇 실시형태에서, 상기 항원 결합 구조체는 서열번호 14, 서열번호 16, 서열번호 18, 서열번호 20, 서열번호 68, 서열번호 99, 서열번호 102 또는 서열번호 104에 대해 적어도 약 80%의 동일성, 예를 들어 적어도 약 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 동일성을 갖는 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역, 및/또는 도 65b 및 도 65c에 도시된 서열들을 갖는다. 몇몇 실시형태에서, 상기 항원 결합 구조체는 서열번호 13, 서열번호 15, 서열번호 17, 서열번호 19, 서열번호 67, 서열번호 100, 서열번호 101 또는 서열번호 103을 포함하는 경쇄 가변 영역, 및/또는 도 65b 및 도 65c에 도시된 서열들을 갖는다. 몇몇 실시형태에서, 상기 항원 결합 구조체는 서열번호 13, 서열번호 15, 서열번호 17, 서열번호 19, 서열번호 67, 서열번호 100, 서열번호 101 또는 서열번호 103에 대해 적어도 약 80%의 동일성, 예를 들어 적어도 약 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 동일성을 갖는 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역, 및/또는 도 65b 및 도 65c에 도시된 서열들을 갖는다. 몇몇 실시형태에서, 상기 항원 결합 구조체는 인간 항원 결합 구조체이고, 적어도 상술한 중쇄 및/또는 경쇄 가변 서열과 적어도 동일한 중쇄 가변 영역, 경쇄 가변 영역 또는 중쇄 및 경쇄를 갖는다.

[0170] 본원에서 제공된 몇몇 실시형태는 본원에서 제공된 하나 이상의 항원 결합 구조체를 갖는 표적 분자에 대한 결합을 위해 경쟁하는 항원 결합 구조체를 포함하고, 본원에서 제공된 힌지 서브파트(예를 들어, 표 0.1에서와 같음)들 중 하나 이상을 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 상기 경쟁하는 항원 결합 구조체는 참고 항원 결합 구조체와 동일한 표적 분자 상의 에피토프에 결합한다. 몇몇 실시형태에서, 상기 참고 항원 결합 구조체는 상기 표적 분자의 제 1 에피토프에 결합하고, 상기 경쟁하는 항원 결합 구조체는 상기 표적 분자의 제 2 에피토프에 결합하지만, 예를 들어 상기 참고 항원 결합 구조체의 결합을 입체적으로 차단하거나 상기 표적 분자에서 형태 변화를 유도함으로써 상기 표적 분자에 대한 참고 항원 결합 구조체의 결합을 방해한다. 몇몇 실시형태에서, 상기 제 1 에피토프는 상기 제 2 에피토프와 중첩한다.

[0171] 몇몇 실시형태에서, 상기 scFv 및/또는 미니바디 포맷은 부모 항체의 높은 결합 친화도 및 특이성을 유지하면서 진단용 이미징 및 특정 치료적 적용을 위한 유리한 약동학적 특징을 갖는다. 전장 부모 항체를 이용한 이미징과 비교하여 약동학은 이들이 항원을 표적화한 후 신속한 고대비 이미징을 위한 시스템을 신속하게 제거할 수 있다는 점에서 이들 단편에 있어서 더욱 바람직하다. 몇몇 실시형태에서, 상기 미니바디에 대한 보다 짧은 순환 반감기는 상기 미니바디에 대한 주사 이후 대략 6시간 내지 48시간 내지 72시간(항원 "싱크(sink)"의 제거율 및 수준 및 Mb에 길레이팅되는 동위원소의 반감기에 의존함)의 시간 범위에 걸쳐 최적의 이미징을 가능케 한다. 보다 양호한 조직 침투와 함께 신속한 혈액 제거는 당일 이미징을 가능케 할 수 있으며, 상기 이미징은 환자 치료 관리에 대해 임상에서 유의한 이점을 제공할 수 있다.

[0172] 몇몇 실시형태에서, 상기 항체 단편들은 PSCA, 5T4, PSMA, CD3 또는 CD8 항체로부터 유래한 가변 경쇄 영역 CDR들 중 1개, 2개 또는 3개 및/또는 가변 중쇄 영역 CDR들 중 1개, 2개 또는 3개를 포함할 수 있다. 예를 들어, 항체 단편은 상기 PSCA, 5T4, PSMA, CD3 또는 CD8 항체의 쥐 버전의 가변 영역 CDR들 중 1개, 2개 또는 3개 및/또는 가변 중쇄 영역 CDR들 중 1개, 2개 또는 3개를 포함할 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 항체 단편은 인간화 PSCA, 5T4, PSMA, CD3 또는 CD8 항체의 가변 중쇄 또는 경쇄 영역으로부터 유래한 하나 이상의 CDR 영역을 포함한다.

- [0173] 몇몇 실시형태에서, PSCA 항원에 결합하는 항원 결합 구조체들은 항체, 미니바디 및/또는 이들의 단편, 예를 들어 scFv일 수 있다. PSCA에 대한 항원 결합 구조체의 몇몇 비제한적인 실시형태는 도 29b 내지 도 29d, 도 36e, 도 60(서열번호 125 및 서열번호 126), 도 61(서열번호 126), 도 62(서열번호 127), 도 63(서열번호 128), 도 64(서열번호 129), 도 65a(서열번호 130)에 도시되어 있다. 몇몇 실시형태에서, 상기 5T4 항원에 결합하는 항원 결합 구조체들은 항체, 미니바디, 및/또는 scFv와 같은 이들의 단편들일 수 있다. 5T4에 대한 항원 결합 구조체의 몇몇 비제한적인 실시형태는 도 28b 내지 도 28e, 도 32, 도 36c, 도 54(서열번호 119 및 서열번호 120), 도 55(서열번호 120), 도 56(서열번호 121), 도 57(서열번호 122), 도 58(서열번호 123), 도 59(서열번호 124), 도 67, 도 68에 도시되어 있다. 몇몇 실시형태에서, 상기 PSMA 항원과 결합하는 항원 결합 구조체들은 항체, 미니바디, 및/또는 scFv와 같은 이들의 단편들일 수 있다. PSMA에 대한 항원 결합 구조체의 몇몇 비제한적인 실시형태는 도 5b 내지 도 5e, 도 7c 내지 도 7e, 도 21b 내지 도 21e, 도 34a 내지 도 34f, 도 35a 내지 도 35c, 도 36a, 도 47(서열번호 112 및 서열번호 113), 도 48(서열번호 113), 도 49(서열번호 114), 도 50(서열번호 115), 도 51(서열번호 116), 도 52(서열번호 117), 도 53(서열번호 118)에 도시되어 있다. 몇몇 실시형태에서, CD3 항원과 결합하는 항원 결합 구조체들은 항체, 미니바디, 및/또는 scFv와 같은 이들의 단편들일 수 있다. CD3에 대한 항원 결합 구조체의 몇몇 비제한적인 실시형태는 도 33, 도 36d, 도 69, 도 65b 및 도 65c에 도시되어 있다. 몇몇 실시형태에서, CD8 항원과 결합하는 항원 결합 구조체들은 항체, 미니바디, 및/또는 scFv와 같은 이들의 단편들일 수 있다. CD8에 대한 항원 결합 구조체의 몇몇 비제한적인 실시형태는 도 14b, 도 15b, 도 16b 내지 도 16d, 도 20c 내지 도 20g, 도 22b, 도 36b, 도 40(서열번호 105 및 서열번호 106), 도 41(서열번호 106), 도 42(서열번호 107), 도 43(서열번호 108), 도 44(서열번호 109), 도 45(서열번호 110), 도 46(서열번호 111) 및 도 66에 도시되어 있다.
- [0174] **링커 옵션**
- [0175] 몇몇 실시형태에서, 개개의 항원 결합 구조체들에 있어서, 중쇄 및 경쇄 가변 도메인은 서로 다른 방식으로 연결될 수 있다. 이로 인해, 상기 V_H 와 V_L 도메인 사이의 상이한 링커 길이의 사용은 이황화 결합의 형성을 보장하기 위해 구조적 가요성 및 움직임 범위를 가능케 한다.
- [0176] 몇몇 실시형태에서, 상기 2개의 링커 길이는 대략적으로 약 1개 내지 50개의 아미노산, 예를 들어, 2개 내지 15개, 2개 내지 14개, 3개 내지 13개, 4개 내지 10개 또는 5개의 아미노산 내지 8개 아미노산의 범위(이들 수치를 포함함)일 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 미니바디를 위한 쌍 내의 링커 각각은 동일한 길이일 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 상기 쌍 내의 링커 각각은 상이한 길이일 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 링커 길이 쌍의 임의의 조합은 이들이 목적하는 조합을 허용하고/허용하거나 조장하는 한 사용 가능하다. 몇몇 실시형태에서, 개질된 아미노산이 사용될 수 있다.
- [0177] 표 0.2에는 미니바디 변이체들이 제공된다. 상기 변이체들의 생성 및 이들 발현 및 결합에 대한 시험은 새로운 미니바디를 위한 단백질 생성을 위한 목적하는 포맷의 확인을 가능케 한다.
- [0178] 몇몇 실시형태에서, 상기 링커는 GlySer 링커이다. 상기 GlySer 링커는 Gly 및/또는 Ser 잔기가 풍부한 폴리펩티드일 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 상기 GlySer 링커의 아미노산 잔기들 중 적어도 약 40%, 예를 들어 적어도 약 40%, 50%, 60%, 70%, 80% 또는 90%는 Gly, Ser, 또는 Gly와 Ser의 조합이다. 몇몇 실시형태에서, 상기 GlySer 링커는 적어도 약 2개 아미노산 길이를 가지며, 예를 들어 적어도 약 3개, 4개, 5개, 6개, 7개, 8개, 9개, 10개, 11개, 12개, 13개, 14개, 15개, 16개, 17개, 18개, 19개, 20개, 25개, 30개, 35개 또는 40개의 아미노산 길이를 갖는다. 몇몇 실시형태에서, 상기 링커 모티프는 $(G_3)_n$ 또는 $(G_4)_n$ (n 은 S의 임의의 개수일 수 있고; 및 몇몇 실시형태에서는 1 또는 2임)일 수 있다. 예를 들어, a) 5개의 아미노산(GGGGS; 서열번호 66); b) 10개의 아미노산(GGGSGGGGS; 서열번호 65); c) 15개의 아미노산(GGGSGGGSGGGGS; 서열번호 64); d) 12개의 아미노산(GSTSGGGSGGGGS; 서열번호 63); 또는 e) 18개의 아미노산(GSTSGGGSGGGSGGGGS; 서열번호 62)일 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 상기 링커는 적어도 하나의 트레오닌을 포함한다.
- [0179] 표 0.1 및 표 0.2에는 scFv 및/또는 미니바디의 몇몇 실시형태에서 사용될 수 있는 다양한 선택적인 서열들이 나타나 있다. 몇몇 실시형태에서, 상기 scFv는 본원에서 제공되는 임의의 것일 수 있지만, 임의의 상기 서열들은 표 0.1에 제공된다. 몇몇 실시형태에서, 상기 미니바디는 본원에서 제공되는 임의의 것일 수 있지만, 임의의 상기 서열들은 표 0.1에서 전체 행에 제공된다. 몇몇 실시형태에서, 본원에서 제공된 임의의 상기 항원 결합 구조체들은 표 0.1에서 제공된 임의의 상기 힌지 서열 서브파트를 포함할 수 있다.
- [0180] 본원에 개시된 바와 같은 "미니바디"는 동종 이량체를 포함하며, 이때 단량체 각각은 힌지 서열에 의해 인간 C_H3

도메인에 연결된 단일 사슬 가변 단편(scFv)이다. 몇몇 실시형태에서, 상기 힌지 서열은 인간 IgG1 힌지 서열이다. 몇몇 실시형태에서, 상기 힌지 서열은 본원에 개시되고/되거나 표 0.1에 나타난 임의의 힌지 서열(임의의 서브파트 또는 이들 서브파트들의 조합을 포함함)과 같이 본원에서 제공된 상기 힌지 서열들 중 임의의 하나 이상이다.

[0181] 몇몇 실시형태에서, 상기 힌지 서열은 인공적인 힌지 서열이다. 몇몇 실시형태에서, 상기 힌지 서열은 IgG 힌지의 4개의 부류 중 임의의 하나 이상으로부터 유래한 천연 또는 인공적인 IgG 힌지, 또는 서브파트 또는 이의 서브파트들의 조합일 수 있다.

[0182] 몇몇 실시형태에서, 상기 미니바디 서열은 CDR 및/또는 FR, 및/또는 가변 영역 서열들을 포함할 수 있으며, 상기 서열들은 본원에 개시된 서열과 유사하다(예를 들어, 도면 또는 표 0.2에서 발견되는 바와 같음). 몇몇 실시형태에서, 상기 미니바디는 본원에 개시된 미니바디의 scFv와 적어도 동일한 서열 (CDR, CDR들, 6개의 CDR 전체 세트, 중쇄 가변 영역, 경쇄 가변 영역, 중쇄 및 경쇄 가변 영역 등)을 갖는다.

[0183] 몇몇 실시형태에서, 상기 단량체의 폴리펩티드는 표 0.2에 나타난 바와 같은 서열들을 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 상기 단량체의 폴리펩티드는 표 0.2에 나타난 $V_L V_H$ 미니바디 단량체의 서열에 대해 적어도 약 80%의 동일성, 예를 들어 적어도 약 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 동일성을 갖는 서열을 포함한다.

[0184] 몇몇 실시형태에서, 상기 미니바디는 중쇄 서열 in 서열번호 14, 서열번호 16, 서열번호 18, 서열번호 20, 서열번호 68, 서열번호 99, 서열번호 102 또는 서열번호 104로 표시된 중쇄 서열(및/또는 도 65b 또는 도 65c에 도시된 적절한 서열) 및/또는 서열번호 13, 서열번호 15, 서열번호 17, 서열번호 19, 서열번호 67, 서열번호 100, 서열번호 101 또는 서열번호 103으로 표시된 경쇄 서열(및/또는 도 65b 또는 도 65c에 도시된 서열)에 대해 적어도 약 80% 동일한 가변 사슬 영역(중쇄, 경쇄 또는 중쇄 및 경쇄 가변 영역), 예를 들어 적어도 약 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 동일성을 갖는 가변 사슬 영역을 갖는다.

[0185] 상기 scFv는 V_H-V_L 또는 V_L-V_H 배향을 가질 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 상기 V_H 및 V_L 은 아미노산 링커 서열에 의해 서로 연결된다. 상기 아미노산 링커는 본원에 개시된 바와 같은 링커일 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 상기 링커는 Gly-Ser 잔기가 풍부하고, 대략 15개 내지 20개의 아미노산 길이를 갖는다. 다른 실시형태에서, 상기 링커는 GlySer이 풍부하고, 18개의 아미노산 길이를 갖는다. 몇몇 실시형태에서, 상기 링커 길이는 약 1개 내지 50개 아미노산, 예를 들어, 2개 내지 30개, 3개 내지 20개, 4개 내지 15개, 또는 5개의 아미노산 내지 8개의 아미노산(이들 수치를 포함함) 사이에서 다양하다. 몇몇 실시형태에서, 상기 링커는 GSTSGGSGGGSGGGSS(서열번호 62)이다. 몇몇 실시형태에서, 상기 미니바디 scFv는 본원에 개시된 scFv에 대해 적어도 약 80% 동일한 서열, 예를 들어 적어도 약 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 동일성을 갖는 서열을 갖는다. 상기 scFv는 V_H-V_L 또는 V_L-V_H 배향을 가질 수 있다.

[0186] 몇몇 실시형태에서, 상기 미니바디의 단량체 각각은 N-말단에서 C-말단으로 이어진 하기 성분들을 포함한다: (a) V_L 도메인에 연결된 V_H 도메인을 포함하고 표적 분자에 결합하는 scFv 서열, (b) 힌지 도메인(예를 들어, 하부 힌지 및/또는 연장 영역과 조합된 상부 및 코어 힌지 영역) 및 (c) 인간 IgG C_H3 서열. 몇몇 실시형태에서, 상기 미니바디의 단량체 각각은 IgG1, IgG2, IgG3 또는 IgG4 C_H3 도메인을 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 상기 미니바디는 본원에 개시된 바와 같은 세포, 세포주 또는 기타 적합한 발현 시스템에 의해 발현될 수 있는 핵산에 의해 암호화된다. 따라서 신호 서열은 상기 세포 또는 세포주에서 발현되는 경우에 상기 미니바디의 분비를 가능케 하기 위해 상기 scFv의 N-말단에 융합될 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 인간 혈청 알부민(서열번호 70)과 같은 기타 신호 서열들이 사용될 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 상이한 신호 서열들은 문맥 및 발현을 위해 사용된 세포주에 따라 분비를 향상시킬 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 인간 면역 글로불린 카과 경쇄 신호 서열(서열번호 69)이 사용될 수 있고/있거나 본원에서 제공된 아미노산 서열을 암호화하는 핵산 내에 포함될 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 단일 서열은 문맥 및 발현을 위해 사용된 세포주에 따라 표 7에 나타난 목록으로부터 선택될 수 있다.

표 7

[0187]	신호 펩티드 서열	
	신호 펩티드 공급원	신호 펩티드 서열

마우스 Ig 카파 경쇄	METDTLLLWVLLLWVPGSTG(서열번호 69)
인간 혈청 알부민(HSA)	MKWVTFISLLFLFSSAYS(서열번호 70)
인간 아즈로시딘(HAZ)	MTRLTVLALLAGLLASSRA(서열번호 71)
프로락틴	RLLLLWSNLLLQGW(서열번호 72)
LCMV-GPC	MGQIVTMFEALPHIIDEVININVIIVLIITSIKAVYNFATCGILALVSFLFLAGRSCG(서열번호 73)
MMTV-Rem	MPNHQSGSPTGSSDLLSGKKORPHALRRKRRRMRKINRKVRRMNLAPIKEKTAWQHLQALISEAEVLKT SQTPQNSLTFLALLSVLGPPVPTG(서열번호 74)
포유동물	www.signalpeptide.de/index.php?m=listspdb_mammalia 상에서 접속 가능함**
초파리	www.signalpeptide.de/index.php?m=listspdb_drosophila 상에서 접속 가능함**
박테리아	www.signalpeptide.de/index.php?m=listspdb_bacteria 상에서 접속 가능함**
바이러스	www.signalpeptide.de/index.php?m=listspdb_viruses 상에서 접속 가능함**
** 상기에서 인용된 월드와이드웹 상에서 지칭된 신호 펩티드들은 신호 펩티드 데이터베이스에 개시되어 있으며, 상기 데이터베이스는 상기 하이퍼링크를 통해 www.signalpeptide.de 상에서 접속될 수 있고, 그 전체가 본원에서 참고로 인용된다.	

[0188] 몇몇 실시형태에서, 상기 표적 분자와 결합하는 키메라 미니바디가 제공된다. 몇몇 실시형태에서, 상기 키메라 미니바디는 상기 V_L - V_H 포맷에서 단량체를 포함하고, 서열번호 13, 서열번호 15, 서열번호 17, 서열번호 19, 서열번호 67, 서열번호 100, 서열번호 101 또는 서열번호 103을 포함하는 경쇄 가변 영역의 서열(및/또는 도 65b 또는 도 65c에 도시된 관련 서열) 및 서열번호 14, 서열번호 16, 서열번호 18, 서열번호 20, 서열번호 68, 서열번호 99, 서열번호 102 또는 서열번호 104를 포함하는 중쇄 가변 영역의 서열(및/또는 도 65b 또는 도 65c에 도시된 서열), 또는 표 0.2에 나열된 바와 같은 단량체 또는 이에 대해 적어도 약 80%의 동일성을 갖는 서열, 예를 들어 이에 대해 적어도 약 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 상기 키메라 미니바디는 상기 V_H - V_L 포맷에서 단량체를 포함하고, 서열번호 13, 서열번호 15, 서열번호 17, 서열번호 19, 서열번호 67, 서열번호 100, 서열번호 101 또는 서열번호 103을 포함하는 경쇄 가변 영역의 서열(및/또는 도 65b 또는 도 65c에 도시된 관련 서열) 및 서열번호 14, 서열번호 16, 서열번호 18, 서열번호 20, 서열번호 68, 서열번호 99, 서열번호 102 또는 서열번호 104를 포함하는 중쇄 가변 영역의 서열(및/또는 도 65b 또는 도 65c에 도시된 관련 서열), 또는 표 0.2에 나타난 바와 같은 단량체 또는 이에 대해 적어도 약 80%의 동일성을 갖는 서열, 예를 들어 이에 대해 적어도 약 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 상기 미니바디는 도 41, 도 48, 도 55, 도 61, 도 65b 또는 도 65c에 나타난 CDR들 중 하나 이상을 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 상기 미니바디는 도 36a, 도 36b, 도 36c, 도 36d, 도 36e, 도 66, 도 67, 도 68, 도 69, 도 65b 또는 도 65c 또는 표 0.2에 나타난 가변 영역들 중 하나 이상을 포함한다.

[0189] 몇몇 실시형태에서, 상기 미니바디는 도 36a, 도 36b, 도 36c, 도 36d, 도 36e, 도 66, 도 68, 도 69, 도 65b 또는 도 65c에 나타난 바와 같은 중쇄 가변 영역을 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 상기 미니바디는 도 36a, 도 36b, 도 36c, 도 36d, 도 36e, 도 67, 도 69, 도 65b 또는 도 65c에 나타난 바와 같은 경쇄 가변 영역을 포함한다.

[0190] 몇몇 실시형태에서, 상기 미니바디는 도 41, 도 48, 도 55, 도 61, 도 65b 또는 도 65c에 도시된 CDR로 제공된 CDR들 중 하나 이상을 포함한다.

[0191] 핵산

[0192] 몇몇 실시형태에서, 상기 항원 결합 구조체들의 폴리펩티드는 핵산에 의해 암호화될 수 있고 생체 내 또는 시험관 내에서 발현될 수 있거나, 이들 펩티드는 화학적으로 합성될 수 있다. 따라서 몇몇 실시형태에서 항원 결합 구조체를 암호화하는 핵산이 제공된다. 몇몇 실시형태에서, 상기 핵산은 미니바디 또는 기타 항원 결합 구조체의 하나의 부분 또는 단량체를 암호화한다. 몇몇 실시형태에서, 상기 핵산은 2개 이상의 단량체, 예를 들어 적어도 2개의 단량체를 암호화한다. 다중 단량체를 암호화하는 핵산은 적어도 2개의 단량체들 사이에 핵산 절단 부위를 포함할 수 있고, 2개 이상의 단량체들 사이에 전사 또는 번역 개시 부위를 암호화할 수 있고/있거나 2개 이상의 단량체들 사이에 단백질 분해용 표적 부위를 암호화할 수 있다.

[0193] 몇몇 실시형태에서, 발현 벡터는 본원에서 개시된 바와 같은 항원 결합 구조체를 암호화하는 핵산을 함유한다. 몇몇 실시형태에서, 상기 발현 벡터는 포유동물 발현용 pcDNA3.1TM/myc-His(-) 버전 A 벡터(인비트로젠(Invitrogen, Inc.)사) 또는 이의 변이체를 포함한다. 상기 pcDNA3.1 발현 벡터는 포유동물 발현용 CMV 프로모

터 및 포유동물(네오마이신(Neomycin)) 및 박테리아(암피실린(Ampicillin)) 선별 마커 둘 모두용 CMV 프로모터를 특징으로 한다. 몇몇 실시형태에서, 상기 발현 벡터는 플라스미드를 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 상기 벡터는 바이러스 벡터, 예를 들어 레트로바이러스 또는 아데노바이러스 벡터를 포함한다. 실시형태에서, 상기 벡터는 코스미드, YAC 또는 BAC를 포함한다.

[0194] 몇몇 실시형태에서, 상기 미니바디 단량체들 중 적어도 하나를 암호화하는 뉴클레오티드 서열은 CD3, CD8, 5T4, PSMA 및 PSCA에 결합하기 위한 본원에서 개시된 서열 또는 이에 대해 적어도 약 80%의 동일성을 갖는 서열, 예를 들어 이에 대해 약 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 그 이상의 동일성을 갖는 서열을 포함하여 본원에서 제공된 서열번호들 중 적어도 하나를 포함한다.

[0195] **세포주**

[0196] 몇몇 실시형태에서, 본원에 개시된 항원 결합 구조체들 중 적어도 하나(본원에서 제공된 힌지의 적어도 서브파트를 포함할 수 있음)를 발현하는 세포주가 제공된다. 몇몇 실시형태에서, 포유동물 세포주(예를 들어, CHO-K1 세포주)는 본원에 개시된 바와 같이 미니바디, scFv 또는 기타 항체를 생성하기 위한 발현 시스템이다. 몇몇 실시형태에서, 본원에 개시된 미니바디, scFv 및 기타 항체 또는 이들의 항체 단편들은 비-글리코실화되어 있으며, 번역후 개질이 불필요함에 따라 포유동물 발현 시스템이 요구되지 않는다. 따라서 몇몇 실시형태에서 매우 다양한 포유동물 또는 비-포유동물 발현 시스템들 중 하나 이상은 본원에서 개시된 항원 결합 구조체들(예를 들어, 미니바디)을 생성하기 위해 사용되며, 상기 발현 시스템들로는 포유동물 발현 시스템(예를 들어, CHO-K1 세포), 박테리아 발현 시스템(예를 들어, 대장균(*E. coli*), 고초균(*B. subtilis*)), 효모 발현 시스템(예를 들어, 피치아(*Pichia*), 사카로마이세스 세레비시애(*S. cerevisiae*)) 또는 임의의 기타 공지된 발현 시스템을 들 수 있지만, 이에 제한되지 않는다. 기타 시스템은 곤충 세포 및/또는 식물 세포를 포함할 수 있다.

[0197] **항원 결합 구조체의 개질**

[0198] 몇몇 실시형태에서, 상기 항원 결합 구조체는 적어도 하나의 개질을 포함한다. 예시적인 개질로는 글리코실화, 아세틸화, 페길화, 인산화, 아마이드화, 공지된 보호기/차단기에 의한 유도체화(derivatization), 단백질 분해 절단 및 세포성 리간드 또는 기타 단백질에 대한 연결에 의해 개질되었던 항원 결합 구조체들을 들 수 있지만, 이에 제한되지 않는다. 임의의 다수의 화학적 개질은 공지된 기법에 의해 수행될 수 있으며, 상기 기법으로는 특정 화학적 절단, 아세틸화 및 튜니카마이신(tunicamycin)의 대사적 합성을 들 수 있지만, 이에 제한되지 않는다. 몇몇 실시형태에서, 상기 유도체는 하나 이상의 비자연적인 아미노산을 함유할 수 있다.

[0199] 몇몇 실시형태에서, 상기 항원 결합 구조체는 항-표적 접합체를 형성하기 위해 다른 물질에 접합된다. 본원에 개시된 접합체들은 항원 결합 구조체를 지질, 탄수화물, 단백질 또는 기타 원자 및 분자들과 연결하는 공지된 방법에 의해 제조될 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 상기 접합체는 적합한 연결 또는 결합을 이용하는 부위-특이적 접합에 의해 형성된다. 부위-특이적 접합은 항원 결합 구조체의 결합 활성을 보존할 가능성이 더욱 높다. 상기 물질은 티오에테르 결합 형성을 통해 환원된 항원 결합 구조체의 힌지 영역에 접합되거나 부착될 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 티로신 접합이 이용될 수 있다. 상기 접합체를 형성하기 위해 사용된 기타 연결 또는 결합들로는 공유결합, 비공유결합, 이황화 결합, 히드라존 결합, 에스테르 결합, 아마이드 결합 및 아미노 결합, 이미노 결합, 티오세미카바존 결합, 세미카바존 결합, 옥심 결합 및 탄소-탄소 결합을 들 수 있지만, 이에 제한되지 않는다. 몇몇 실시형태에서, 어떠한 시스템인 또는 기타 연결 양태도 상기 항원 결합 구조체에 포함될 필요가 없다.

[0200] **검출 가능한 마커**

[0201] 몇몇 실시형태에서, 개질된 항원 결합 구조체는 검출 가능한 마커에 접합된다. 본원에서 사용된 바와 같이, "검출 가능한 마커"는 표적 분자, 세포, 조직, 기관 등의 위치 및/또는 양을 진단하거나, 검출하거나 시각화하는데 유용한 원자, 분자, 또는 화합물을 포함한다. 본원의 실시형태에 따라 사용될 수 있는 검출 가능한 마커들로는 방사성 물질(예를 들어, 방사성 동위원소, 방사성 핵종, 방사선 표지 또는 방사선 트레이서(radiotracer)), 염료, 조영제, 형광 화합물 또는 분자, 생물 발광 화합물 또는 분자, 효소 및 증강제(예를 들어, 상자성 이온)를 들 수 있지만, 이에 제한되지 않는다. 게다가, 몇몇 나노입자, 예를 들어 양자점 및 금속 나노입자(후술됨)는 검출제(detection agent)로서 사용하기에 적합할 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 상기 검출 가능한 마커는 인도시안인 그린(ICG), 지르코늄-89, IR800, 및/또는 다른 근적외선 염료이다.

[0202] 본원의 실시형태에 따라 검출 가능한 마커로서 사용될 수 있는 예시적인 방사성 물질들로는 ¹⁸F, ¹⁸F-FAC, ³²P,

³³P, ⁴⁵Ti, ⁴⁷Sc, ⁵²Fe, ⁵⁹Fe, ⁶²Cu, ⁶⁴Cu, ⁶⁷Cu, ⁶⁷Ga, ⁶⁸Ga, ⁷⁵Sc, ⁷⁷As, ⁸⁶Y, ⁹⁰Y, ⁸⁹Sr, ⁸⁹Zr, ⁹⁴Tc, ⁹⁴Tc, ⁹⁹mTc, ⁹⁹Mo, ¹⁰⁵Pd, ¹⁰⁵Rh, ¹¹¹Ag, ¹¹¹In, ¹²³I, ¹²⁴I, ¹²⁵I, ¹³¹I, ¹⁴²Pr, ¹⁴³Pr, ¹⁴⁹Pm, ¹⁵³Sm, ¹⁵⁴⁻¹⁵⁸Gd, ¹⁶¹Tb, ¹⁶⁶Dy, ¹⁶⁶Ho, ¹⁶⁹Er, ¹⁷⁵Lu, ¹⁷⁷Lu, ¹⁸⁶Re, ¹⁸⁸Re, ¹⁸⁹Re, ¹⁹⁴Ir, ¹⁹⁸Au, ¹⁹⁹Au, ²¹¹At, ²¹¹Pb, ²¹²Bi, ²¹²Pb, ²¹³Bi, ²²³Ra 및 ²²⁵Ac를 들 수 있지만, 이에 제한되지 않는다. 검출 가능한 마커로서 사용될 수 있는 예시적인 상자성 이온 물질들은 전이 금속 및 란탄족 금속(예를 들어, 6 내지 9, 21 내지 29, 42, 43, 44 또는 57 내지 71의 원자 번호를 갖는 금속)의 이온을 들 수 있지만, 이에 제한되지 않는다. 이들 금속은 Cr, V, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, La, Ce, Pr, Nd, Pm, Sm, Eu, Gd, Tb, Dy, Ho, Er, Tm, Yb 및 Lu 이온을 포함한다.

[0203]

상기 검출 가능한 마커가 방사성 금속 또는 상자성 이온인 경우, 몇몇 실시형태에서 상기 마커는 하나 이상의 킬레이트기를 함유한 롱테일(long tail)을 갖는 시약과 반응할 수 있으며, 상기 킬레이트기는 이들 이온을 결합시키기 위한 롱테일에 부착되어 있다. 몇몇 실시형태에서, 상기 시약은 항체 단편 사슬을 공유결합적으로 묶도록 설계된 반응기를 함유할 수 있다. 상기 롱테일은 폴리리신, 다당류, 폴리에틸렌글리콜(PEG), 또는 상기를 결합시키기 위한 킬레이트기에 결합될 수 있는 펜던트기(pendant group)를 갖는 기타 유도체화되거나 유도체화 가능한 사슬과 같은 중합체일 수 있다. 본원의 실시형태에 따라 사용될 수 있는 킬레이트기의 예로는 에틸렌디아민테트라아세트산(EDTA), 디에틸렌트리아민펜타아세트산(DTPA), DOTA, NOTA, NODAGA, NETA, 데페록사민(deferoxamine(Df); DFO로도 지칭될 수 있음), 포르피린류, 폴리아민류, 크라운 에테르류, 비스-티오세미카바존류, 폴리옥심류 및 유사한 기를 들 수 있지만, 이에 제한되지 않는다. 망간, 철 및 가돌리늄과 같은 비방사성 금속과 복합체를 형성하는 경우에 동일한 킬레이트 화합물은 본원에 개시된 항원 결합 구조체 및 담체들과 함께 사용되는 경우에 MRI용으로 유용하다. NOTA, NODAGA, DOTA 및 TETA와 같은 거대 고리형 킬레이트 화합물들은 다양한 금속 및 방사성 금속과 함께 사용되며, 이때 상기 방사성 금속으로는 갈륨, 이트륨 및 구리 각각의 방사성 핵종을 들 수 있지만, 이에 제한되지 않는다. RAIT용 라듐-223과 같이 방사성 핵종을 안정하게 결합시키는데 관심이 있는 거대 고리형 폴리에테르류와 같은 기타 고리형 킬레이트 화합물들이 사용될 수 있다. 특정 실시형태에서, 킬레이트 모이어티(chelating moiety)는 알루미늄-¹⁸F 또는 지르코늄-89 복합체와 같은 PET 이미징제를 PET 분석에 사용하기 위한 표적화 분자에 부착하기 위해 사용될 수 있다.

[0204]

본 발명의 실시형태에 따라 검출 가능한 마커로서 사용될 수 있는 예시적인 조영제들로는 바륨, 디아트리조에이트(diatrizoate), 에틸요오드 오일, 시트르산갈륨, 이오카르믹산(iocarmic acid), 이오세타믹산(iocetamic acid), 이오다미드(iodamide), 이오디파미드(iodipamide), 요오드옥사민산, 이오글라미드(iogulamide), 이오헥실(iohexyl), 이오파미돌(iopamidol), 요오파노산(iopanoic acid), 이오프로세믹산(ioprocemic acid), 이오세파민산(iosefamic acid), 이오세린산(ioseriac acid), 이오술아미드 메글루민(iosulamide meglumine), 이오세메트산(iosemetac acid), 이오타술(iotasul), 이오테트릭산(iotetric acid), 이오탈라민산(iothalamine acid), 이오트록시산(iotroxic acid), 이오자갈르산(iozaglic acid), 이옥소트리조산(ioxotrizoic acid), 이포데이트(ipodate), 메글루민, 메트리자미드(metrizamide), 메트리조에이트(metrizoate), 프로필리돈(propyliodone), 염화제일탈륨 또는 이들의 조합을 들 수가 있지만, 이에 제한되지 않는다.

[0205]

본 발명의 실시형태에 따라 검출 가능한 마커로서 사용될 수 있는 생물 발광 및 형광 화합물 또는 분자 및 염료 들로는 플루오레세인(fluorescein), 플루오레세인 이소티오시안산염(FITC), OREGON GREENTM, 로다민, 텍사스레드(Texas red), 테트라로다민 이소티오시안산염(TRITC), Cy3, Cy5 등, 형광 마커(예를 들어, 녹색 형광 단백질(GFP), 피코에리트린(phycoerythrin) 등), 중앙 관련 프로테아제에 의해 활성화된 자가-쿼칭(autoquenching)된 형광 화합물, 효소(예를 들어, 루시페라아제(luciferase), 고추냉이 퍼옥시다아제(horseradish peroxidase), 알칼리 포스파타아제(alkaline phosphatase) 등), 나노입자, 비오틴, 디곡시제닌(digoxigenin) 또는 이들의 조합을 들 수가 있지만, 이에 제한되지 않는다.

[0206]

본 발명의 실시형태에 따라 검출 가능한 마커로서 사용될 수 있는 효소로는 고추냉이 퍼옥시다아제, 알칼리 포스파타아제, 산 포스파타아제, 글루코오스 옥사다아제, β-갈락토시다아제, β-글루쿠로니다아제 또는 β-락탐아제를 들 수 있지만, 이에 제한되지 않는다. 이 같은 효소들은 검출 가능한 신호를 생성하기 위해 색원체(chromogen), 형광 발생 화합물 또는 발광 화합물과 함께 사용될 수 있다.

[0207]

몇몇 실시형태에서, 상기 항원 결합 구조체는 나노입자에 접합된다. "나노입자"란 용어는 크기가 나노미터 단위로 측정되는 미세한 입자, 예를 들어 약 100nm 미만의 적어도 단일 치수를 갖는 입자를 지칭한다. 나노입자는 가시광선을 흡수하기보다는 이를 산란시키기에 충분히 작기 때문에 이들은 검출 가능한 물질로서 사용될 수 있다. 예를 들어, 금 나노입자는 유의한 가시광선 감쇄 특성을 나타내며, 용액에서 심홍색 내지 흑색으로 보인다.

그 결과, 나노입자에 접합된 항원 결합 구조체를 포함하는 조성물들은 개체 내에서 T 세포의 생체 내 이미징을 위해 사용될 수 있다. 크기 범위의 스몰엔드(small end)에서, 나노입자는 종종 클러스터(cluster)로서 지칭된다. 하이브리드 구조(예를 들어, 코어-셸 나노입자)뿐만 아니라 금속, 유전체 및 반도체 나노입자가 형성되어 있다. 나노스피어(nanosphere), 나노로드(nanorod) 및 나노컵(nanocup)은 계속 성장해온 일부 형상이다. 반도체 양자점 및 나노결정은 부가적인 유형의 나노입자의 예이다. 이 같은 나노 규모의 입자는 항원 결합 구조체에 접합되는 경우에 본원에 개시된 바와 같이 T 세포의 생체 내 검출을 위한 이미징제로서 사용될 수 있다.

[0208] 몇몇 실시형태에서, 안정한 힌지를 가지면 표적화제(targeting agent)에 안정성을 부여할 것이다. 몇몇 실시형태에서, 이는 보다 양호한 생물 분포, 보다 높은 민감도 및/또는 신장 제거의 감소를 초래한다. 따라서 이들 구조체는 보다 높은 특정 활성 수준을 위해 보다 적용 가능할 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 이는 방사선 감수성 기관인 신장에 대한 높은 투여 없이도 실질적으로 개선된 민감도를 부여한다. 몇몇 실시형태에서, 이들 구조체는 동일한 이유(낮은 신장 흡수)로 인해 RIT용으로 보다 적합하다. 몇몇 실시형태에서, 온화한 조건 하에서의 화학적 환원으로 인해 1개 또는 2개의 이황화 결합이 파괴되어 이들을 핸들로서 사용하지만 나머지 이황화물이 온전하게 유지될 것이기 때문에 현재 시스템에 대한 부위-특이적 접합이 이용될 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 이는 미니마디 접합체의 완전성을 보존할 것이다.

[0209] 치료제 및 조성물

[0210] 몇몇 실시형태에서, 약학 조성물은 또한 약학적으로 허용 가능한 담체를 포함할 수 있다. 약학적으로 허용 가능한 담체는 약학적으로 허용 가능한 물질, 조성물, 또는 당해 화합물을 하나의 조직, 기관 또는 신체의 일부분으로부터 다른 조직, 기관 또는 신체의 일부분으로 이송하거나 전달하는 것과 관련이 있는 비히클일 수 있다. 예를 들어, 상기 담체는 액체 또는 고체 충전제, 희석제, 부형제, 용매 또는 봉지제, 또는 이들의 몇몇 조합일 수 있다. 상기 담체의 구성성분 각각은 제형의 기타 성분들과 양립 가능하다는 점에서 "약학적으로 허용 가능"하다. 이는 또한 상기 구성성분이 우연히 만나게 되는 임의의 조직, 기관 또는 신체의 일부분과의 접촉을 위해 적합하며, 이는 상기 구성성분이 이상적으로는 독성, 자극, 알레르기 반응, 면역원성, 또는 이의 치료학적 이점을 지나치게 증가하는 임의의 기타 합병증의 위험성을 갖지 않는다는 것을 의미한다.

[0211] 본원에 개시된 약학 조성물들은 임의의 적합한 투여 경로에 의해 투여될 수 있다. 투여 경로는 당해 기술분야에 공지된 임의의 투여 경로를 지칭할 수 있으며, 상기 투여 경로로는 에어로졸, 장관, 비강, 안구, 경구, 비경구, 직장, 경피(예를 들어, 국소용 크림 또는 연고, 패치) 또는 질을 들 수 있지만, 이에 제한되지 않는다. "경피" 투여는 국소용 크림 또는 연고를 사용하거나 경피 패치에 의해 달성될 수 있다. "비경구"는 일반적으로 주사와 연관된 투여 경로를 지칭하며, 이때 상기 투여 경로로는 안와하, 주입, 동맥 내, 낭 내, 심장 내, 진피 내, 근육 내, 복강 내, 폐 내, 척수 내, 흉골 내, 척수강 내, 자궁 내, 정맥 내, 지주막하, 피막하, 피하, 경점막 또는 경기관을 들 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 상기 항원 결합 구조체는 중재기술 또는 절제 도중에 국부 투여로서 외과적 수술에 의해 전달될 수 있다.

[0212] 몇몇 실시형태에서, 항원 결합 구조체는 치료제에 접합된다. 본원에서 사용된 바와 같이 "치료제"는 표적 분자와 관련된 질환의 치료에 유용한 원자, 분자 또는 화합물이다. 치료제의 예로는 약물, 화학 치료제, 치료용 항체 및 항체 단편, 독소, 방사성 동위원소, 효소(예를 들어, 상기 항원 결합 구조체 결합 부위에서 프로드러그(prodrug)를 세포 독성제로 절단하기 위한 효소), 뉴클레아제(nuclease), 호르몬, 면역 조절제, 안티센스 올리고뉴클레오타이드, 킬레이터, 봉소 화합물, 광활성제 및 염료, 및 나노입자를 들 수 있지만, 이에 제한되지 않는다. 질환의 예로는 하나 이상의 표적 분자와 관련된 질환을 들 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 상기 표적 분자는 CD8, CD3, PSMA, PSCA 및 5T4 중 하나 이상일 수 있다.

[0213] 화학 치료제는 종종 자연에서 세포 독성 또는 세포 증식 억제성을 나타내고, 알킬화제, 대사 길항 물질, 항-종양 항생제, 토포이소머라아제(topoisomerase) 억제제, 유사분열 억제제, 호르몬 요법제, 표적화 치료제 및 면역 치료제를 포함할 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 본 발명의 실시형태에 따라 검출 가능한 마커로서 사용될 수 있는 화학 치료제들로는 13-시스-레티노산, 2-클로로데옥시아데노신, 5-아자시티딘(5-azacitidine), 5-플루오로우라실, 6-메르캅토프린, 6-티오구아닌, 악티노마이신-D, 아드리아마이신(adriamycin), 알데스류킨(aldesleukin), 알렘투주맙(alemtuzumab), 알리트레티노인(alitretinoin), 전트랜스형 레티노산, 알파 인터페론, 알트레타민(altretamine), 아메토프테린(amethopterin), 아미포스틴(amifostine), 아나그렐리드(anagrelide), 아나스트로졸(anastrozole), 아라비노실시토신(arabinosylcytosine), 3산화 비소, 암사크린(amsacrine), 아미노캄프토세신(aminocamptothecin), 아미노글루테티미드(aminoglutethimide), 아스파라기나아제(asparaginase), 아자시티딘(azacytidine), 바실러스 칼메테 구에린(BCG), 벤다무스틴(bendamustine), 베바시주맙(bevacizumab), 백사로텐

(bexarotene), 비칼루타미드(bicalutamide), 보르테조미(bortezomib), 블레오마이신(bleomycin), 부설판(busulfan), 류코보린 칼슘(calcium leucovorin), 시트로보룸(citrovorum) 인자, 카페시타빈(capecitabine), 카네티닙(canertinib), 카르보플라틴(carboplatin), 카르무스틴(carmustine), 세톡시맵(cetuximab), 클로람부실(chlorambucil), 시스플라틴(cisplatin), 클라드리빈(cladribine), 코르티손(cortisone), 사이클로포스파미드, 시타라빈(cytarabine), 다르베포에틴알파(darbepoetin alfa), 다사티닙(dasatinib), 다우노마이신(daunomycin), 데시타빈(decitabine), 데니류킨 디프티톡스(denileukin diftitox), 텍사메타손(dexamethasone), 텍사손(dexasone), 텍스라족산(dexrazoxane), 닥티노마이신(dactinomycin), 다우노루비신(daunorubicin), 다카르바진(decarbazine), 도세탁셀(docetaxel), 독소루비신(doxorubicin), 독시플루리딘(doxifluridine), 에닐우라실(eniluracil), 에피루비신(epirubicin), 에포에틴알파, 얼로티닙(erlotinib), 에베롤리무스(everolimus), 엑스메스탄(exemestane), 에스트라무스틴(estramustine), 에토포시드(etoposide), 필그라스티ם(filgrastim), 플루옥시메스테론(flucymesterone), 플베스트란트(fulvestrant), 플라보피리돌(flavopiridol), 플록슈리딘(floxuridine), 플루다라빈(fludarabine), 플루오로우라실, 플루타미드(flutamide), 제피티닙(gefitinib), 겐시타빈(gemcitabine), 겐투주맵 오조가마이신(gemtuzumab ozogamicin), 고세렐린(goserelin), 과립구-콜로니 자극 인자, 과립구 마크로파지-콜로니 자극 인자, 헥사메틸렐라민, 하이드로코르티손 하이드록시우레아, 이브리투모맵(ibritumomab), 인터페론 알파, 인터류킨-2, 인터류킨-11, 이소트레티노인(isotretinoin), 익사베필론(ixabepilone), 이다루비신(idarubicin), 이마티닙 메실레이트(imatinib mesylate), 이포스파미드(ifosfamide), 이리노테칸(irinotecan), 라파티닙(lapatinib), 레날리도미드(lenalidomide), 레트로졸(letrozole), 류코보린(leucovorin), 류프로라이드(leuprolide), 리포좀성 Ara-C, 로무스틴(lomustine), 메클로르에타민(mechlorethamine), 메게스트롤(megestrol), 멜팔란(melphalan), 메르캅토프린, 메스나(mesna), 메토티렉세이트(methotrexate), 메틸프레드니솔론(methylprednisolone), 마이토마이신 C, 마이토테인(mitotane), 미톡산트론(mitoxantrone), 넬라라빈(nelarabine), 닐루타미드(nilutamide), 옥트레오타이드(octreotide), 오프레베킨(oprelvekin), 옥살리플라틴(oxaliplatin), 파클리탁셀(paclitaxel), 파미드론산염(pamidronate), 페메트렉세드(pemetrexed), 파니투무맵(panitumumab), PEG 인터페론, 페가스파르가제(pegaspargase), 페그필그라스티ם(pegfilgrastim), PEG-L-아스파라기나아제, 펜토스타틴(pentostatin), 플리카마이신(plicamycin), 프레드니솔론(prednisolone), 프레드니손(prednisone), 프로카바진(procarbazine), 랄록시펜(raloxifene), 리톡시맵(rituximab), 로미플로스티ם(romiplostim), 랄리트렉세드(ralitrexed), 사파시타빈(sapacitabine), 사그라마스티ם(sargramostim), 사트라플라틴(satraplatin), 소라페닙(sorafenib), 수니티닙(sunitinib), 세무스틴(semustine), 스트렙토조신(streptozocin), 타목시펜(tamoxifen), 테가푸르(tegafur), 테가푸르-우라실, 템시롤리무스(temsirolimus), 테모졸라미드(temozolamide), 테니포사이드(teniposide), 탈리도마이드(thalidomide), 티오구아닌, 티오테파(thiotepa), 토포테칸(topotecan), 토레미펜(toremifene), 토시투모맵(tositumomab), 트라스투주맵(trastuzumab), 트레티노인(tretinoin), 트리미트렉세이트(trimetrexate), 알루비신(alrubicin), 빈크리스틴(vincristine), 빈블라스틴(vinblastine), 빈데스틴(vindesine), 비노렐빈(vinorelbine), 보리노스타트(vorinostat) 또는 줄레드론산을 들 수 있지만, 이에 제한되지 않는다.

[0214] 본 발명의 실시형태에 따라 사용될 수 있는 독소들로는 아우리스타틴 E(Auristatin E), 아우리스타틴 F, 도라스타틴 10(Dolastatin 10), 도라스타틴 15, 콤브레타스타틴(combretastatin) 및 이들의 유사체, 메이탄시노이드(maytansinoid), 칼키아마이신(calicheamicin), 알파-아미니틴(α -amanitin), 피롤로벤조디아제핀 이량체, 에포틸론(epothilone)류, 듀오카마이신(duocarmycin) 및 이들의 유사체, 튜부리신 D(tubulysin D), 바실리스타틴(basillistatin)류, 리신(ricin), 아브린(abrin), 리보뉴클레아제(RNase), DNase I, 포도상구균 장독소-A, 미국자리공 항바이러스성 단백질, 겔로닌(gelonin), 디프테리아 독소, 슈도모나스(*Pseudomonas*) 외독소 및 슈도모나스 내독소를 들 수 있지만, 이에 제한되지 않는다.

[0215] 몇몇 실시형태에서, 나노입자는 항원 결합 구조체에 접합되는 경우에 화학 치료제, 호르몬 치료제, 방사선 치료제, 독소, 또는 당해 기술분야에 공지된 임의의 기타 세포 독성제 또는 항암제를 세포 표면 상에 표적을 과발현시키는 암세포로 전달하는 약물 담체로서의 치료적 적용에 사용된다.

[0216] 본원에 개시된 임의의 상기 항원 결합 구조체들은 하나 이상의 부가적인 치료제, 검출 가능한 마커, 나노입자, 담체 또는 이들의 조합과 추가로 접합될 수 있다. 예를 들어, 항원 결합 구조체는 항-표적 분자-지질 접합체가 미셀(micelle)을 형성하도록 요오드-131로 방사성 표지되고 지질 담체에 접합될 수 있다. 상기 미셀은 하나 이상의 치료용 마커 또는 검출 가능한 마커를 혼입할 수 있다. 대안적으로는, 상기 담체 이외에도 상기 항원 결합 구조체는 요오드-131(예를 들어, 티로신 잔기에서)로 방사성 표지되고 약물 (예를 들어, 리신 잔기의 엡실론 아미노기에서)에 접합될 수 있으며, 상기 담체는 부가적인 치료용 마커 또는 검출 가능한 마커를 혼입할 수 있다.

- [0217] 몇몇 실시형태에서, 항원 결합 구조체들은 치료제에 접합된다. 이들 항원 결합 구조체가 전장 항체와 비교해서 보다 짧은 순환 반감기를 가질 수 있을지라도 몇몇 실시형태에서 이들 포맷은 이들의 보다 작은 크기에 기초하여 개선된 중앙 침투를 나타낼 수 있고, 세포 독성 약물 또는 방사성 동위원소로 적절히 장착되는 경우에 치료학적으로 효과적일 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 항원 약물-접합체 접근법이 이용될 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 치료적 접근법은 표적 조직에 대한 요오드-131, 베타-에미터(예를 들어, 이트륨-90, 루테튬-177, 구리-67, 아스타틴-211, 납-212/비스무트-212, 악티늄-225/비스무트-213) 및 톨륨과 같은 적절한 방사성 표지의 부착을 통한 방사성 면역요법을 포함하며, 상기 방사성 표지는 세포 손상 및 사멸을 야기할 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 세포 독성 약물 또는 방사성 핵종으로 장착된 이들 단편에 의한 처리는 상기 단편이 신체로부터 보다 신속하게 제거될 것이기 때문에 비특이적 독성의 감소를 초래한다.
- [0218] 몇몇 실시형태에서, 상기 항원 결합 구조체는 상기 표적 분자의 발현과 연관된 질환에 대한 치료제와 결합될 수 있다.
- [0219] 몇몇 실시형태에서, 표적 분자 항원 결합 구조체들은 상기 표적 분자의 발현과 연관된 질환의 치료에서 독립형 약제(예를 들어, 치료제가 없는 항원 결합 구조체)로서 사용된다.
- [0220] 몇몇 실시형태에서, 본원에서 제공된 임의의 상기 실시형태의 아미노산 힌지 영역을 포함하는 약학 조성물이 제공된다. 몇몇 실시형태에서, 미니바디의 30% 미만의 집성체(또는 고분자량 구조체), 예를 들어, 20% 미만, 10% 미만, 5% 미만 또는 1% 미만의 집성체가 상기 조성물 내에 존재한다.
- [0221] 몇몇 실시형태에서, 본원에서 제공된 임의의 상기 구조체의 아미노산 힌지 영역을 포함하는 약학 조성물이 제공된다. 몇몇 실시형태에서, 1마이크로그램 내지 100mg의 양이 사용될 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 이 같은 조성물은 상술한 힌지 배열이 없는 구조체들과 비교하여 감소된 수준의 집성체를 가질 수 있다.
- [0222] 몇몇 실시형태에서, 상기 질환은 5T4, CD8, CD3, PSCA 또는 PSMA와 연관된 질환이다. 그러나 본원에서 개시된 다양한 힌지들은 한지를 포함하는 임의의 표적 분자 또는 항원 결합 구조체에 적용될 수 있다.
- [0223] **키트**
- [0224] 몇몇 실시형태에서, 키트가 제공된다. 몇몇 실시형태에서, 상기 키트는 본원에 개시된 항원 결합 구조체를 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 상기 키트는 본원에 개시된 항원 결합 구조체를 암호화하는 핵산을 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 상기 키트는 본원에 개시된 바와 같은 항원 결합 구조체를 생산하는 세포주를 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 상기 키트는 본원에 개시된 바와 같은 검출 가능한 마커를 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 상기 키트는 본원에 개시된 바와 같은 치료제를 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 상기 키트는 완충액을 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 상기 키트는 양성 대조군, 예를 들어 표적 특이적 세포 또는 이들의 단편을 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 상기 키트는 음성 대조군, 예를 들어 실질적으로 표적이 없는 표면 또는 용액을 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 상기 키트는 포장재를 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 상기 키트는 지침서를 포함한다.
- [0225] **표적 분자의 존재 유무를 검출하는 방법**
- [0226] 항원 결합 구조체들은 생체 내 및/또는 시험관 내에서 표적 분자의 존재 유무를 검출하기 위해 사용될 수 있다. 따라서 몇몇 실시형태는 상기 표적의 존재 유무를 검출하는 방법을 포함한다. 상기 방법은 항원 결합 구조체를 시료에 적용하는 단계를 포함할 수 있다. 상기 방법은 상기 표적 분자에 대한 상기 항원 결합 구조체의 결합 또는 상기 결합의 부재를 검출하는 단계를 포함할 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 임의의 표적 분자는 본원에서 제공된 옵션을 통해 검출될 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 검출될 표적 분자는 5T4, CD8, CD3, PSCA 및 PSMA 중 하나 이상이다. 몇몇 실시형태에서, 상기 표적 분자는 도면 및/또는 표 0.2(또는 표 0.1에 나타낸 바와 같이 적어도 힌지 배열을 이용함)와 같은 표에서 제공된 미니바디 배열들 중 하나 이상을 이용하여 검출된다.
- [0227] 상기 표적 분자의 존재 유무를 검출하는 방법들이 본원에서 제공된다. 하기 공정들은 임의의 순서로 수행될 수 있고/있거나 임의적으로 반복 및/또는 소거될 수 있는 것으로 인지될 것이며, 부가적인 단계는 상기 방법에 임의적으로 부가될 수 있는 것을 인지될 것이다. 몇몇 실시형태에서, 본원에 개시된 바와 같은 항원 결합 구조체는 시료에 적용될 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 선택적인 세척이 수행될 수 있다. 임의적으로는, 이차 항원 결합 구조체가 상기 시료에 적용될 수 있다. 선택적인 세척이 수행될 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 상기 표적 분자의 항원 결합 구조체에 대한 결합 또는 상기 결합의 부재는 검출될 수 있다.
- [0228] 몇몇 실시형태에서, 본원에 개시된 바와 같은 항원 결합 구조체는 생체 내에서 시료에 적용된다. 상기 항원 결합 구조체는 개체 투여될 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 상기 개체는 인간이다. 몇몇 실시형태에서, 상기 개체는

비인간 포유동물, 예를 들어 래트, 마우스, 기니피그, 햄스터, 토끼, 개, 고양이, 소, 말, 염소, 양, 당나귀, 돼지, 원숭이 또는 유인원이다. 몇몇 실시형태에서, 상기 항원 결합 구조체는 개체에 주입된다. 몇몇 실시형태에서, 상기 주입은 정맥 내로 이루어진다. 몇몇 실시형태에서, 상기 주입은 복강 내로 이루어진다. 몇몇 실시형태에서, 상기 항원 결합 구조체는 상기 개체에 국소적 또는 국부적으로 적용된다(중재적 또는 수술적 적용의 경우와 같음). 몇몇 실시형태에서, 상기 항원 결합 구조체를 함유하는 캡슐은, 예를 들어 경구 또는 복강 내로 상기 개체에 적용된다. 몇몇 실시형태에서, 상기 항원 결합 구조체는 개체에 의한 면역원성 반응의 위험성을 줄이기 위해 선택된다. 예를 들어, 인간 개체에 있어서 상기 항원 결합 구조체는 본원에 개시된 바와 같이 인간화될 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 상기 항원 결합 구조체의 생체 내 적용 이후 시료 또는 상기 시료의 일부분은 숙주로부터 제거된다. 몇몇 실시형태에서, 상기 항원 결합 구조체는 생체 내로 적용되고, 본원에 개시된 바와 같이 소정의 시간 동안 생체 내에서 배양하고, 상기 시료는 시험관 내 분석, 예를 들어 본원에 개시된 바와 같이 상기 표적 분자에 결합된 항원 결합 구조체의 시험관 내 검출 또는 이의 부재에 대한 검출을 위해 제거된다.

[0229] 몇몇 실시형태에서, 상기 항원 결합 구조체는 시험관 내에서 시료에 적용된다. 몇몇 실시형태에서, 상기 시료는 개체, 예를 들어 생검(biopsy)으로부터 신선하게 수확된다. 몇몇 실시형태에서, 상기 시료는 개체로부터의 수확 이후에 배양된다. 몇몇 실시형태에서, 상기 시료는 고정된다. 몇몇 실시형태에서, 상기 시료는 기관 및/또는 조직 전체를 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 상기 시료는 하나 이상의 세포 전체를 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 상기 시료는 세포 추출물, 예를 들어 용해물로부터 유래한다. 몇몇 실시형태에서, 용해된 상태의 항원 결합 구조체는 상기 시료 중의 용액에 첨가된다. 몇몇 실시형태에서, 용해된 상태의 항원 결합 구조체는 용액을 함유하지 않는 시료, 예를 들어 동결 건조된 시료에 첨가되며, 따라서 상기 시료가 복원된다. 몇몇 실시형태에서, 동결 건조된 항원 결합 구조체는 용액을 함유하는 시료에 첨가되며, 따라서 상기 항원 결합 구조체가 복원된다.

[0230] 몇몇 실시형태에서, 상기 항원 결합 구조체는 임의적으로는 상기 시료와 함께 배양된다. 상기 항원 결합 구조체는 약 14일 미만의 기간, 예를 들어 약 14일 미만, 13일 미만, 12일 미만, 11일 미만, 10일 미만, 9일 미만, 8일 미만, 7일 미만, 6일 미만, 5일 미만, 4일 미만, 3일 미만, 2일 미만 또는 1일 미만의 기간 동안 배양될 수 있거나, 약 23시간 미만의 기간, 예를 들어 약 23시간 미만, 22시간 미만, 21시간 미만, 20시간 미만, 19시간 미만, 18시간 미만, 17시간 미만, 16시간 미만, 15시간 미만, 14시간 미만, 13시간 미만, 12시간 미만, 11시간 미만, 10시간 미만, 9시간 미만, 8시간 미만, 7시간 미만, 6시간 미만, 5시간 미만, 4시간 미만, 3시간 미만, 2시간 미만, 1시간 미만, 0.75시간 미만, 0.5시간 미만, 0.25시간 미만 또는 0.1시간 미만의 시간 동안 배양될 수 있으며, 이때 상기 나열된 값들 중 임의의 2개의 값 사이의 범위를 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 상기 배양은 상기 항원 결합 구조체가 투여된 개체 내에서 이루어진다. 몇몇 실시형태에서, 상기 배양은 배양기 내에서 이루어진다. 몇몇 실시형태에서, 상기 배양기는 고정 온도, 예를 들어 약 21℃, 실온, 25℃, 29℃, 34℃, 37℃ 또는 40℃로 유지된다.

[0231] 몇몇 실시형태에서, 상기 표적에 결합되지 않은 항원 결합 구조체는 임의적으로는 상기 시료로부터 제거된다. 몇몇 실시형태에서, 상기 시료는 세척된다. 시료의 세척은 결합하지 않은 항원 결합 구조체를 함유하는 용액을 제거하는 단계 및 항원 결합 구조체를 함유하지 않는 용액, 예를 들어 완충 용액을 첨가하는 단계를 포함할 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 예를 들어 결합하지 않은 항원 결합 구조체를 함유하는 용액을 흡입, 피펫팅(pipetting), 펌핑 또는 배수하고 항원 결합 구조체를 함유하지 않는 용액을 첨가함으로써 시험관 내 시료를 세척한다. 몇몇 실시형태에서, 예를 들어 항원 결합 구조체를 함유하지 않는 용액을 상기 개체에 투여하거나 항원 결합 구조체 국소 투여 부위를 세척함으로써 생체 내 시료를 세척한다. 몇몇 실시형태에서, 상기 세척은 적어도 2회, 예를 들어 적어도 2회, 3회, 4회, 5회, 6회, 7회, 8회, 9회, 10회, 15회 또는 20회 수행된다. 몇몇 실시형태에서, 상기 세척 또는 세척들 이후에 결합하지 않은 항체의 적어도 약 50%, 예를 들어 적어도 약 50%, 60%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 97%, 98%, 99% 또는 그 이상은 상기 시료로부터 제거된다.

[0232] 몇몇 실시형태에서, 결합되지 않은 항원 결합 구조체는 상기 시료로부터 소거된다. 상기 시료에 대한 항원 결합 구조체의 적용 이후, 상기 표적에 결합된 항원 결합 구조체는 상기 표적에 결합되지 않은 항원 결합 구조체와의 평행에 도달하여, 상기 항원 결합 구조체의 적용 이후 어느 시점에 상기 표적에 결합된 항원 결합 구조체의 양이 실질적으로 증가하지 않게 된다. 이러한 시간 이후, 상기 표적에 결합되지 않은 항원 결합 구조체의 양의 적어도 일부분은 소거될 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 결합되지 않은 항원 결합 구조체는 상기 항체 또는 단편이 전달되는 개체의 대사과정 또는 기타 신체 진행 과정에 의해 소거된다. 몇몇 실시형태에서, 결합되지 않은 항원 결합 구조체는 상기 결합되지 않은 항원 결합 구조체를 파괴하거나 불안정하게 하는 약제, 예를 들어 프로테아제 또는 중화 항체의 부가에 의해 소거된다. 몇몇 실시형태에서, 상기 항원 결합 구조체의 적용 1일 후에는 상기 적용된 항원 결합 구조체의 적어도 약 30%, 예를 들어 적어도 약 30%, 40%, 60%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%,

95%, 97%, 98%, 99% 또는 99.9%가 소거되었다. 몇몇 실시형태에서, 상기 항원 결합 구조체의 적용 2일 후에는 상기 적용된 항원 결합 구조체의 적어도 약 40%, 예를 들어 적어도 약 40%, 50%, 60%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 97%, 98%, 99% 또는 99.9%가 소거되었다.

[0233] 몇몇 실시형태에서, 상기 표적 분자의 존재 유무가 검출된다. 상기 표적의 존재 유무는 상기 시료 중의 항원 결합 구조체의 존재 유무에 기초하여 검출될 수 있다. 예를 들어 세척 및/또는 대사적 소거에 의한 상기 시료로부터 항원 결합 구조체의 제거 및/또는 소거 이후, 상기 시료 중의 잔류 항원 결합 구조체는 상기 표적의 존재를 나타낼 수 있는 반면, 상기 시료 중의 항원 결합 구조체의 부재는 상기 표적의 부재를 나타낼 수 있다.

[0234] 몇몇 실시형태에서, 상기 항원 결합 구조체는 본원에 개시된 바와 같이 검출 가능한 마커를 포함한다. 따라서 상기 항원 결합 구조체의 존재는 상기 검출 가능한 마커를 검출함으로써 추론될 수 있다.

[0235] 몇몇 실시형태에서, 이차 항원 결합 구조체는 상기 항원 결합 구조체를 검출하기 위해 사용된다. 상기 이차 항원 결합 구조체는 상기 항원 결합 구조체에 특이적으로 결합할 수 있다. 예를 들어, 상기 이차 항원 결합 구조체는 항체의 숙주 형태 또는 상기 항원 결합 구조체 자체에 대한 다클론성 또는 단클론성 항체, 다이바디, 미니바디 등을 포함할 수 있다. 상기 이차 항원 결합 구조체는 본원에 개시된 바와 같은 검출 가능한 마커에 접합될 수 있다. 상기 이차 항원 결합 구조체는 상기 시료에 적용될 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 상기 이차 항원 결합 구조체는 상기 항원 결합 구조체와 실질적으로 동일한 방식으로 상기 시료에 적용된다. 예를 들어, 상기 항원 결합 구조체가 개체에 주입되는 경우, 상기 이차 항원 결합 구조체는 또한 상기 개체에 주입될 수 있다.

[0236] 몇몇 실시형태에서, 상기 항원 결합 구조체의 결합 또는 상기 결합의 부재는 양전자 방출 단층촬영(PET), 단일-광자 방출 컴퓨터 단층촬영(SPECT), 자기 공명 이미징(NMR) 및 형광 방출의 검출 중 적어도 하나를 통해 검출된다. PET는 소형 동물 PET 이미징을 포함할 수 있지만, 이에 제한되지 않는다. 몇몇 실시형태에서, 상기 항원 결합 구조체의 결합 또는 상기 결합의 부재는 2개 이상의 이미징 형태를 통해 검출된다. 몇몇 실시형태에서, 근적외선(NIR) 및/또는 체렌코프(Cerenkov) 방사선을 통해 검출이 이루어질 수 있다.

[0237] 몇몇 실시형태에서, 예를 들어 PET + NIR, PET + SPECT 등을 포함한 임의의 이미징 양식의 조합이 가능하다.

[0238] 치료제를 세포에 표적화하는 방법

[0239] 항원 결합 구조체들은 치료용 분자, 예를 들어 세포 독소를 상기 표적 분자를 발현하는 세포와 같이 표적-양성 세포에 표적화하기 위해 사용될 수 있다. 따라서 몇몇 실시형태는 치료제를 표적-양성 세포에 표적화하는 방법들을 포함한다. 상기 방법은 본원에 개시된 바와 같은 항원 결합 구조체를 개체에 투여하는 단계를 포함할 수 있다. 상기 개체는 이를 필요로 하는 개체, 예를 들어 적어도 몇몇 표적-양성 세포의 소거 또는 중화를 필요로 하는 개체일 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 상기 항원 결합 구조체는 본원에 개시된 바와 같은 적어도 하나의 치료제를 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 상기 치료제는 이황화 결합과 같은 공유결합을 통해 상기 항원 결합 구조체에 직접 접합될 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 상기 개체는 다른 세포 또는 약제에 대한 표적 분자-양성 세포의 국부화(localization)로부터 이익을 얻을 수 있다.

[0240] 임의적으로는, 적어도 하나의 치료제를 포함하는 상기 항원 결합 구조체의 투여 이전 및/또는 이후, 상기 환자의 표적-양성 세포의 개수 및/또는 국부화가 결정된다. 예를 들어, 투여 이전에 상기 표적-양성 세포의 개수 및/또는 국부화를 결정하는 것은 상기 환자가 상기 표적-양성 세포의 중화 및/또는 소거로부터 이익을 얻을 가능성이 있는지를 나타낼 수 있다. 투여 이후에 상기 표적-양성 세포의 개수 및/또는 국부화의 결정은 상기 표적-양성 세포가 환자에서 소거되었는지를 나타낼 수 있다.

[0241] 몇몇 실시형태에서, 상기 항원 결합 구조체는 독립형 구조체(예를 들어, 이에 접합된 독소가 없음)로서의 치료제로서 사용될 수 있다. 상기 단편들이 치료에 대해 덜 최적일 수 있는 온전한 항체에 비해 짧은 반감기를 가질 지라도 이들 포맷은 이들의 보다 작은 크기에 기초하여 개선된 중앙 침투를 나타낼 수 있고, 세포 독성 약물 또는 방사성 동위원소로 적절히 장착되는 경우에 치료학적으로 효과적일 수 있다.

[0242] 몇몇 실시형태에서, 다른 치료적 접근법은 요오드-131, 베타-에미터(예를 들어, 이트륨-90, 루테튬-177, 구리-67, 아스타틴-211, 납-212/비스무트-212, 악티늄-225/비스무트-213) 및 토륨과 같은 적절한 방사선 표지의 부착을 통한 방사성 면역요법이며, 상기 방사선 표지는 세포 손상 및 사멸을 야기할 수 있다.

[0243] 몇몇 실시형태에서, 상기 항원 결합 구조체는 상기 표적 분자를 발현하는 세포를 표적화하기 위해 사용된다. 몇몇 실시형태에서, 상기 치료제는, 예를 들어 CD8, CD3, PSMA, PSCA 및 5T4 중 적어도 하나와 연관된 하나 이상의 질환을 치료하는데 적절하다. 몇몇 실시형태에서, 상기 치료제는 하기 질환들 중 하나 이상을 치료하는데 적

절하다.

[0244] **특정 표적/구조체**

[0245] 몇몇 실시형태에서, 본원에서 제공된 임의의 상기 조성물, 방법(예를 들어, 치료 방법, 제조 방법, 검출 방법 등), 키트, 약제, 항원 결합 구조체 개질, 세포주, 핵산 등은 임의의 표적 분자용으로 사용될 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 상기 표적 분자는 암 면역요법과 연관된 분자일 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 상기 표적 분자는 CD8, CD3, 5T4, PSCA 및 PSMA(이의 변이체를 포함함) 중 하나 이상일 수 있다.

[0246] 몇몇 실시형태에서, 상기 미니바디와 같은 항원 결합 구조체들 중 하나 이상은 표적 분자 연관 질환을 앓고 있는 개체의 치료를 위해 사용될 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 상기 표적 분자는 하나의 분자가 결합할 항원 결합 구조체를 갖는 임의의 표적 분자일 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 상기 표적 분자는 CD8, CD3, PSMA, PSCA 및 5T4 중 적어도 하나일 수 있고, 따라서 상기 치료될 질환은 CD8, CD3, PSMA, PSCA 및 5T4 중 적어도 하나와 관련된 질환일 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 상기 미니바디와 같은 항원 결합 구조체들 중 하나 이상은 이들이 표적 분자 연관 질환을 앓고 있는지의 여부에 관해 개체의 진단을 위해 사용될 수 있다.

[0247] 본원에서 사용된 바와 같이, "개체"란 용어는 인간, 비인간 영장류, 설치류, 개, 돼지 등을 포함하지만 이에 제한되지 않는 임의의 동물(예를 들어, 포유동물)을 지칭한다.

[0248] 하기 섹션 각각에는 본원에서 제공된 몇몇 다양한 항원 결합 구조체들을 위한 다양한 실시형태가 서술되어 있다. 모든 이들 실시형태는 미니바디 및 scFv를 포함한 항원 결합 구조체의 다양한 형태로서 제공된다. 하기 섹션은 명백히 표적 특이적 실시형태를 위해 제공되지만, 이들은 본 명세서의 다른 부분에서 제공되는 임의의 적절한 옵션들과 양립 가능한 양태로서 고려된다. 따라서 본 발명의 실시형태는 기타 실시형태를 배제하지 않지만, 대신에 본원에서 제공된 임의의 기타 실시형태와 조합될 수 있는 옵션들이다. 예를 들어, 본원에서 제공된 임의의 상기 힌지 배열들은 상술한 구조체 및/또는 방법들 중 임의의 하나 이상에서 사용될 수 있다. 유사하게는, CD8, CD3, PSMA, PSCA 또는 5T4라는 5개의 표적들 중 임의의 하나와 관련하여 하기에 서술된 다양한 실시형태는 또한 기타 상술한 표적과 교체될 수 있다. 따라서 PSCA에 대한 토의가 PSCA에 관한 것일지라도 상기 실시형태들은 또한 CD8, CD3, PSMA 또는 5T4 구조체에 적용될 수 있는 것으로 이해될 것이다. 유사하게는, CD8에 대한 개시내용은, 예를 들어 CD3, PSMA, PSCA 또는 5T4에 또한 적용될 수 있다.

[0249] 몇몇 실시형태에서, 화학 치료제들은 본원에서 제공된 CD8, CD3, PSMA, PSCA 및 5T4 구조체들 중 임의의 하나 이상과 함께 사용될 수 있다. 화학 치료제들은 종종 자연에서 세포 독성 또는 세포 증식 억제성을 나타내며, 알킬화제, 대사 길항 물질, 항-종양 항생제, 토포이소머라아제 억제제, 유사분열 억제제, 호르몬 요법제, 표적화 치료제 및 면역 치료제를 포함할 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 본 발명의 실시형태에 따라 진단제로서 사용될 수 있는 화학 치료제들로는 13-시스-레티노산, 2-클로로데옥시아데노신, 5-아자시티딘, 5-플루오로우라실, 6-메르캅토피리딘, 6-티오구아닌, 악티노마이신-D, 아드리아마이신, 알데스루킨, 알람투주맙, 알리트레티노인, 전트렌스형 레티노산, 알파 인터페론, 알트레타민, 아메토프테린, 아미포스틴, 아나그렐리드, 아나스트로졸, 아라비노실시토신, 3산화 비소, 암사크린, 아미노캠프토세신, 아미노글루테티미드, 아스파라기나아제, 아자시티딘, 바실러스 칼메테 구에린(BCG), 벤다무스틴, 베바시주맙, 벡사로텐, 비칼루타미드, 보르테오미드, 블레오마이신, 부셀판, 류코보린 칼슘, 시트로보롬 인자, 카페시타빈, 카네티닙, 카르보플라틴, 카르무스틴, 세록시맙, 클로람부실, 시스플라틴, 클라드리빈, 코르티손, 사이클로포스파미드, 시타라빈, 다르베포에틴알파, 다사티닙, 다우노마이신, 데시타빈, 데니류킨 디프티톡스, 텍사메타손, 텍사손, 텍스라죽산, 닥티노마이신, 다우노루비신, 다카르바진, 도세탁셀, 독소루비신, 독시플루리딘, 에닐우라실, 에피루비신, 에포에틴알파, 엘로티닙, 에베롤리무스, 엑스메스탄, 에스트라무스틴, 에토포시드, 필그라스티م, 플루옥시메스테론, 폴베스트란트, 플라보피리돌, 플록슈리딘, 플루다라빈, 플루오로우라실, 플루타미드, 제피티닙, 켄시타빈, 켄투주맙 오조가마이신, 고세렐린, 과립구-콜로니 자극 인자, 과립구 마크로파지-콜로니 자극 인자, 헥사메틸멜라민, 하이드로코르티손 하이드록시우레아, 이브리투모맙, 인터페론 알파, 인터류킨-2, 인터류킨-11, 이스트레티노인, 익사베필론, 이다루비신, 이마티닙 메실레이트, 이포스파미드, 이리노테칸, 라파티닙, 레날리도미드, 레트로졸, 류코보린, 류프로라이드, 리포존성 Ara-C, 로무스틴, 메클로르에타민, 메게스트롤, 멜팔란, 메르캅토피리딘, 메스나, 메토포렉세이트, 메틸프레드니솔론, 마이토마이신 C, 마이토테인, 미톡산트론, 넬라라빈, 닐루타미드, 옥트레오타이드, 오프레베킨, 옥살리플라틴, 파클리탁셀, 파미드론산염, 페메트렉세드, 파니투무맙, PEG 인터페론, 페가스파르가제, 페그필그라스티م, PEG-L-아스파라기나아제, 펜토스타틴, 플리카마이신, 프레드니솔론, 프레드니손, 프로카바진, 랄록시펜, 리톡시맙, 로미플로스티움, 라리트렉세드, 사파시타빈, 사그라모스티움, 사트라플라틴, 소라페닙, 수니티닙, 세무스틴, 스트렙토조신, 타목시펜, 테가푸르, 테가푸르-우라실, 템시플리무스, 테모졸라미드, 테니포사이드, 탈리도마이드,

티오구아닌, 티오테파, 토포테칸, 토레미펜, 토시투모맙, 트라스투주맙, 트레티노인, 트리미트렉세이트, 알루비신, 빈크리스틴, 빈블라스틴, 빈데스틴, 비노렐빈, 보리노스타트 또는 줄레드론산을 들 수 있지만, 이에 제한되지 않는다.

[0250] 몇몇 실시형태에서, 상기 구조체, 예를 들어 CD8, CD3, PSMA, PSCA 및 5T4 항원 결합 구조체들 중 임의의 하나 이상은 상기 힌지 내의 하나 이상의 시스템을 통해 본원에 개시된 킬레이터, 약물 또는 임의의 기타 구성성분들에 연결될 수 있다.

[0251] **PSCA-IAB1M**

[0252] 전립선 줄기세포 항원(PSCA)은 정상적인 인간 전립선 및 방광에서 발현되는 세포 표면 당단백질이고, 전립선암에서 과발현된다(40%의 원발성 종양 및 60% 내지 100%의 림프절 및 골수 전이). 이는 또한 방광의 이행성 암종 및 췌장 암종에서 고도로 발현된다. PSCA 단백질의 일례는 서열번호 132로 나타나 있다. PSCA에 대해 특이적인 항-PSCA 마우스 단클론성 항체인 IG8은 생체 내 항-종양 표적화 활성을 증명하였다(문헌[Gu, Z. 등, "Anti-prostate stem cell antigen monoclonal antibody IG8 induces cell death in vitro and inhibits tumor growth in vivo via a Fc-independent mechanism," Cancer Res., Vol. 65, No. 20, pp. 9495-9500, 2005]). 이러한 항체는 인간 골격(트라스투주맙) 상의 이식에 의해 인간화되었으며, 2B3으로 명명되었다(문헌[Olafsen, T. 등, "Targeting, imaging, and therapy using a humanized antiprostate stem cell antigen (PSCA) antibody," Immunotherapy, Vol. 30, No. 4, pp. 396-405, 2007]).

[0253] 몇몇 실시형태에서, PSCA에 대한 항원 결합 구조체를 포함하는 실시형태는 PSCA를 발현하는 종양을 표적화하고 이미징하기 위해 적절한 약역학 특성을 갖는 약제를 제공할 수 있다. 민감하고 특이적으로 암을 이미징하기 위한 유효 약제, 특히 통상의 수단에 의해 이미징할 수 없는 초기 단계의 종양 또는 초기 전이의 종양을 이미징하기 위한 유효 약제에 대한 분야에서의 가치가 존재한다. PSCA가 대부분의 전립선, 방광 및 췌장 종양에 의해 고도로 발현됨에 따라 이는 이들 암의 검출, 진단, 예후 및 치료에서 귀중한 표적이다. 본원에서 제공된 몇몇 실시형태는 종양 이미징 및 표적화를 위한 특징을 갖는 구조체를 제공한다. 이들은 또한 유전자 요법 및 방사능 요법의 종양 표적화를 위해 사용될 수 있고, 그 자체로 치료적 용도를 가질 수 있다.

[0254] 전립선 및 기타 암에서 신규한 세포 표면 마커를 높은 친화도로 인식하는 조작된 항원 결합 구조체들이 본원에서 제공된다. 이들 유전적으로 조작된 항원 결합 구조체들은 표적화 및 검출용으로 생체 내에서 사용하기 위해 특이적으로 재단될 수 있다. PSCA는 대부분의 전립선, 방광 및 췌장 종양에 의해 고도로 발현되고, 이는 유망한 표적이다. 본원에서 제공된 실시형태에는 종양 이미징을 위한 최적의 특징을 갖는 획기적인 분자가 개시되어 있다. 이는 또한 유전자 요법 및 방사능 요법의 종양 표적화에 유용할 수 있으며, 그 자체로 치료적 용도를 가질 수 있다.

[0255] 몇몇 실시형태에서, 항-PSCA 항체에 의해 표적화되는 PSCA는 인간 PSCA이다. 몇몇 실시형태에서, 면역 접합체는 PSCA-양성 세포, 특히 PSCA 단백질을 과발현하는 세포에 대해 작동자 모이어티를 표적화하기 위해 사용될 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 상기 항-PSCA 미니바디에 의해 표적화되는 PSCA는 인간 PSCA이다.

[0256] 몇몇 실시형태에서, 본원에서 제공된 구조체들은 PSCA를 발현하는 종양을 표적화하고 이미징하기 위해 적절한 약역학 특성을 갖는 약제를 제공할 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 상기 미니바디는 민감하고 특이적으로 암을 이미징하기 위한 유효 약제, 특히 통상의 수단에 의해 이미징할 수 없는 초기 단계의 종양 또는 초기 전이의 종양을 이미징하기 위한 유효 약제를 제공한다.

[0257] 몇몇 실시형태에서, 상기 PSCA 항원과 결합하는 항원 결합 구조체들은 항체, 미니바디, 및/또는 scFv와 같은 항체의 기타 단편들일 수 있다. PSCA에 대한 항원 결합 구조체의 몇몇 비제한적인 실시형태는 도 29b 내지 도 29d, 도 36e, 도 60(서열번호 125 및 서열번호 126), 도 61(서열번호 126), 도 62(서열번호 127), 도 63(서열번호 128), 도 64(서열번호 129) 및 도 65a(서열번호 130)에 도시되어 있다.

[0258] 몇몇 실시형태에서, 상기 구조체는 전이성 질병의 조기 진단 또는 진단에서 암의 이미징을 가능케 한다. 특히, 검출 및 병기(staging)용 전립선암의 이미징하기 위한 보다 양호한 약제에서의 가치가 존재한다. PSCA 항원 결합 구조체 이미징은 뼈 전이를 이미징하고 치료에 대한 반응을 평가하는데 매우 유용할 것이다. 몇몇 실시형태에서, 췌장암의 검출 방법이 제공된다. 몇몇 실시형태에서, 높은 친화도 및 높은 특이성을 갖는 조작된 미니바디는 전립선암, 방광암 및 췌장암 환자에서 PSCA의 생체 내 표적화 및 검출을 위해 재단된다. 몇몇 실시형태에서, "PSCA 의존 질환"으로는 전립선 종양, 전립선암, 방광 종양, 방광의 이행성 암종, 췌장 종양, 췌장 암종, PSCA 발현과 연관된 임의의 종양, PSCA 발현과 연관된 임의의 암, 또는 PSCA 발현과 연관된 임의의 질환을 들

수 있다.

- [0259] 몇몇 실시형태에서, PSCA를 과발현하는 암의 치료 및 검출에 사용될 수 있는 고친화도 PSCA 항원 결합 구조체가 제공된다.
- [0260] 몇몇 실시형태에서, 상기 항원 결합 구조체는 또한 치료제 또는 검출 가능한 마커들에 연결될 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 상기 치료제는 세포 독성제이다. 예를 들어, 상기 약제로는 리신, 리신 A-사슬, 독소루비신, 다우노루비신, 택솔(taxol), 에티디움브로마이드, 마이토마이신, 에토포시드, 테노포사이드(tenoposide), 빈크리스틴, 빈블라스틴, 콜히친(colchicine), 디하이드록시 안트라신 디온(dihydroxy anthracin dione), 악티노마이신 D, 디프테리아 독소, 슈도모나스 외독소(PE) A, PE40, 아브린, 아브린 A 사슬(arbrin A chain), 모데신 A 사슬(modeccin A chain), 알파-사르신(α -sarcin), 젤로닌, 미토젤린(mitogellin), 레스트릭토신(restrictocin), 페노마이신(phenomycin), 에노마이신(enomycin), 쿠르신(curcin), 크로틴(crotin), 칼키아마이신, 사파오나리아 오피시날리스(sapaonaria officinalis) 억제제, 메이탄시노이드류 또는 글루코코티코이드리신(glucocorticoidricin)이 있다. 기타 실시형태에서, 상기 치료제는 방사성 동위원소이다. 상기 방사성 동위원소는, 예를 들어 ^{212}Bi , ^{131}I , ^{111}In , ^{90}Y 및 ^{186}Re 로 이루어진 군으로부터 선택될 수 있다. 기타 실시형태에서, 상기 구조체는 프로드러그를 활성 형태로 전환할 수 있는 항-암 프로드러그 활성화 효소에 연결된다.
- [0261] 몇몇 실시형태에서, 상기 항-PSCA 구조체는 검출 가능한 마커로 표지된다. 상기 마커는, 예를 들어 방사성 동위원소, 형광 화합물, 생물 발광 화합물, 화학 발광 화합물, 금속 킬레이터 또는 효소일 수 있다. 많은 방사성 핵종은 ^{124}I , ^{86}Y , ^{18}F , $^{94\text{m}}\text{Tc}$ 등을 포함하지만 이에 제한되지 않는 이미징 표지로서 사용될 수 있다. 당해 기술분야의 숙련자라면 특히 본 발명의 실시형태에서 사용하기에 매우 적합한 기타 방사성 핵종에 대해 알 것이다. 몇몇 실시형태에서, 상기 방법에서는 암세포가 살해될 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 상기 구조체는 22번째 아미노산 위치에서 류신으로 시작해서 99번째 아미노산 위치에서 알라닌으로 끝나는 하기에 나타난 PSCA 단백질을 인식하고 결합한다. 부가적인 실시형태에서, 상기 방법은 화학 치료 약물, 방사선 요법에 대한 투여를 더 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 상기 개체는 또한 호르몬 절제 요법 또는 호르몬 길항제 요법으로 치료된다.
- [0262] 몇몇 실시형태에서, 상기 치료는 정맥 내, 복강 내, 근육 내, 종양 내 또는 진피 내 투여에 의해 환자 또는 개체에 적용될 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 접촉은 전립선암, 방광암, 췌장암 또는 이들의 전이 내로 상기 구조체를 직접 투여하는 단계를 포함한다.
- [0263] 몇몇 실시형태에서, 검출 가능한 마커를 갖는 구조체와 암세포를 접촉시킴으로써 개체에서 암세포를 검출하는 방법들이 제공된다. 상기 방법들은 암의 위험성이 증가된 환자를 스크리닝(screening)하는데 사용될 수 있거나, 요법에 대한 반응을 모니터링하거나 암(예를 들어, 전립선, 방광, 또는 췌장암)에 대한 예후를 밝혀내기 위해 사용될 수 있다. 상기 방법들은 상기 암의 전이를 검출하는데 특히 유리하다. 종양 표적화/이미징 경향을 갖는 미니바디 단편들이 본원에서 제공된다. 몇몇 실시형태에서, 본원에서 제공된 구조체들과 관련하여 상기 구조체가 상응하는 도메인과 동일하지 않는 V_H 또는 V_L 도메인 또는 2B3 항체를 포함한다는 하나의 단서가 존재한다.
- [0264] 몇몇 실시형태에서, 상기 항원 결합 구조체는 "작동자" 모이어티에 접합된다. 상기 작동자 모이어티는 방사성 표지 또는 형광 표지와 같은 표지 모이어티를 포함하는 임의의 개수의 분자일 수 있거나, 치료용 모이어티일 수 있다. 일 양태에서, 상기 항체는 단백질의 활성을 조절한다. 이 같은 작동자 모이어티로는 항-종양 약물, 독소, 방사능제, 사이토카인, 이차 항체 또는 효소를 들 수 있지만, 이에 제한되지 않는다. 게다가, 상기 항원 결합 구조체가 프로드러그를 세포 독성제로 전환하는 효소에 연결되어 있는 실시형태들이 본원에서 제공된다. 세포 독성제의 예로는 방사성 동위원소들 뿐만 아니라 리신, 독소루비신, 다우노루비신, 택솔, 에티디움브로마이드, 마이토마이신, 에토포시드, 테노포사이드, 빈크리스틴, 빈블라스틴, 콜히친, 디하이드록시 안트라신 디온, 악티노마이신 D, 디프테리아 독소, 슈도모나스 외독소(PE) A, PE40, 아브린 및 글루코코티코이드, 및 기타 화학 치료제들을 들 수 있지만, 이에 제한되지 않는다. 적합한 검출 가능한 마커들로는 방사성 동위원소, 형광 화합물, 생물 발광 화합물, 화학 발광 화합물, 금속 킬레이터 또는 효소를 들 수 있지만, 이에 제한되지 않는다.
- [0265] 몇몇 실시형태에서, 상기 항원 결합 단백질 구조체들은 단독으로 또는 작동자 모이어티와 접합되는 경우에 암을 체계적으로 치료하기 위해 사용될 수 있다. 접합되지 않은 항체뿐만 아니라 리신과 같은 독성제와 접합된 PSCA-표적화 구조체들은 암세포를 갖고 있는 PSCA에 자연적으로 표적화되는 유용한 치료제일 수 있다. 이 같은 구조체들은 침습성(invasiveness)을 차단하는데 유용할 수 있다.
- [0266] 몇몇 실시형태에서, 상기 항원 결합 단백질 구조체들은 암을 치료하기 위해 사용될 수 있다. 이 같은 상황에서,

상기 구조체는 치료 활성을 갖는 제 2 단백질 또는 독성 분자의 적어도 기능적 활성 부분에 연결된다. 상기 제 2 단백질로는 효소, 림포카인, 온코스타틴(oncostatin) 또는 독소를 들 수 있지만, 이에 제한되지 않는다. 적합한 독소로는 독소루비신, 다우노루비신, 택솔, 에티디움브로마이드, 마이토마이신, 에토포시드, 테노포사이드, 빈크리스틴, 빈블라스틴, 콜히친, 디하이드록시 안트라신 디온, 악티노마이신 D, 디프테리아 독소, 슈도모나스 외독소(PE) A, PE40, 리신, 아브린, 글루코코르티코이드 및 방사성 동위원소를 들 수 있다.

[0267] 몇몇 실시형태에서, 치료는 일반적으로 정맥 내 주사(N)와 같은 허용 가능한 투여 경로를 통해 상기 구조체 및 이들의 면역 접합체를 유효 투여량으로 반복적으로 투여하는 것을 포함할 것이다. 투여량은 당해 기술분야의 숙련자에 의해 일반적으로 인지되는 다양한 인자에 의존할 것이며, 이때 상기 인자로는 암의 유형, 암의 중증도, 정도 또는 단계, 사용된 약제의 결합 친화도 및 반감기, 항체의 목적하는 안정 상태 농도 수준, 치료의 빈도, 및 본원에서 제공된 실시형태에 따른 치료 방법과 함께 사용되는 화학 치료제의 영향을 들 수 있지만, 이에 제한되지 않는다. 전형적인 1일 투여량은 약 0.1 내지 100mg/kg 범위일 수 있다. 훨씬 더 높은 주 당 투여량이 적절하고/하거나 충분히 용인될 수 있을지라도 상기 구조체 또는 이들의 면역 접합체의 주 당 10 내지 500mg 범위의 투여량은 효과적이며 충분히 용인될 수 있다. 적절한 투여량을 한정하는데 있어 주요한 결정 인자는 특정한 문맥에서 치료학적으로 유효할 필요가 있는 특정 약제의 양이다. 반복된 투여는 종양 억제 또는 퇴행을 달성하기 위해 요구될 수 있다. 초기 부하량(initial loading dose)은 보다 높을 수 있다. 상기 초기 부하량은 주입으로서 투여될 수 있다. 주기적인 유지량은 초기 투여량이 충분히 용인된다면 유사하게 투여될 수 있다.

[0268] 몇몇 실시형태에서, 상기 구조체의 직접적인 투여가 또한 가능하며, 특정 문맥에서의 이점을 가질 수 있다. 예를 들어, 방광 암종의 치료를 위해 상기 약제들은 방광에 직접 주사될 수 있다.

[0269] 몇몇 실시형태에서, 상기 조성물들은 치료적 또는 예방적 치료를 위해 투여될 수 있다. 치료적 적용 시, 조성물은 질병(예를 들어, 암)을 앓고 있는 환자에 "치료학적 유효 투여량"으로 투여된다. 이러한 용도에 있어서의 유효량은 질병의 중증도 및 일반적인 환자의 건강 상태에 의존할 것이다. 상기 조성물의 단일 또는 다중 투여는 환자에 의해 요구되고 용인된 바와 같은 투여량 및 빈도에 따라 투여될 수 있다. 기타 공지된 암 요법들이 본원에서 제공된 방법과 함께 사용될 수 있다. 예를 들어, 본원에서 제공된 조성물들은 또한 5FU, 빈블라스틴, 악티노마이신 D, 시스플라틴, 메토타렉세이트 등과 같은 기타 암 치료제에 대해 세포를 표적화하거나 감응(sensitization)시키기 위해 사용될 수 있다.

[0270] 기타 실시형태에서, 상기 방법들은 기타 암 요법(예를 들어, 라디칼 전립선 절제술), 방사선 요법(외부 광선 또는 근접치료(brachytherapy)), 호르몬 요법(예를 들어, 고환 절제술(orchietomy), 테스토스테론(testosterone) 생성을 억제하기 위한 LHRH-유사체 요법, 항-안드로겐 요법) 또는 화학 요법과 함께 실시될 수 있다.

[0271] 몇몇 실시형태에서, 본원에서 제공된 미니바디와 같은 항체의 투여를 통해 생체 내에서 암세포 또는 종양을 이미징하는 방법들이 제공된다. 일 실시형태에서, 생체 내 암세포를 이미징하는 방법이 제공되며, 이때 상기 방법은 표지된 항-PSCA 항체를 포유동물에 투여하는 단계, 및 생체 내에서 상기 항체를 이미징하는 단계를 포함한다. 상기 방법들은 마우스, 래트, 햄스터, 토끼, 돼지, 인간 등을 포함하지만 이에 제한되지 않는 포유동물에서 암세포를 이미징하기 위해 사용될 수 있다.

[0272] 몇몇 실시형태에서, 암을 앓고 있는 개체를 치료하는 방법, 또는 전립선 줄기세포 항원(PSCA) 단백질을 발현하는 전립선 암세포의 성장을 억제하기 위한 방법이 본원에서 제공되며, 이때 상기 방법은 상기 암세포의 성장을 억제하기에 효과적인 양으로 암세포(예를 들어, 전립선, 방광, 췌장 암세포)를 본원에서 제공된 바와 같은 구조체와 접촉시키는 단계를 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 상기 방법에서는 PSCA를 과발현하는 암, 예를 들어, 전립선암, 췌장암 및 방광암의 진단, 예후 및 치료에서의 특정한 응용이 발견된다. 특정 실시형태에서, 상기 방법들은 호르몬 무반응 암 또는 요법 내성 암에 적용된다. 특정 실시형태에서, 상기 방법들은 전이성 암에 적용된다.

[0273] 몇몇 실시형태에서, PSCA에 결합하는 미니바디가 제공된다. 상기 미니바디는 PSCA에 결합하는 단일 사슬 가변 단편(scFv)를 포함하는 폴리펩티드를 포함하며, 이때 상기 scFv는 가변 경쇄(V_L) 도메인에 연결된 가변 중쇄(V_H) 도메인; 및 상기 힌지의 각 가닥 상에 적어도 3개의 시스테인을 포함하는 변이체 힌지 영역을 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 상기 미니바디는 인간 IgG C_H3 서열을 더 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 상기 미니바디는 방사성 물질, 염료, 조영제, 형광 화합물, 생물 발광 화합물, 효소, 증강제 및 나노입자로 이루어진 군으로부터 선택된 검출 가능한 마커를 더 포함한다.

- [0274] 몇몇 실시형태에서, 본원에서 제공된 미니바디는 서열번호 93으로 표시된 HCDR1과 동일한 HCDR1; 서열번호 94로 표시된 HCDR2와 동일한 HCDR2; 서열번호 95로 표시된 HCDR3과 동일한 HCDR3; 서열번호 96으로 표시된 LCDR1과 동일한 LCDR1; 서열번호 97로 표시된 LCDR2와 동일한 LCDR2; 및 서열번호 98로 표시된 LCDR3과 동일한 LCDR3을 포함한다. 본원에서 제공된 미니바디의 몇몇 실시형태에서, 상기 가변 중쇄(V_H) 도메인 및 가변 경쇄(V_L) 도메인은 인간 서열이다.
- [0275] 몇몇 실시형태에서, 본원에 개시된 임의의 실시형태의 항체를 암호화하는 핵산이 제공된다. 몇몇 실시형태에서, 본원에 개시된 임의의 상기 미니바디 실시형태를 생성하는 세포주가 제공된다. 몇몇 실시형태에서, 본원에 개시된 미니바디의 임의의 실시형태 및 검출 가능한 마커를 포함하는 키트가 제공된다.
- [0276] 몇몇 실시형태에서, PSCA의 존재 유무를 검출하는 방법이 제공된다. 상기 방법은 본원에서 제공된 임의의 상기 미니바디 실시형태를 시료에 적용하는 단계; 및 PSCA에 대한 상기 항원 결합 구조체의 결합 또는 이의 결합의 부재를 검출하는 단계를 포함한다. 상기 방법의 몇몇 실시형태에서, 상기 미니바디는 방사성 물질, 염료, 조영제, 형광 화합물, 생물 발광 화합물, 효소, 증강제 및 나노입자로 이루어진 군으로부터 선택된 검출 가능한 마커를 포함한다. 상기 방법의 몇몇 실시형태에서, 상기 미니바디를 적용하는 단계는 상기 미니바디를 개체에 투여하는 단계를 포함한다. 상기 방법의 몇몇 실시형태에서, 상기 표적 항원에 대한 상기 미니바디의 결합 또는 이의 결합의 부재를 검출하는 단계는 양전자 방출 단층촬영을 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 상기 방법은 이차 항체 또는 이의 단편을 시료에 적용하는 단계를 더 포함하며, 여기서 상기 이차 항체 또는 이의 단편은 상기 미니바디에 특이적으로 결합한다. 상기 방법의 몇몇 실시형태에서, 이의 미니바디는 1시간 미만 동안 시료와 함께 배양된다.
- [0277] 몇몇 실시형태에서, PSCA에 대해 치료제를 표적화하는 방법이 제공된다. 상기 방법은 본원에서 제공된 미니바디의 임의의 상기 실시형태를 개체에 투여하는 단계를 포함하며, 여기서 상기 미니바디는 치료제에 접합된다.
- [0278] 몇몇 실시형태에서, 이를 필요로 하는 개체에 PSCA를 표적화하는 방법이 제공된다. 상기 방법은 본원에서 제공된 임의의 하나의 실시형태의 미니바디를 상기 개체에 투여하는 단계를 포함한다. 상기 방법의 몇몇 실시형태에서, 상기 개체는 전립선 종양, 전립선암, 방광 종양, 방광의 이행성 암종, 췌장 종양, 췌장 암종, PSCA 발현과 연관된 임의의 종양, PSCA 발현과 연관된 임의의 암, 및 PSCA 발현과 연관된 임의의 질환 중 적어도 하나 이상을 앓고 있다.
- [0279] 몇몇 실시형태에서, PSCA에 결합하는 항원 결합 구조체(예를 들어, 미니바디 또는 scFv)가 제공된다. 상기 항원 결합 구조체(예를 들어, 미니바디 또는 scFv)는 힌지 영역을 포함하며, 여기서 상기 힌지 영역은 하기 서열들 중 적어도 하나를 포함한다: a) 서열번호 1의 펩티드 서열($X_{n1}CX_{n2}X_{n3}CX_{n4}X_{n5}C$)로서, X_{n1} 은 공유성 가교결합을 형성하지 않는 임의의 아미노산일 수 있고, X_{n2} 는 A, R, N, D, E, Q, G, H, I, L, K, M, F, P, S, T, W, Y 및 V 중 하나이고, X_{n3} 은 임의의 아미노산일 수 있고, X_{n4} 는 임의의 아미노산일 수 있고, X_{n5} 는 임의의 아미노산일 수 있는 펩티드 서열; b) 서열번호 2의 펩티드 서열($X_{n1}X_{n2}X_{n3}X_{n4}X_{n5}X_{n6}CX_{n7}X_{n8}CX_{n9}X_{n10}C$)로서, X_{n1} 은 다른 동일한 아미노산과 공유성 가교결합을 형성하지 않는 임의의 아미노산일 수 있고, X_{n2} 는 임의의 아미노산일 수 있고, X_{n3} 은 임의의 아미노산일 수 있고, X_{n4} 는 임의의 아미노산일 수 있고, X_{n5} 는 임의의 아미노산일 수 있고, X_{n6} 은 임의의 아미노산일 수 있고, X_{n7} 은 임의의 아미노산일 수 있고, X_{n8} 은 임의의 아미노산일 수 있고, X_{n9} 는 임의의 아미노산일 수 있고, X_{n10} 은 임의의 아미노산일 수 있는 펩티드 서열(서열번호 208); c) ELKTPLGDTTHT(서열번호 48)의 상부 힌지 서열에 연결된 CVECPPCP(서열번호 57), CPPCPPC(서열번호 52) 및 CPPCPPPPC(서열번호 54) 중 적어도 하나의 코어 힌지 서열; 또는 d) 상응하는 아미노산과 가교 결합할 수 있는 아미노산을 포함하지 않는 상부 힌지 영역 및 상기 상부 힌지 영역의 C-말단에 연결된 코어 힌지 영역(여기서, 상기 코어 힌지 영역은 적어도 3개의 시스테인을 포함함). 몇몇 실시형태에서, 상기 항원 결합 구조체는 전장 항체이다. 몇몇 실시형태에서, 상기 항체는 미니바디이다. 상기 힌지 영역을 제외한 항원 결합 구조체(예를 들어, 미니바디 또는 scFv)의 몇몇 실시형태에서, 상기 항원 결합 구조체(예를 들어, 미니바디 또는 scFv)는 인간화 아미노산 서열을 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 상기 항원 결합 구조체(예를 들어, 미니바디 또는 scFv)는 서열번호 93으로 표시된 HCDR1과 동일한 HCDR1; 서열번호 94로 표시된 HCDR2와 동일한 HCDR2; 서열번호 95로 표시된 HCDR3과 동일한 HCDR3; 서열번호 96으로 표시된 LCDR1과 동일한 LCDR1; 서열번호 97로 표시된 LCDR2와 동일한 LCDR2; 및 서열번호 98로 표시된 LCDR3과 동일한 LCDR3을 포함한다.
- [0280] 몇몇 실시형태에서, 본원에 개시된 임의의 상기 실시형태의 항원 결합 구조체(예를 들어, 미니바디 또는 scFv)

의 힌지 영역을 암호화하는 핵산이 제공된다. 상기 힌지 영역을 암호화하는 서열을 제외한 핵산의 몇몇 실시형태에서, 상기 핵산은 인간 서열을 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 상기 핵산에 의해 암호화된 항원 결합 구조체(예를 들어, 미니바디 또는 scFv)를 발현하는 세포주가 제공된다.

[0281] 몇몇 실시형태에서, 본원에 개시된 임의의 상기 실시형태의 항원 결합 구조체(예를 들어, 미니바디 또는 scFv)를 제조하는 방법이 제공되며, 이때 상기 방법은 세포주에서 상기 항체를 발현하는 단계를 포함한다.

[0282] 몇몇 실시형태에서, 이를 필요로 하는 개체에서 병태를 치료하는 방법이 제공되며, 상기 방법은 본원에서 제공된 임의의 상기 실시형태의 항체를 개체에 투여하는 단계를 포함한다.

[0283] **PSMA-IAB2M**

[0284] PSMA를 표적화하는 전장 항체가 개발되었으며, 이들 중 일부는 다양한 전임상적 및 임상적 개발 단계에 있다. PSMA는 PSMA의 세포 내 에피토프를 인식하는 쥐 항체(mAb)인 7E11에 의해 최초로 한정되었다(문헌[Olson, W. C. 등, "Clinical trials of cancer therapies targeting prostate-specific membrane antigen," Rev. Recent Clin. Trials, Vol. 2, No. 3, pp. 182-190, 2007]). 상기 7E11 mAb는 추후에 연조직에서의 전립선암의 검출 및 이미징을 위한 프로스타신트(Prostascint)로 지칭되는 FDA-승인 SPECT 이미징제로 개발되었다. 그러나 7E11이 세포 내 에피토프를 인식하기 때문에 프로스타신트는 괴사성 종양 조직의 검출에 제한되는 상대적으로 빈약한 이미징제이다(문헌[Olson, W. C. 등, 2007]). 전장 항체의 약동학적 특성을 갖는 프로스타신트는 또한 주입과 이미징 사이의 긴 시간을 필요로 한다. 더욱이, 프로스타신트는 다중 투여를 방지하는 강력한 면역 반응을 유도하는 쥐 항체이다(문헌[Olson, W. C. 등, 2007]).

[0285] PSMA를 표적화하는 다른 전장 항체인 J591이 발견되고 후속적으로 역면역화되었으며, 이는 huJ591로 공지된 역면역화 버전이다(문헌[Liu, H. 등, "Monoclonal antibodies to the extracellular domain of prostate-specific membrane antigen also react with tumor vascular endothelium", Cancer Research, Vol. 57, No. 17, pp. 3629-3634, 1997]; 문헌[Bander, N. H. 등, "Targeting Metastatic Prostate Cancer with Radiolabeled Monoclonal Antibody J591 to the Extracellular Domain of Prostate Specific Membrane Antigen," J. Urol., Vol. 170, No. 5, pp. 1717-1721, 2003]). 상기 역면역화 huJ591은 PSMA 상의 세포 외 에피토프를 인식하고 이에 결합하는 항-인간 PSMA 항체이다(문헌[Bander, N. H. 등, 2003]). 상기 huJ591 항체는 전립선암에 대한 잠재적인 방사성 면역요법제로서 개발되고 있다. 단계 I 시험에서, 감마 방출 동위원소인 인듐-111 및 루테튬-177로 표지된 DOTA-접합된 huJ591 항체는 전이 부위에 대한 우수한 표적화를 증명하고 면역원성이 없음을 증명하였으며, 다중 투여량은 충분히 용인되었다(문헌[Bander, N. H. 등, 2003], 문헌[Milowsky, M. I. 등, "Phase I Trial of yttrium-90-labeled anti-prostate-specific membrane antigen monoclonal antibody J591 for androgen-independent prostate cancer," J. Clin. Oncol., Vol. 22, No. 13, pp. 2522-2531, 2004]; 문헌[Bander, N. H. 등, "Phase I trial of 177 Lutetium-labeled J591, a monoclonal antibody to prostate-specific membrane antigen, in patients with androgen-independent prostate cancer," J. Clin. Oncol., Vol. 23, No. 21, pp. 4591-4601, 2005]; 문헌[Olson, W. C. 등, 2007]). 전립선암을 뛰어 넘어 ¹¹¹In-DOTA huJ591을 이용한 단계 I 연구에 따르면 진행된 고체 종양의 종양 신생혈관(neovasculature)의 특정 표적화가 증명되었다(문헌[Milowsky, M. I. 등, "Vascular targeted therapy with anti-prostate-specific membrane antigen monoclonal antibody J591 in advanced solid tumors," J. Clin. Oncol., Vol. 25, No. 5, pp. 540-547, 2007]).

[0286] 몇몇 실시형태에서, PSMA 항원과 결합하는 항원 결합 구조체들은 항체, 미니바디, 및/또는 scFv와 같은 항체의 기타 단편들일 수 있다. PSMA에 대한 항원 결합 구조체의 몇몇 비제한적인 실시형태는 도 5b 내지 도 5e, 도 7c 내지 7e, 도 21b 내지 도 21e, 도 34a 내지 34f, 도 35a 내지 35c, 도 36a, 도 47(서열번호 112 및 서열번호 113), 도 48(서열번호 113), 도 49(서열번호 114), 도 50(서열번호 115), 도 51(서열번호 116), 도 52(서열번호 117), 도 53(서열번호 118)에 도시되어 있다.

[0287] 전립선암과 연관된 세포 표면 생물 마커(문헌[Slovin, S. F., "Targeting novel antigens for prostate cancer treatment: focus on prostate-specific membrane antigen," Expert Opin. Ther. Targets, Vol. 9, No. 3, pp. 561-570, 2005])인 전립선 특이적 막항원(PSMA)은 PSMA의 기능적 역할이 충분히 이해되지 않을지라도 글루타메이트 카르복시펩티다아제 활성을 나타내는 단일 통과 II형 막 관통 단백질이다(문헌[Olson, W. C. 등, 2007]). PSMA의 발현은 전립선을 제외하고 뇌, 소장, 간, 근위 신장 세뇨관 및 침샘을 포함한 정상 조직에서 비교적 제한된다(문헌[Olson, W. C. 등, 2007]). PSMA 단백질의 일례가 서열번호 131로 나타나 있다.

- [0288] 몇몇 실시형태에서, 전립선 특이적 막항원(PSMA)을 표적화하는 미니바디와 같은 항원 결합 구조체들이 본원에서 제공된다. 이의 PSMA 항원 결합 구조체는 항-PSMA 접합체를 형성하기 위해 진단제, 치료제 또는 나노입자와 같은 물질에 접합될 수 있다. PSMA의 과발현과 연관된 암 또는 기타 병태들을 진단, 시각화, 모니터링 또는 치료하기 위한 PSMA 항원 결합 구조체 또는 항-PSMA 접합체의 사용을 포함하는 방법들이 또한 개시되어 있다.
- [0289] PSMA 항원 결합 구조체들은 본원에 개시된 실시형태에 따라 본원에서 제공된다. PSMA 항원 결합 구조체는 PSMA와 특이적으로 결합하거나 면역학적으로 반응하는 면역 글로불린 또는 면역 글로불린 관련 분자의 하나 이상의 부분을 포함하는 분자이다.
- [0290] 상기 PSMA 항원 결합 구조체 또는 항-PSMA 접합체는 PSMA를 과발현하는 암세포와 같은 PSMA-양성 세포를 표적화하기 위해 사용될 수 있다.
- [0291] 몇몇 실시형태에서, 개체에서 PSMA 발현과 연관된 암을 진단하기 위한 방법이 제공된다. 이 같은 방법은 진단제에 접합된 항-PSMA 미니바디를 PSMA 발현과 연관된 암을 앓고 있거나 앓고 있는 것으로 의심되는 개체에 투여하는 단계; 상기 표지된 미니바디를 생체 내에서 시각화하기 위해 상기 개체를 이미징 방법에 노출시키는 단계; 및 상기 표지된 미니바디가 종양 부위에 국부화되는 경우에 상기 개체가 PSMA 발현과 연관된 암을 앓고 있는지를 결정하는 단계를 포함한다.
- [0292] 몇몇 실시형태에서, 개체에서 PSMA 발현과 연관된 암을 치료하기 위한 방법이 제공된다. 몇몇 실시형태는 상기 개체에 치료학적 유효량의 약학 조성물을 투여하는 단계를 포함하며, 이때 상기 조성물은 항-PSMA 미니바디를 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 상기 항-PSMA 미니바디는 치료제에 접합된다.
- [0293] 몇몇 실시형태에서, 상기 항-PSMA 접합체는 치료제에 접합된 PSMA 항원 결합 구조체(예를 들어, 미니바디 또는 scFv)를 포함할 수 있다. 본원에서 사용된 바와 같은 "치료제"는 PSMA와 연관된 암 또는 기타 병태의 치료에 유용한 원자, 분자 또는 화합물이다. 치료제의 예로는 약물, 화학 치료제, 치료용 항원 결합 구조체, 독소, 방사성 동위원소, 효소(예를 들어, 종양의 부위에서 프로드러그를 세포 독성제로 절단하기 위한 효소), 뉴클레아제, 호르몬, 면역 조절제, 안티센스 올리고뉴클레오타이드, 키레이터, 붕소 화합물, 광활성제 및 염료를 들 수 있지만, 이에 제한되지 않는다.
- [0294] 화학 치료제들은 종종 자연에서 세포 독성 또는 세포 증식 억제성을 나타내며, 알킬화제, 대사 길항 물질, 항-종양 항생제, 토포이소머라아제 억제제, 유사분열 억제제, 호르몬 요법제, 표적화 치료제 및 면역 치료제를 포함할 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 본 발명의 실시형태에 따라 진단제로서 사용될 수 있는 화학 치료제들은 13-시스-레티노산, 2-클로로데옥시 아데노신, 5-아자시티딘, 5-플루오로우라실, 6-메르캅토프린, 6-티오구아닌, 악티노마이신-D, 아드리아마이신, 알테스류킨, 알렘투주맙, 알리트레티노인, 전트랜스형 레티노산, 알파 인터페론, 알트레타민, 아메토프테린, 아미포스틴, 아나그렐리드, 아나스트로졸, 아라비노실시토신, 3산화 비소, 암사크린, 아미노캄프토세신, 아미노글루테티미드, 아스파라기나아제, 아자시티딘, 바실러스 칼메테 구에린(BCG), 벤다무스틴, 베바시주맙, 벡사로텐, 비칼루타미드, 보르테조미, 블레오마이신, 부설판, 류코보린 칼슘, 시트로보롬 인자, 카페시타빈, 카네티닙, 카르보플라틴, 카르무스틴, 세톡시맙, 클로람부실, 시스플라틴, 클라드리빈, 코르티손, 사이클로포스파미드, 시타라빈, 다르베포에틴알파, 다사티닙, 다우노마이신, 데시타빈, 테니류킨 디프티톡스, 텍사메타손, 텍사손, 텍스라죽산, 닥티노마이신, 다우노루비신, 다카르바진, 도세탁셀, 독소루비신, 독시플루리딘, 에닐우라실, 에피루비신, 에포에틴알파, 엘로티닙, 에베롤리무스, 엑스메스탄, 에스트라무스틴, 에토포시드, 필그라스티م, 플루옥시메스테론, 플베스트란트, 플라보피리돌, 플록슈리딘, 플루다라빈, 플루오로우라실, 플루타미드, 제피티닙, 켄시타빈, 켄투주맙 오조가마이신, 고세렐린, 과립구-콜로니 자극 인자, 과립구 마크로파지-콜로니 자극 인자, 헥사메틸멜라민, 하이드로코르티손 하이드록시우레아, 이브리투모맙, 인터페론 알파, 인터류킨-2, 인터류킨-11, 이소트레티노인, 익사베필론, 이다루비신, 이마티닙 메실레이트, 이포스파미드, 이리노테칸, 라파티닙, 레날리도미드, 레트로졸, 류코보린, 류프로라이드, 리포솜성 Ara-C, 로무스틴, 메클로르에타민, 메게스트롤, 멜팔란, 메르캅토프린, 메스나, 메토티렉세이트, 메틸프레드니솔론, 마이토마이신 C, 마이토테인, 미톡산트론, 넬라라빈, 닐루타미드, 옥트레오타이드, 오프레베킨, 옥살리플라틴, 파클리탁셀, 파미드론산염, 페메트렉세드, 파니투주맙, PEG 인터페론, 페가스파르가제, 페그필그라스티م, PEG-L-아스파라기나아제, 펜토스타틴, 플리카마이신, 프레드니솔론, 프레드니손, 프로카바진, 랄록시켄, 리톡시맙, 로미플로스티움, 탈리트렉세드, 사파시타빈, 사그라모스티م, 사트라플라틴, 소라페닙, 수니티닙, 세무스틴, 스트렙토조신, 타목시펜, 테가푸르, 테가푸르-우라실, 템시롤리무스, 테모졸라미드, 테니포사이드, 탈리도마이드, 티오구아닌, 티오테파, 토포테칸, 토레미펜, 토시투모맙, 트라스트주맙, 트레티노인, 트리미트렉세이트, 알루비신, 빈크리스틴, 빈블라스틴, 빈데스틴, 비노렐빈, 보리노스타트 또는 졸레드론산을 들 수 있지만, 이에 제한되지 않는다.

- [0295] 본 발명의 실시형태에 따라 진단제로서 사용될 수 있는 치료용 항체 및 이들의 작용성 단편들로는 알렘투주맵, 베바시주맵, 세톡시맵, 에드레콜로맵(edrecolomab), 켄투주맵, 이브리투모맵 튜세탄(ibritumomab tiuxetan), 파니투무맵, 리톡시맵, 토시투모맵 및 트라스투주맵을 들 수 있지만, 이에 제한되지 않는다.
- [0296] 상기 PSMA 항원 결합 구조체 또는 항-PSMA 접합체는 PSMA를 과발현하는 암세포와 같은 PSMA-양성 세포를 표적화 하기 위해 사용될 수 있다. 따라서 PSMA 발현과 연관된 암 또는 기타 병태를 진단, 검출, 시각화, 모니터링 또는 치료하기 위한 방법들이 PSMA 발현과 연관된 암 또는 기타 병태를 앓고 있거나 앓고 있는 것으로 의심되는 개체에 상기 PSMA 항원 결합 구조체 또는 항-PSMA 접합체를 투여하는 단계를 포함할 수 있다.
- [0297] 몇몇 실시형태에서, PSMA의 과발현과 연관된 암 또는 기타 병태를 치료하기 위한 방법들이 제공된다. 이 같은 방법은 본원에 개시된 바와 같은 PSMA 항원 결합 구조체를 포함하는 치료학적 유효량의 약학 조성물을 개체에 투여하는 단계를 포함한다. 일 실시형태에서, 상기 PSMA 항원 결합 구조체는 본원에 개시된 이러한 J591 미니바 디와 같은 J591 항체로부터 유래한 미니바디이다.
- [0298] 몇몇 실시형태에서, 상기 약학 조성물은 치료용 항-PSMA 접합체를 포함할 수 있으며, 여기서 상기 접합체는 본 원에 개시된 바와 같은 하나 이상의 치료제에 접합된 PSMA 항원 결합 구조체를 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 상기 PSMA 항원 결합 구조체는 본원에 개시된 이들 J591 미니바디와 같은 J591 항체로부터 유래한다. 예를 들어, 본원에 개시된 J591 미니바디는 방사성 면역요법 접근법에 사용될 수 있으며, 여기서 상기 J591 미니바디 들 중 하나 이상은 이트륨-90과 같은 적절한 베타 방출 방사성 표지로 방사성 표지된다. 상기 방사성 표지된 J591 미니바디 또는 미니바디들은 PSMA를 발현하는 국부 암조직에 대해 세포 손상 및 사멸을 야기하기 위해 사 용될 수 있다. 게다가 상기 방사성 표지된 J591 미니바디의 사용은 방사성 표지된 전장 부모 huJ591 항체와 비 교할 때 향상된 종양 침투를 나타낼 가능성이 있을 수 있다.
- [0299] 상기 치료용 항-PSMA 접합체는 진단용 항-PSMA 접합체(본원에 개시되어 있음), 접합되지 않은 진단제, 조영 용 액, 담체 지질 또는 나노입자와 같이 본원에 개시된 하나 이상의 부가적인 물질에 접합되거나 상기 부가적인 물 질과 연관될 수 있다.
- [0300] 전립선암에서의 PSMA 발현은 종양 공격성과 함께 증가하고, 고등급 종양(high-grade tumor), 전이성 병변 및 안 드로겐 비의존 질병에서 가장 높다(문헌[Olson, W. C. 등, 2007]). 따라서 PSMA는 이미징제에 의한 표적화를 위 한 양호한 후보인 암 생물 마커이다. PSMA 발현은 또한 육종 및 흑색종뿐만 아니라 폐 암종, 결장 암종, 유방 암종, 신장 암종, 간 암종 및 췌장 암종을 포함한 많은 비전립선 고체 종양의 신생혈관에서 상향 조절된다(문헌 [Olson, W. C. 등, 2007]).
- [0301] 상기 개체에서 PSMA 발현과 연관된 암은 폐암, 대장암, 유방암, 신장암, 간암, 방광암, 췌장암 또는 흑색종일 수 있다. 따라서 몇몇 실시형태에서 "PSMA 의존 질환"은 폐암, 대장암, 유방암, 신장암, 간암, 방광암, 췌장암 또는 흑색종을 포함할 수 있다.
- [0302] 더욱이, "PSMA 의존 질환"은 또한 PSMA 발현과 연관된 이들 암을 포함할 수 있으며, 이때 상기 암은 PSMA를 과 발현하는 암 종양 조직을 갖는 암(예를 들어, 전립선암) 또는 PSMA를 과발현하는 고체 종양 신생혈관을 갖는 암 (예를 들어, 육종 및 흑색종뿐만 아니라 전립선암, 폐암, 결장암(또는 대장암), 유방암, 신장암, 간암, 방광암 및 췌장암)을 포함한다. 대부분의 고체 종양 신생혈관은 PSMA를 발현하며, 이때 상기 PSMA는 신생혈관 생물 마 커가 된다. 따라서 PSMA를 발현하는 암세포 이외에도, PSMA 발현과 연관된 암은 신생혈관을 갖는 임의의 암 조 직을 포함할 수 있으며, 이때 상기 암으로는 육종 및 흑색종뿐만 아니라 전립선암, 폐암, 결장암(또는 대장암), 유방암, 신장암, 간암, 방광암 및 췌장암과 같은 암종을 들 수 있지만, 이에 제한되지 않는다.
- [0303] 몇몇 실시형태에서, PSMA에 결합하는 미니바디가 제공된다. 상기 미니바디는 PSMA에 결합하는 단일 사슬 가변 단편(scFv)을 포함하는 폴리펩티드를 포함하며, 이때 상기 scFv는 가변 경쇄(V_L) 도메인에 연결된 가변 중쇄(V_H) 도메인; 및 상기 힌지의 각 가닥 상에 적어도 3개의 시스테인을 포함하는 변이체 힌지 영역을 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 상기 미니바디는 인간 IgG C_H3 서열을 더 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 상기 미니바디는 방사성 물질, 염료, 조영제, 형광 화합물, 생물 발광 화합물, 효소, 증강제 및 나노입자로 이루어진 군으로부터 선택된 검출 가능한 마커를 더 포함한다.
- [0304] 몇몇 실시형태에서, 본원에서 제공된 미니바디는 서열번호 81로 표시된 HCDR1과 동일한 HCDR1; 서열번호 82로 표시된 HCDR2와 동일한 HCDR2; 서열번호 83으로 표시된 HCDR3과 동일한 HCDR3; 서열번호 84로 표시된 LCDR1과 동일한 LCDR1; 서열번호 85로 표시된 LCDR2와 동일한 LCDR2; 및 서열번호 86으로 표시된 LCDR3과 동일한 LCDR3

을 포함한다. 본원에서 제공된 미니바디의 몇몇 실시형태에서, 상기 가변 중쇄(V_H) 도메인 및 가변 경쇄(V_L) 도메인은 인간 서열이다.

[0305] 몇몇 실시형태에서, 본원에 개시된 임의의 상기 실시형태의 항체를 암호화하는 핵산이 제공된다. 몇몇 실시형태에서, 본원에 개시된 임의의 상기 실시형태의 미니바디를 생산하는 세포주가 제공된다. 몇몇 실시형태에서, 본원에 개시된 임의의 상기 실시형태의 미니바디 및 검출 가능한 마커를 포함하는 키트가 제공된다.

[0306] 몇몇 실시형태에서, PSMA의 존재 유무를 검출하는 방법이 제공된다. 상기 방법은 본원에서 제공된 임의의 상기 실시형태의 미니바디를 시료에 적용하는 단계; 및 PSMA에 대한 상기 항원 결합 구조체의 결합 또는 이의 결합의 부재를 검출하는 단계를 포함한다. 상기 방법의 몇몇 실시형태에서, 상기 미니바디는 방사성 물질, 염료, 조영제, 형광 화합물, 생물 발광 화합물, 효소, 증강제 및 나노입자로 이루어진 군으로부터 선택된 검출 가능한 마커를 포함한다. 상기 방법의 몇몇 실시형태에서, 상기 미니바디를 적용하는 단계는 상기 미니바디를 개체에 투여하는 단계를 포함한다. 상기 방법의 몇몇 실시형태에서, 상기 표적 항원에 대한 상기 미니바디의 결합 또는 이의 결합의 부재를 검출하는 단계는 양전자 방출 단층촬영을 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 상기 방법은 이차 항체 또는 이의 단편을 상기 시료에 적용하는 단계를 더 포함하며, 이때 상기 이차 항체 또는 이의 단편은 상기 미니바디에 특이적으로 결합한다. 상기 방법의 몇몇 실시형태에서, 이의 미니바디는 1시간 미만 동안 상기 시료와 함께 배양된다.

[0307] 몇몇 실시형태에서, PSMA에 대해 치료제를 표적화하는 방법이 제공된다. 상기 방법은 본원에서 제공된 임의의 상기 실시형태의 미니바디를 개체에 투여하는 단계를 포함하며, 이때 상기 미니바디는 치료제에 접합된다.

[0308] 몇몇 실시형태에서, 이를 필요로 하는 개체에서 PSMA를 표적화하는 방법이 제공된다. 상기 방법은 본원에서 제공된 임의의 하나의 실시형태의 미니바디를 상기 개체에 투여하는 단계를 포함한다. 상기 방법의 몇몇 실시형태에서, 상기 개체는 전립선, 뇌, 소장, 간, 근위 신장 세뇨관 및 침샘의 종양 또는 암 또는 질환 중 적어도 하나를 앓고 있다. 몇몇 실시형태에서, 진행된 고체 종양의 종양 신생혈관에서 PSMA를 표적화하는 방법이 제공된다.

[0309] 몇몇 실시형태에서, PSMA에 결합하는 항체가 제공된다. 상기 항체는 힌지 영역을 포함하며, 이때 상기 힌지 영역은 하기 서열들 중 적어도 하나를 포함한다: a) 서열번호 1의 펩티드 서열($X_{n1}CX_{n2}X_{n3}CX_{n4}X_{n5}C$)로서, X_{n1} 은 공유성 가교결합을 형성하지 않는 임의의 아미노산일 수 있고, X_{n2} 는 A, R, N, D, E, Q, G, H, I, L, K, M, F, P, S, T, W, Y 및 V 중 하나이고, X_{n3} 은 임의의 아미노산일 수 있고, X_{n4} 는 임의의 아미노산일 수 있고, X_{n5} 는 임의의 아미노산일 수 있는 펩티드 서열; b) 서열번호 2의 펩티드 서열($X_{n1}X_{n2}X_{n3}X_{n4}X_{n5}X_{n6}CX_{n7}X_{n8}CX_{n9}X_{n10}C$)로서, X_{n1} 은 다른 동일한 아미노산과 공유성 가교결합을 형성하지 않는 임의의 아미노산일 수 있고, X_{n2} 는 임의의 아미노산일 수 있고, X_{n3} 은 임의의 아미노산일 수 있고, X_{n4} 는 임의의 아미노산일 수 있고, X_{n5} 는 임의의 아미노산일 수 있고, X_{n6} 은 임의의 아미노산일 수 있고, X_{n7} 은 임의의 아미노산일 수 있고, X_{n8} 은 임의의 아미노산일 수 있고, X_{n9} 는 임의의 아미노산일 수 있고, X_{n10} 은 임의의 아미노산일 수 있는 펩티드 서열(서열번호 208); c) ELKTPGLGDTTHT(서열번호 48)의 상부 힌지 서열에 연결된 CVECPPCP(서열번호 57), CPPCPPC(서열번호 52) 및 CPPCPPCPPC(서열번호 54) 중 적어도 하나의 코어 힌지 서열; 또는 d) 상응하는 아미노산과 가교 결합할 수 있는 아미노산을 포함하지 않는 상부 힌지 영역 및 상기 상부 힌지 영역의 C-말단에 연결된 코어 힌지 영역(여기서, 상기 코어 힌지 영역은 적어도 3개의 시스테인을 포함함). 몇몇 실시형태에서, 상기 항체는 전장 항체이다. 몇몇 실시형태에서, 상기 항체는 미니바디이다. 상기 힌지 영역을 제외한 항체의 몇몇 실시형태에서, 상기 항체는 인간화 아미노산 서열을 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 상기 항체는 서열번호 81로 표시된 HCDR1과 동일한 HCDR1; 서열번호 82로 표시된 HCDR2와 동일한 HCDR2; 서열번호 83으로 표시된 HCDR3과 동일한 HCDR3; 서열번호 84로 표시된 LCDR1과 동일한 LCDR1; 서열번호 85로 표시된 LCDR2와 동일한 LCDR2; 및 서열번호 86으로 표시된 LCDR3과 동일한 LCDR3을 포함한다.

[0310] 몇몇 실시형태에서, 본원에 개시된 임의의 상기 실시형태의 항체의 힌지 영역을 암호화하는 핵산이 제공된다. 상기 힌지 영역을 암호화하는 서열을 제외한 핵산의 몇몇 실시형태에서, 상기 핵산은 인간 서열을 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 상기 핵산에 의해 암호화된 항체를 발현하는 세포주가 제공된다.

[0311] 몇몇 실시형태에서, 본원에 개시된 임의의 상기 실시형태의 항체를 제조하는 방법이 제공되며, 이때 상기 방법은 세포주에서 상기 항체를 발현하는 단계를 포함한다.

[0312] 몇몇 실시형태에서, 이를 필요로 하는 개체에서 병태를 치료하는 방법이 제공되며, 이때 상기 방법은 본원에서

제공된 임의의 상기 실시형태의 항체를 상기 개체에 투여하는 단계를 포함한다.

[0313]

CD8-IAB22M

[0314]

CD8(분화 클러스터 8)은 세포 독성 T 세포를 포함한 T 세포의 하위부류에 대한 특정 마커인 막 관통 당단백질이 다. CD8의 발현은 또한 T 세포 림프종의 하위세트 상에 존재할 뿐만 아니라 몇몇 천연 살해 세포 및 수지상 세포 상에 존재한다. CD8은 CD8 알파 및 CD8 베타 하위단위의 이중 이량체 또는 CD8 알파 동중 이량체로서 조립된다. 상기 조립된 이량체성 CD8 복합체는 MHC I형 세포에 의한 항원 제시를 인식하기 위해 T 세포 수용체(TCR)와 함께 공수용체로서 작용한다. CD8은 T 세포의 발달 및 성숙한 T 세포의 활성화에 역할을 한다. T 세포 국부화에서의 변화는 면역 반응의 진행을 반영할 수 있으며, 시간의 경과와 함께 발생할 수 있다. CD8 하위단위의 예는 서열번호 134 및 서열번호 135로 나타나 있다.

[0315]

표적 분자인 CD8에 결합하는 미니바디와 같은 항체 및 이의 단편들을 포함한 항원 결합 구조체들이 본원에 개시되어 있다. 몇몇 실시형태에서, CD8 항원과 결합하는 항원 결합 구조체들은 항체, 미니바디, 및/또는 scFv와 같은 항체의 기타 단편들일 수 있다. CD8에 대한 항원 결합 구조체의 몇몇 실시형태는 도 14e, 도 15d, 도 16b 내지 도 16d, 도 20c 내지 도 20g, 도 22b, 도 36b, 도 40(서열번호 105 및 서열번호 106), 도 41(서열번호 106), 도 42(서열번호 107), 도 43(서열번호 108), 도 44(서열번호 109), 도 45(서열번호 110), 도 46(서열번호 111), 도 66에 도시되어 있다.

[0316]

본원에서 제공된 몇몇 실시형태는 CD8에 대해 치료제를 표적화하는 방법에 관한 것이다. 상기 방법은 본원에 개시된 바와 같은 항원 결합 구조체, 예를 들어 CD8 항원 결합 구조체를 개체에 투여하는 단계를 포함할 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 상기 항원 결합 구조체는 치료제에 접합된다.

[0317]

항원 결합 구조체들은 표적 분자(CD8 및/또는 CD8+ 세포, 예를 들어, 특정 부류의 T 세포)의 존재, 국부화 및/또는 양을 검출하기에 유용할 수 있다. 이 같은 항원 결합 구조체들은 또한 상기 표적 분자를 발현하는 세포에 대해 치료제를 표적화하는데 유용할 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 항원 결합 구조체들(항체, 및 미니바디와 같은 구조체를 포함함)을 이용하여 상기 표적 분자(또는 "표적")의 존재 유무를 검출하기 위한 방법들이 제공된다. 몇몇 실시형태에서, 치료 목적으로 상기 항원 결합 구조체를 이용하기 위한 방법들이 제공된다.

[0318]

몇몇 실시형태에서, 상기 항원 결합 구조체들은 면역 시스템의 진단용 이미징을 위한 하위세트의 T 세포의 표면 상에서 발견되는 특정 생물 마커인 인간 CD8의 검출을 가능케 한다. CD8의 이미징은 T 세포 국부화의 생체 내 검출을 가능케 한다. T 세포 국부화에서의 변화는 면역 반응의 진행을 반영할 수 있고, 다양한 치료용 치료 또는 심지어 질병 상태의 결과로서 시간의 경과와 함께 발생할 수 있다.

[0319]

게다가, CD8은 바이러스 병원균을 제거하고 종양에 면역성을 제공하는 기능을 하는 세포 용해성 T 세포의 활성화를 위해 중요한 하류 신호전달 경로를 활성화하는 역할을 한다. CD8-양성 T 세포는 항원 제시 세포의 MHC I 단백질 내에 제시되는 짧은 펩티드를 인식할 수 있다. 몇몇 실시형태에서, CD8에 지향하는 조작된 단편들은 T 세포 수용체를 통한 신호전달을 강화시킬 수 있고, 바이러스 병원균을 제거하고 종양 항원에 반응하는 개체의 능력을 증강시킬 수 있다. 따라서 몇몇 실시형태에서 본원에서 제공된 항원 결합 구조체들은 작용제(agonist)일 수 있고, CD8 표적을 활성화시킬 수 있다.

[0320]

몇몇 실시형태에서, 상기 표적인 CD8의 존재 유무가 검출된다. 상기 표적의 존재 유무는 상기 시료 중의 항원 결합 구조체의 존재 유무에 기초하여 검출될 수 있다. 예를 들어, 세척 및/또는 대사적 소거에 의한 상기 시료로부터 항원 결합 구조체의 제거 및/또는 소거 이후, 상기 시료 중의 잔류 항원 결합 구조체는 상기 표적의 존재를 나타낼 수 있고, 상기 시료 중의 항원 결합 구조체의 부재는 상기 표적의 부재를 나타낼 수 있다.

[0321]

몇몇 실시형태는 면역 시스템의 진단용 이미징을 위한 하위세트의 T 세포의 표면 상에서 발견되는 특정 생물 마커인 인간 CD8의 검출을 포함한다. 상기 표적 분자의 이미징은 T 세포 국부화의 생체 내 검출을 가능케 할 수 있다. T 세포 국부화에서의 변화는 면역 반응의 진행을 반영할 수 있고, 다양한 치료용 치료 또는 심지어 질병 상태의 결과로서 시간의 경과와 함께 발생할 수 있다. 예를 들어, T 세포 국부화를 이미징하는 것이 면역요법에 유용할 수 있다. 입양 면역요법(adoptive immunotherapy)은 환자 자신의 T 세포가 시험관 내에서 조작되고 환자에게 다시 도입되는 요법의 형태이다. 이러한 치료 형태에 있어서, T 세포의 이미징은 상기 치료의 상태를 모니터링 및/또는 결정하는데 유용할 수 있다. 따라서 몇몇 실시형태에서 상기 표적 분자의 국부화를 모니터링하는 것이 약물의 개발에서의 작용기작, 효능 및/또는 안전성을 분석하는데 유용할 수 있고/있거나 질병의 임상적 관리에 도움이 될 수 있다.

[0322]

본원에서 제공된 몇몇 실시형태는 CD8에 대해 치료제를 표적화하는 방법에 관한 것이다. 상기 방법은 본원에 개

시킨 항원 결합 구조체, 예를 들어 CD8 항원 결합 구조체를 개체에 투여하는 단계를 포함할 수 있다. 몇몇 실시 형태에서, 상기 항원 결합 구조체는 치료제에 접합된다.

[0323] 본 발명의 실시형태에 따라 검출 가능한 마커로서 사용될 수 있는 독소로는 리신, 아브린, 리보뉴클레아제(RNase), DNase I, 포도상구균 장독소-A, 미국자리공 항바이러스성 단백질, 겔로닌, 디프테리아 독소, 슈도모나스 외독소 및 슈도모나스 내독소를 들 수 있지만, 이에 제한되지 않는다.

[0324] 몇몇 실시형태에서, 나노입자는 약물 담체로서 치료적 적용에 사용되며, 이때 상기 약물 담체는 항원 결합 구조체에 접합되는 경우에 당해 기술분야에 공지된 화학 치료제, 호르몬 치료제, 방사선 치료제, 독소 또는 임의의 기타 세포 독성제 또는 항암제를 세포 표면 상에 상기 표적을 과발현하는 암세포에 전달한다.

[0325] 항원 결합 구조체들은 CD8을 발현하는 세포와 같은 표적-양성 세포에 대해 치료용 분자, 예를 들어 세포 독소를 표적화하기 위해 사용될 수 있다. 따라서 몇몇 실시형태는 표적-양성 세포에 대해 치료제를 표적화하는 방법들을 포함한다. 상기 방법은 본원에 개시된 바와 같은 항원 결합 구조체를 개체에 투여하는 단계를 포함할 수 있다. 상기 개체는 이를 필요로 하는 개체, 예를 들어 적어도 몇몇 표적-양성 세포의 소거 또는 중화를 필요로 하는 개체일 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 상기 항원 결합 구조체는 본원에 개시된 바와 같은 적어도 하나 치료제를 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 상기 치료제는 이항화 결합과 같은 공유결합을 통해 상기 항원 결합 구조체에 직접 접합될 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 상기 개체는 다른 세포 또는 약제에 대한 CD8-양성 세포의 국부화로부터 이익을 얻을 수 있다.

[0326] 임의적으로는, 적어도 하나 치료제를 포함하는 상기 항원 결합 구조체의 투여 이전 및/또는 이후, 환자의 표적-양성 세포의 개수 및/또는 국부화가 결정된다. 예를 들어, 투여 이전에 표적-양성 세포의 개수 및/또는 국부화를 결정하는 것은 상기 환자가 상기 표적-양성 세포의 중화 및/또는 소거로부터 이익을 얻을 가능성이 있다는 것을 의미할 수 있다. 투여 이후에 상기 표적-양성 세포의 개수 및/또는 국부화를 결정하는 것은 상기 표적-양성 세포가 환자에서 소거되었다는 것을 의미할 수 있다.

[0327] "CD8 의존 질환"이란 용어는 면역학적 구성성분(암 면역요법에 대한 반응을 포함함)이 존재하는 암, 자가면역 질환, 염증 질환 등을 포함한다.

[0328] 몇몇 실시형태에서, CD8에 결합하는 미니바디가 제공된다. 상기 미니바디는 CD8에 결합하는 단일 사슬 가변 단편(scFv)을 포함하는 폴리펩티드를 포함하며, 이때 상기 scFv는 가변 경쇄(V_L) 도메인에 연결된 가변 중쇄(V_H) 도메인; 및 상기 힌지의 각 가닥 상에 적어도 3개의 시스테인을 포함하는 변이체 힌지 영역을 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 상기 미니바디는 인간 IgG C_H3 서열을 더 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 상기 미니바디는 방사성 물질, 염료, 조영제, 형광 화합물, 생물 발광 화합물, 효소, 증강제 및 나노입자로 이루어진 군으로부터 선택된 검출 가능한 마커를 더 포함한다.

[0329] 몇몇 실시형태에서, 본원에서 제공된 미니바디는 서열번호 75로 표시된 HCDR1과 동일한 HCDR1; 서열번호 76으로 표시된 HCDR2와 동일한 HCDR2; 서열번호 77로 표시된 HCDR3과 동일한 HCDR3; 서열번호 78로 표시된 LCDR1과 동일한 LCDR1; 서열번호 79로 표시된 LCDR2와 동일한 LCDR2; 및 서열번호 80으로 표시된 LCDR3과 동일한 LCDR3을 포함한다. 본원에서 제공된 미니바디의 몇몇 실시형태에서, 상기 가변 중쇄(V_H) 도메인 및 가변 경쇄(V_L) 도메인은 인간 서열이다.

[0330] 몇몇 실시형태에서, 본원에 개시된 임의의 상기 실시형태의 항체를 암호화하는 핵산이 제공된다. 몇몇 실시형태에서, 본원에 개시된 임의의 상기 실시형태의 미니바디를 생성하는 세포주가 제공된다. 몇몇 실시형태에서, 본원에 개시된 임의의 상기 실시형태의 미니바디 및 검출 가능한 마커를 포함하는 키트가 제공된다.

[0331] 몇몇 실시형태에서, CD8의 존재 유무를 검출하는 방법이 제공된다. 상기 방법은 본원에서 제공된 임의의 상기 실시형태의 미니바디를 시료에 적용하는 단계; 및 CD8에 대한 상기 항원 결합 구조체의 결합 또는 이의 결합의 부재를 검출하는 단계를 포함한다. 상기 방법의 몇몇 실시형태에서, 상기 미니바디는 방사성 물질, 염료, 조영제, 형광 화합물, 생물 발광 화합물, 효소, 증강제 및 나노입자로 이루어진 군으로부터 선택된 검출 가능한 마커를 포함한다. 상기 방법의 몇몇 실시형태에서, 상기 미니바디를 적용하는 단계는 상기 미니바디를 개체에 투여하는 단계를 포함한다. 상기 방법의 몇몇 실시형태에서, 상기 CD8에 대한 상기 미니바디의 결합 또는 이의 결합의 부재를 검출하는 단계는 양전자 방출 단층촬영을 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 상기 방법은 이차 항체 또는 이의 단편을 상기 시료에 적용하는 단계를 더 포함하며, 이때 상기 이차 항체 또는 이의 단편은 상기 미니바디에 특이적으로 결합한다. 상기 방법의 몇몇 실시형태에서, 이의 미니바디는 1시간 미만 동안 상기 시료와 함

게 배양된다.

[0332] 몇몇 실시형태에서, CD8에 대해 치료제를 표적화하는 방법이 제공된다. 상기 방법은 본원에서 제공된 임의의 상기 실시형태의 미니바디를 개체에 투여하는 단계를 포함하며, 이때 상기 미니바디는 치료제에 접합된다.

[0333] 몇몇 실시형태에서, 이를 필요로 하는 개체에서 CD8을 발현하는 T 림프구 세포를 표적화하는 방법이 제공된다. 상기 방법은 본원에서 제공된 임의의 하나의 실시형태의 미니바디를 상기 개체에 투여하는 단계를 포함한다. 몇몇 실시형태에서, CD8을 발현하는 T 림프구 세포를 중화시키는 방법이 제공된다. 몇몇 실시형태에서, 상기 개체는 무반응 CD8 T 세포(anergic CD8 T cell), 기능이상 CD8 T 세포, 자가 반응성 CD8 T 세포, 과반응성 CD8 T 세포, 억제성 CD8 T 세포, 불국소화(mislocalization)된 CD8 T 세포 및 CD8 T 세포 림프종 중 적어도 하나를 갖는다. 몇몇 실시형태에서, 상기 개체는 류머티스성 관절염, 다발성 경화증, 당뇨병, 전신성 홍반성 낭창, 자가면역, 염증성 병태, 신호전달 결함 및 공-자극 결함 중 적어도 하나와 연관된 CD8 T 세포를 갖는다.

[0334] 몇몇 실시형태에서, CD8에 결합하는 항체가 제공된다. 상기 항체는 힌지 영역을 포함하며, 이때 상기 힌지 영역은 하기 서열들 중 적어도 하나를 포함한다: a) 서열번호 1의 펩티드 서열($X_{n1}CX_{n2}X_{n3}CX_{n4}X_{n5}C$)로서, X_{n1} 은 공유성 가교결합을 형성하지 않는 임의의 아미노산일 수 있고, X_{n2} 는 A, R, N, D, E, Q, G, H, I, L, K, M, F, P, S, T, W, Y 및 V 중 하나이고, X_{n3} 은 임의의 아미노산일 수 있고, X_{n4} 는 임의의 아미노산일 수 있고, X_{n5} 는 임의의 아미노산일 수 있는 펩티드 서열; b) 서열번호 2의 펩티드 서열($X_{n1}X_{n2}X_{n3}X_{n4}X_{n5}X_{n6}CX_{n7}X_{n8}CX_{n9}X_{n10}C$)로서, X_{n1} 은 다른 동일한 아미노산과 공유성 가교결합을 형성하지 않는 임의의 아미노산일 수 있고, X_{n2} 는 임의의 아미노산일 수 있고, X_{n3} 은 임의의 아미노산일 수 있고, X_{n4} 는 임의의 아미노산일 수 있고, X_{n5} 는 임의의 아미노산일 수 있고, X_{n6} 은 임의의 아미노산일 수 있고, X_{n7} 은 임의의 아미노산일 수 있고, X_{n8} 은 임의의 아미노산일 수 있고, X_{n9} 는 임의의 아미노산일 수 있고, X_{n10} 은 임의의 아미노산일 수 있는 펩티드 서열(서열번호 208); c) ELKTPGLGDTTHT(서열번호 48)의 상부 힌지 서열에 연결된 CVECPPCP(서열번호 57), CPPCPPC(서열번호 52) 및 CPPCPPPPC(서열번호 54) 중 적어도 하나 코어 힌지 서열; 또는 d) 상응하는 아미노산과 가교 결합할 수 있는 아미노산을 포함하지 않는 상부 힌지 영역, 및 상기 상부 힌지 영역의 C-말단에 연결된 코어 힌지 영역(여기서, 상기 코어 힌지 영역은 적어도 3개의 시스테인을 포함함). 몇몇 실시형태에서, 상기 항체는 전장 항체이다. 몇몇 실시형태에서, 상기 항체는 미니바디이다. 상기 힌지 영역을 제외한 항체의 몇몇 실시형태에서, 상기 항체는 인간화 아미노산 서열을 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 상기 항체는 서열번호 75로 표시된 HCDR1과 동일한 HCDR1; 서열번호 76으로 표시된 HCDR2와 동일한 HCDR2; 서열번호 77로 표시된 HCDR3과 동일한 HCDR3; 서열번호 78로 표시된 LCDR1과 동일한 LCDR1; 서열번호 79로 표시된 LCDR2와 동일한 LCDR2; 및 서열번호 80으로 표시된 LCDR3과 동일한 LCDR3을 포함한다.

[0335] 몇몇 실시형태에서, 본원에 개시된 임의의 상기 실시형태의 항체의 힌지 영역을 암호화하는 핵산이 제공된다. 상기 힌지 영역을 암호화하는 서열을 제외한 핵산의 몇몇 실시형태에서, 상기 핵산은 인간 서열을 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 상기 핵산에 의해 암호화된 항체를 발현하는 세포주가 제공된다.

[0336] 몇몇 실시형태에서, 본원에 개시된 임의의 상기 실시형태의 항체를 제조하는 방법이 제공되며, 이때 상기 방법은 세포주에서 상기 항체를 발현하는 단계를 포함한다.

[0337] 몇몇 실시형태에서, 이를 필요로 하는 개체에서 병태를 치료하는 방법이 제공되며, 이때 상기 방법은 본원에서 제공된 임의의 상기 실시형태의 항체를 상기 개체에 투여하는 단계를 포함한다.

[0338] **5T4-IAB20M**

[0339] 5T4는 종양 태아성 당단백질로서, 임신된 성인 조직에서 약한 발현을 나타내지만, 대장암, 신장암, 유방암, 난소암, 위암, 폐암 및 전립선암을 포함한 다양한 유형의 암종에서 강한 발현을 나타낸다. 5T4 발현은 원발성 암 및 전이성 암 둘 모두에서 발견되며, 발현 수준은 질병의 진행과 연관성이 있으며, 그 결과 5T4를 매우 유망한 생물 마커로 만든다. 5T4 단백질의 일례가 서열번호 133로 나타나 있다.

[0340] 5T4-특이적 이미징제는 물질대사에서의 변화의 검출에 기초하는 FDG와 같은 기타 이미징제에 대해 특이성에서의 유의한 이점을 제공할 수 있다. 더욱이, 5T4를 특이적으로 표적화하는 이미징제들은 5T4를 표적화하는 요법의 개발 동안에 중요한 도구일 수 있다. 예를 들어, 상기 이미징제는 5T4를 표적화하는 요법의 처리 이후에 환자를 모니터링하기 위해 사용될 수 있다. 전립선암의 경우, 프로스타신트로 불리는 FDA-승인 SPECT 이미징제가 시판되고 있지만, 온전한 항체가 쥐 유래이고(반복 투여에 의해 면역원성 문제) 에피토프가 생물 마커 PSMA의 내부

에피토프(정확도를 제한함)이기 때문에 상당한 한계를 갖는다. 본 발명의 5T4 항원 결합 구조체들은 이들이 5T4의 세포 외 에피토프와 결합할 수 있고, 이미징을 위한 최적의 약동학을 나타내며, 인간화된다는 점에서 프로스타신트에 대해 유의한 이점을 가질 수 있다.

- [0341] 상기 5T4 단백질은 영양막 당단백질(trophoblast glycoprotein) 또는 TPBG로도 공지된다. 5T4 단백질의 예가 당해 기술분야에 공지되어 있고, 예를 들어 서열번호 133의 5T4 단백질을 포함한다.
- [0342] 치료용 항체 및 항체 융합 단백질들은 쥐 항체 "H8"을 포함한 인간 5T4 표적에 대하여 개발되고 있다. 또한 트로박스(Trovax)로 명명된 암 백신은 옥스포드 바이오메디카(Oxford BioMedica)사에 의해 5T4 항원에 대하여 현재 개발되고 있다.
- [0343] 5T4-특이적 이미징제는 물질대사에서의 변화의 검출에 기초하는 FDG와 같은 기타 이미징제에 대해 특이성에서의 유의한 이점을 제공할 수 있다. 더욱이, 5T4를 특이적으로 표적화하는 이미징제들은 5T4를 표적화하는 요법의 개발 동안에 중요한 도구일 수 있다. 예를 들어, 상기 이미징제는 5T4를 표적화하는 요법의 처리 이후에 환자를 모니터링하기 위해 사용될 수 있다. 전립선암의 경우, 프로스타신트로 불리는 FDA-승인 SPECT 이미징제가 시판되고 있지만, 온전한 항체가 쥐 유래이고(반복 투여에 의해 면역원성 문제) 에피토프가 생물 마커 PSMA의 내부 에피토프(정확도를 제한함)이기 때문에 상당한 한계를 갖는다. 본 발명의 항원 결합 구조체들은 이들이 5T4의 세포 외 에피토프와 결합할 수 있고, 이미징을 위한 최적의 약동학을 나타내며, 인간화된다는 점에서 프로스타신트에 대해 유의한 이점을 가질 수 있다.
- [0344] 몇몇 실시형태에서, 5T4 항원과 결합하는 항원 결합 구조체들은 항체, 미니바디, 및/또는 scFv와 같은 항체의 기타 단편들일 수 있다. 5T4에 대한 항원 결합 구조체의 몇몇 비제한적인 실시형태는 도 28b 내지 도 28e, 도 32, 도 36c, 도 54(서열번호 119 및 서열번호 120), 도 55(서열번호 120), 도 56(서열번호 121), 도 57(서열번호 122), 도 58(서열번호 123), 도 59(서열번호 124), 도 67, 도 68에 도시되어 있다.
- [0345] 몇몇 실시형태에서, 상기 항원 결합 구조체는 대장암, 신장암, 유방암, 난소암, 위암, 폐암 및/또는 전립선암을 포함하지만 이에 제한되지 않는 유형의 암을 치료하는 위해 치료제에 결합될 수 있다.
- [0346] 몇몇 실시형태에서, 상기 5T4 항원 결합 구조체는 독립형 구조체(예를 들어, 이에 접합된 독소가 없음)로서의 치료제로서 사용될 수 있다. 상기 단편들이 치료에 대해 덜 최적일 수 있는 온전한 항체에 비해 짧은 반감기를 가질지라도 이들 포맷은 이들의 보다 작은 크기에 기초하여 개선된 종양 침투를 나타낼 수 있고, 세포 독성 약물 또는 방사성 동위원소로 적절히 장착되는 경우에 치료학적으로 효과적일 수 있다.
- [0347] 5T4는 이를 항체 약물-접합체 접근법에 적합하게 만들 수 있는 신속한 내재화 항원(rapidly internalizing antigen)이다. 몇몇 실시형태에서, 다른 치료적 접근법은 국부 암조직에 대한 베타-에미터 이트륨-90과 같은 적절한 방사선 표지의 부착을 통한 방사성 면역요법이며, 상기 방사선 표지는 세포 손상 및 사멸을 야기할 수 있다.
- [0348] 몇몇 실시형태에서, 상기 항원 결합 구조체는, 예를 들어 대장암, 신장암, 유방암, 난소암, 위암, 폐암 및/또는 전립선암 세포를 포함한 5T4 항원을 발현하는 세포를 표적화하기 위해 사용된다.
- [0349] 치료 이전 및 치료 도중에 항체의 표적의 존재를 위해 환자 전신을 이미징하는 능력은 개별화된 환자 관리를 위한 소중한 정보를 제공한다. 항체 요법의 안전성 및 효능에 대한 시험 도중에 환자의 질병 진행의 일부로서 항체의 표적을 발현하는 환자에 대한 치료를 선택하고 시험할 수 있어 유용하다.
- [0350] 5T4는 대장 암종, 신장 암종, 유방 암종, 난소 암종, 위 암종, 폐 암종 및 전립선 암종을 포함한 많은 상이한 암종에 과발현된다. FDG-PET와 같은 이미징제들은 많은 이들 유형의 암을 검출하는데 매우 효과적인 것으로 입증되었지만, 현재 이미징 실습은 난소암 및 전립선암에 대해서는 충분히 정확하지는 않다. 몇몇 실시형태에서, 임의의 이들 질환은 본원에서 제공된 다양한 5T4 구조체를 이용하여 진단 및/또는 치료될 수 있다.
- [0351] 몇몇 실시형태에서, 상기 항원 결합 구조체들은 인간에서의 임상적 이미징제(PET/SPECT)일 수 있다. 5T4가 다양한 유형의 암(대장암, 신장암, 유방암, 난소암, 위암, 폐암 및 전립선암을 포함함)에서 과발현되기 때문에 이들 5T4 항원 결합 구조체는 이들 암에 대한 표적화된 진단 검출용으로 사용될 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 이는 난소암 및/또는 전립선암의 검출용으로 사용될 수 있다.
- [0352] "5T4 의존 질환"이란 용어는 5T4가 질환 그 자체에서 역할을 하는 임의의 질환을 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 이는 5T4의 과발현을 의미한다. 상기 질환의 예는, 예를 들어 대장암, 신장암, 유방암, 난소암, 위암, 폐암 및

전립선암과 같은 다양한 유형의 암을 포함한다.

- [0353] 몇몇 실시형태에서, 5T4에 결합하는 미니바디가 제공된다. 상기 미니바디는 5T4에 결합하는 단일 사슬 가변 단편(scFv)을 포함하는 폴리펩티드를 포함하며, 이때 상기 scFv는 가변 경쇄(V_L) 도메인에 연결된 가변 중쇄(V_H) 도메인; 및 상기 힌지의 각 가닥 상에 적어도 3개의 시스테인을 포함하는 변이체 힌지 영역을 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 상기 미니바디는 인간 IgG C_H3 서열을 더 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 상기 미니바디는 방사성 물질, 염료, 조영제, 형광 화합물, 생물 발광 화합물, 효소, 증강제 및 나노입자로 이루어진 군으로부터 선택된 검출 가능한 마커를 더 포함한다.
- [0354] 몇몇 실시형태에서, 본원에서 제공된 미니바디는 서열번호 87로 표시된 HCDR1과 동일한 HCDR1; 서열번호 88로 표시된 HCDR2와 동일한 HCDR2; 서열번호 89로 표시된 HCDR3과 동일한 HCDR3; 서열번호 90으로 표시된 LCDR1과 동일한 LCDR1; 서열번호 91로 표시된 LCDR2와 동일한 LCDR2; 및 서열번호 92로 표시된 LCDR3과 동일한 LCDR3을 포함한다. 본원에서 제공된 미니바디의 몇몇 실시형태에서, 상기 가변 중쇄(V_H) 도메인 및 가변 경쇄(V_L) 도메인은 인간 서열이다.
- [0355] 몇몇 실시형태에서, 본원에 개시된 임의의 상기 실시형태의 항체를 암호화하는 핵산이 제공된다. 몇몇 실시형태에서, 본원에 개시된 임의의 상기 실시형태의 미니바디를 생성하는 세포주가 제공된다. 몇몇 실시형태에서, 본원에 개시된 임의의 상기 실시형태의 미니바디 및 검출 가능한 마커를 포함하는 키트가 제공된다.
- [0356] 몇몇 실시형태에서, 5T4의 존재 유무를 검출하는 방법이 제공된다. 상기 방법은 본원에서 제공된 임의의 상기 실시형태의 미니바디를 시료에 적용하는 단계; 및 5T4에 대한 상기 항원 결합 구조체의 결합 또는 이의 결합의 부재를 검출하는 단계를 포함한다. 상기 방법의 몇몇 실시형태에서, 상기 미니바디는 방사성 물질, 염료, 조영제, 형광 화합물, 생물 발광 화합물, 효소, 증강제 및 나노입자로 이루어진 군으로부터 선택된 검출 가능한 마커를 포함한다. 상기 방법의 몇몇 실시형태에서, 상기 미니바디를 적용하는 단계는 상기 미니바디를 개체에 투여하는 단계를 포함한다. 상기 방법의 몇몇 실시형태에서, 상기 표적 항원에 대한 상기 미니바디의 결합 또는 상기 결합의 부재를 검출하는 단계는 양전자 방출 단층촬영을 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 상기 방법은 이차 항체 또는 이의 단편을 상기 시료에 적용하는 단계를 더 포함하며, 이때 상기 이차 항체 또는 이의 단편은 상기 미니바디에 특이적으로 결합한다. 상기 방법의 몇몇 실시형태에서, 이의 미니바디는 1시간 미만 동안 상기 시료와 함께 배양된다.
- [0357] 몇몇 실시형태에서, 5T4에 대해 치료제를 표적화하는 방법이 제공된다. 상기 방법은 본원에서 제공된 임의의 상기 실시형태의 미니바디를 개체에 투여하는 단계를 포함하며, 이때 상기 미니바디는 치료제에 접합된다.
- [0358] 몇몇 실시형태에서, 이를 필요로 하는 개체에서 5T4를 표적화하는 방법이 제공된다. 상기 방법은 본원에서 제공된 임의의 하나의 실시형태의 미니바디를 상기 개체에 투여하는 단계를 포함한다. 상기 방법의 몇몇 실시형태에서, 상기 개체는 대장암 또는 종양, 신장암 또는 종양, 유방암 또는 종양, 난소암 또는 종양, 위암 또는 종양, 폐암 또는 종양 및 전립선암 또는 종양 중 하나를 앓고 있다. 몇몇 실시형태에서, 상기 개체는 원발성 암 및 전이성 암 중 적어도 하나를 앓고 있다. 몇몇 실시형태에서, 상기 개체는 초기 단계의 질환을 앓고 있다. 몇몇 실시형태에서, 상기 개체는 중기 단계의 질환을 앓고 있다. 몇몇 실시형태에서, 상기 개체는 말기 단계의 질환을 앓고 있다.
- [0359] 몇몇 실시형태에서, 5T4에 결합하는 항체가 제공된다. 상기 항체는 힌지 영역을 포함하며, 이때 상기 힌지 영역은 하기 서열들 중 적어도 하나를 포함한다: a) 서열번호 1의 펩티드 서열($X_{n1}CX_{n2}X_{n3}CX_{n4}X_{n5}C$)로서, X_{n1} 은 공유성 가교결합을 형성하지 않는 임의의 아미노산일 수 있고, X_{n2} 는 A, R, N, D, E, Q, G, H, I, L, K, M, F, P, S, T, W, Y 및 V 중 하나이고, X_{n3} 은 임의의 아미노산일 수 있고, X_{n4} 는 임의의 아미노산일 수 있고, X_{n5} 는 임의의 아미노산일 수 있는 펩티드 서열; b) 서열번호 2의 펩티드 서열($X_{n1}X_{n2}X_{n3}X_{n4}X_{n5}X_{n6}CX_{n7}X_{n8}CX_{n9}X_{n10}C$)로서, X_{n1} 은 다른 동일한 아미노산과 공유성 가교결합을 형성하지 않는 임의의 아미노산일 수 있고, X_{n2} 는 임의의 아미노산일 수 있고, X_{n3} 은 임의의 아미노산일 수 있고, X_{n4} 는 임의의 아미노산일 수 있고, X_{n5} 는 임의의 아미노산일 수 있고, X_{n6} 은 임의의 아미노산일 수 있고, X_{n7} 은 임의의 아미노산일 수 있고, X_{n8} 은 임의의 아미노산일 수 있고, X_{n9} 는 임의의 아미노산일 수 있고, X_{n10} 은 임의의 아미노산일 수 있는 펩티드 서열(서열번호 208); c) ELKTPGLGDTHT(서열번호 48)의 상부 힌지 서열에 연결된 CVECPPCP(서열번호 57), CPPCPPC(서열번호 52) 및 CPPCPPPPC(서열번호 54) 중 적어도 하나의 코어 힌지 서열; 또는 d) 상응하는 아미노산과 가교 결합할 수 있는 아미노산을 포함하지

않는 상부 힌지 영역 및 상기 상부 힌지 영역의 C-말단에 연결된 코어 힌지 영역(여기서, 상기 코어 힌지 영역은 적어도 3개의 시스테인을 포함함). 몇몇 실시형태에서, 상기 항체는 전장 항체이다. 몇몇 실시형태에서, 상기 항체는 미니바디이다. 상기 힌지 영역을 제외한 항체의 몇몇 실시형태에서, 상기 항체는 인간화 아미노산 서열을 포함한다.

[0360] 몇몇 실시형태에서, 상기 항체는 서열번호 87로 표시된 HCDR1과 동일한 HCDR1; 서열번호 88로 표시된 HCDR2와 동일한 HCDR2; 서열번호 89로 표시된 HCDR3과 동일한 HCDR3; 서열번호 90으로 표시된 LCDR1과 동일한 LCDR1; 서열번호 91로 표시된 LCDR2와 동일한 LCDR2; 및 서열번호 92로 표시된 LCDR3과 동일한 LCDR3을 포함한다.

[0361] 몇몇 실시형태에서, 본원에 개시된 임의의 상기 실시형태의 항체의 힌지 영역을 암호화하는 핵산이 제공된다. 상기 힌지 영역을 암호화하는 서열을 제외한 핵산의 몇몇 실시형태에서, 상기 핵산은 인간 서열을 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 상기 핵산에 의해 암호화된 항체를 발현하는 세포주가 제공된다.

[0362] 몇몇 실시형태에서, 본원에 개시된 임의의 상기 실시형태의 항체를 제조하는 방법이 제공된다. 상기 방법은 세포주에서 상기 항체를 발현하는 단계를 포함한다.

[0363] 몇몇 실시형태에서, 이를 필요로 하는 개체에서 병태를 치료하는 방법이 제공되며, 이때 상기 방법은 본원에서 제공된 임의의 상기 실시형태의 항체를 상기 개체에 투여하는 단계를 포함한다.

[0364] CD3-IAB25M

[0365] CD3(분화 클러스터 3)은 단클론성 항체 OKT3과 동시에 발견되었다. 처음에 OKT3은 모든 성숙한 말초 T 세포에 결합하는 것으로 밝혀졌으며, 나중에 TCR-CD3 복합체의 일부로서 CD3 엡실론 하위단위는 OKT3에 의해 결합된 세포 표면 항원인 것으로 결정되었다(문헌[Kung, P. 등, "Monoclonal antibodies defining distinctive human T cell surface antigens," Science, Vol. 206, No. 4416, pp. 347-349, 1979]). CD3 하위단위의 예는 서열번호 136 내지 서열번호 139로 나타나 있다. OKT3은 급성 신장 동종이식 거부반응을 연구한 초기 시험과 더불어 이식 거부반응을 위한 면역억제제로서 후속적으로 시험되었다(문헌[Cosimi, A. B. 등, "Treatment of acute renal allograft rejection with OKT3 monoclonal antibody," Transplantation, Vol. 32, No. 6, pp. 535-539, 1981]).

[0366] 몇몇 실시형태에서, 표적 분자인 CD3에 결합하는 미니바디와 같은 항체 및 이들의 단편을 포함하는 항원 결합 구조체들이 제공된다. 이 같은 항원 결합 구조체들은 표적 분자(CD3 및/또는 CD3+ 세포)의 존재, 국부화 및/또는 양을 검출하는데 유용할 수 있다. 이 같은 항원 결합 구조체들은 또한 면역세포 상의 CD3 발현과 연관된 생물 활성을 조절하고 CD3 단백질을 발현하는 세포에 대해 치료제를 표적화하는데 유용할 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 항원 결합 구조체(항체, 및 미니바디와 같은 구조체를 포함함)들을 이용하여 표적 분자(또는 "표적")의 존재 유무를 검출하기 위한 방법들이 제공된다. 몇몇 실시형태에서, 치료 목적으로 상기 항원 결합 구조체를 이용하기 위한 방법들이 제공된다.

[0367] 또한 본원에서 개시된 몇몇 실시형태의 CD3 미니바디는, 예를 들어 TCR 복합체의 CD3 엡실론 도메인을 통해 T 세포를 중화시키고 FOXP3의 상향 조절을 통해 T 조절 세포를 상향 조절함으로써 면역 시스템 반응을 조정하기 위해 치료용 미니바디로서 사용될 수 있다(문헌[Saruta, M. 등, "Characterization of FOXP3+CD4+ regulatory T cells in Crohn's disease," Clin. Immunol., Vol. 125, No. 3, pp. 281-290, 2007]). 이 같은 요법들은 몇 가지 예를 들자면 조직/기관 동종이식편을 치료할 뿐만 아니라 류머티스성 관절염, 다발성 경화증, 1형 당뇨병 및 홍반성 낭창과 같은 자가면역 질병을 치료하는데 유용성을 갖는다.

[0368] 초기 개념 입증 전임상적 이미징은 OKT3으로부터 유래하지 않는 인간화 항-CD3 항체인 비실리주맵(Visilizumab)을 이용하여 수행되어 왔다(문헌[Malviya, G. 등, "Radiolabeled humanized anti-CD3 monoclonal antibody Visilizumab for imaging human T-lymphocytes," Vol. 50, No. 10, pp. 1683-1691, 2009]). CD3+ T 세포의 이미징은 당해 기관이 CD3+ T 세포로 완전히 침습되는 경우에 치료가 효과적이기 때문에 항-CD3 요법에 있어서 유용하다. 잠재적인 CD3 이미징제는 환자의 선별을 가능케 할 수 있고, 또한 치료를 모니터링하기 위한 방법을 가능케 한다. 전장 항체를 이용한 이미징은 전형적으로는 본원에서 제공된 단편들을 이용한 이미징과 비교하여 최적의 이미징을 위한 보다 긴 주사 후 시간을 요구한다.

[0369] 몇몇 실시형태에서 미니바디와 같은 항-CD3 항원 결합 구조체들이 제공된다. 상기 항원 결합 구조체들은, 예를 들어 면역 시스템 관련 다양한 질환을 이미징 하고 치료하기 위해 사용될 수 있다.

[0370] 몇몇 실시형태에서, CD3 항원에 결합하는 항원 결합 구조체들은 항체, 미니바디, 및/또는 scFv와 같은 항체의

기타 단편들 일 수 있다. CD3에 대한 항원 결합 구조체의 몇몇 비제한적인 실시형태는 도 33, 도 36d, 도 69에 도시되어 있다.

- [0371] 몇몇 실시형태에서, 상기 항원 결합 구조체는 독소와 같은 다른 분자에 대한 연결 없이 치료제로서 사용될 수 있다(예를 들어, 문헌[Chatenoud, L. 등, "CD3-specific antibodies: a portal to the treatment of autoimmunity," Nat. Rev. Immunol., Vol. 7, No. 8, pp. 622-632, 2007] 참조). 이 같은 항원 결합 구조체들은 또한 암, 당뇨병, 자가면역 및 염증성 병태를 포함한 다양한 질병을 치료하기 위해 면역세포 상의 CD3 발현과 연관된 생물 활성을 조절하는데 유용할 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 상기 항원 결합 구조체는 면역억제제로서 단독으로 사용될 수 있고, CD3 신호전달을 억제하기 위한 활성을 나타낸다.
- [0372] 또한 본원에서 개시된 CD3 항원 결합 구조체들은, 예를 들어 TCR 복합체의 CD3 엡실론 도메인을 통해 T 세포를 중화시키고 FOXP3의 상향 조절을 통해 T 조절 세포를 상향 조절함으로써 면역 시스템 반응을 조절하기 위해 치료용 항원 결합 구조체로서 사용될 수 있다(문헌[Saruta, M. 등, 2007]). 이 같은 요법들은 몇 가지 예를 들자면 조직/기관 동종이식편을 치료할 뿐만 아니라 류머티스성 관절염, 다발성 경화증, 1형 당뇨병 및 홍반성 낭창과 같은 자가면역 질병을 치료하는데 유용성을 갖는다.
- [0373] 몇몇 실시형태에서, 미니바디와 같은 항원 결합 구조체는 테플리주맵(Teplizumab)의 가변 중쇄 또는 경쇄 영역으로부터 유래한 하나 이상의 CDR을 함유할 수 있다.
- [0374] 몇몇 실시형태에서, 본원에서 제공된 항원 결합 구조체들 중 하나 이상은 OX40, CD134, CD40, CD154, CD80, CD86, ICOS, CD137 및/또는 IL-1 수용체 길항제에 지향하는 항체와 같은 기타 면역세포 표적화제와 조합될 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 상기 CD3에 지향하는 미니바디는 면역 반응을 감소시키며, 어떠한 부가적인 치료제도 상기 항원 결합 구조체에 접합될 필요가 없다. 따라서 몇몇 실시형태에서 치료제에 접합되지 않거나 치료제를 포함하는 T 세포와 연관이 있는 자가면역 당뇨병 또는 기타 자가면역 병태의 치료를 위한 미니바디가 제공된다.
- [0375] 몇몇 실시형태에서, 상기 CD3 항원 결합 구조체들은 TCR 복합체의 CD3 엡실론 도메인을 통해 T 세포를 자극 및 관용유도(tolerization)하고/하거나 FOXP3의 상향 조절을 통해 T 조절 세포를 상향 조절함으로써 면역 시스템 반응을 조정하기 위해 치료용 항원 결합 구조체로서 사용될 수 있다(문헌[Saruta, M. 등, 2007]). 이 같은 요법들은 조직/기관 동종이식편을 치료할 뿐만 아니라 류머티스성 관절염, 다발성 경화증, 1형 당뇨병, 홍반성 낭창 등과 같은 자가면역 질병을 치료하는데 유용할 수 있다.
- [0376] 몇몇 실시형태에서, 상기 항원 결합 구조체는 독소와 같은 다른 분자에 대한 연결 없이 치료제로서 사용될 수 있다(예를 들어, 문헌[Chatenoud, L. 등, 2007] 참조). 이 같은 항원 결합 구조체들은 또한 암, 당뇨병, 자가면역 및 염증성 병태를 포함한 다양한 질병을 치료하기 위해 면역세포 상의 CD3 발현과 연관된 생물 활성을 조절하는데 유용할 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 상기 항원 결합 구조체는 면역억제제로서 단독으로 사용될 수 있으며, CD3 신호전달을 억제하기 위한 활성을 나타낸다.
- [0377] 임의의 하나의 이론에 제한되지 않는 채, 몇몇 실시형태에서 이중 특이성 항원 결합 구조체는 표적-양성 세포 상의 표적에 결합하고, 제 1 세포 상의 제 1 항원(이는 CD3과 상이할 수 있음)에 결합하며, 따라서 상기 표적-양성 세포를 제 1 세포와 인접하게 한다. 예를 들어, CD3+ 세포는 암세포와 인접하게 될 수 있으며, 이러한 암세포에 대한 면역 반응을 조장할 수 있다.
- [0378] 몇몇 실시형태에서, 상기 미니바디는 CD3 의존 질환의 치료를 위한 치료제에 접합된다.
- [0379] 상기 개체는 임의의 다수의 CD3 의존 질환을 앓고 있을 수 있으며, 상기 질환은, 예를 들어 류머티스성 관절염, 다발성 경화증, 1형 당뇨병 또는 홍반성 낭창일 수 있다.
- [0380] 몇몇 실시형태에서, 본원에서 제공된 바와 같은 항원 결합 구조체는 전염증성 사이토카인 방출, T 세포 활성화 및/또는 세포 증식을 포함하지만 이에 제한되지 않는 바람직하지 못한 부작용의 유의한 감소를 가능케 한다.
- [0381] 몇몇 실시형태에서, 치료 방법이 제공되며, 이에 의해 상기 개체는 CD3 지향 항원 결합 구조체들의 적용으로부터 이익을 얻을 수 있지만, 생체 내에서 CD3에 대한 항원 결합 구조체의 결합 이후 면역세포 활성화의 보다 낮은 자극을 초래하기 위해 전장 구조체가 아닌 미니바디가 대신 투여된다.
- [0382] 몇몇 실시형태에서, 약학 조성물 중의 미니바디의 양은 전장 구조체(예를 들어, 전장 OKT3)에 대해 달리 투여될 수 있는 양보다 많다. 몇몇 실시형태에서, 투여된 양이 전장 구조체로서 투여되었다면 상기 양은 개체에서 사이토카인 폭풍을 유도할 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 사이토카인 폭풍 또는 사이토카인 방출 증후군(CRS)을 야기하지 않으면서도 투여될 수 있는 양은 적어도 10마이크로그램/m²이고, 예를 들어 적어도 10마이크로그램/m², 17

마이크로그램/ m^2 , 20마이크로그램/ m^2 , 30마이크로그램/ m^2 , 40마이크로그램/ m^2 , 50마이크로그램/ m^2 , 60마이크로그램/ m^2 , 70마이크로그램/ m^2 , 80마이크로그램/ m^2 , 90마이크로그램/ m^2 , 100마이크로그램/ m^2 , 200마이크로그램/ m^2 , 300마이크로그램/ m^2 , 400마이크로그램/ m^2 , 500마이크로그램/ m^2 , 600마이크로그램/ m^2 , 700마이크로그램/ m^2 , 800마이크로그램/ m^2 , 900마이크로그램/ m^2 또는 적어도 1000마이크로그램/ m^2 의 상기 미니바디 포맷이 투여될 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 이러한 양은 사이토카인 방출 증후군을 야기하지 않을 것이다. 몇몇 실시형태에서, 이러한 양은 1등급 및/또는 2등급 사이토카인 방출 증후군을 야기하지 않을 것이다. 몇몇 실시형태에서, 이러한 양은 하기 증상들 중 하나 이상을 야기하지 않을 것이다: 발진, 두통, 메스꺼움, 구토 및/또는 한기/오한/발열. 몇몇 실시형태에서, 전장 항체를 사용하면 투여 1일 또는 5일 또는 6일째 날에 정상적으로 나타날 수 있는 이들 증상은 미니바디를 사용하면 존재하지 않을 것이다.

[0383] 몇몇 실시형태에서, CD3의 차단 요법을 필요로 하는 개인의 치료를 위한 방법이 제공되며, 이때 상기 개인은 또한 사이토카인 폭풍을 발생하고/하거나 이를 경험할 위험성을 갖는다. 몇몇 실시형태에서, 상기 방법은 전장 항체의 미니바디 구조체를 사이토카인 폭풍을 경험할 위험성을 갖는 개체에 투여하는 단계를 포함하지만; 전장 항체가 상기 개체에 투여되었을 때 상기 미니바디 포맷은 그렇지 않는 경우에 일어날 수 있는 임의의 면역세포의 활성화 강도에서의 감소를 가능케 할 것이다. 몇몇 실시형태에서, 상기 미니바디는 동일한 CDR(또는 유사한 CDR) 및/또는 동일한 중쇄 및 경쇄 가변 영역(또는 유사한 중쇄 및 경쇄 가변 영역)들을 공유할 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 상기 미니바디의 투여는 CD3에 대한 결합이 일어난 이후에 면역세포 활성화의 보다 낮은 자극을 가능케 한다. 몇몇 실시형태에서, 상기 미니바디의 투여는 CD3에 대한 결합이 일어난 이후에 방출된 사이토카인의 수준에서의 감소를 가능케 한다. 몇몇 실시형태에서, 상기 미니바디의 투여는 전장 구조체를 사용하였을 때와 비교하여 CD3에 대한 결합 이후에 발생할 보다 낮은 양의 활성화를 가능케 한다.

[0384] 몇몇 실시형태에서, 당업자라면 반대 요법(counter therapy)을 투여할 필요 없이 CD3 요법을 투여할 수 있으며, 이때 상기 반대 요법은 사이토카인 폭풍을 감소시키거나 차단하도록 설계될 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 이는 전장 구조체 대신에 상기 개체에 미니바디 항원 결합 구조체를 투여하는 단계를 포함한다.

[0385] 몇몇 실시형태에서, 사이토카인 폭풍의 강도 및/또는 가능성을 감소시키는 방법이 제공되며, 이때 상기 방법은 CD3에 결합할 항원 결합 구조체를 수용해야 하는 개체를 확인하는 단계, 및 CD3에 결합하는 유효량의 미니바디를 상기 개체에 투여하는 단계를 포함할 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 상기 구조체는 본원에서 제공된 구조체들 중 하나 이상이다.

[0386] 본원에 개시된 바와 같이, 사이토카인 폭풍을 감소시키고/시키거나 피하는 능력(또는 사이토카인 활성화 및/또는 증식을 감소시키는 능력과 같은 기타 양태)은 CD3에 결합하는 항원 결합 구조체들에 있어서 특히 적절할 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 이 같은 문제를 피하는 상기 과정(예를 들어, 미니바디 포맷을 이용함)이 기타 표적 단백질, 예를 들어 상기 표적에 대한 항체의 결합이 사이토카인 폭풍 또는 활성화/증식을 야기하는 임의의 표적 단백질에 대해 이용될 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 상기 방법은 당업자가 개체에서 부적절하고/하거나 해로운 활성화를 피하도록 하기 위해 이용될 수 있으며, 이때 상기 활성화는 2가 항원 결합 단백질에 반응하여 나타난다. 몇몇 실시형태에서, 당업자라면 CD3 항원 결합 단백질이 아닌 CD28 항원 결합 단백질(예를 들어, CD28에 결합하는 미니바디)을 이용할 수 있다.

[0387] 몇몇 실시형태에서, CD3 미니바디의 사용은 CD3 의존 질환의 치료를 가능케 하기 위해 개체가 적절한 수준의 항원 결합 구조체를 수용하도록 한다. 몇몇 실시형태에서, 상기 개체는 또한 인슐린 주사를 맞지 않고/않거나 후속적으로 인슐린 주사를 맞으면서도 CD3 결합 분자를 수용할 수 있다. 몇몇 실시형태에서, CD3 미니바디 구조체의 사용은 당업자가 상기 과정에서 너무나도 많은 B 세포를 파괴하지 않으면서도 CD3 주도 반응을 약화시키게 한다. 몇몇 실시형태에서, 상기 감소된 활성화/증식으로는 T 세포 및/또는 천연 살해(NK) 세포의 활성화 및/또는 증식을 들 수 있다.

[0388] 몇몇 실시형태에서, 이를 필요로 하는 개체에 항원 결합 구조체를 제공하는 단계는 유효량의 항원 결합 구조체를 CD3에 제공하는 단계를 포함하며, 이때 상기 항원 결합 구조체는 CD3에 결합하지만, 사이토카인 방출량, 활성화량 및 증식량 중 적어도 하나에서 유의한 증가를 초래하지 않는다.

[0389] 몇몇 실시형태에서, 면역세포 상의 CD3과 결합하는 치료제를 투여하는 방법이 제공된다. 상기 방법은 본원에서 제공된 바와 같은 항원 결합 구조체를 CD3의 양의 감소를 필요로 하는 개체에 제공하는 단계(예를 들어, 임의의 상기 미니바디를 CD3에 제공하는 단계)를 포함한다. 상기 항원 결합 구조체는 CD3에 결합하지만, 본원에서 제공된 데이터에 나타난 바와 같이 상기 항원 결합 구조체는 사이토카인 방출량, 활성화량 및 증식량 중 적어도 하나에서 유의한 증가를 초래하지 않는다. 몇몇 실시형태에서, 상기 CD3의 감소는 이용 가능한 유리 CD3 단백질의

양의 감소를 의미한다. 몇몇 실시형태에서, 상기 CD3의 감소는 CD3 단백질을 발현하는 세포의 감소를 의미한다.

- [0390] 몇몇 실시형태에서, 상기 구조체는 상기 개체에 대해 받아들이기 어려울 정도로 유해할 수 있는 수준으로 사이토카인 폭풍을 야기하지 않는다.
- [0391] 몇몇 실시형태에서, CD3 의존 질환을 앓고 있는 개체를 치료하는 방법이 제공된다. 상기 방법은 유효량의 항원 결합 구조체를 상기 개체에 제공하는 단계를 포함한다. 상기 항원 결합 구조체는 CD3에 결합하는 미니바디이다. 몇몇 실시형태에서, 상기 항원 결합 구조체는 치료제에 접합된다. 몇몇 실시형태에서, 상기 항원 결합 구조체는 제 1 결합 부위 및 제 2 결합 부위를 포함하는 2가 배열을 포함하며, 이때 상기 제 1 결합 부위는 CD3에 결합하고, 상기 제 2 결합 부위는 CD3에 결합한다. 상기 유효량은 서로 다른 포맷, 특히 전장 항체 포맷(예를 들어, OKT3)으로 상기 항원 결합 구조체가 투여되었을 경우에 몰량(molar amount)이 치료 목적으로 용인할 수 없는 강도로 사이토카인 폭풍을 유도할 수 있도록 하는 몰량이다. 그러나 상기 항원 결합 구조체가 미니바디인 경우 이러한 동일한 몰량은 CD3 기반 요법에 있어서 여전히 효과적이지만, 용인할 수 없는 수준으로 사이토카인 폭풍을 유도하지 않는다.
- [0392] 몇몇 실시형태에서, 본 발명의 구조체들이 요법용으로 사용될 수 있기 때문에 비록 이들이 2가이고 CD3에 결합할지라도 상기 CD3 항원 결합 구조체들 중 치료용 구조체들이 이용될 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 생체 내에서 CD3과 결합하지만 유의한 사이토카인 방출량, 활성화량 및 증식량 중 적어도 하나의 증가를 초래하지 않는 항원 결합 구조체가 제공된다.
- [0393] "CD3 의존 질환"이란 용어는 류머티스성 관절염, 다발성 경화증, 1형 당뇨병, 홍반성 낭창, 염증성 장질환, 당뇨병, 기관 이식 거부반응, 자가면역 질병, 알레르기, 및 T 세포 및/또는 천연 살해(NK) 세포가 병리학에서 역할을 하는 기타 질환을 포함한다.
- [0394] "사이토카인 캐스케이드(cascade)" 또는 "사이토카인 과다분비(hypercytokinemia)"로도 공지된 "사이토카인 폭풍"은 사이토카인과 면역세포 사이의 양성 피드백 고리(positive feedback loop)와 연관이 있는 잠재적으로 치명적인 면역 반응으로, 다양한 사이토카인의 수준이 매우 증가되어 있다. 사이토카인 폭풍의 증상들로는 고열, 부기 및 적열 상태, 극도 피로 및 메스꺼움이 있다. 몇몇의 경우, 상기 면역 반응은 치명적일 수 있다. 전형적으로는, 몇몇 사이토카인 방출 수준은, 예를 들어 감염과 싸우는 경우에 허용 가능하고 필요하다. 사람이 독감과 연관된 발열 한기를 앓는 경우 이 같은 증상들은 면역 시스템이 바이러스와 싸운 결과이며, 따라서 이 같은 수준은 허용 가능하며 "사이토카인 폭풍"은 아니다. 그러나 활성화 암(activation arm)이 지나치게 자극되지만 억제성 신호에 의해 균형이 잡히지 않는 경우, 이들 사이토카인은 기관 및 조직의 손상 및 궁극적으로는 사멸을 초래할 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 본원에서 제공된 구조체들은 사이토카인 방출 증후군을 회피 및/또는 최소화하는데 유용할 수 있으며, 따라서 그렇지 않는 경우에 항-T 세포 전장 항체가 사용될 수 있는 상황에 적용될 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 사이토카인 폭풍에 지향하여 본원에서 제공된 임의의 상기 방법들은 또한 사이토카인 방출 증후군에 적용될 수 있다.
- [0395] 몇몇 실시형태에서, 상기 개체는 염증성 및/또는 자가면역 병태를 앓고 있다. 몇몇 실시형태에서, 상기 병태는 류머티스성 관절염, 다발성 경화증, 1형 당뇨병 및 홍반성 낭창 중 적어도 하나로부터 선택된다.
- [0396] 몇몇 실시형태에서, 상기 사이토카인은 전장 OKT3 항체 투여로부터 유도된 사이토카인 폭풍과 연관된 사이토카인이다. 몇몇 실시형태에서, 상기 사이토카인은 IFN γ , IL-2, TNF- α 및 IL-17 중 적어도 하나를 포함한다.
- [0397] 몇몇 실시형태에서, CD3에 결합하는 미니바디가 제공된다. 상기 미니바디는 CD3에 결합하는 단일 사슬 가변 단편(scFv)을 포함하는 폴리펩티드를 포함하며, 상기 scFv는 가변 경쇄(V_L) 도메인에 연결된 가변 중쇄(V_H) 도메인; 및 상기 힌지의 각 가닥 상에 적어도 3개의 시스테인을 포함하는 변이체 힌지 영역을 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 상기 미니바디는 인간 IgG C_H3 서열을 더 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 상기 미니바디는 방사성 물질, 염료, 조영제, 형광 화합물, 생물 발광 화합물, 효소, 증강제 및 나노입자로 이루어진 군으로부터 선택된 검출 가능한 마커를 더 포함한다.
- [0398] 몇몇 실시형태에서, 본원에 개시된 임의의 상기 실시형태의 항체를 암호화하는 핵산이 제공된다. 몇몇 실시형태에서, 본원에 개시된 임의의 상기 실시형태의 미니바디를 생산하는 세포주가 제공된다. 몇몇 실시형태에서, 본원에 개시된 임의의 상기 실시형태의 미니바디 및 검출 가능한 마커를 포함하는 키트가 제공된다.
- [0399] 몇몇 실시형태에서, CD3의 존재 유무를 검출하는 방법이 제공된다. 상기 방법은 본원에서 제공된 임의의 상기 실시형태의 미니바디를 시료에 적용하는 단계; 및 CD3에 대한 상기 항원 결합 구조체의 결합 또는 이의 결합의

부제를 검출하는 단계를 포함한다. 상기 방법의 몇몇 실시형태에서, 상기 미니바디는 방사성 물질, 염료, 조영제, 형광 화합물, 생물 발광 화합물, 효소, 증강제 및 나노입자로 이루어진 군으로부터 선택된 검출 가능한 마커를 포함한다. 상기 방법의 몇몇 실시형태에서, 상기 미니바디를 적용하는 단계는 상기 미니바디를 개체에 투여하는 단계를 포함한다. 상기 방법의 몇몇 실시형태에서, 상기 표적 항원에 대한 상기 미니바디의 결합 또는 이의 결합의 부제를 검출하는 단계는 양전자 방출 단층촬영을 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 상기 방법은 이차 항체 또는 이의 단편을 상기 시료에 적용하는 단계를 더 포함하며, 이때 상기 이차 항체 또는 이의 단편은 상기 미니바디에 특이적으로 결합한다. 상기 방법의 몇몇 실시형태에서, 이의 미니바디는 1시간 미만 동안 시료와 함께 배양된다.

[0400] 몇몇 실시형태에서, CD3에 대해 치료제를 표적화하는 방법이 제공된다. 상기 방법은 본원에서 제공된 임의의 상기 실시형태의 미니바디를 개체에 투여하는 단계를 포함하며, 이때 상기 미니바디는 치료제에 접합된다.

[0401] 몇몇 실시형태에서, 이를 필요로 하는 개체에서 CD3을 발현하는 T 림프구 세포를 표적화하는 방법이 제공된다. 상기 방법은 본원에서 제공된 임의의 하나의 실시형태의 미니바디를 상기 개체에 투여하는 단계를 포함한다. 몇몇 실시형태에서, CD3을 발현하는 T 림프구 세포를 중화시키는 방법이 제공된다. 몇몇 실시형태에서, 상기 개체는 무반응 CD3 T 세포, 기능이상 CD3 T 세포, 자가 반응성 CD3 T 세포, 과반응성 CD3 T 세포, 억제성 CD3 T 세포, 불국소화된 CD3 T 세포 및 CD3 T 세포 림프종 중 적어도 하나를 갖는다. 몇몇 실시형태에서, 상기 개체는 류머티스성 관절염, 다발성 경화증, 당뇨병, 전신성 홍반성 낭창, 자가면역, 염증성 병태, 신호전달 결함 및 공-자극 결함 중 적어도 하나와 연관된 CD3 T 세포를 갖는다.

[0402] 몇몇 실시형태에서, CD3에 결합하는 항체가 제공된다. 상기 항체는 힌지 영역을 포함하며, 이때 상기 힌지 영역은 하기 서열들 중 적어도 하나를 포함한다: a) 서열번호 1의 펩티드 서열($X_{n1}CX_{n2}X_{n3}CX_{n4}X_{n5}C$)로서, X_{n1} 은 공유성 가교결합을 형성하지 않는 임의의 아미노산일 수 있고, X_{n2} 는 A, R, N, D, E, Q, G, H, I, L, K, M, F, P, S, T, W, Y 및 V 중 하나이고, X_{n3} 은 임의의 아미노산일 수 있고, X_{n4} 는 임의의 아미노산일 수 있고, X_{n5} 는 임의의 아미노산일 수 있는 펩티드 서열; b) 서열번호 2의 펩티드 서열($X_{n1}X_{n2}X_{n3}X_{n4}X_{n5}X_{n6}CX_{n7}X_{n8}CX_{n9}X_{n10}C$)로서, X_{n1} 은 다른 동일한 아미노산과 공유성 가교결합을 형성하지 않는 임의의 아미노산일 수 있고, X_{n2} 는 임의의 아미노산일 수 있고, X_{n3} 은 임의의 아미노산일 수 있고, X_{n4} 는 임의의 아미노산일 수 있고, X_{n5} 는 임의의 아미노산일 수 있고, X_{n6} 은 임의의 아미노산일 수 있고, X_{n7} 은 임의의 아미노산일 수 있고, X_{n8} 은 임의의 아미노산일 수 있고, X_{n9} 는 임의의 아미노산일 수 있고, X_{n10} 은 임의의 아미노산일 수 있는 펩티드 서열(서열번호 208); c) ELKTPGLGDTHT(서열번호 48)의 상부 힌지 서열에 연결된 CVEPPCP(서열번호 57), CPPCP(서열번호 52) 및 CPPCP(서열번호 54) 중 적어도 하나의 코어 힌지 서열; 또는 d) 상응하는 아미노산과 가교 결합할 수 있는 아미노산을 포함하지 않는 상부 힌지 영역 및 상기 상부 힌지 영역의 C-말단에 연결된 코어 힌지 영역(여기서, 상기 코어 힌지 영역은 적어도 3개의 시스테인을 포함함). 몇몇 실시형태에서, 상기 항체는 전장 항체이다. 몇몇 실시형태에서, 상기 항체는 미니바디이다. 상기 힌지 영역을 제외한 항체의 몇몇 실시형태에서, 상기 항체는 인간화 아미노산 서열을 포함한다.

[0403] 몇몇 실시형태에서, 상기 항체는 CD3에 대해 표 8의 서열번호 174로 표시된 HCDR1과 동일한 HCDR1; 표 8의 서열번호 175로 표시된 HCDR2와 동일한 HCDR2; 표 8의 서열번호 176으로 표시된 HCDR3과 동일한 HCDR3; 표 8의 서열번호 177로 표시된 LCDR1과 동일한 LCDR1; 표 8의 서열번호 97로 표시된 LCDR2와 동일한 LCDR2; 및 표 8의 서열번호 178로 표시된 LCDR3과 동일한 LCDR3을 포함한다.

[0404] 몇몇 실시형태에서, 상기 항체는 도 65b 또는 도 65c에 도시된 HCDR1과 동일한 HCDR1; 도 65b 또는 도 65c에 도시된 HCDR2와 동일한 HCDR2; 도 65b 또는 도 65c에 도시된 HCDR3과 동일한 HCDR3; 도 65b 또는 도 65c에 도시된 LCDR1과 동일한 LCDR1; 도 65b 또는 도 65c에 도시된 LCDR2와 동일한 LCDR2; 및 도 65b 또는 도 65c에 도시된 LCDR3과 동일한 LCDR3을 포함한다.

[0405] 몇몇 실시형태에서, CD3 항원에 결합하는 항원 결합 구조체들은 항체, 미니바디, 및/또는 scFv와 같은 항체의 기타 단편일 수 있다. CD3에 대한 항원 결합 구조체의 몇몇 비제한적인 실시형태는 도 65b 및 도 65c에 도시되어 있다.

[0406] 몇몇 실시형태에서, 상기 미니바디는 도 65b 또는 도 65c에 도시된 HCDR1과 동일한 HCDR1; 도 65b 또는 도 65c에 도시된 HCDR2와 동일한 HCDR2; 도 65b 또는 도 65c에 도시된 HCDR3과 동일한 HCDR3; 도 65b 또는 도 65c에 도시된 LCDR1과 동일한 LCDR1; 도 65b 또는 도 65c에 도시된 LCDR2와 동일한 LCDR2; 및 도 65b 또는 도 65c에

도시된 LCDR3과 동일한 LCDR3을 포함한다. 본원에서 제공된 미니바디의 몇몇 실시형태에서, 상기 가변 중쇄(V_H) 도메인 및 가변 경쇄(V_L) 도메인은 인간 서열이다.

[0407] 몇몇 실시형태에서, 본원에 개시된 임의의 상기 실시형태의 항체의 힌지 영역을 암호화하는 핵산이 제공된다. 상기 힌지 영역을 암호화하는 서열을 제외한 핵산의 몇몇 실시형태에서, 상기 핵산은 인간 서열을 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 상기 핵산에 의해 암호화된 항체를 발현하는 세포주가 제공된다.

[0408] 몇몇 실시형태에서, 본원에 개시된 임의의 상기 실시형태의 항체를 제조하는 방법이 제공된다. 상기 방법은 세포주에서 상기 항체를 발현하는 단계를 포함한다.

[0409] 몇몇 실시형태에서, 이를 필요로 하는 개체에서 병태를 치료하는 방법이 제공되며, 이때 상기 방법은 본원에서 제공된 임의의 상기 실시형태의 항체를 상기 개체에 투여하는 단계를 포함한다.

[0410] **부가적인 실시형태**

[0411] 몇몇 실시형태에서, 상기 scFv 또는 미니바디는 진단용 이미징에 대해 우수한 약동학적 특성을 갖는다. 현재 기술은 전장 항체의 느린 혈청 제거로 인해 고대비 이미지를 생성하기 위해 훨씬 더 긴 시간(주사 후 약 7일)이 요구되는 온전한 항체를 사용한 이미징을 이용한다. 상기 미니바디는 당일 또는 다음날 이미징을 위한 기회를 제공한다. 공격적으로 진행되는 질병을 앓고 있는 환자에게 있어서 매일 매일이 중요하며, 보다 앞선 시점에 적절한 치료적 접근법을 확인하는 능력은 환자의 생존을 향상시키는 잠재성을 갖는다. 당일 또는 다음날 이미징은 또한 치료/진단을 받기 위해 상당한 거리를 이동하는 많은 환자들이 직면하는 문제점에 대한 논리적 해결안을 제공하는데, 이는 전장 항체에 대한 미니바디를 사용하여 이미징하는 경우 이동/숙박 기간 또는 1주일 후에 되돌아올 필요성이 해소될 수 있기 때문이다. 몇몇 실시형태에서, 보다 낮은 방사선량에 대한 노출은 당업자가 수회 이미징을 하고 시간의 경과에 따른 질병의 진행을 추적하게 한다.

[0412] 부가적으로는, 몇몇 실시형태에서 상기 미니바디 구성성분 단량체들은 이황화 결합을 형성하는 힌지 시스템인 잔기들을 함유한다. 이들 공유결합된 시스템 잔기들은 이황체성 미니바디 분자의 완전성을 유지하면서 시스템인-특이적 접합을 위한 활성 티올기를 제공하기 위해 약한 화학적 환원을 통해 개방될 수 있다. 현재의 화학적 접합 방법들은 하기 부위-특이적 플랫폼을 포함한다: 항체, 예를 들어 Thio-Mabs(로슈(Roche))의 F(ab)'₂ 영역 내의 시스템인; Fc(DISH-Mab, 시애틀 제네틱스(Seattle Genetics)) 내의 239번째 위치의 시스템인, 알콕시아민 링커 형성을 위한 케토-페닐알라닌(Ambrix)과 클릭-사이클로부가(click-cycloaddition)을 위한 페닐알라닌아지도 메탄(슈트로(Sutro))과 같은 비자연적인 아미노산, 및 트랜스글루타미나아제(transglutaminase)-의존성 접합(린넷-파이자(Rinat-Pfizer))를 위한 Fc 영역 내의 글루타민을 도입하기. mAb 내 힌지 시스템인들은 비-부위-특이적 티올 접합 화학을 위해 화학적 핸들을 제공한다. 리신에 대한 접합은 또한 비-부위-특이적이거나 무작위이며, 가장 높은 이종성을 초래한다. 몇몇 실시형태에서, 당업자라면 본원에서 제공된 상기 항원 결합 구조체의 scFv, 골격 또는 다른 부분 내에 부위-특이적 시스템인을 도입할 수 있다.

[0413] 치료 이전 및 치료 도중에 항체의 표적의 존재에 대해 환자 전신을 이미징하는 능력은 개별화된 환자 관리를 위한 소중한 정보를 제공한다. 항체 요법의 안전성 및 효능에 대한 시험 도중에 이는 환자의 질병 진행의 일부로서 항체의 표적을 발현하는 환자에 대한 치료를 선택하고 시험할 수 있어 유용하다.

[0414] 몇몇 실시형태에서, 이용 가능한 항체 요법과 매칭(matching)되는 scFv 또는 미니바디의 진단용 단편들은 적절한 항체 요법과 환자의 질병 상태의 매칭을 가능케 한다.

[0415] 몇몇 실시형태에서, 표적 분자-양성 세포 상의 제 1 항원을 표적화하는 방법이 제공된다. 상기 방법은 이중 특이성 항원 결합 구조체를 시료에 적용하는 단계를 포함할 수 있다. 상기 이중 특이성 항원 결합 구조체는 본원에 개시된 바와 같은 항원 결합 구조체를 포함할 수 있다. 상기 이중 특이성 항체 또는 이의 단편은 제 1 항원과 결합하는 항원 결합 구조체, 예를 들어 미니바디의 1개, 2개, 3개, 4개, 5개 또는 6개의 CDR, scFv 또는 단량체를 포함할 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 상기 이중 특이성 항체는 본원에 개시된 바와 같은 항원 결합 구조체의 1개, 2개 또는 3개의 HCDR 및/또는 본원에 개시된 바와 같은 항원 결합 구조체의 1개, 2개 또는 3개의 LCDR을 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 상기 이중 특이성 항원 결합 구조체는 본원에 개시된 바와 같은 항원 결합 구조체의 scFv를 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 상기 이중 특이성 항원 결합 구조체는 본원에 개시된 바와 같은 V_H 또는 V_L 서열을 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 상기 이중 특이성 항원 결합 구조체는 본원에 개시된 바와 같은 미니바디 단량체를 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 상기 이중 특이성 항원 결합 구조체는 생체 내에서 시료, 예를 들어 개체의 기관 또는 조직에 적용된다. 몇몇 실시형태에서, 상기 이중 특이성 항원 결합 구조체는

시험관 내 시료에 적용된다. 임의의 하나의 이론에 제한되지 않는 채, 몇몇 실시형태에서 상기 이중 특이성 항원 결합 구조체는 상기 표적-양성 세포 상의 표적에 결합하고, 상기 제 1 세포 상의 제 1 항원(이는 제 1 표적 분자와는 상이할 수 있음)에 결합하며, 따라서 상기 표적-양성 세포가 상기 제 1 세포에 인접하게 된다. 예를 들어, 제 1 표적 분자+ 세포는 암세포에 인접하게 될 수 있으며, 이러한 암세포에 대한 면역 반응을 조장할 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 제 1 표적 분자 및 제 2 표적 분자 단편으로 구성된 이중 특이성 항원 결합 구조체는 세포 독성 T 세포를 면역세포를 발현하는 활성화된 제 1 표적 분자 또는 표적 세포의 살해를 야기하기 위해 종양 세포를 발현하는 제 1 표적 분자와 인접하게 할 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 당업자라면 상기 제 2 scFv의 특이성을 결정할 때 임의의 면역세포(NK 또는 B 세포 또는 수지상 세포)를 표적화할 수 있고, 이를 항원 발현 세포에 브리징(bridging)할 수 있다.

[0416] 미니바디 구조체들은 V_L - V_H 또는 V_H - V_L 배향으로 있을 수 있는 가변 링커 길이를 갖는 항원 결합 scFv를 함유한다. scFv는 표 0.1 상에 개시된 바와 같이 임의의 12개 힌지 서열에 연결될 수 있다. scFv 및 적절한 힌지들은 IgG1, IgG2, IgG3 또는 IgG4 항체로부터 유래한 C_H3 도메인과 연결될 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 일반적으로 천연 IgG1, IgG2 및 IgG3 항체 내의 경쇄와 쌍을 이루는 첫 번째 힌지 시스테인은 이황화 스스캐블링 및/또는 콘카테머화를 예방하기 위해 세린 또는 알라닌 또는 기타 적절한 아미노산으로 돌연 변이될 수 있다. 반분자의 존재를 감소시키거나 반분자의 형성을 감소시키고 생체 내 안정성을 증가시키기 위해, 상기 힌지 영역은 기타 단량체와 적어도 3개의 이황화 결합을 형성하도록 적어도 3개의 시스테인을 함유해야 한다. 서로에 대해 적절한 거리에 위치한 상기 힌지 내 가닥 당 3개의 시스테인은 적절한 이황화 결합의 형성을 허용하는데 유용하다(표 3). 서로에 대해 적절한 거리에 위치한 상기 미니바디 내의 힌지 중의 3개의 이황화 결합은 생체 내 단백질 안정성 및 신장 제거가 아닌 간을 통한 제거에 유용하다. 상기 힌지 중의 적어도 3개(또는 그 이상)의 이황화물은 약물, 킬레이터 또는 형광 염료의 부위-특이적 접합에 유리하다. 상술한 바와 같이 구성된 Mb는 부모 항체에 대해 유사한 친화도를 보유한다. 몇몇 실시형태에서, IgG1 구조체와 관련하여 첫 번째 cys는 온전하게 남아있을 수 있고, 이는 그렇게 해롭게 보이지 않는다.

[0417] 몇몇 실시형태에서, 상부 힌지, 코어 힌지 및 하부 힌지를 포함하는 미니바디 또는 이중 특이성 미니바디의 힌지는 표 3에 나타난 바와 같이 상부 힌지 서열들 중 임의의 하나, 코어 힌지 서열들 중 임의의 하나 및 하부 힌지 서열들 중 임의의 하나를 조합함으로써 생성될 수 있다.

[0418] 몇몇 실시형태에서, 상기 힌지 내의 첫 번째 시스테인 잔기는 임의의 아미노산으로 변경될 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 상기 상부 힌지 내의 하나의 시스테인 잔기는 임의의 아미노산으로 변경될 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 상기 코어 힌지 내의 하나의 시스테인 잔기는 임의의 아미노산으로 변경될 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 상기 하부 힌지 내의 하나의 시스테인 잔기는 임의의 아미노산으로 변경될 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 상기 상부 힌지 내의 하나의 시스테인 잔기 및 상기 코어 힌지 내의 하나의 시스테인 잔기는 임의의 아미노산으로 변경될 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 상기 상부 힌지 내의 하나의 시스테인 및 상기 코어 힌지 내의 2개의 시스테인 잔기는 임의의 아미노산으로 변경될 수 있다.

[0419] 실시예를 위한 구조체의 서열들은 하기 실시예 부분에서 적절하게 토의되어 있으며, 표 0.2에 또한 제공된다.

[0420] 실시예 1: 미니바디 구조

[0421] 미니바디는 약 80kDa의 2가의 공유결합된 동중 이량체이다. 단량체(반분자) 각각은 대략 15개 내지 18개의 아미노산으로 이루어진 Gly-Ser-풍부 링커 서열에 의해 상기 상응하는 가변 경쇄(V_L) 도메인에 연결된 가변 중쇄(V_H) 도메인으로 구성된다. 단일 사슬 가변 단편(scFv) 각각은 힌지 서열에 의해 인간 IgG C_H3 도메인에 연결된다.

[0422] 상기 힌지의 이황화 결합을 포함하는 서열들은 중요하며, 생체 내에서 이량체 완전성을 유지하기 위해 그리고 부위-특이적 접합을 위해 가능한 부위로서 충분한 개수의 시스테인 쌍을 함유할 뿐만 아니라 단백질의 기타 영역에 존재하는 시스테인 잔기와의 바람직하지 못한 이황화 스스캐블링을 예방하기 위해 설계되었다.

[0423] 최근까지, 대부분의 미니바디는 도 1에 도시된 바와 같이 인간 IgG1 C_H3 도메인에 연결된 연장 서열을 갖는 천연 인간 IgG1 상부 및 코어 힌지 영역을 사용하여 조작되었다. 하기 실시예에서 나열된 바와 같이, V_L - V_H (M1) 및 V_H - V_L (M2) 배향 둘 모두를 갖는 scFv 변이체들은 종종 다양한 표적 분자에 대해 평가되었다.

[0424] 인간 IgG1에 기초한 조작

[0425] 이전의 힌지(예를 들어, $\gamma 1$ EH1)에서, 상기 힌지(도 2의 상단) 내의 첫 번째 시스테인은 문제를 야기하며, 이

러한 문제는 LC/MS를 이용한 원형 질량 분석 결과에 의해 증명된 바와 같이 단백질 이중성을 초래하였다. 상기 힌지 영역 내의 시스테인의 명백한 중요성에도 불구하고, 이러한 시스테인을 세린으로 돌연 변이시키기로 결정되었으며, 그 결과 γ 1 EH2 힌지(도 2의 하단)를 초래하였다. 그러나 상기 코어 힌지(도 2의 하단) 내의 2개의 나머지 시스테인 잔기 사이에 형성된 2개의 이황화 결합이 생체 내에서 이량체 안정성을 유지하는데 적절하지 않은 것으로 나타났기 때문에 이러한 힌지 구조체는 특정 목적하는 양태를 구현하지 못한 것으로 확인되었다.

[0426] IgG1 힌지 서열에 의한 문제점을 극복하기 위한 IgG2 Mb

새롭게 도입된 상술한 양태를 제시하기 위해, 상기 미니바디는 추가로 조작된다. 연장 서열을 갖는 huIgG2에 기초한 조작된 미니바디는 이황화 결합을 증가시키고 단백질 안정성을 증가시키기 위해 상기 코어 힌지 내의 세 번째 시스테인(IgG1 천연 코어 힌지에 대한 부가적인 시스테인)을 제공하였다. IAB2M 및 IAB22M의 HuIgG2 미니바디는 상기 huIgG2 C_H3 도메인에 연결된 인간 IgG2(huIgG2) 힌지 서열을 이용하여 조작되었다.

상기 하부 힌지(γ 2 EH1)로서 연장 서열과 조합된 천연 IgG2 상부 및 코어 힌지 서열들에서, 집성체의 증가가 관측되었다. 반응성 시스테인(도 3의 상단; 상기 힌지의 첫 번째 시스테인)은 도 5a에 도시된 SDS-PAGE 분석에 의해 관측할 때 huIgG2 천연 힌지(도 3의 상단)와 함께 형성된 IAB2M- γ 2 EH1 포맷에서의 콘카테머 형성에 책임이 있었다.

따라서 IgG1 힌지(γ 1 EH1)에 대해 수행되었던 바와 유사하게, 상기 힌지 내의 첫 번째 시스테인(이는 경쇄와 쌍을 이룸)은 세린으로 돌연 변이되었으며, 그 결과 IgG2 EH2(γ 2 EH2)(도 3의 하단)를 초래하였다. 이러한 힌지(γ 2 EH2)를 갖는 항원 결합 구조체들은 잘 발현되며, 양호한 생체 내 안정성을 나타냈다. 상기 코어 힌지 내의 3개의 이황화 결합 모두는 질량 분광분석법에 의해 검출할 때 적절히 형성하였다. 안정성은 γ 2 EH2를 갖는 IAB2M 및 IAB22M 구조체 둘 모두를 이용하여 증명되었다.

세린으로 변경된 첫 번째 시스테인을 갖고 천연 상부 및 하부 힌지 서열(γ 2 NH2)을 갖는 추가로 조작된 huIgG2 미니바디가 평가되었으며, 단백질은 생체 내에서 안정한 것으로 밝혀졌다(도 4의 하단).

[0431] 실시예 2: IAB2M에 대한 시험관 내 데이터

표 1에는 IAB2M 변이체(서열번호는 도 5b 내지 도 5e에 도시되어 있음)들의 개요가 나타나 있다. IAB2M 변이체들의 부가적인 실시형태는 도 47 내지 도 53에 도시되어 있다.

표 1

명칭	Cys-Ser 힌지 돌연 변이	말단 Lys의 제거	N-말단 내지 C-말단(서열번호)
IAB2M- γ 1 EH1	아니오	아니오	VL(서열번호 13); 링커(서열번호 62); VH(서열번호 14); 전체 힌지(서열번호 22)[상부 힌지(서열번호 45), 코어 힌지(서열번호 50), 하부 힌지(서열번호 59)]; IgG1 CH3(서열번호 40 또는 서열번호 41)
IAB2M- γ 1 EH2	예	예	VL(서열번호 13); 링커(서열번호 62); VH(서열번호 14); 전체 힌지(서열번호 24)[상부 힌지(서열번호 46), 코어 힌지(서열번호 50), 하부 힌지(서열번호 59)]; IgG1 CH3(서열번호 40 또는 서열번호 41)
IAB2M- γ 2 EH1	예	예	VL(서열번호 13); 링커(서열번호 62); VH(서열번호 14); 전체 힌지(서열번호 32)[상부 힌지(서열번호 47), 코어 힌지(서열번호 55), 하부 힌지(서열번호 59)]; IgG2 CH3(서열번호 42)
IAB2M- γ 2 EH2	예	예	VL(서열번호 13); 링커(서열번호 62); VH(서열번호 14); 전체 힌지(서열번호 34)[상부 힌지(서열번호 47), 코어 힌지(서열번호 56), 하부 힌지(서열번호 59)]; IgG2 CH3(서열번호 42)

힌지 변이체인 γ 1 EH1, γ 1 EH2 및 γ 2 EH1 및 γ 2 EH2를 갖는 IAB2M의 SDS-PAGE 분석(도 5a)에 따르면 반분자 대 이량체 비율은 상기 EH2 변이체 내의 첫 번째 힌지 시스테인의 돌연 변이와 함께 상당히 향상된 것으로 나타났다(반분자는 20% 내지 30%에서 1% 미만으로 감소할 수 있음). 상기 γ 2 EH2 버전은 적절한 이황화 결합을 갖지만 γ 2 EH1(도 5b 내지 도 5e에 도시된 서열번호)에 비해 콘카테머를 갖지 않았다. 상기 코어 힌지 내의 부가적인 시스테인(2개가 아닌 3개)의 존재로 인해, 상기 γ 2 EH2 힌지 변이체는 향상된 안정성을 나타냈으며, 상기 γ 1 EH2 힌지 변이체와 비교하여 보다 적은 반분자가 존재하였다.

반분자의 존재에 대한 확인은 원형 질량 분석에 의해 이루어졌다. 단백질 시료들은 60°C에서 TSKgel 페닐-5PW 칼럼(2 x 75mm, 토쇼 바이오사이언시스(Tosoh Biosciences))을 이용하여 역상 조건 하에서 분리되고, 애질런트

(Agilent) ESI-QTOF 모델 6538에 의해 분석되었다. 도 6a는 IAB2M γ 1 EH1 변이체의 원형 질량 분석을 나타낸다. 상기 분리된 반분자 및 실치수 분자의 총 이온 크로마토그램은 상부 패널에 나타나 있다. UV280 트레이스(trace; 미도시)는 피크 통합(peak integration)에 의해 미니바디 변이체 내에 존재하는 반분자의 비율(%)을 정량화하기 위해 사용되었다. 탈회선된 질량은 배치를 위해 사용되었으며, 반분자(중간 패널)의 동일성 및 실치수 질량(하부 패널)의 동일성을 확인하였다. 도 6b는 IAB2M γ 2 EH1 변이체의 원형 질량 분석을 나타낸다. 상부 패널은 역상 조건 하의 총 이온 크로마토그램을 나타낸다. 중간 패널은 반분자의 존재를 확인한 탈회선된 원형 질량을 나타내고, 하부 패널은 확인된 실치수 분자 질량을 나타낸다. 도 6c는 IAB2M γ 1 EH2 변이체의 원형 질량 분석을 나타낸다. 상부 패널은 역상 조건 하의 총 이온 크로마토그램을 나타낸다. 중간 패널은 반분자의 존재를 확인한 탈회선된 원형 질량을 나타내고, 하부 패널은 확인된 실치수 분자 질량을 나타낸다. 도 6d는 IAB2M γ 2 EH2 변이체의 원형 질량 분석을 나타낸다. 상부 패널은 총 이온 크로마토그램을 나타낸다. 하부 패널은 실치수 질량 분자의 존재를 확인한 탈회선된 원형 질량을 나타낸다. 어떠한 반분자도 검출되지 않았다.

[0436] IAB2M 변이체의 FAC 분석(도 7a 및 도 7b)에 따르면 이전에 사용된 표준 힌지인 γ 1 EH1로부터 상기 힌지를 변경하여도 LNCap-AR 세포(도 5b, 도 5c, 도 5d) 및 C4-2 XCL 세포(도 5b, 도 5c, 도 5e, 도 7c) 중 하나 상에 발현된 표적 항원에 대한 결합 친화도에 영향을 미치지 않았다.

[0437] 반분자 형성에 대한 이해를 도와주는 이황화물 매핑에 있어서, 트리스(pH 7.5) 중의 6M 구아니딘 HCl로 단백질을 변성시킴으로써 시료를 제조하였다. 여기에 4-비닐피리딘을 30mM의 농도까지 첨가한 후, 암실에서 1시간 동안 배양하여 유리 시스템을 캡핑(capping)하였다. 상기 용액을 희석하여 구아니딘의 농도를 1M로 만든 후, 트립신/Lys-C를 이용하여 분해하였다. 상기 분해는 37°C에서 하룻밤 동안 진행되도록 하였다. 상기 시료를 냉동시키고, 분리 이전에 습기를 제거하였다. 이 다음에는 펩티드 혼합물이 원터스 엑스브릿지(Waters Xbridge) BEH130 C18 4.6 x 150mm 칼럼 상의 구배를 이용하여 90% 아세트니트릴 중의 0.05% TFA의 구배로 0.05% 수성 TFA 내에서 분리되는 LC/MS가 수행되었으며, 질량은 양성 모드로 ESI-QTOF 질량 분광계 6538(애질런트)을 이용하여 확인되었으며, 애질런트 매스헌터(Agilent Mass Hunter) 소프트웨어를 이용하여 탈회선되었다. IAB2M γ 1 EH1 이량체 내에서 확인된 이황화물 함유 펩티드는 도 8에 도시되어 있다.

[0438] IAB2M γ 1 EH1의 이황화물 매핑에서는 상기 힌지 영역 내의 적절히 형성된 이황화물, 예를 들어 예상 이황화물의 존재가 증명되었으며, 또한 이황화 스क्र램블링이 검출되었다. 도 8은 확인된 이황화물의 표를 나타내는 반면, 도 9는 상기 결과의 예시도를 나타낸다. 상기 이황화물(도 8)은 예상 시스테인 잔기(서열번호 183 및 서열번호 184의 시스테인; 서열번호 183 및 서열번호 185; 서열번호 186의 시스테인)들 사이에서 나타났으며, 상기 단백질의 기타 도메인에 존재하는 예상치 못한 시스테인 잔기들 사이에서 나타났다. 상기 힌지 내의 쌍을 이루지 못한 시스테인은 이황화 스क्र램블링을 야기하며, 이로 인해 통상적인 이황화물 형성(실선)이 이루어지지 않는 것으로 가정되었다(도 9). 더욱이, V_H 이황화물은 아마도 트립신성 이황화 결합 펩티드의 비이온화로 인해 질량 분광계에서 관측되지 않았다(점선)(그리고 이로 인해 검출되지 않음)(도 9).

[0439] huIgG2 EH1(γ 2 EH1)에 대한 재포매팅은 IAB2M의 안정성을 향상시키지 않았다. 도 10은 상기 확인된 이황화물의 그래프 도면을 나타낸다. γ 2 EH1에 대해 유의한 콘카테머 형성이 SDS-PAGE에 의해 관측되었다(도 5a). IAB2M γ 1 EH1에서와 같이, 상기 V_H 이황화물은 아마도 트립신성 이황화 결합 펩티드의 비효율적인 이온화로 인해 관측되지 않았으며(점선), 따라서 질량 분광계에서 검출되지 않았다. IAB2M γ 2 EH1(도 5d)은 10% 초과반분자(39,469.5Da: LC/MS에 의한 측정)를 나타냈다(도 10 및 도 6b). 우세한 반분자(1번 피크)는 도 10의 패널(A) 및 패널(B) 상에 나타난 바와 같이 크로마토그램으로 나타났다. 도 6a(상부 패널)는 1번 및 2번 피크가 각각 반분자 및 실치수 분자인 IAB2M γ 1 EH1의 총 이온 전류(TIC) 크로마토그램을 나타낸다. 도 6a의 중간 패널은 피크 통합에 의한 UV280 채널을 나타내며, 이는 반분자의 비율(%)이 11.1%임을 결정하는 것을 가능케 한다. 도 6a(하부 패널)는 2번 피크를 포함하는 분자 질량을 나타낸다.

[0440] 실시예 3: IAB2M에 대한 생체 내 데이터

[0441] ^{89}Zr -Df-IAB2M- γ 1 EH1(도 5b)의 PET/CT 및 생물 분포는 누드 마우스에서 수행되었다. 24시간 및 48시간에 ^{89}Zr -Df-IAB2M- γ 1 EH1의 투여 이후에 우측 어깨 상에 PSMA-양성 22Rv1 이종 이식편을 갖고 있는 누드 마우스의 MIP PET/CT 이미지는 도 11a에 도시되어 있다. 48시간에 3마리의 마우스로부터 유래한 조직에서의 평균 방사성 흡수는 그림 당 주사량(ID/g)의 비율(%)로서 나타낸다(도 11b). 중앙 흡수는 상대적으로 낮고($6.1 \pm 1.2\%$ ID/g), 신장 흡수는 높았으며($23.3 \pm 6.2\%$ ID/g); 간 흡수($14.1 \pm 1.6\%$ ID/g)에 비해 거의 2배 높았다. 상기 미니바디가 생체 내에서 이량체로 잔류하는 경우, 단백질 제거는 간을 통해 일어날 수 있는 것으로 예상될 수 있다. 신장 신호가

간 신호보다 높다는 것은 생체 내 불안정 및 반분자 형성을 암시하였다.

[0442] ^{89}Zr -Df-IAB2M- γ 1 EH2(도 5c)의 PET/CT 및 생물 분포는 누드 마우스에서 수행되었다. 24시간 및 47시간에 ^{89}Zr -Df-IAB2M- γ 1 EH2의 투여 이후에 우측 어깨 상에 PSMA-양성 22Rv1 이종 이식편을 갖고 있는 누드 마우스의 MIP PET/CT 이미지는 도 12a에 도시되어 있다. 47시간에 2마리의 마우스로부터 유래한 조직에서의 방사성 흡수는 그램 당 주사량(ID/g)의 비율(%)로서 나타낸다(도 12b). 또한 2배 내지 3배 더 높은 방사성 흡수가 신장에서 나타났다. 상기와 같이, 신장 신호가 간 신호보다 높다는 것은 생체 내 불안정 및 반분자 형성을 암시하였다.

[0443] ^{89}Zr -Df-IAB2M- γ 2 EH2(도 5d)의 PET/CT 및 생물 분포는 누드 마우스에서 수행되었다. 24시간 및 47시간에 ^{89}Zr -Df-IAB2M- γ 2 EH2의 투여 이후에 우측 어깨 상에 PSMA-양성 22Rv1 이종 이식편을 갖고 있는 누드 마우스의 MIP PET/CT 이미지는 도 13a에 도시되어 있다. 47시간에 2마리의 마우스로부터 유래한 조직에서의 방사성 흡수는 그램 당 주사량(ID/g)의 비율(%)로서 나타낸다(도 13b). 1 미만의 신장 대 간 비율과 함께 낮은 신장 흡수가 수득되었으며, 이는 γ 1 EH2가 안정한 단백질을 나타냈다.

[0444] **실시예 4: IAB2M 생체 내 연구에 대한 요약(표 2)**

[0445] IgG1의 힌지 영역으로부터 유래한 힌지 서열을 이용하여 제조된 미니바디들은 신장을 통해 높은 제거율을 나타냈으며, 이는 단백질의 생체 내 불안정 및 반분자로의 해리를 암시하였다(도 11).

[0446] 기타 쌍을 이루지 못한 시스템과의 원하지 않은 상호작용을 예방하기 위해 상기 IgG1 힌지 영역(γ 1 EH2)(도 5c)에서 첫 번째 힌지 시스테인의 세린으로의 돌연 변이로 인해 시험관 내에서 보다 양호한 프로파일을 갖는 단백질이 생성되었다(예를 들어, 도 5의 SDS-PAGE 데이터). 그러나 상기 신장을 통한 높은 제거는 단백질의 생체 내 불안정 및 반분자로의 해리를 암시하였다(도 12).

[0447] 첫 번째 힌지 시스테인이 세린으로 돌연 변이된 IgG2 힌지(γ 2 EH2(도 5d) 등(힌지 영역에 대한 요약이 나타나 있는 표 3))를 이용하여 제조된 미니바디는 약 80kDa의 단백질에 대해 예상된 바와 같이 간을 통해 제거되었으며, 이는 상기 분자가 생체 내에서 온전하게 잔류한다는 것을 나타냈다(도 13a 및 도 13b). 그 결과는 또한 표 2에 나타나 있다.

표 2

[0448]

	접합 전략	종양 모델	마우스 계통	시간	종양(%ID/g)	신장(%ID/g)	간(%ID/g)	N-말단 내지 C-말단(서열번호)
IAB2M- γ 1 EH1	^{89}Zr -Df-Lys	22Rv1	누드	48시간	6.1%	23.3%	14%	VL(서열번호 13); 링커(서열번호 62); VH(서열번호 14); 전체 힌지(서열번호 22)[상부 힌지(서열번호 45), 코어 힌지(서열번호 50), 하부 힌지(서열번호 59)]; IgG1 CH3(서열번호 40 또는 서열번호 41)
IAB2M- γ 1 EH1	^{89}Zr -Df-Lys	22Rv1	누드	48시간	9.3%	26%	16.3%	VL(서열번호 13); 링커(서열번호 62); VH(서열번호 14); 전체 힌지(서열번호 22)[상부 힌지(서열번호 45), 코어 힌지(서열번호 50), 하부 힌지(서열번호 59)]; IgG1 CH3(서열번호 40 또는 서열번호 41)
IAB2M- γ 1 EH2	^{89}Zr -Df-Lys	22Rv1	누드	48시간	9.4%	23.5%	9.9%	VL(서열번호 13); 링커(서열번호 62); VH(서열번호 14); 전체 힌지(서열번호 24)[상부 힌지(서열번호 46), 코어 힌지(서열번호 50), 하부 힌지(서열번호 59)]; IgG1 CH3(서열번호 40 또는 서열번호 41)
IAB2M- γ 2 EH2	^{89}Zr -Df-Lys	22Rv1	누드	48시간	7.8%	3.6%	5.1%	VL(서열번호 13); 링커(서열번호 62); VH(서열번호 14); 전체 힌지(서열번호 34)[상부 힌지(서열번호 47), 코어 힌지(서열번호 56), 하부 힌지(서열번호 59)]; IgG2 CH3(서열번호 42)

표 3

	N-말단 내지 C-말단				
힌지 명칭	전체 힌지			CH3 도메인	
	상부 힌지	코어 힌지	하부 힌지		
γ 1 EH1	전체 힌지(서열번호 22)			γ 1(서열번호 40 또는 서열번호 41)	천연 상부 및 코어 IgG1 힌지
	EPKSCDKTHT(서열번호 45)	CPPC(서열번호 50)	GGGSSGGGSG(서열번호 59)		
γ 1 EH2	전체 힌지(서열번호 24)			γ 1(서열번호 40 또는 서열번호 41)	C → S
	EPKSSDKTHT(서열번호 46)	CPPC(서열번호 50)	GGGSSGGGSG(서열번호 59)		
γ 1 EH3	전체 힌지(서열번호 26)			γ 1(서열번호 40 또는 서열번호 41)	C → S
	EPKSSDKTHT(서열번호 46)	CPPCPPC(서열번호 52)	GGGSSGGGSG(서열번호 59)		
γ 1 EH4	전체 힌지(서열번호 28)			γ 1(서열번호 40 또는 서열번호 41)	C → S
	EPKSSDKTHT(서열번호 46)	CPPCVECPPC(서열번호 53)	GGGSSGGGSG(서열번호 59)		
γ 1 EH5	전체 힌지(서열번호 30)			γ 1(서열번호 40 또는 서열번호 41)	C → S
	EPKSSDKTHT(서열번호 46)	CPPCPPPPC(서열번호 54)	GGGSSGGGSG(서열번호 59)		
γ 2 EH1	전체 힌지(서열번호 32)			γ 2(서열번호 42)	천연 상부 및 코어 IgG2 힌지
	ERK(서열번호 47)	CCVECPPCP(서열번호 55)	GGGSSGGGSG(서열번호 59)		
γ 2 EH2	전체 힌지(서열번호 34)			γ 2(서열번호 42)	C → S
	ERK(서열번호 47)	SCVECPPCP(서열번호 56)	GGGSSGGGSG(서열번호 59)		
γ 2 EH2	전체 힌지(서열번호 34)			γ 2(서열번호 181)	T26S, L28A, M57V
	ERK(서열번호 47)	SCVECPPCP(서열번호 56)	GGGSSGGGSG(서열번호 59)		
γ 2 EH2	전체 힌지(서열번호 34)			γ 2(서열번호 182)	T26W
	ERK(서열번호 47)	SCVECPPCP(서열번호 56)	GGGSSGGGSG(서열번호 59)		
γ 2 NH1	전체 힌지(서열번호 31)			γ 2(서열번호 42)	천연 IgG2 힌지
	ERK(서열번호 47)	CCVECPPCP(서열번호 55)	APPVAGP(서열번호 60)		
γ 2 NH2	전체 힌지(서열번호 33)			γ 2(서열번호 42)	C → S
	ERK(서열번호 47)	SCVECPPCP(서열번호 56)	APPVAGP(서열번호 60)		
γ 3/ γ 1 EH6	전체 힌지(서열번호 35)			γ 1(서열번호 40 또는 서열번호 41)	천연 γ 3 상부 힌지
	ELKTPLGDTTHT(서열번호 48)	CVCEPPCP(서열번호 57)	GGGSSGGGSG(서열번호 59)		
γ 3/ γ 1 EH7	전체 힌지(서열번호 36)			γ 1(서열번호 40 또는 서열번호 41)	천연 γ 3 상부 힌지
	ELKTPLGDTTHT(서열번호 48)	CPPCPPC(서열번호 52)	GGGSSGGGSG(서열번호 59)		
γ 3/ γ 1 EH8	전체 힌지(서열번호 37)			γ 1(서열번호 40 또는 서열번호 41)	천연 γ 3 상부 힌지
	ELKTPLGDTTHT(서열번호 48)	CPPCPPPPC(서열번호 54)	GGGSSGGGSG(서열번호 59)		
γ 1 NH11 NH1	EPKSCDKTHT(서열번호 45)	CPPC(서열번호 50)	APELLGGP(서열번호 58)	γ 1(서열번호 40 또는 서열번호 41)	천연 γ 1 힌지
γ 3 NH13 NH1	ELKTPLGDTTHT(서열번호 48)	CPRCP (EPKSCDTPPPCPRCP) ₃ (서열번호 256)	APELLGGP(서열번호 58)	γ 3(서열번호 43)	천연 γ 3 힌지

실시예 5: IAB22M IGG2 미니바디에 대한 시험관 내 데이터

IAB22M-γ 2 EH1 변이체(도 14b)의 원형 질량 분석(도 14a)은 질량 분광분석법에 의해 수행되었다. γ 2 EH1 힌지를 갖는 IAB22M은 잠재적인 쌍을 이루지 못한 첫 번째 힌지 시스템을 가졌으며, 이는 약 9.2%의 반분자를 초래하였다(도 20b). IAB22M γ 2 EH1의 원형 질량 분석에 있어서, 시료들은 60℃에서 역상 크로마토그래피 칼럼

(TSKgel 페널-5PW(토쇼, 2 x 75mm)에 의해 분리되었으며, 애질런트 ESI-QTOF 질량 분광계에 의해 분석되었다. 도 14a는 상부 패널에서 상기 분리된 반분자 및 실치수 분자의 총 이온 크로마토그램을 나타낸다. UV280 트레이스(미도시)는 피크 통합에 의해 상기 미니바디 변이체에 존재하는 반분자의 비율(%)을 정량화하기 위해 사용되었다. 탈회선된 질량은 배치를 위해 사용되었으며, 반분자(중간 패널)의 동일성 및 실치수 질량(하부 패널)의 동일성을 확인하였다.

[0452] 그러나 상기 IgG2 힌지 내의 첫 번째 시스테인이 세린으로 돌연 변이된 IAB22M1- γ 2 EH2 변이체(도 15b)의 원형 질량 분석(도 15a)에 따르면 γ 2 EH2를 갖는 99% 초과인 이량체성 단백질(이론적 MW = 79051.2; 수득된 MW = 79,052)이 나타났다. IAB22M1 γ 2 EH2의 원형 질량 분석에 있어서, 단백질 시료는 원터스 나노액커티(Waters nanoAcquity) UPLC에 결합된 트리자익 나노ESI(Trizaic nanoESI) 소스가 구비된 워터스 시냅트(Waters Synapt) G2 HDMS로 이루어진 LC/MS에 의해 분석되었다. 상기 단백질은 물 중의 0.1% 포름산 및 아세트오니트릴 중의 0.1% 포름산을 이동상으로 사용하여 3 μ l/분으로 작동하는 역상 C4 나노틸 칼럼(Nanotile column; 150 μ m ID x 50mm, 워터스)을 이용하여 분리되었다. 도 15a의 상부 패널은 실치수 미니바디의 단일의 우세한 분자 질량을 나타낸 전체 범위 스캔을 나타낸다. 도 15a의 중간 패널은 이량체, 예를 들어 실치수 단백질의 확대 영역을 나타낸다. 도 15a의 하부 패널은 반분자들의 확대 영역을 나타낸다. 반분자가 검출되지만, 이의 상대적인 빈도는 상기 실치수 단백질보다 거의 세 자릿수 정도 낮다.

[0453] 실시예 6: IAB22M IGG2 MB에 대한 생체 내 데이터

[0454] huIgG1 및 huIgG2 유래 힌지 서열들과 IAB22M Mb의 비교는 ⁸⁹Zr-Df-IAB22M 변이체의 PET/CT에 의해 수행되었다. ⁸⁹Zr-Df-IAB22M- γ 1-EH1(도 16b), - γ 2 NH1(도 16c) 및 - γ 2 EH2(도 15b) 변이체들의 투여 이후 좌측 어깨 상에 CD8-양성 HPB-ALL 이종 이식편을 갖고 있는 NOD-SCID 마우스의 MIP PET/CT 이미지는 도 16a에 도시되어 있다. 상기 γ 2 힌지 변이체는 보다 낮은 신장 흡수를 초래하였다.

[0455] huIgG1 힌지(γ 1 EH1)(도 16b)를 이용하여 제조된 IAB22M Mb는 신장을 통해 신속하게 제거되었으며, 그 결과 종양 표적화의 감소를 초래하였다. huIgG2 힌지 변이체, 즉 연장된 힌지(γ 2 EH2)(도 15b) 또는 천연 힌지(γ 2 NH1)(도 16c)에 의해 제조된 IAB22M Mb는 높은 종양 표적화 및 보다 낮은 신장 제거와 함께 보다 높은 생체 내 안정성을 나타냈다(도 16a).

[0456] ⁸⁹Zr-Df-IAb22M- γ 1 EH1(도 16b)에 대해 HPB-ALL 종양의 PET/CT가 수행되었다. 4시간, 24시간 및 41시간에 항원-양성 HPB-ALL 종양을 갖는 한 마리의 마우스에 대한 일련의 관상 이미지는 도 17에 도시되어 있다. 방사성 흡수는 24시간 및 41시간에 상기 종양에서 명확히 관찰되었다. 일부 배경 활성이 또한 항원 음성 다우디 종양에서 관측되었다. 높은 배경 활성은 복부 영역에 존재하였으며, 이는 신장을 통한 원하지 않는 제거를 암시하였다.

[0457] HPB-ALL 종양(도 18)에서 ⁸⁹Zr-Df-IAb22M- γ 1 EH1(도 16b)에 대해 생물 분포 분석을 수행하였다. 상기 HPB-ALL에서의 종양 흡수는 다우디(다우디 종양은 표적 항원을 발현하지 않음)에 비해 약 6배 높았다. HPB-ALL 종양과 혈액 사이의 생물 분포 비율은 13.5이고, 다우디 종양과 혈액 사이의 생물 분포 비율은 3.5이었다. 신장 신호는 간 신호보다 높았으며, 이는 신장을 통한 보다 높은 제거(도 18) 및 덜 안정한 생체 내 구조체를 암시하였다.

[0458] 최적화된 미니바디를 조작하기 위해 사용된 초기 구조체로부터 학습된 교훈

[0459] 상기 결과에 따르면 시스테인 미스페어링을 예방하기 위해 첫 번째 힌지 시스테인을 돌연 변이시키는 것이 중요한 것으로 나타났다. 그러나 상기 힌지 영역 내에 2개 초과인 시스테인 잔기는 단백질의 구조적 완전성을 유지하는데 유리하다. IgG2 힌지를 이용하면 생체 내 안정성을 증가시키기 위한 해결안이 제공된다. 상기 Mb 구조체 내의 말단 리신(K)의 돌연 변이는 단백질 발현에 영향을 미치지 않았지만, 더욱 균일한 전하를 갖는 단백질을 생성하였다.

[0460] 부가적인 Mb 변이체들은 첫 번째 힌지 시스테인이 돌연 변이되고 적어도 3개의 시스테인 잔기가 상기 힌지 영역 내에 존재하는 IgG3 및 IgG1 힌지 서열의 개질에 기초하여 평가되었다. 표 3에는 힌지 변이체들의 목록이 나타나 있다. 상기 힌지 서열 내의 첫 번째 천연 시스테인은 세린 또는 알라닌 또는 임의의 기타 아미노산으로 돌연 변이될 수 있다. 상기 하부 힌지 서열은 γ 1, γ 2, γ 3 또는 γ 4로부터 유래한 연장 서열(8개 내지 25개의 아미노산) 또는 천연 하부 힌지일 수 있다. 임의의 구조체에 대한 C₆₃ 도메인은 γ 1, γ 2 또는 γ 3 또는 γ 4 및 이들의 임의의 자연적으로 발생하는 대립 유전자로부터 유래할 수 있다. 몇몇 힌지 변이체의 예시도는 도 19에 도

시되어 있다. IAB2M, IAB22M, IAB20M 및 IAB1M 구조체들은 발견 보편성을 증명하기 위해 평가되었다.

[0461] **실시예 7: IAB2M, IAB22M, IAB20M 및 IAB1M의 힌지 변이체에 대한 시험관 내 데이터**

[0462] IAB2M(도 20a)의 힌지 변이체(도 5b, 도 5c, 도 7c, 도 5e, 도 5d)들에 대해 원형 질량 분석을 수행하였다. 또한 IAB22M(도 20b)의 힌지 변이체(도 14b, 도 15b, 도 20c, 도 20d, 도 20e, 도 20f, 도 20g)들에 대한 원형 질량 분석을 수행하였다. 조작된 힌지(EH)를 갖는 발현된 미니바디는 물 중의 0.1% 포름산 및 아세트니트릴 중의 0.1% 포름산을 완충액으로 사용하여 3 μ l/분으로 작동하는 역상 C4 나노틸 칼럼(150 μ m ID x 50mm 길이)을 이용한 원터스 나노액터 UPLC에 결합된 트리자익 나노ESI 소스가 구비된 워터스 시넵트 G2 HDMS로 이루어진 LC/MS에 의해 상기 반분자의 원형 질량 및 양에 대해 분석하였다(도 20a 및 도 20b). 몇몇 분자에 있어서, 상기 시료는 역상 크로마토그래피 칼럼(TSKgel 페닐-5PW (토쇼, 2 x 75mm)에 의해 분리되었으며, 애질런트 ESI-QTOF 질량 분광계에 의해 분석되었다.

[0463] IAB2M 힌지 Mb 변이체(도 5c, 도 7c, 도 21b, 도 21c, 도 21d, 도 21e) 및 IAB22M 힌지 Mb 변이체(도 16b, 도 15b, 도 20c, 도 20d, 도 20e, 도 20f, 도 20g)들에 대한 SDS-PAGE 분석을 수행하였다. 상기 얻어진 데이터는 도 21a 및 도 22a에 나타나 있다.

[0464] 도 21a 및 도 22a의 SDS-PAGE 분석 데이터를 지지하기 위해 수득된 데이터에 대해 질량 분광분석법 분석을 수행하였다. 2개의 IAB22M 구조체는 반분자의 정확한 분자량 및 양, 및 번역후 개질, 예를 들어 C-말단 리신 클리핑을 확인하기 위해 질량 분광분석법을 이용하여 평가되었다. 상기 단백질 구조체들은 IgG1 서열(γ 1 EH2(도 22b) 및 γ 1 EH3(도 20c))로부터 유래한 조작된 힌지 EH2 및 EH3을 갖는 미니바디를 포함하고 있었다. EH2 힌지를 갖는 γ 1 미니바디는 온전한 이량체성 분자로 적절히 조립되었지만, 단지 2개의 시스테인이 포함되면 다량의 반분자를 갖는 단백질이 수득되었다. EH3 힌지를 갖는 γ 1 미니바디는 온전한 이량체성 분자로 적절히 조립되었으며, 세 번째 시스테인을 부가하면 매우 낮은 수준의 반분자를 갖는 단백질이 수득되었다.

[0465] 질량 분광분석법에 의한 IAB22M- γ 1 EH1(도 16b)의 원형 질량 분석은 도 23에 나타나 있다. 상기 수득된 분자 질량은 C-말단 클리핑을 나타냈다. 존재하는 3개의 종(MW:79,318.9, 79,450.1 및 79,575.1) 중 오직 하나만이 79,576의 예상 MW와 일치하였다. 상기 수득된 분자 질량은 C-말단 클리핑을 나타냈다. 존재하는 3개의 종(MW:79,318.9, 79,450.1 및 79,575.1) 중 오직 하나만이 79,576의 예상 MW와 일치하였다. 나머지는 1개의 C-말단 리신 또는 2개의 C-말단 리신 모두가 클리핑된 미니바디였다. 상기 힌지 내에 단지 2개의 이황화물을 이용하여 구성된 Mb는 높은 수준의 반분자(약 15%)를 생성하였다. IAB22M γ 1 EH1의 원형 질량 분석에 있어서, 상기 시료들은 역상 크로마토그래피 칼럼(TSKgel 페닐-5PW (토쇼, 2 x 75mm)에 의해 분리되었으며, 애질런트 ESI-QTOF 질량 분광계를 이용하여 분석되었다. 도 23은 상기 분리된 반분자 및 실치수 분자의 총 이온 크로마토그램을 나타낸다(상부 패널). UV280 트레이스(미도시)는 피크 통합에 의해 상기 미니바디 변이체에 존재하는 반분자의 비율(%)을 정량화하기 위해 사용되었다. 탈회선된 질량은 배치를 위해 사용되었으며, 반분자(중간 패널)의 동일성 및 실치수 질량(하부 패널)의 동일성을 확인하였다.

[0466] 질량 분광분석법에 의한 IAB22M- γ 1 EH3 변이체(도 20c)의 원형 질량 분석은 도 24에 나타나 있다. 이론적 MW는 79,946으로서, 79,946의 수득된 MW와 일치하였다. 개질된 IgG1 힌지를 상기 힌지 내의 3개의 이황화 결합을 이용하여 구성하면 99% 초과와 실치수 단백질을 갖는 미니바디가 수득되었다. 원형 질량 분석에 있어서, 아세트이트 완충액 내의 단백질 시료는 원터스 나노액터 UPLC에 결합된 트리자익 나노ESI가 구비된 워터스 시넵트 G2 HDMS로 이루어진 LC/MS에 의해 분석되었다. 상기 단백질은 물 중의 0.1% 포름산 및 아세트니트릴 중의 0.1% 포름산을 이동상으로 사용하여 3 μ l/분으로 작동하는 역상 C4 나노틸 칼럼(150 μ m ID x 50mm, 워터스)을 이용하여 분리되었다. 도 24(상부 패널)에는 전체 질량 범위 스캔을 나타낸다. 중간 패널을 온전한 분자 질량을 나타내는 확대 영역을 나타낸다. 하부 패널은 반분자를 나타내는 확대 영역을 나타낸다.

[0467] 표 9에는 5개의 IAB2M 힌지 변이체(상단: 도 5b 내지 도 5e, 도 7c) 및 7개의 IAB22M 힌지 변이체(하단: 도 14b, 도 15b, 도 20c, 도 20d; 도 20e, 도 43, 도 44)에 대한 이론적 예상 분자량(MW) 질량 및 원형 질량 분석에 의해 수득된 MW 질량, 및 반분자의 개개의 함량이 요약된 목록이 나타나 있다. 단백질의 실제 질량은 C-말단 리신 잔기들이 클리핑되고, 그 결과 MW 이중성이 초래되었다는 것을 제외하고는 이들의 이론적 산정 분자 질량과 일치하였다(도 6, 도 14a, 도 15a, 도 23 및 도 24).

표 9

[0468]

IAB2M 및 IAB22M의 원형 질량 분석에 의해 수득된 반분자 합량 (*C-말단 리신 클리핑이 이중성을 야기함)				
미니바디	구조체	예상 질량	수득 질량	반분자 비율(%)
IAB2M	IAB2M- γ 1 EH1	79433.6	79176.6,* 79304, 79433.1	7.6
	IAB2M- γ 2 EH1	79197.6	78938.7, 79069.7, 79195.9	11.1
	IAB2M- γ 1 EH2	79145	79148	7.1
	IAB2M2- γ 2 EH2	78909	78909.2	0.5 미만
	IAB2M2- γ 1 EH3	79739.8	79741.8	0.5 미만
IAB22M	IAB22M- γ 2 EH1	79576	79318.9, 79450.1, 79575.1	9.2
	IAB22M1- γ 2 EH2	79051.5	79053	0.5 미만
	IAB22M1- γ 1 EH3	79946.4	79947.5	0.1 미만
	IAB22M1- γ 1 EH5	80541.2	80540	0.1 미만
	IAB22M1- γ 3/ γ 1 EH6	80575.2	80576	0.5 미만
	IAB22M1- γ 1 EH7	80312.8	80313.3	0.5 미만
	IAB22M1- γ 1 EH8	80907.6	80907	0.5 미만

[0469]

IAB2M 힌지 변이체들(도 5e, 도 7c, 도 7d, 도 21b, 도 21c, 도 21d, 도 21e)에 대한 FAC 분석을 수행하였다. 미니바디 힌지 변이체 모두는 C4-2 XCL 세포 상에서 발현된 표적 항원에 대해 유사한 친화도로 결합되었다(도 26).

[0470]

IAB22M 힌지 변이체들(도 15b, 도 20c, 도 20d, 도 20e, 도 20f 및 도 20g)에 대한 FAC 분석을 수행하였다. 미니바디는 동일한 scFv 및 C_H3 도메인으로 제조되지만, 상이한 힌지 모두는 HPB-ALL 세포 상의 세포 표면 CD8에 유사한 친화도로 결합되었다(도 27).

[0471]

IAB20M 힌지 Mb 변이체(도 28b 내지 도 28e)에 대한 SDS-PAGE 분석(도 28a)을 수행하였으며, 그 결과 본원에 언급된 힌지 영역의 양태는 광범위한 표적 분자(예를 들어, 이는 상이한 표적 분자들에 지향하는 다양한 미니바디를 위해 작용함) 전반에 적용될 수 있는 것으로 추가로 확인되었다. IAB20M 변이체들의 부가적인 실시형태가 도 54 내지 도 59에 도시되어 있다.

[0472]

IAB1M 힌지 Mb 변이체(도 29b 내지 도 29d)에 대한 SDS-PAGE 분석(도 29a)을 수행하였으며, 그 결과 본원에 언급된 힌지 영역의 양태는 광범위한 표적 분자(예를 들어, 이는 상이한 표적 분자들에 지향하는 다양한 미니바디를 위해 작용함) 전반에 적용될 수 있는 것으로 추가로 확인되었다. IAB1M 변이체들의 부가적인 실시형태는 도 60 내지 도 65a, 도 65b 및 도 65c에 도시되어 있다.

[0473]

실시예 8: IAB22M의 힌지 변이체에 대한 생체 내 데이터

[0474]

상이한 힌지 서열(도 15b, 도 20c, 도 20d, 도 20f, 도 20g)을 갖는 ⁸⁹Zr-방사성 표지된 IAB22 Mb의 PET/CT 분석은 NOD-SCID 마우스에서 수행되었다. 24시간에 ⁸⁹Zr-표지된 Df-IAB22M 힌지 변이체의 투여 이후에 좌측 어깨 상에 CD8-양성 HPB-ALL 이종 이식편을 갖는 NOD-SCID 마우스의 MIP PET/CT 이미지들이 도 30에 도시되어 있다. 모든 새로운 힌지 변이체들은 보다 낮은 신장 흡수를 초래하였다. 17 내지 28%ID/g 범위의 양호한 종양 표적화는 힌지 변이체 모두에서 수득되었다. 전반적으로, 간 신호는 신장 신호와 유사하였다.

[0475]

도 30의 상이한 힌지 변이체를 갖는 ⁸⁹Zr-방사성 표지된 IAB22 Mb에 대한 생물 분포 분석(도 31)이 수행되었다. 상기 IAB22M 힌지 변이체들에 대해 유사한 생물 분포가 관측되었다. 우수한 종양 표적화 및 흡수는 γ 1 EH1과 비교하여 검출되었다. 이량체로 잔류하는 Mb에 대해 본원에서 제공된 데이터에 기초하여 예상되는 바와 같이 간을 통한 높은 제거가 관측되었다.

[0476]

실시예 9

[0477]

표 0.2에 나타낸 PSCA 미니바디는 상기 미니바디 상의 시스템인 잔기를 통해 적절한 킬레이트체에 접합되고, 후속적으로 In-111(또는 대안으로 지르코늄-89 또는 구리-64)의 동위원소로 방사성 표지된다. 대안적으로는, 상기 미니바디는 티로신 잔기를 통해 요오드로 직접 방사선 표지함으로써 방사성 표지될 수 있다.

[0478]

상기 미니바디는 건강한 인간 개체에 정맥 내로 주입된다. 상기 미니바디는 주입 후 10분 동안 인간 개체 내에

서 배양된다. 상기 배양과 동일한 날에 상기 미니바디의 국부화는 PET 스캔 또는 외부 섬광 시스템을 통해 검출된다.

[0479] 미니바디의 국부화는 상기 개체에서 증가된 수준의 PSMA의 국부화를 결정하기 위해 사용된다.

[0480] **실시예 10**

[0481] 표 0.2에 나타낸 PSMA 미니바디는 상기 미니바디 상의 시스템인 잔기를 통해 적절한 킬레이트제와 접합되고, 후속적으로 In-111(또는 대안으로 지르코늄-89 또는 구리-64)의 동위원소로 방사성 표지된다. 대안적으로는, 상기 미니바디는 티로신 잔기를 통해 요오드로 직접 방사선 표지함으로써 방사성 표지될 수 있다.

[0482] 상기 미니바디는 건강한 인간 개체에 정맥 내로 주입된다. 상기 미니바디는 주입 후 10분 동안 인간 개체 내에서 배양된다. 상기 배양과 동일한 날에 상기 미니바디의 국부화는 PET 스캔 또는 외부 섬광 시스템을 통해 검출된다.

[0483] 미니바디의 국부화는 상기 개체에서 증가된 수준의 PSMA의 국부화를 결정하기 위해 사용된다.

[0484] **실시예 11**

[0485] 표 0.2에 나타낸 PSMA 미니바디에 의한 PSMA-양성 종양의 성공적인 이미징 시에 상기 미니바디의 생물 분포는 본 발명의 실시형태에 따라 검토될 수 있다. 이들 생물 분포 연구에서는 주사 이후에 시간의 흐름에 따른 기타 선택된 조직 대비 종양 부위에서의 상기 미니바디의 국부화가 조사될 수 있다. 이들 연구는 높은 종양 대 배경 비율을 증명하기 위해 사용될 수 있다. 미니바디의 사용은 전립선암과 같이 PSMA를 과발현하는 종양을 이미징하는 경우에 높은 종양 대 배경 비율을 야기할 가능성이 있을 수 있다. 이들 이미징 및 생물 분포 실험으로부터의 양의 결과는 임상연구를 위한 준비에서 독성학 실험으로 이어질 수 있다.

[0486] 게다가, PET 이미징 연구에 의해 생체 내에서 인간 PSMA를 표적화하는 미니바디의 능력은 암 환자들에서 임상시험을 통해 증명될 수 있다. 간단히 말하면, 방사성 표지된 미니바디는 PSMA를 과발현하는 것으로 알려진 형태의 암을 앓고 있는 암 환자들에 정맥 내로 주사될 수 있다. 주사 후 특정 시점에 환자 각각은 PET에 의해 연속적으로 스캐닝될 수 있다. 최종 스캔 이후, 환자들은 해부학적 참고를 위해 CT에 의해 스캐닝될 수 있다. 이어 환자 각각에 대한 PET 및 CT 이미지는 종양 표적화 및 특이성을 평가하기 위해 분석될 수 있다.

[0487] **실시예 12**

[0488] 표 0.2에 나타낸 5T4 미니바디는 상기 미니바디 상의 시스템인 잔기를 통해 적절한 킬레이트제와 접합되고, 후속적으로는 In-111(또는 대안으로 지르코늄-89 또는 구리-64)의 동위원소로 방사성 표지된다. 대안적으로는, 상기 미니바디는 티로신 잔기를 통해 요오드로 직접 방사선 표지함으로써 방사성 표지될 수 있다.

[0489] 상기 미니바디는 건강한 인간 개체에 정맥 내로 주입된다. 상기 미니바디는 주입 후 10분 동안 인간 개체 내에서 배양된다. 상기 배양과 동일한 날에 상기 미니바디의 국부화는 PET 스캔 또는 외부 섬광 시스템을 통해 검출된다.

[0490] 미니바디의 국부화는 상기 개체에서 증가된 수준의 5T4의 국부화를 결정하기 위해 사용된다.

[0491] **실시예 13**

[0492] 표 0.2의 5T4 미니바디가 제공된다. 상기 미니바디는 개체에서 대장암, 신장암, 유방암, 난소암, 위암, 폐암 및/또는 전립선암의 증상의 완화를 제공하기 위해 상기 개체에서 충분한 수준의 5T4와 결합하기에 적절한 양으로 대장암, 신장암, 유방암, 난소암, 위암, 폐암 및/또는 전립선암을 앓고 있는 개체에 정맥 내로 주입된다.

[0493] **실시예 14**

[0494] 표 0.2에 나타낸 CD8 미니바디는 상기 미니바디의 시스템인 잔기를 통해 적절한 킬레이터와 접합되고, 후속적으로 In-111(또는 대안으로 지르코늄-89 또는 구리-64)의 동위원소로 방사성 표지된다. 대안적으로는, 상기 미니바디는 티로신 잔기를 통해 요오드로 직접 방사선 표지함으로써 방사성 표지될 수 있다.

[0495] 상기 미니바디는 건강한 인간 개체에 정맥 내로 주입된다. 상기 미니바디는 주입 후 10분 동안 인간 개체 내에서 배양된다. 상기 배양과 동일한 날에 상기 미니바디의 국부화는 PET 스캔 또는 외부 섬광 시스템을 통해 검출된다.

[0496] 미니바디의 국부화는 상기 개체에서 CD8의 국부화를 결정하기 위해 사용된다.

- [0497] **실시예 15**
- [0498] 표 0.2의 CD8 미니바디가 제공된다. 상기 미니바디는 건강한 인간 개체에 정맥 내로 주입된다.
- [0499] 상기 미니바디는 주입 후 1시간 동안 상기 인간 개체 내에서 배양된다. 상기 CD8 미니바디에 특이적으로 결합하고 ^{33}P 에 접합된 인간화 미니바디인 이차 항체가 제공된다. 상기 배양과 동일한 날에 상기 이차 항체는 개체에 주입된다. 상기 이차 항체는 1시간 동안 배양된다. 상기 미니바디의 국부화는 상기 이차 항체 상의 마커를 이용하여 PET 이미징을 통해 검출된다.
- [0500] 미니바디의 국부화는 상기 개체에서 CD8의 국부화를 결정하기 위해 사용된다.
- [0501] **실시예 16**
- [0502] 표 0.2의 CD8 미니바디가 제공된다. 상기 미니바디는 CD8 관련 질환의 증상의 완화를 제공하기 위해 개체에서 충분한 수준의 CD8과 결합하기에 적절한 양으로 CD8 관련 질환을 앓고 있는 개체에 정맥 내로 주입된다. 상기 미니바디는 이트림-90에 접합된다.
- [0503] **실시예 17**
- [0504] 표 0.2의 CD8 미니바디가 제공된다. 상기 미니바디는 전염병에 대한 항원으로 예방 접종하거나 종양 연관 항원으로 예방 접종한 환자에게 주입된다. CD8 지향 단편들은 면역 반응을 증가시키고, T 세포를 발현하는 CD8의 세포 용해 활성을 증강시킨다.
- [0505] **실시예 18**
- [0506] 표 0.2의 CD8 미니바디가 제공된다. 상기 미니바디는 CD8 관련 질환의 증상의 완화를 제공하기 위해 개체에서 충분한 수준의 CD8과 결합하기에 적절한 양으로 CD8 관련 질환을 앓고 있는 개체에 정맥 내로 주입된다. 상기 미니바디는 Lu-177에 접합된다. 상기 CD8 미니바디는 CD8을 발현하는 세포와 결합하고, 상기 Lu-177은 상기 세포의 살해를 초래한다.
- [0507] 상기 결과에 따르면, 상기 구조체들은 세포성 인간 CD8에 여전히 결합되어 있는 것으로 나타났다.
- [0508] **실시예 19**
- [0509] 표 0.2로부터의 CD3 미니바디는 상기 미니바디 상의 시스테인 잔기들을 통해 적절한 킬레이트제와 접합되며, 후속적으로 In-111(또는 대안으로 지르코늄-89 또는 구리-64)의 동위원소로 방사성 표지된다. 대안적으로는, 상기 미니바디는 티로신 잔기를 통해 요오드로 직접 방사선 표지함으로써 방사성 표지될 수 있다.
- [0510] 상기 미니바디는 건강한 인간 개체에 정맥 내로 주입된다. 상기 미니바디는 주입 후 10분 동안 인간 개체 내에서 배양된다. 배양하는 날과 동일한 날에 상기 미니바디의 국부화는 PET 스캔 또는 외부 섭광 시스템을 통해 검출된다.
- [0511] 미니바디의 국부화는 상기 개체에서 증가된 수준의 CD3의 국부화를 결정하기 위해 사용된다.
- [0512] **실시예 20**
- [0513] 표 0.2로부터의 CD3 미니바디가 제공된다. 개체에서 류머티스성 관절염의 증상의 완화를 제공하기 위해 상기 개체에서 충분한 수준의 CD3에 결합하기에 적합한 양으로 상기 미니바디를 류머티스성 관절염을 앓고 있는 개체에 정맥 내로 주입된다.
- [0514] **실시예 21**
- [0515] OKT3의 투여로 인해 받아들이기 어려울 정도로 강렬한 사이토카인 폭풍을 야기할 위험성이 있는 개체를 확인한다. 상기 개체가 CD3 의존 질환을 앓고 있기 때문에 상기 개체는 자신의 시스템에서 CD3 단백질의 수준을 감소시킬 필요성이 있다. 본원에서 제공된 CD3에 대한 미니바디들 중 하나가 선택되고, 사이토카인 폭풍이 발생하지 않으면서도 CD3에 대한 적절한 결합이 일어나기에 효과적인 수준으로 상기 개체에 투여된다.
- [0516] **실시예 22**
- [0517] 표 0.2의 인간화 CD3 미니바디가 제공된다. 상기 미니바디는 건강한 인간 개체에 정맥 내로 주입된다. 상기 미니바디는 주입 후 1시간 동안 인간 개체 내에서 배양된다. CD3 미니바디에 특이적으로 결합하고 ^{33}P 에 접합된 인

간화 미니바디인 이차 항체가 제공된다. 1시간 동안의 배양 직후, 상기 이차 항체는 개체 내로 주입한다. 상기 이차 항체는 1시간 동안 배양된다. 상기 이차 항체의 1시간 동안의 배양 직후, 상기 미니바디의 국부화는 PET 이미징을 통해 검출된다.

[0518] 미니바디의 국부화는 상기 개체에서 CD3 국부화를 결정하기 위해 사용된다.

[0519] **실시예 23**

[0520] OKT3의 투여로 인해 받아들이기 어려울 정도로 강렬한 사이토카인 폭풍을 야기할 위험성이 있는 개체를 확인한다. 상기 개체가 CD3 의존 질환을 앓고 있기 때문에 상기 개체는 자신의 시스템에서 CD3 단백질의 수준을 감소시킬 필요성이 있다. 본원의 실시예로부터 미니바디 또는 미니바디들 중 하나가 선택되고, 사이토카인 폭풍이 발생하지 않으면서도 CD3에 대한 적절한 결합이 일어나기에 효과적인 수준으로 상기 개체에 투여된다.

[0521] 필요한 경우, 상기 미니바디 또는 미니바디들은 CD3 의존 질환의 치료를 위해 치료제에 접합될 수 있다.

[0522] 상기 개체는 임의의 다수의 특정 CD3 의존 질환을 앓고 있을 수 있으며, 대안으로 각각은 류머티스성 관절염, 다발성 경화증, 1형 당뇨병 또는 홍반성 낭창일 수 있다.

[0523] **실시예 24**

[0524] 표 0.2의 PSMA 미니바디가 제공된다. PSMA 관련 질환의 증상의 완화를 제공하기 위해 개체에서 충분한 수준의 PSMA에 결합하기에 적합한 양으로 상기 미니바디를 상기 PSMA 관련 질환을 앓고 있는 개체에 정맥 내로 주입된다. 상기 미니바디는 이트림-90에 접합되어 있다.

[0525] **실시예 25**

[0526] 표 0.2의 PSMA 미니바디가 제공된다. PSMA 관련 질환의 증상의 완화를 제공하기 위해 개체에서 충분한 수준의 PSMA에 결합하기에 적합한 양으로 상기 미니바디를 상기 PSMA 관련 질환을 앓고 있는 개체에 정맥 내로 주입된다. 상기 미니바디는 이트림-90에 접합되어 있다.

[0527] 본 명세서에서 단수의 사용은 본원에서 달리 구체적으로 언급하지 않는 한 복수를 포함할 수 있으며, 본 발명을 고려하여 당해 기술분야의 숙련자에 의해 이해되는 바와 같이 단수는 단지 기능적인 실시형태이다. 따라서 예를 들어 "하나"는 하나 이상을 의미할 수 있고, "일 실시형태"는 상기 설명이 다수의 실시형태에 적용된다는 것을 의미할 수 있다.

[0528] 특허, 특허 명세서, 논문, 교과서 등을 포함한 본원에 인용된 모든 참고문헌, 및 이들이 아직까지 공개되지 않는 정도까지 본원에서 인용된 참고문헌들은 그 전체가 본원에서 참고로 인용된다. 상기 인용된 문헌 및 유사한 재료들 중 하나 이상은 본 출원서와 상이하거나 모순되는 경우에 본 명세서에 의해 제한되는 한정된 용어, 용어의 용례, 개시된 기법 등을 포함하지만 이에 제한되지 않는다.

[0529] 상술한 상세한 설명 및 실시예에서는 특정 실시형태들이 개시되어 있다. 그러나 본문에서 상술한 내용이 얼마나 상세하게 나타나 있을 수 있든지 간에 본 발명은 많은 방식으로 실시될 수 있으며, 본 발명은 첨부된 특허청구 범위 및 이의 임의의 등가물에 따라 구성되어야 하는 것으로 인지될 것이다.

도면

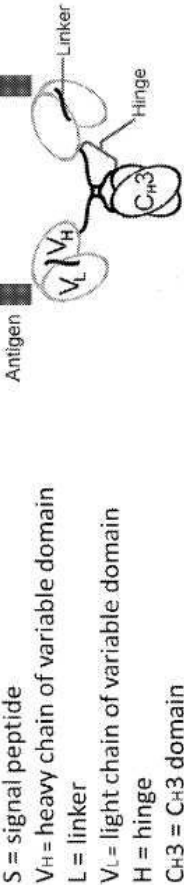
도면1

M1 orientation

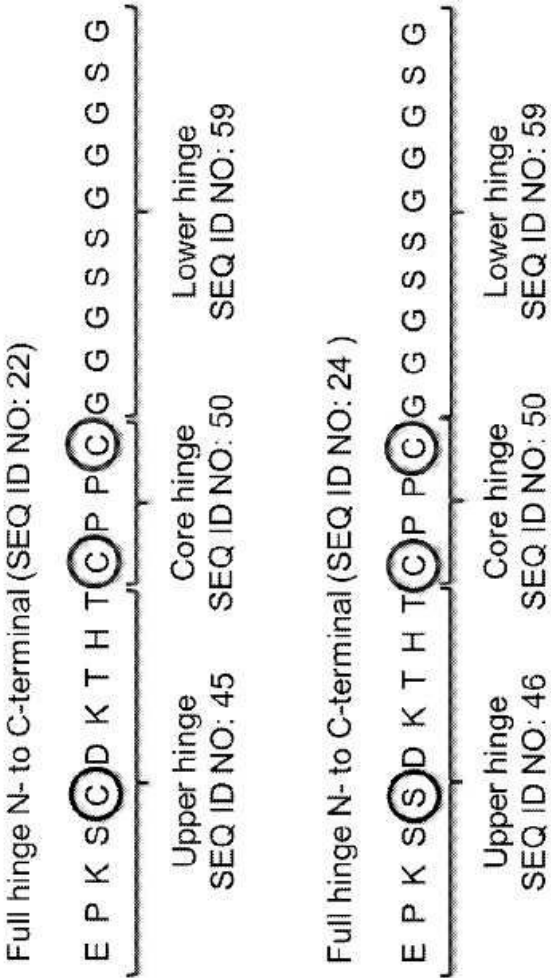
S	V _L	L	V _H	H	C _H 3
---	----------------	---	----------------	---	------------------

M2 orientation

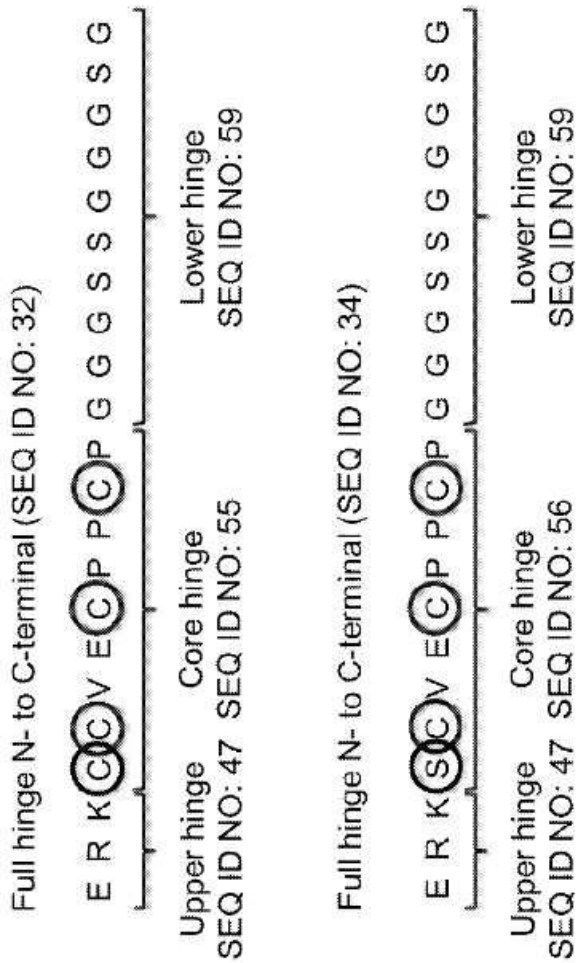
S	V _H	L	V _L	H	C _H 3
---	----------------	---	----------------	---	------------------



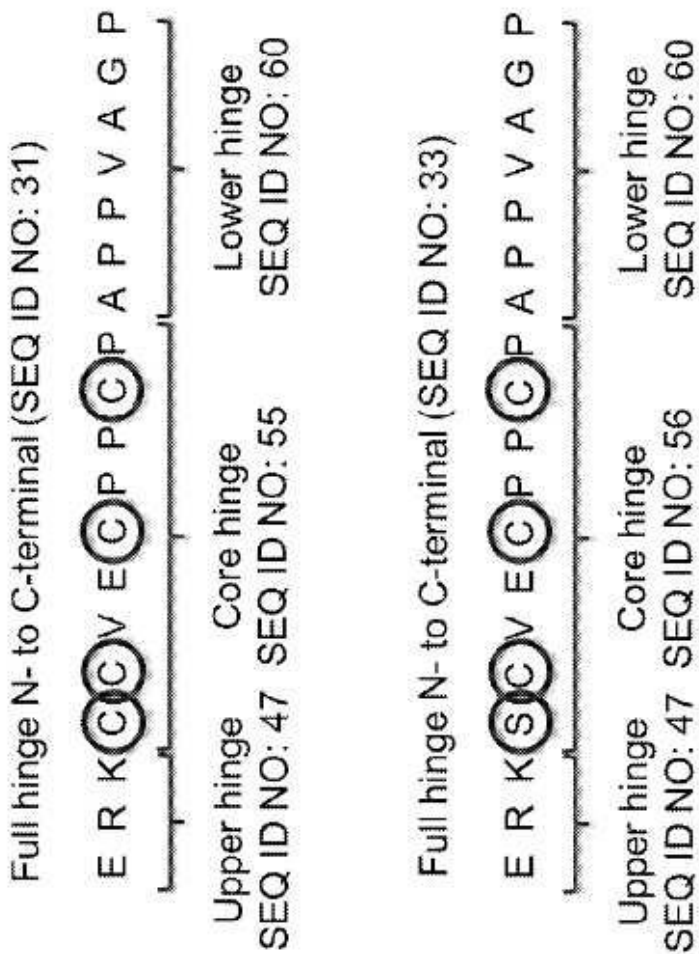
도면2



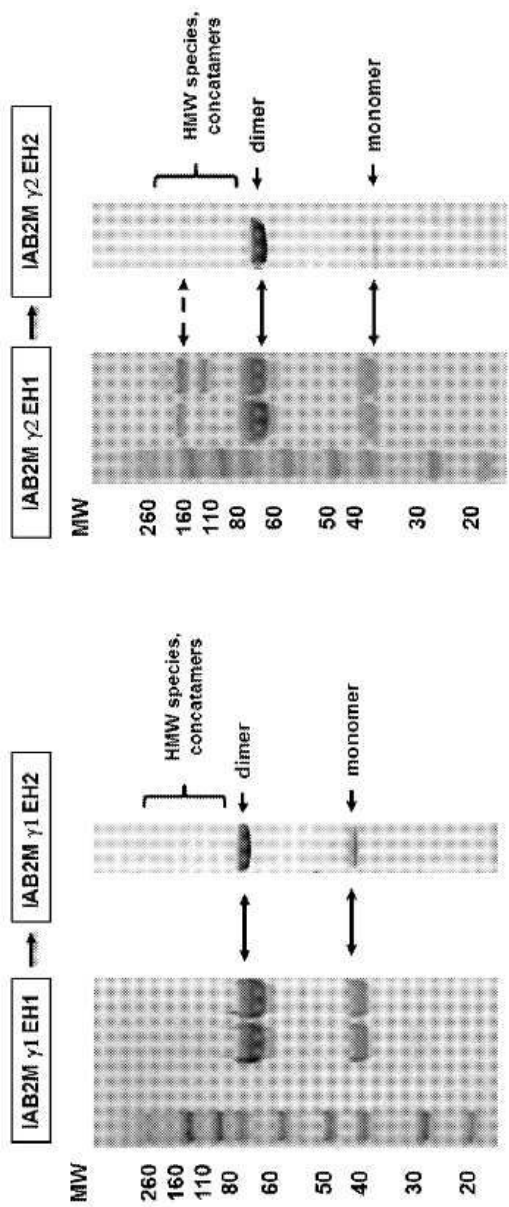
도면3



도면4



도면5a



도면5b

IAB2M γ 1 EH1 (N- to C-terminal)

Anti-PSMA variable light (VL) sequence
DIVMTQSPSSLSASVGDRTITCKASQDVGTAVDWYQQKPGKAPKLLIYWASTRHTGVPDRFTGSGSGTDFTLT
ISSLPEDFADYFCQQYNSYPLTFGGGTKLEIK (SEQ ID NO: 13)

Linker
GSTGGGGGGGGGGSS (SEQ ID NO: 62)

Anti-PSMA variable heavy (VH) sequence
EVQLVQSGAEVKKPGASVKISCKTSGYTFEYTIHWVKQASGKGLEWIGNINPNNGGTTYNQKFEDRATLTVDK
STSTAYMELSSLRSEDTAVYYCAAGWNFDYWGQGTITVTVSS (SEQ ID NO: 14)

Full hinge (EH1)
EPKSCDKTHTCPPCGGGGGGGSG (SEQ ID NO: 22)

Upper hinge
EPKSCDKTHT (SEQ ID NO: 45)

Core hinge
CPPC (SEQ ID NO: 50)

Lower hinge
GGSSGGGGSG (SEQ ID NO: 59)

Human IgG1 CH3 (G1m1 allotype)
GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDK
SRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 40)

Human IgG1 CH3 (nG1m1 allotype)
GQPREPQVYTLPPSRDEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDK
SRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 41)

도면5c

IAB2M γ 1 EH2 (N- to C-terminal)

Anti-PSMA variable light (VL) sequence
DIVMTQSPSSLSASVGDRTVTITCKASQDVGTAVDWYQQKPGKAPKLLIYWASTRHTGVPDRFTGSGSGTDFTL
TISSLQPEDFADYFCQQYNSYPLTFGGGTKLEIK (SEQ ID NO: 13)

Linker
GSTSGGGGGGGGGSS (SEQ ID NO: 62)

Anti-PSMA variable heavy (VH) sequence
EVQLVQSGAEVKKPGASVKISCKTSGYTFTEYIHVKQASGKGLEWIGNINPNNGGTTYNQKFEDRATLTVD
KSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCAAGWNFDYWGQGTITVYSS (SEQ ID NO: 14)

Full hinge (EH2)
EPKSSDKTHTCPPCGGGSSGGSG (SEQ ID NO: 24)

Upper hinge
EPKSSDKTHT (SEQ ID NO: 46)

Core hinge
CPPC (SEQ ID NO: 50)

Lower hinge
GGSGGGSG (SEQ ID NO: 59)

Human IgG1 CH3 (G1m1 allotype)
GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVD
KSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 40)

Human IgG1 CH3 (nG1m1 allotype)
GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVD
KSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 41)

도면5d

IAB2M γ 2 EH2 (N- to C-terminal)

Anti-PSMA variable light (VL) sequence
DIVMTQSPSSLSASVGDRTTITCKASQDVGTAVDWYQQKPGKAPKLLIYWASTRHTGVPDRFTGSGSGTDFT
LTISSLQPEDFADYFCQQYNSYPLTFGGGTKLEIK (SEQ ID NO: 13)

Linker
GSTSGGGSGGGGGGGSS (SEQ ID NO: 62)

Anti-PSMA variable heavy (VH) sequence
EVQLVQSGAEVKKPGASVKISCKTSGYTFTEYTIHWVKQASGKGLEWIGNINPNNGGTTYNQKFEDRATLTVD
KSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCAAGWNFDYWGQGTITVYSS (SEQ ID NO: 14)

Full hinge (EH2)
ERKSCVECPPCPGGGSSGGSG (SEQ ID NO: 34)

Upper hinge
ERK (SEQ ID NO: 47)

Core hinge
SCVECPPCP (SEQ ID NO: 56)

Lower hinge
GGGSSGGSG (SEQ ID NO: 59)

Human IgG2 CH3
GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPMLDSDGSFFLYSKLTV
DKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 42)

도면5e

IAB2M γ 2 EH1 (N- to C-terminal)

Anti-PSMA variable light (VL) sequence
 DIVMTQSPSSLSASVGDRTITTCCKASQDVGTAVDWYQQKPGKAPKLLIYWASTRHTGVPDRFTGSGSGTDFTL
 TISLQPEDFADYFCQQYNSYPLTFGGGTKLEIK (SEQ ID NO: 13)

Linker
 GSTSGGGGGGGGGSS (SEQ ID NO: 62)

Anti-PSMA variable heavy (VH) sequence
 EVQLVQSGAEVKKPGASVKISCKTSGYTFTEYTIHWVKQASGKGLEWIGNINPNNGGTTYNQKFEDRATLTVD
 KSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCAAGWNFDYWGGGTTVTSS (SEQ ID NO: 14)

Full hinge (EH1)
 ERKCCVECPPCPGGGSGGGSG (SEQ ID NO: 32)

Upper hinge
 ERK (SEQ ID NO: 47)

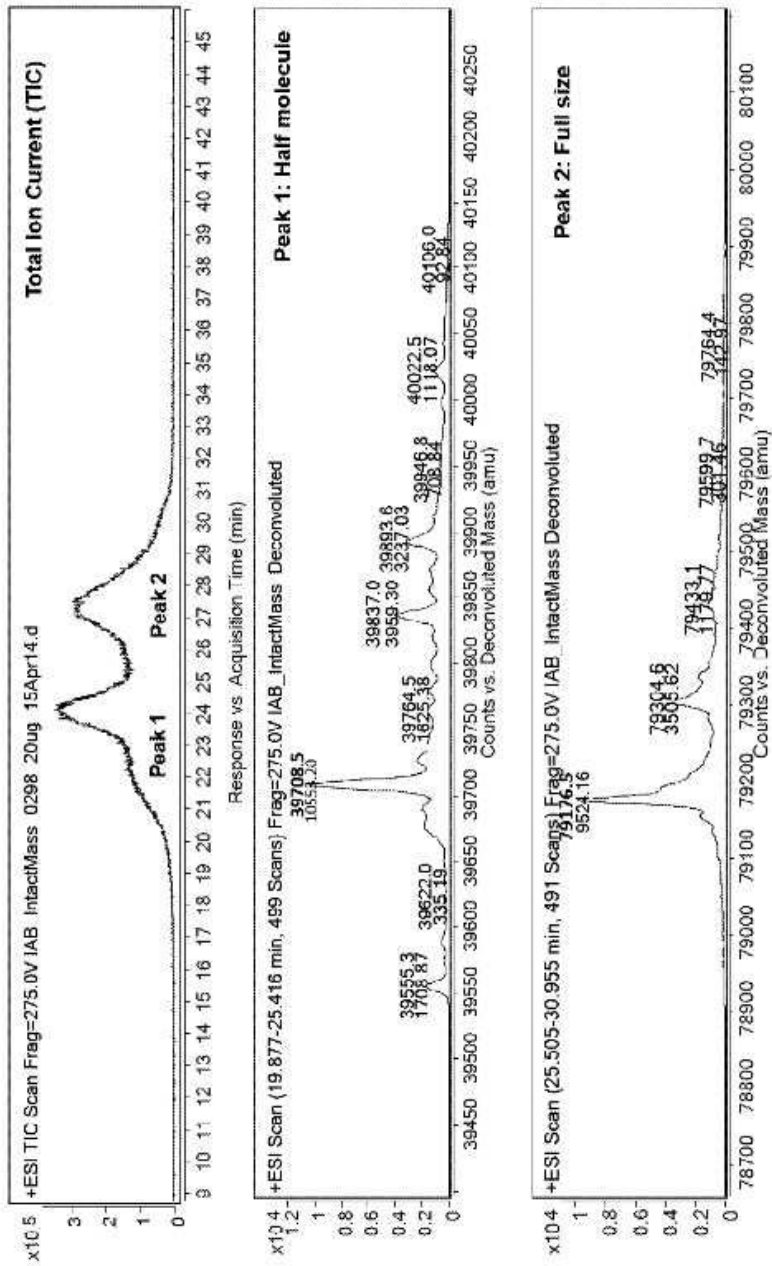
Core hinge
 CCVECPPCP (SEQ ID NO: 55)

Lower hinge
 GGGSGGGSG (SEQ ID NO: 59)

Human IgG2 CH3
 GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPMLDSDGSFFLYSKLTV
 DKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 42)

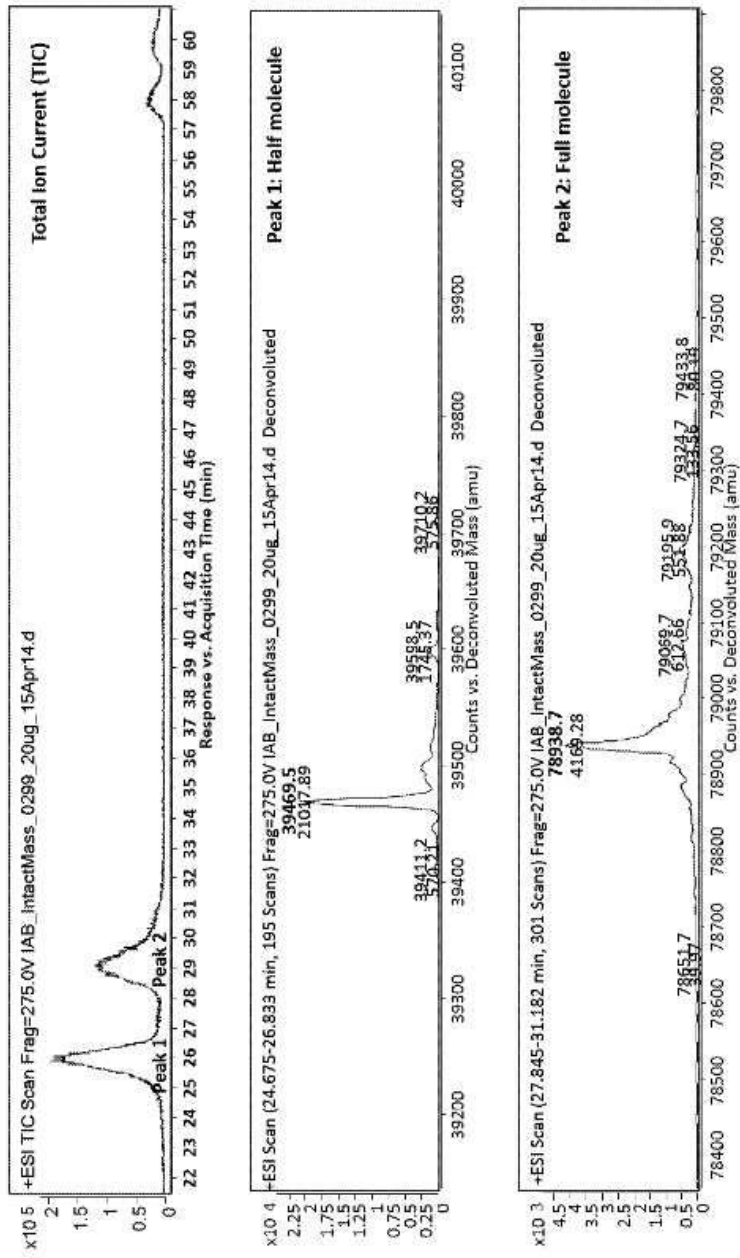
도면6a

Intact mass analysis of IAB2M γ1 EH1

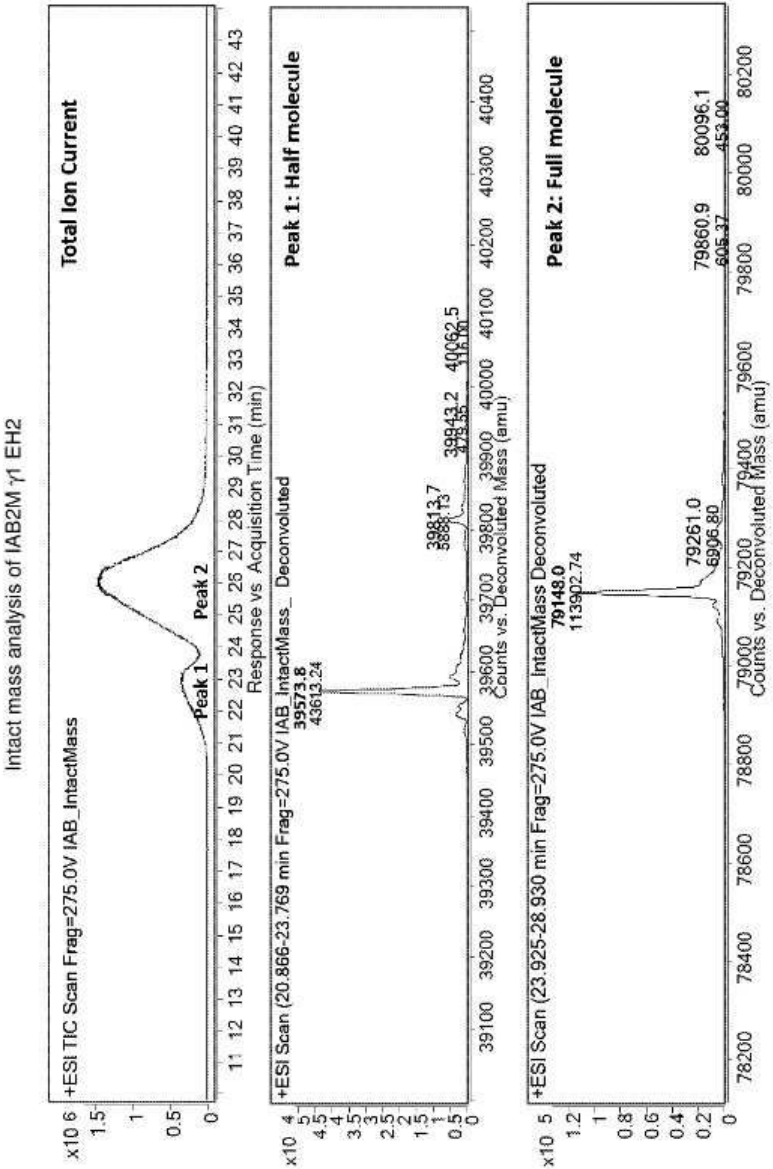


도면6b

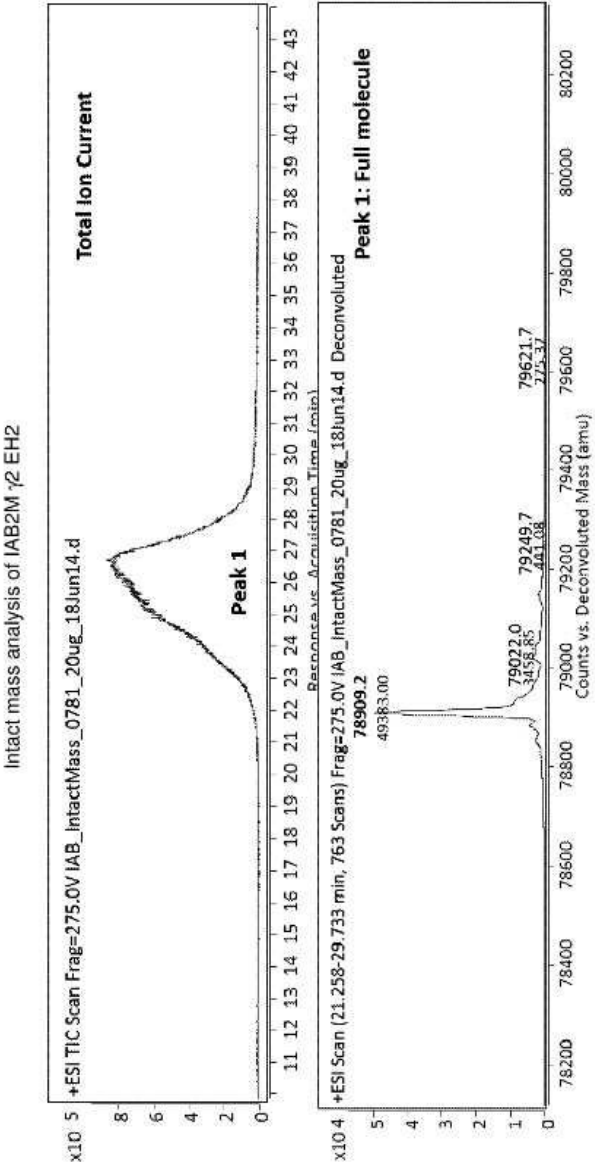
Intact mass analysis of IAB2M-2 EH1



도면6c

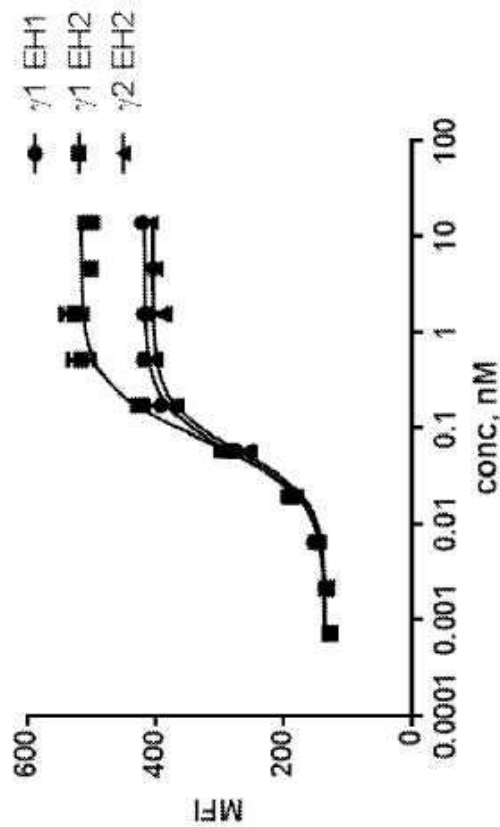


도면6d



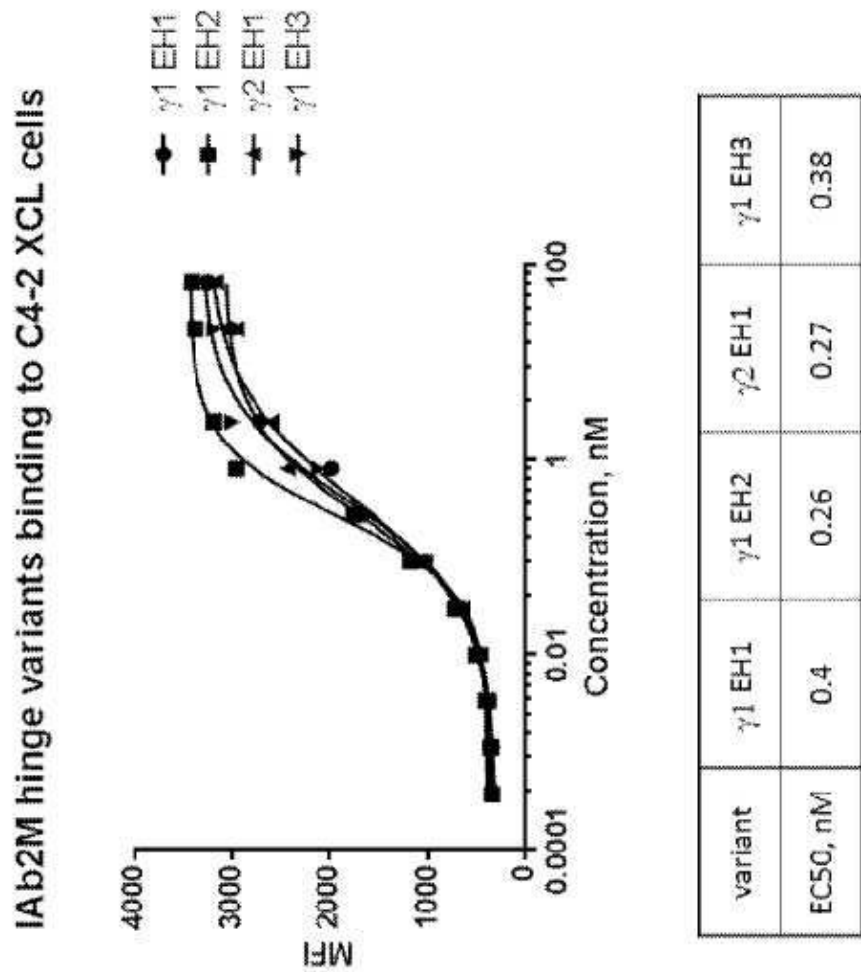
도면7a

IAb2M hinge variants binding to LNCaP-AR cells



variant	$\gamma 1$ EH1	$\gamma 1$ EH2	$\gamma 2$ EH2
EC50, nM	0.05	0.06	0.05

도면7b



도면7c

IAB2M γ 1 EH3 (N- to C-terminal)

Anti-PSMA variable light (VL) sequence
DIVMTQSPSSLSASVGDRTTICKASQDVGTAVDWYQQKPGKAPKLLIYWASTRHTGVPDRFTGSGSGTDF
LTISSLPQEDFADYFCQQYNSYPLTFGGGKLEIK (SEQ ID NO: 13)

Linker

GSTGGGGGGGGGGSS (SEQ ID NO: 62)

Anti-PSMA variable heavy (VH) sequence
EVQLVQSGAEVKKPGASVKISCKTSGYTFEYTIHWVKQASGKGLEWIGNINPNNGGTTYNQKFEDRATLTVD
KSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCAAGWNFDYWGQGTITVTVSS (SEQ ID NO: 14)

Full hinge (EH3)

EPKSSDKTHTCPPCPGGGGGGSG (SEQ ID NO: 26)

Upper hinge

EPKSSDKTHT (SEQ ID NO: 46)

Core hinge

CPPCPPC (SEQ ID NO: 52)

Lower hinge

GGSSGGGGSG (SEQ ID NO: 59)

Human IgG1 CH3 (G1m1 allotype)

QPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGGSFFLYSKLTVD
KSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 40)

Human IgG1 CH3 (nG1m1 allotype)

QPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGGSFFLYSKLTVD
DKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 41)

도면7d

IAB2M γ 1 EH3 (N- to C-terminal)

IAB2M γ 1 EH3 (M1) (SEQ ID NO: 7)
 DIVMTQSPSSLSASVGDRTTITCKASQDVGTAVDWYQQKPGKAPKLLIYWASTRHTGVPDR
 FTGSGSGTDFTLTISSLQPEDFADYFCQQYNSYPLTFGGGTKLEIKGSTGGSGGGGG
 GSSEVQLVQSGAEVKKPGASVKISCKTSGYTFTETIHVVKQASGKGLEWIGNINPNNGGTT
 YNQKFEDRATLTVDKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCAAGWNFDYWGGQTTTVTSSEPKSS
 DKTHTCPPCPGCGGSGGGGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIA
 VEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQ
 KSLSLSPG (SEQ ID NO: 7)

IAB2M γ 1 EH3 (M2) (SEQ ID NO: 10)
 EVQLVQSGAEVKKPGASVKISCKTSGYTFTETIHVVKQASGKGLEWIGNINPNNGGTTYNQ
 KFEDRATLTVDKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCAAGWNFDYWGGQTTTVTSSEGSTGGGS
 GGGSGGGSSDIVMTQSPSSLSASVGDRTTITCKASQDVGTAVDWYQQKPGKAPKLLIYWA
 STRHTGVPDRFTGSGGTDFTLTISSLQPEDFADYFCQQYNSYPLTFGGGTKLEIKPKSSD
 KTHTCPPCPGCGGSGGGGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE
 WESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKS
 LSLSPG (SEQ ID NO: 10)

도면7e

IAB2M γ 1 EH3

IAB2M γ 1 EH3 (M1) (SEQ ID NO: 162)

gatatgtgatgacccagagcccgagcagcctgagcgcgagcgtggcgatcgcgtagacc
attacctgcaaaagcgagccagcatgtgggacccggtggattggtatcagcagaaccg
ggcaaaagcgccgaaactgctgatttattggcgagcaccgcataccggcgtagccgat
cgctttaccggcagcggcgagccgacccgattttaccctgaccattagcagcctgcagccg
gaagattttcggtattttttgccagcagtataacagctatccgctgacctttggcggc
ggcaccaaaactggaaattaaaggcagcaccagcggcgccggcgagcggcgccgagcggc
ggcgggcgagcagcgaagtgcagctggtgcagagcggcgcggaagtgaaaaaaccgggc
gcgagcgtgaaaattagctgcaaaaccagcggctatacctttaccgaatataccattcat
tgggtgaaacaggcgagcggcgaaggcctggatggattggcaacattaaccgaacaac
ggcgccgaccacataaccagaaattgaagatcgcgacccctgacctggataaaagc
accagcaccgcttatatggaactgagcagcctgcgcagcgaagataccgcggtgtattat
tgcggcgccggctggaactttgattattggggcaggccaccacgtgacctgagcagc
gaaccgaaaagcagcagcgaataaaaccatacctgcccgcgtgcccgcgtgcccgcggcg
agcagcggcgccgagcggcgccagccgcgcgaaccgcaggtgtataccctgcccgcg
agccgcgaagaatgacaaaaaccaggtgagcctgacctgctggtgaaaggctttat
ccgagcgatattcggtggaatgggaaagcaacggccagccggaaaaacaactataaaacc
acccgcgggtgctggatagcgtatggcagctttttctgtatagcaaacgacctggat
aaaagccgctggcagcagggaacgtgttttagctgcagcgtgatgcatgaagcgtgcat
aaccattataccagaaaagcctgagcctgagccgggc (SEQ ID NO: 162)

IAB2M γ 1 EH3 (M2) (SEQ ID NO: 165)

gaagtgcagctggtgcagagcggcgcggaagtgaaaaaaccggcgcgagcgtgaaaatt
agctgcaaaaaccagcggctatacctttaccgaatataccattcattgggtgaaacaggcg
agcggcaaaaggcctggaatggattggcaacattaaccgaacaacggcgccgaccacat
aaccagaaattgaagatcgcgacccctgacctggataaaagcaccagcaccgctat
atggaactgagcagcctgcgcagcgaagataccgcggtgtattattgcggcgccggtgg
aactttgattattggggccaggccaccacgtgacctgagcagcggcgagcaccagcggc
ggcggcagcggcgccgagcggcgccgcgccgagcagcagcgtattgtatgacccagagc
ccgagcagcctgagcgcgagcgtggcgatcgcgtagcattacctgcaaaagcgagccag
gatgtgggcaccgcggtggattggtatcagcagaaccgggcaaaagcgccgaaactgctg
atttattggcgagcaccgcatataccggcgtagccgatcgctttaccggcagcggcagc
ggcaccgattttaccctgaccattagcagcctgcagccggaagattttgaggattttt
tgccagcagtataacagctatccgctgacctttggcgcgccaccaactggaaattaaa
gaaccgaaaagcagcagataaaaccatacctgcccgcgtgcccgcgtgcccgcggcgccg
agcagcggcgccgagcggcgccagccgcgcgaaccgcaggtgtataccctgcccgcg
agccgcgaagaatgacaaaaaccaggtgagcctgacctgctggtgaaaggctttat
ccgagcgatattcggtggaatgggaaagcaacggccagccggaaaaacaactataaaacc
acccgcgggtgctggatagcgtatggcagctttttctgtatagcaaacgacctggat
aaaagccgctggcagcagggaacgtgttttagctgcagcgtgatgcatgaagcgtgcat
aaccattataccagaaaagcctgagcctgagccgggc (SEQ ID NO: 165)

도면8

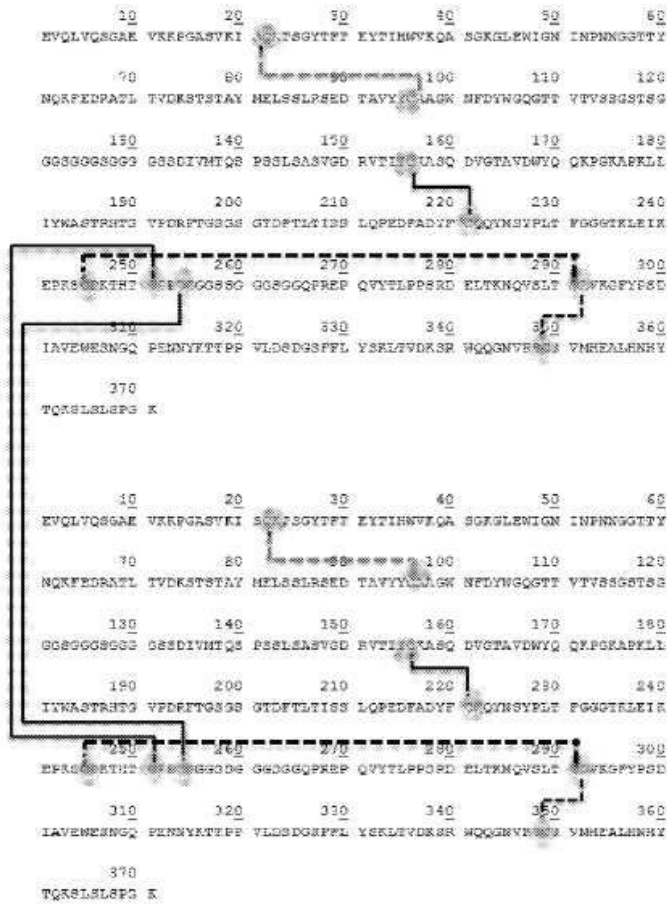
Disulfide-containing peptides identified within IAB2M γ 1 EH1 dimer

Link/ Modification	Sequence Location ^a	Sequence	Theor. Mass (Da) ^b	Obs. Mass (Da) ^c	Delta ppm	RT (mins)	Abundance ^d
Not observed	A22-A96	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
Cysteine disulfide bond(A156- A221) ^e	A(152-157) + A(195-236)	VTTTCCK [SEQ ID NO: 183] + FTGSGSGTDFLTLTSSLPEDFADYFCQQYNSYPL TFGGGTK [SEQ ID NO: 184]	5208.3897	5208.3864	-0.63	89.9	1580663
Cysteine disulfide bond(A156- A221) ^e	A(152-157) + A(188-236)	VTTTCCK + [SEQ ID NO: 183] HTGVPRFTGSGSGTDFLTLTSSLPEDFADYFCQ QYNSYPLTFGGGTK [SEQ ID NO: 185]	5970.7669	5970.7586	-1.40	86.1	166671
Cysteine disulfide bond(A251-B251) Cysteine disulfide bond(A254-B254)	A(248-268) + B(248-268)	THTCPPCGGGSGGGSGGQPR [SEQ ID NO: 186] + THTCPPCGGGSGGGSGGQPR [SEQ ID NO: 186]	3707.5067	3707.5060	-0.18	22.1	583626
Cysteine disulfide bond(A245- A291)	A(244-247) + A(285-294)	SCDK [SEQ ID NO: 187] + NQVSLTCLVK [SEQ ID NO: 188]	1552.7589	1552.7590	0.07	43.8	84406
Cysteine disulfide bond(A291- A349) ^e	A(285-294) + A(341-363)	NQVSLTCLVK [SEQ ID NO: 188] + WQQGNVFCSVMHEALHNHYTQK [SEQ ID NO: 189]	3844.8236	3844.8202	-0.89	55.2	4949532
Cysteine disulfide bond(A291- A349) ^e	A(285-294) + A(339-363)	NQVSLTCLVK [SEQ ID NO: 188] + SRWQQGNVFCSVMHEALHNHYTQK [SEQ ID NO: 190]	4087.9568	4087.9615	1.16	54.0	647751
Alkylation (vinyl pyridine)(A291)	A(285-294)	NQVSLTCLVK [SEQ ID NO: 188]	1208.6587	1208.6578	-0.81	47.2	51583
Alkylation (vinyl pyridine)(A349)	A(341-363)	WQQGNVFCSVMHEALHNHYTQK [SEQ ID NO: 189]	2848.2962	2848.2955	-0.24	49.1	74838

^a Sequence location A: heavy chain #1; B: heavy chain #2.
^b Theoretical molecular masses (mono-isotopic) were calculated using MassHunter BioConfirm software (Agilent, Santa Clara, CA).
^c Observed masses (mono-isotopic) are all within 3 ppm of their theoretical value.
^d Abundances were determined using MassHunter software (Agilent, Santa Clara, CA).
RT: retention time.
^e Peptides displaying alternative cleavages.

도면9

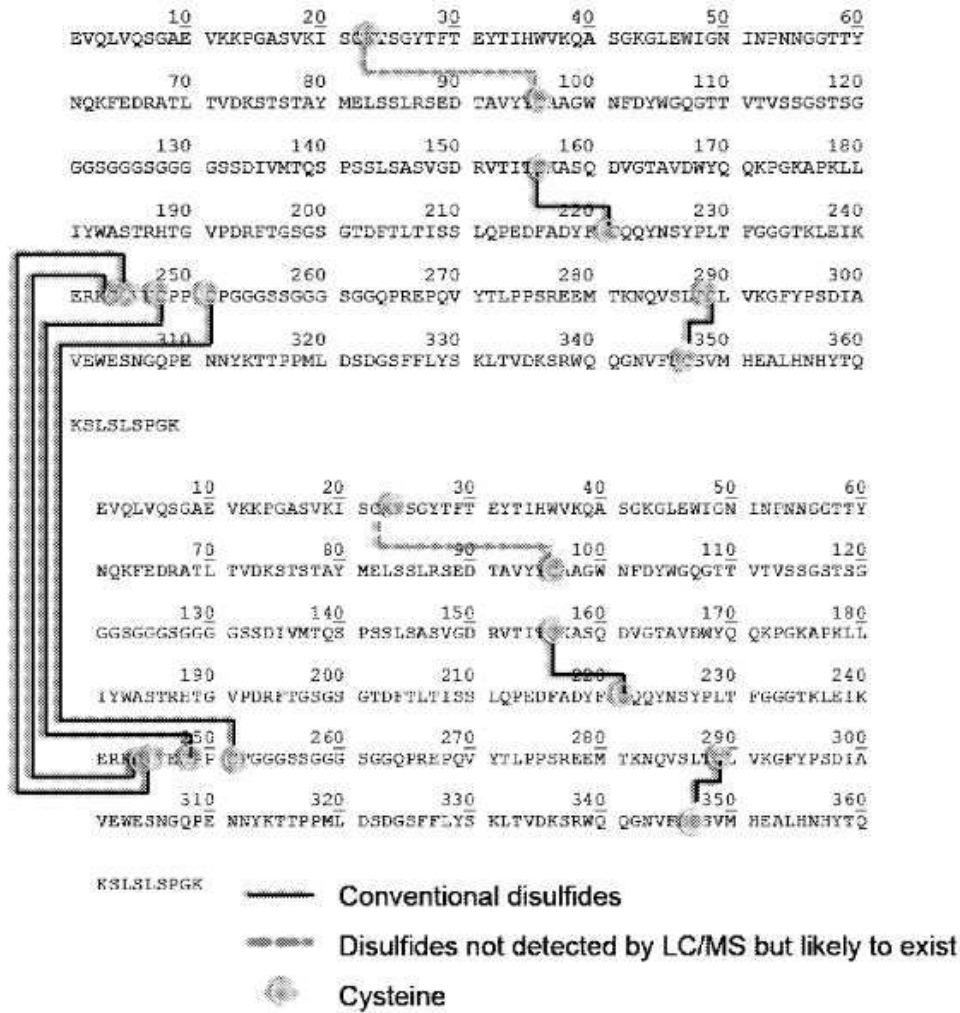
Illustration of a mapping of the disulfide bonds of IAB2M γ 1 EH1
(SEQ ID NO: 179)



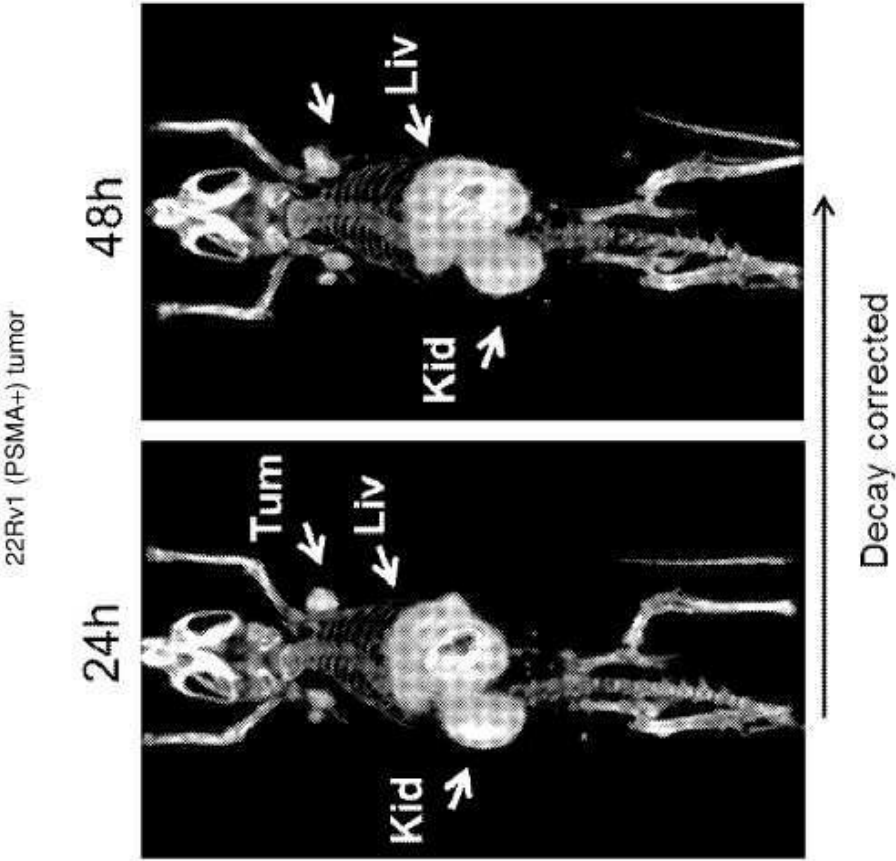
- Conventional disulfides
- - - Non-conventional disulfides which resulted from scrambling; contributes towards heterogeneity
- ... Disulfides not detected by LC/MS but likely to exist
- C Cysteine

도면10

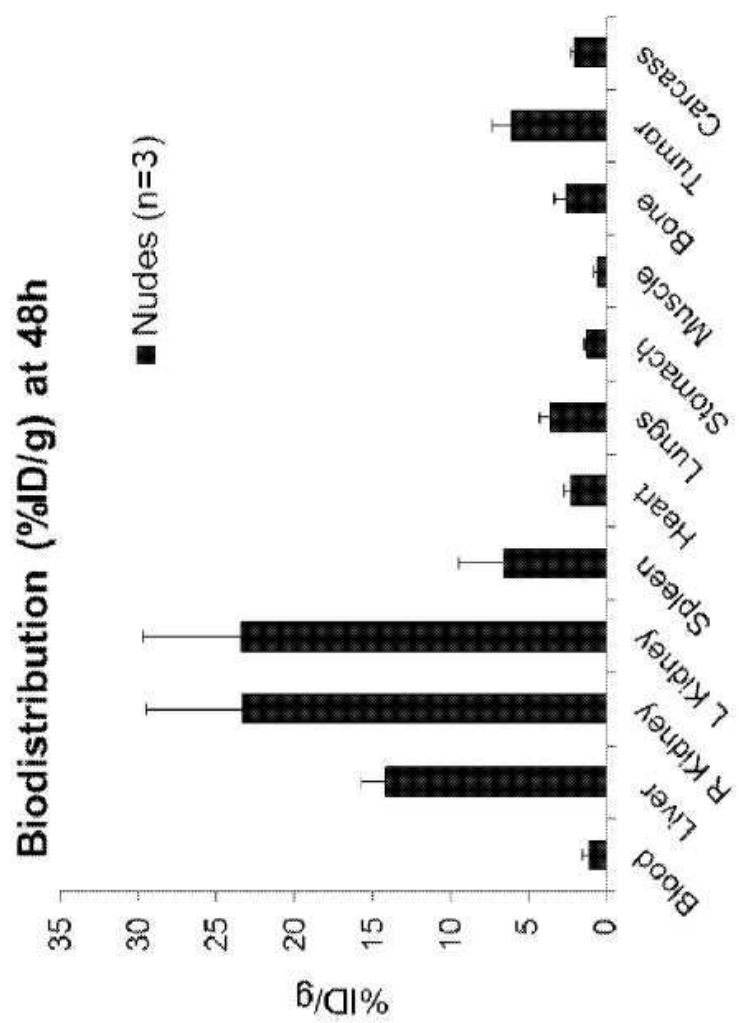
Illustration of a mapping of the disulfide bonds of IAB2M γ 2 EH1
(SEQ ID NO: 180)



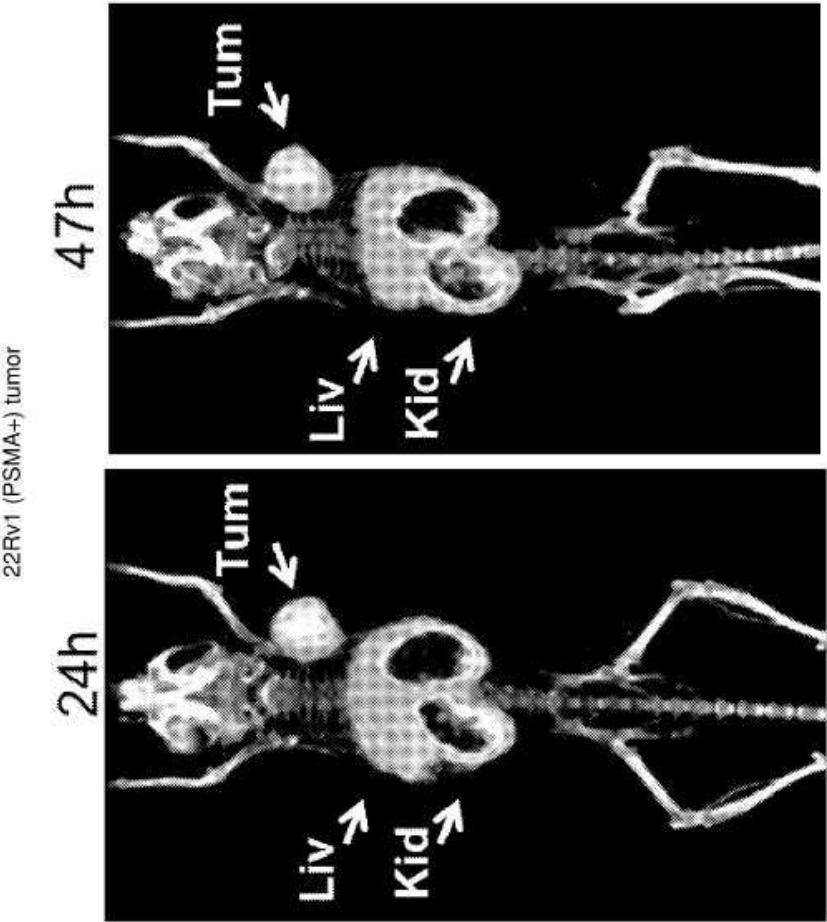
도면11a



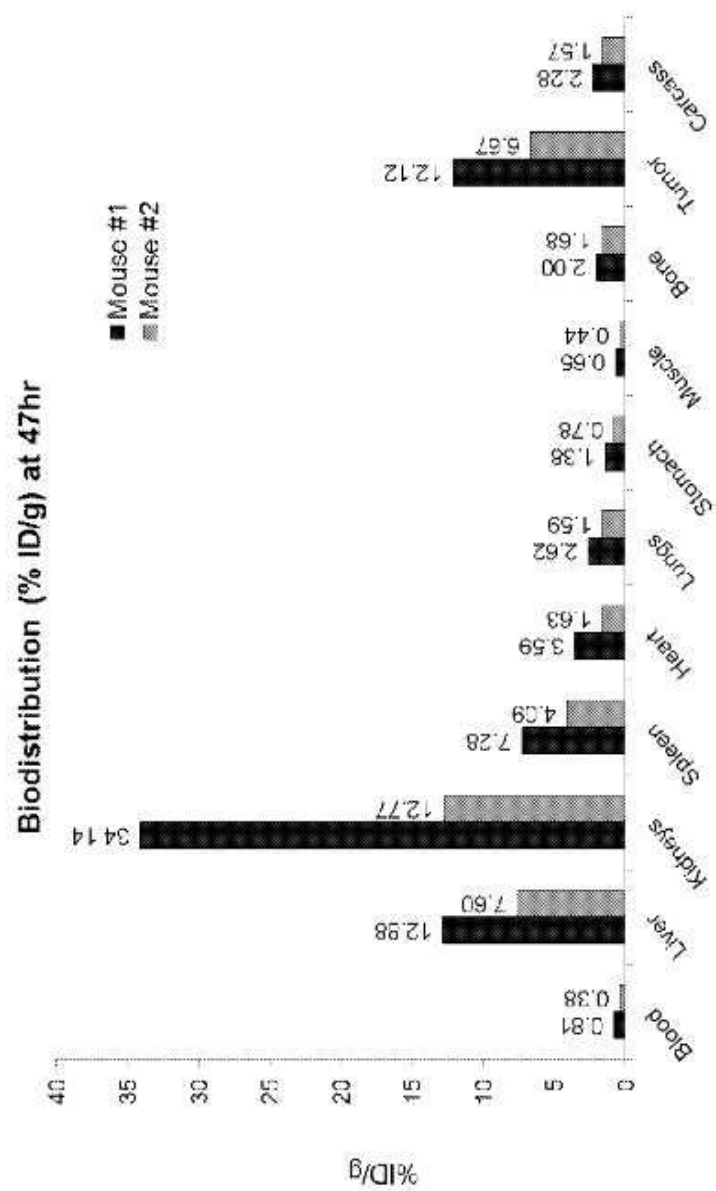
도면11b



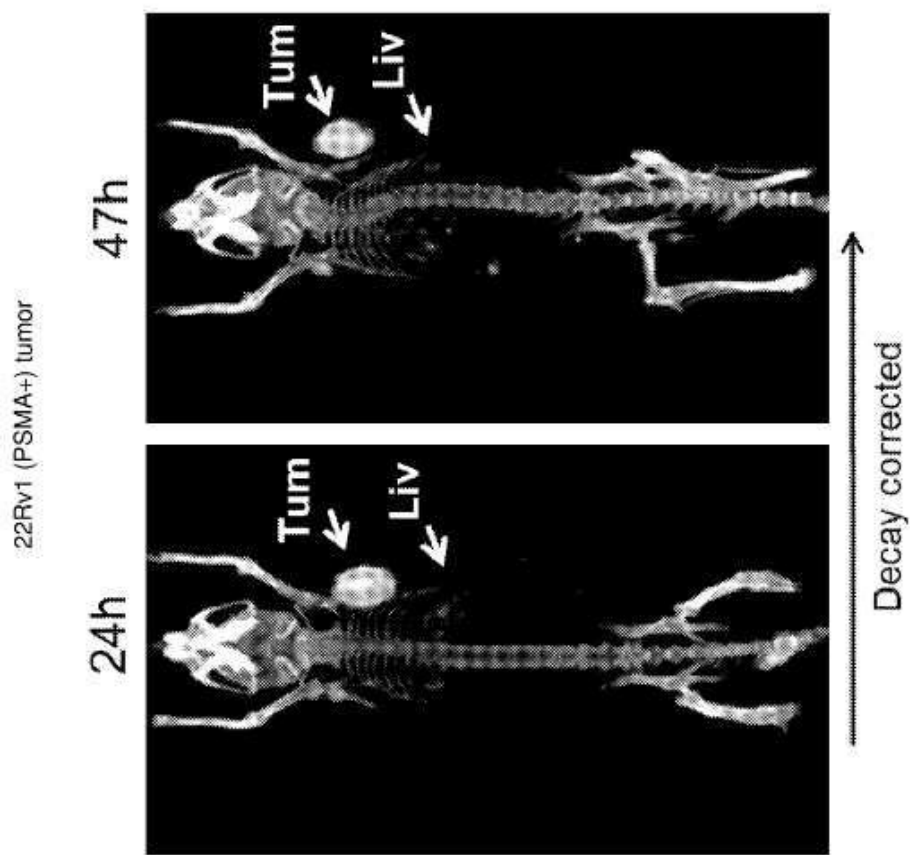
도면12a



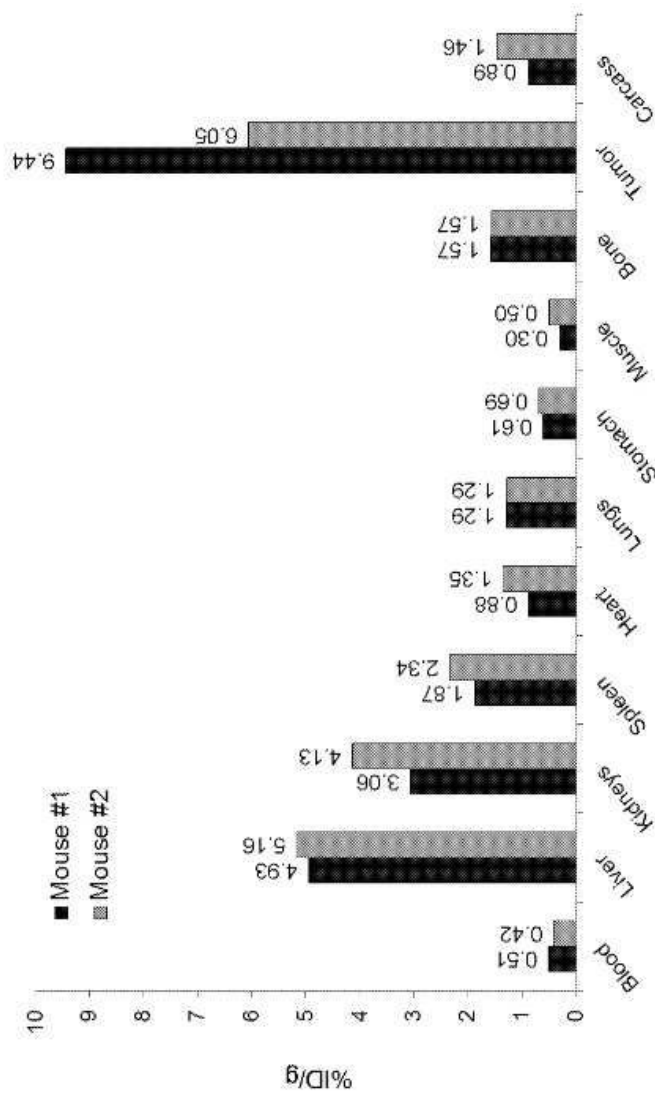
도면12b



도면13a

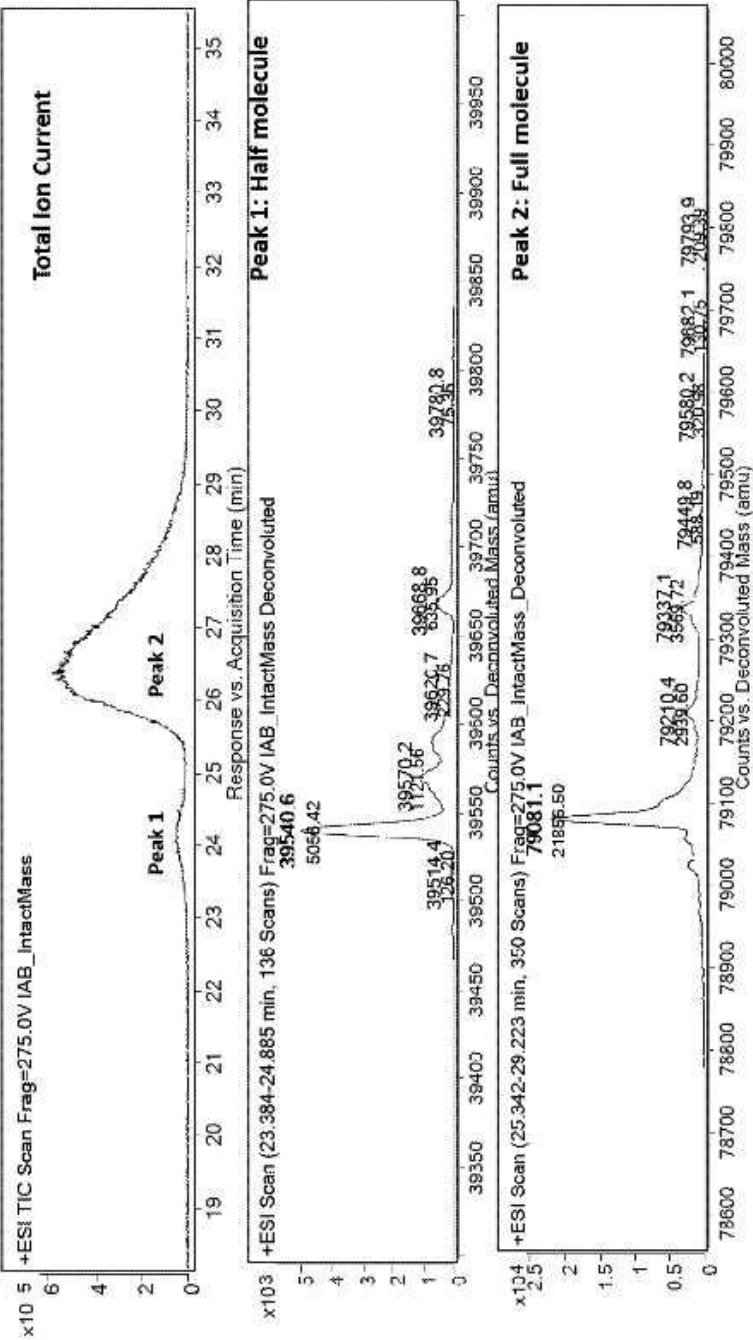


도면13b



도면14a

Intact mass analysis of IAB22M γ2 EH1



도면14b

IAB22M γ 2 EH1 (N- to C-terminal)

Anti-CD8 variable light (VL) sequence
DVQITQSPSSLSASVGDRTITCRTSRISQYLAWYQOKPGKVPKLLIYSGSTLQSGVPSRFSGSGSGTDFLTIS
SLQPEDVATYYCQHNENPLTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO: 15)

Linker
GSTSGGGSGGGGGSS (SEQ ID NO: 62)

Anti-CD8 variable heavy (VH) sequence
EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHFVRQAPGKGLEWIGRIDPANDNTLYASKFQGKATISADTSK
NTAYLQMNSLRAEDTAVYYCGRGYGYVFDHWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 16)

Full hinge (EH1)
ERKCCVECPPCPGGGSGGGSG (SEQ ID NO: 32)

Upper hinge
ERK (SEQ ID NO: 47)

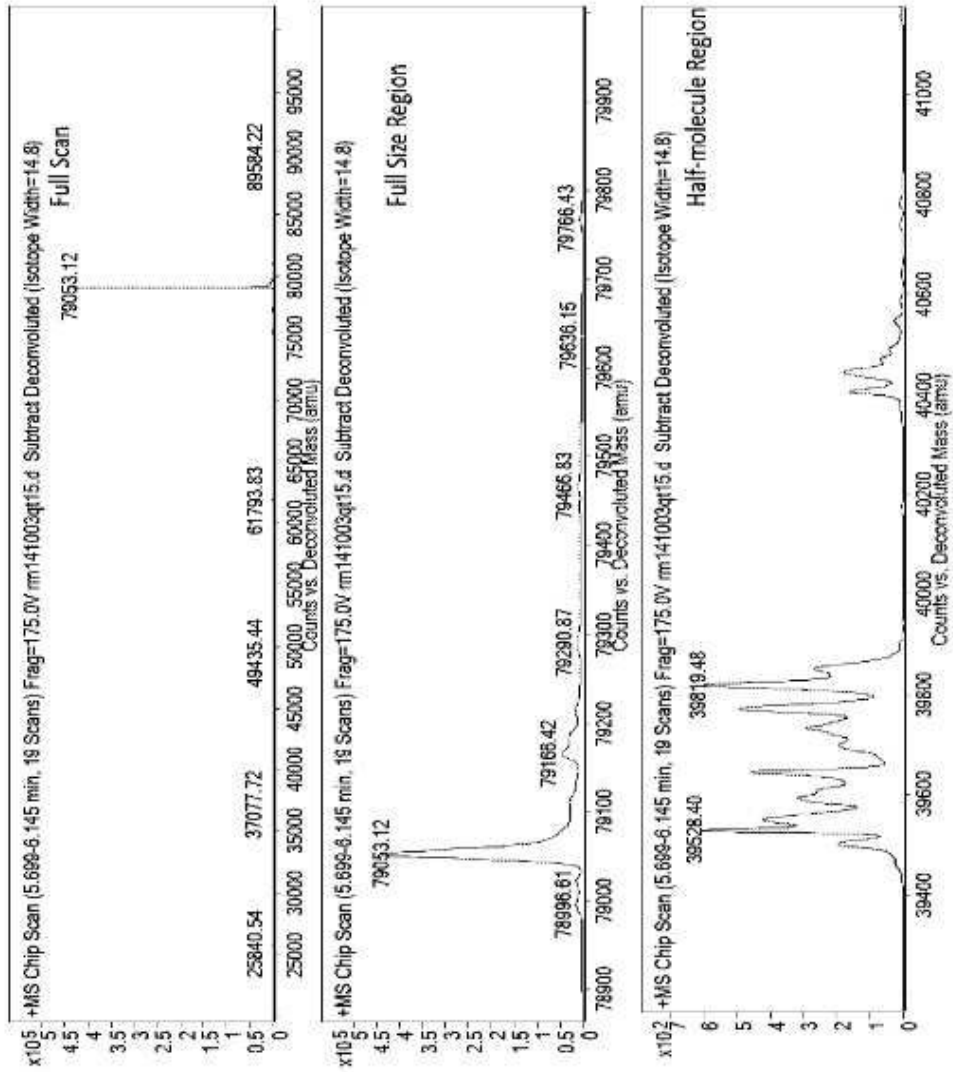
Core hinge
CCVECPPCP (SEQ ID NO: 55)

Lower hinge
GGSGSGGGSG (SEQ ID NO: 59)

Human IgG2 CH3
GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDK
SRWQQGNVFCSVMHEALHNHYTQKLSLSPGK (SEQ ID NO: 42)

도면15a

Intact mass analysis of IAB22 γ2 EH2



도면15b

IAB22M γ 2 EH2 (N- to C-terminal)

Anti-CD8 variable light (VL) sequence
DVQITQSPSSLSASVGDRTTTCRTSRISQYLAWYQOKPGKVPKLLIYSGSTLQSGVPSRFSGSGSGTDFT
LTISSLPQEDVATYCCQHNENPLTFGGGKVEIK (SEQ ID NO: 15)

Linker
GSTSGGGSGGGGGSS (SEQ ID NO: 62)

Anti-CD8 variable heavy (VH) sequence
EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFINIKDTYIHFRAPGKGLEWIGRIDPANDNTLYASKFQGKATISA
DTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCGRGYGYVFDHWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 16)

Full hinge (EH2)
ERKSCVECPPCPGGGSSGGSG (SEQ ID NO: 34)

Upper hinge
ERK (SEQ ID NO: 47)

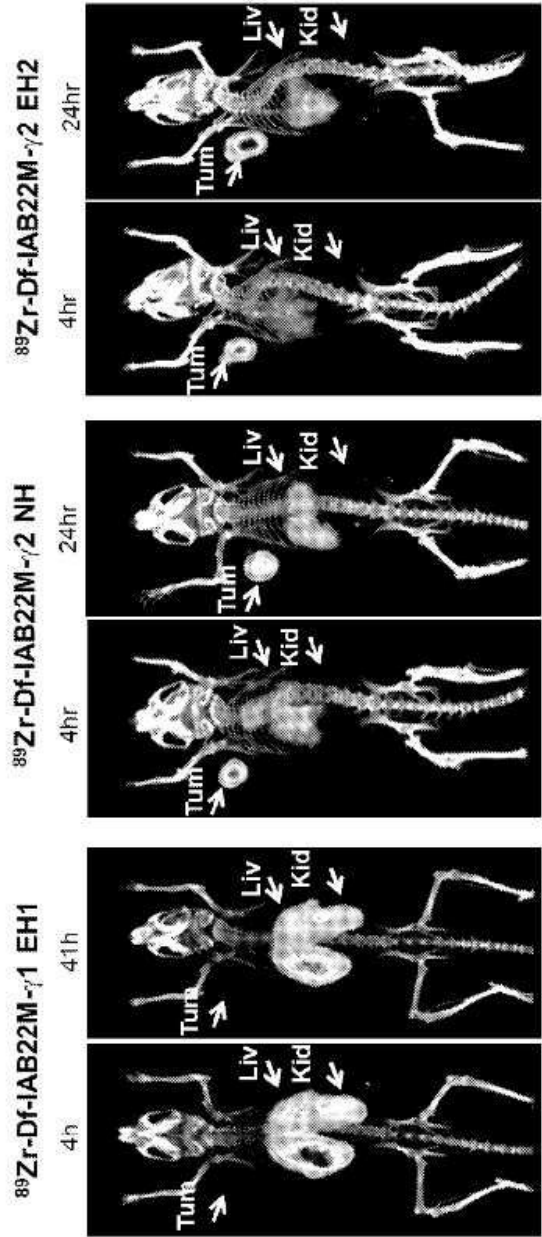
Core hinge
SCVECPPCP (SEQ ID NO: 56)

Lower hinge
GGGSSGGSG (SEQ ID NO: 59)

Human IgG2 CH3
GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPMMLDSDGSGFFLYSKLT
VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 42)

도면16a

HPB-ALL (CD8+) tumor



도면16b

IAB22M γ 1 EH1 (N- to C-terminal)

Anti-CD8 variable light (VL) sequence
DVQITQSPSSLSASVGDRTTTCRTSRISQYLAWYQQKPGKVPKLLYSGSTLQSGVPSRFSGSGGTDFTLTISLQPE
DVATYYCQQHNEINPLTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO: 15)

Linker
GSTSGGGGGGGGGSS (SEQ ID NO: 62)

Anti-CD8 variable heavy (VH) sequence
EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFIKDTYIHFRQAPGKGLEWIGRIDPANDNTLYASKFQGKATISADTSKNTAY
LQMNSLRAEDTAVYCGRGYYVFDHWGGGTLVTSS (SEQ ID NO: 16)

Full hinge (EH1)
EPKSCDKTHTCPPCGGGGGGGSG (SEQ ID NO: 22)

Upper hinge
EPKSCDKTHT (SEQ ID NO: 45)

Core hinge
CPPC (SEQ ID NO: 50)

Lower hinge
GGSGGGGGSG (SEQ ID NO: 59)

Human IgG1 CH3 (G1m1 allotype)
GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ
QGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 40)

Human IgG1 CH3 (nG1m1 allotype)
GQPREPQVYTLPPSRDEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ
QGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 41)

도면16c

IAB22M γ 2 NH1 (N- to C-terminal)

Anti-CD8 variable light (VL) sequence
DVQITQSPSSLSASVGDRTITCRTSRISQYLAWYQQKPGKVPKLLIYSGSTLQSGVPSRFSGSGGTDFTLTISL
QPEDVATYYCQQHNENPLTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO: 15)

Linker
GSTSGGGSGGGGGSS (SEQ ID NO: 62)

Anti-CD8 variable heavy (VH) sequence
EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSNIKDTYHFVRQAPGKGLEWIGRIDPANDNTLYASKFQGKATISADTSKN
TAYLQMNSLRAEDTAVYYCGRGYYVFDHWGQGLTVSS (SEQ ID NO: 16)

Full hinge (NH1)
ERKCCVECPPCPPVAGP (SEQ ID NO: 31)

Upper hinge
ERK (SEQ ID NO: 47)

Core hinge
CCVECPPCP (SEQ ID NO: 55)

Lower hinge
APPVAGP (SEQ ID NO: 60)

Human IgG2 CH3
GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPMLDSDGSFFLYSKLTVDKS
RWQQGNVVFSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 42)

도면 16d

IAB22M γ 2 NH2 (N- to C-terminal)

Anti-CD8 variable light (VL) sequence
 DVQITQSPSSLSASVGDRTITCRTSRISQYLAWYQQKPGKVPKLLIYSGSTLQSGVPSRFSGSGGTDFTLTIS
 SLQPEDVATYYCQQHNENPLTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO: 15)

Linker
 GSTSGGGSGGGGGSS (SEQ ID NO: 62)

Anti-CD8 variable heavy (VH) sequence
 EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFINIKDTYIHFRQAPGKGLEWIGRIDPANDNTLYASKFQGKATISADTSK
 NTAYLQMNSLRAEDTAVYYCGRGYGYVFDHWGGQGLTVVSS (SEQ ID NO: 16)

Full hinge (NH2)
 ERKSCVECPPCAPPVAGP (SEQ ID NO: 33)

Upper hinge
 ERK (SEQ ID NO: 47)

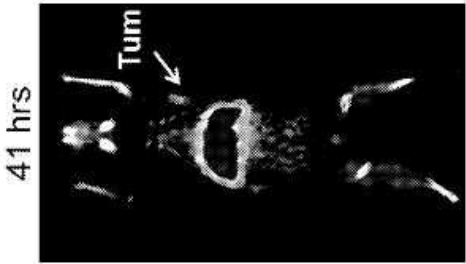
Core hinge
 SCVECPPCP (SEQ ID NO: 56)

Lower hinge
 APPVAGP (SEQ ID NO: 60)

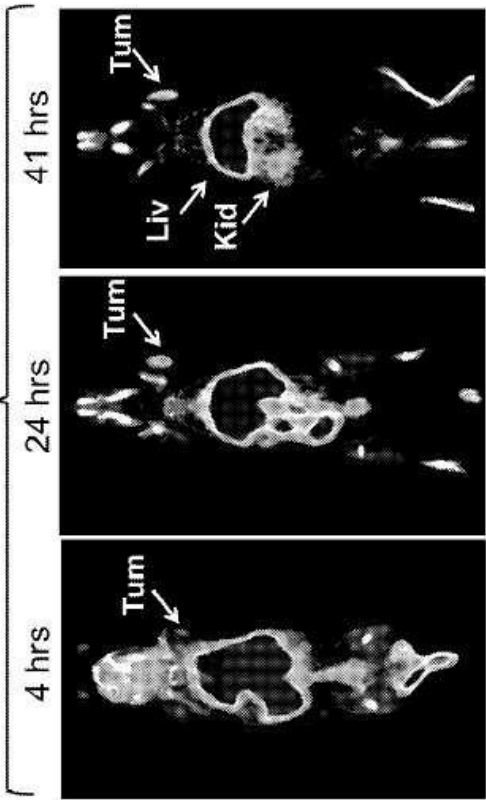
Human IgG2 CH3
 GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPMLDSDGSFFLYSKLTVDK
 SRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 42)

도면17

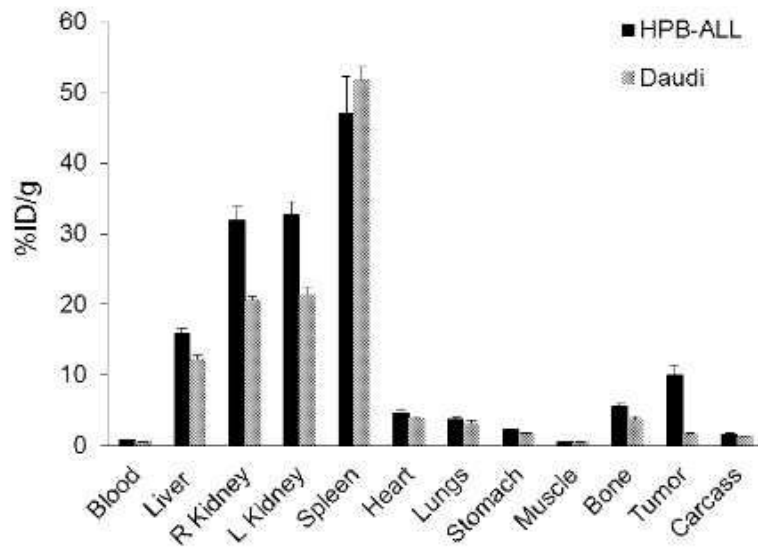
Daudi negative tumor



HPB-ALL positive tumor



도면18

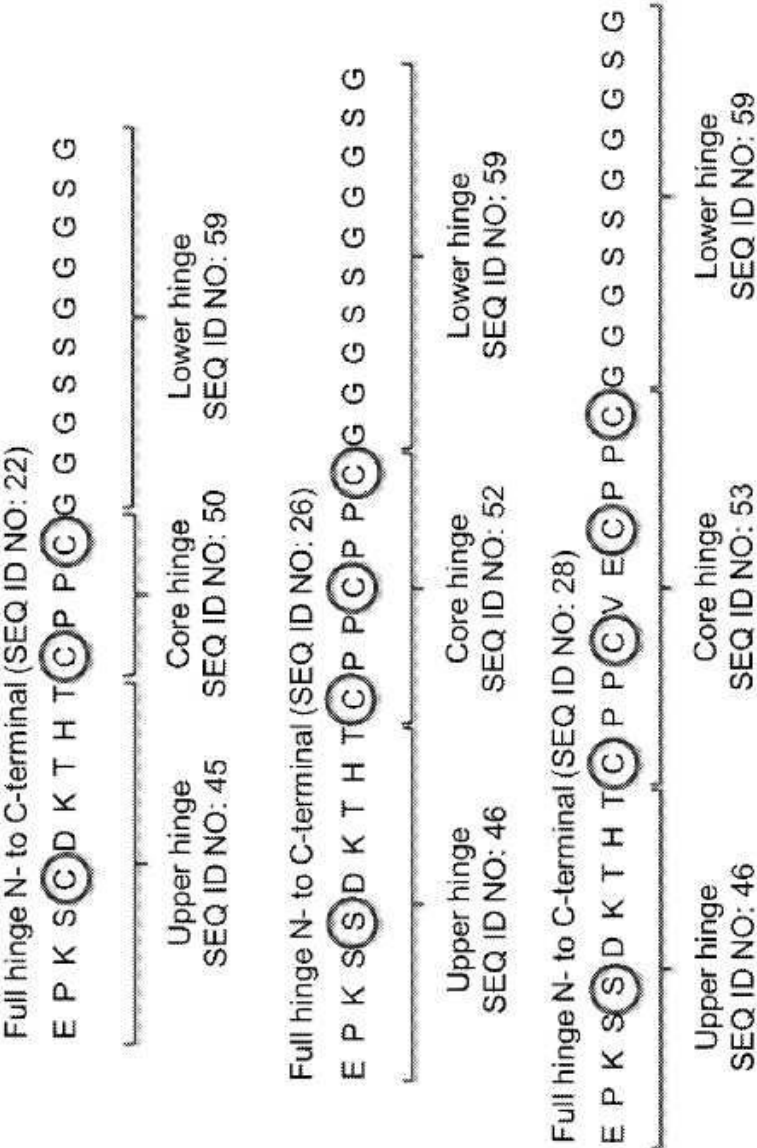


Biodistribution (%ID/g) at 41 hrs (n=4)

	HPB-ALL	STD	Daudi	STD
Blood	0.74	0.09	0.45	0.11
Liver	15.94	1.21	12.18	1.20
R Kidney	31.94	3.81	20.62	1.00
L Kidney	32.75	3.61	21.38	1.86
Spleen	47.19	8.88	51.91	3.15
Heart	4.56	0.76	3.89	0.57
Lungs	3.74	0.58	3.10	0.93
Stomach	2.28	0.19	1.72	0.19
Muscle	0.51	0.07	0.45	0.11
Bone	5.56	0.80	3.70	0.86
Tumor	10.04*	2.38	1.58	0.38
Carcass	1.65	0.19	1.34	0.09

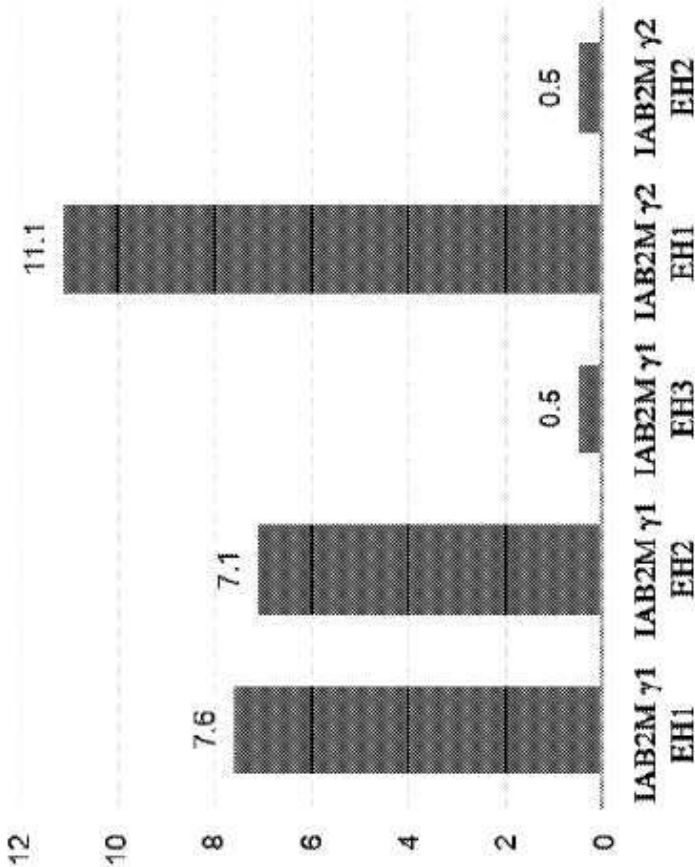
* n=3

도면19

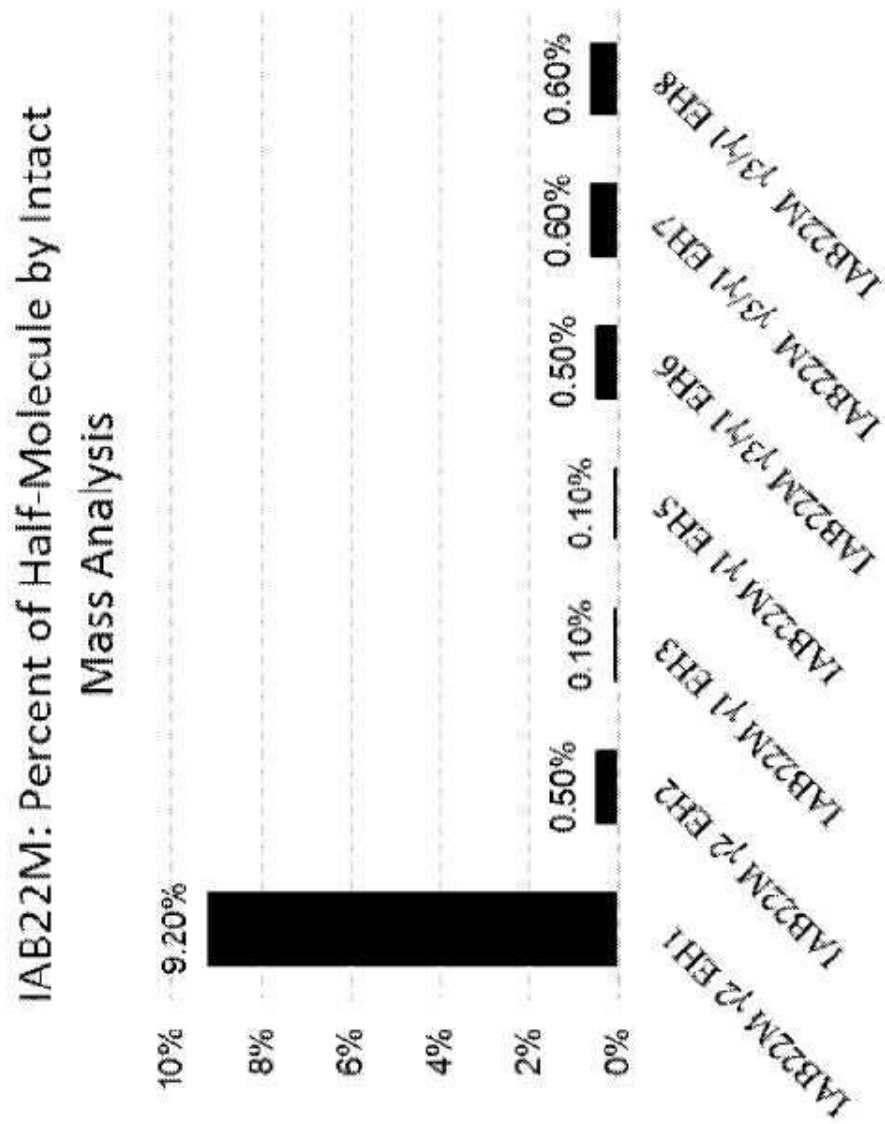


도면20a

IAB2M: Percent of Half-Molecule by Intact Mass Analysis



도면20b



도면20c

IAB22M γ 1 EH3 (N- to C-terminal)

Anti-CD8 variable light (VL) sequence
 DVQITQSPSSLSASVGDRTTTCRTSRISQYLAWYQQKPGKVPKLLIYSGSTLQSGVPSRFSGGSGTDFLTITSSLPED
 VATYYCQQHNENPLTFGGGTKEIK (SEQ ID NO: 15)

Linker
 GSTSGGGSGGGGGSS (SEQ ID NO: 62)

Anti-CD8 variable heavy (VH) sequence
 EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHFVRQAPGKGLWGIGRIDPANDNTLYASKFQGKATISADTSKNTAYLQ
 MNSLRAEDTAVYCGRGYGYVFDHWGGTLTVSS (SEQ ID NO: 16)

Full hinge (EH3)
 EPKSSDKTHITCPPPCPGGGSGGGSG (SEQ ID NO: 26)

Upper hinge
 EPKSSDKTHT (SEQ ID NO: 46)

Core hinge
 CPPCPPC (SEQ ID NO: 52)

Lower hinge
 GGGSGGGSG (SEQ ID NO: 59)

Human IgG1 CH3 (G1m1 allotype)
 GQPREPQVYTLPPSRDELTKNOVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQG
 NVFSCSYMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 40)

Human IgG1 CH3 (nG1m1 allotype)
 GQPREPQVYTLPPSRDEMTKNOVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQG
 GNVFSCSYMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 41)

도면20d

IAB22M γ 1 EH5 (N- to C-terminal)

Anti-CD8 variable light (VL) sequence
DVOITQSPSSLASVGDRTTTCRTSRISQYLAWYQQKPGKPKLLVSGSTLQSGVPSRFSGSGGTDFTLTISSLQPEDV
ATYYCQQHNENPLTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO: 15)

Linker
GSTSGGGGGGGGGSS (SEQ ID NO: 62)

Anti-CD8 variable heavy (VH) sequence
EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFIKDTYHFVRQAPGKGLEWIGRIDPANDNTLYASKFQGKATISADTSKNTAYLQ
MNSLRAEDTAVYYCGRGYGYVFDHWGGGTLTVSS (SEQ ID NO: 16)

Full hinge (EH5)
EPKSSDKTHTCPPCPGPCGGSSGGSGG (SEQ ID NO: 30)

Upper hinge
EPKSSDKTHT (SEQ ID NO: 46)

Core hinge
CPPCPGPCPPC (SEQ ID NO: 54)

Lower hinge
GGSSGGGGSG (SEQ ID NO: 59)

Human IgG1 CH3 (G1m1 allotype)
GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQG
NVFSCSVMHREALHNHYTQKSLSPGK (SEQ ID NO: 40)

Human IgG1 CH3 (nG1m1 allotype)
GQPREPQVYTLPPSRDEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQG
NVFSCSVMHREALHNHYTQKSLSPGK (SEQ ID NO: 41)

도면20e

IAB22M $\gamma 3/\gamma 1$ EH6 (N- to C-terminal)

Anti-CD8 variable light (VL) sequence
DVQITQSPSSLSASVGDRTTTCRTSRISQYLAWYQQKPGKVPKLLIYSGSTLQSGVPSRFSGSGGTDFTLTISLQPE
DVATYYCQQHNENPLTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO: 15)

Linker
GSTGGSGGGSGGGSS (SEQ ID NO: 62)

Anti-CD8 variable heavy (VH) sequence
EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHFVRQAPGKGLEWIGRIDPANDNTLYASKFQGKATISADTSKNTAYL
QMNSLRAEDTAVYYCGRGYYVFDHWGGGLTVYSS (SEQ ID NO: 16)

Full hinge (EH6)
ELKTPLGDTTHTCVECPCGGGGSGGSG (SEQ ID NO: 35)

Upper hinge
ELKTPLGDTTHT (SEQ ID NO: 48)

Core hinge
CVECPC (SEQ ID NO: 57)

Lower hinge
GGSGGGSGGSG (SEQ ID NO: 59)

Human IgG1 CH3 (G1m1 allotype)
GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQ
GNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 40)

Human IgG1 CH3 (nG1m1 allotype)
GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQ
QGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 41)

도면20f

IAB22M $\gamma 3/\gamma 1$ EH7 (N- to C-terminal)

Anti-CD8 variable light (VL) sequence
DVQITQSPSSLSASVGDRTTTCRTSRISQYLAWYQQKPKVPLLIYSGSTLQSGVPSRFRSGSGGTDFTLTISLSLOPE
DVATYYCQHNENPLTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO: 15)

Linker

GSTSGSGSGSGSGSGSS (SEQ ID NO: 62)

Anti-CD8 variable heavy (VH) sequence
EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFINIKDTYIHFRQAPGKGLEWIGRIDPANDNTLYASKFQGKATISADTSKNTAY
LQNSLRAEDTAVYYCGRGYYVFDHWGGTILTVSS (SEQ ID NO: 16)

Full hinge (EH7)

ELKTPGLDTHTCPPCPPCGGSGSGSGG (SEQ ID NO: 36)

Upper hinge

ELKTPGLDTHHT (SEQ ID NO: 48)

Core hinge

CPPCPPC (SEQ ID NO: 52)

Lower hinge

GGSGSGSGG (SEQ ID NO: 59)

Human IgG1 CH3 (G1m1 allotype)

GQPREPOVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ
QGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 40)

Human IgG1 CH3 (nG1m1 allotype)

GQPREPOVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ
QGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 41)

도면20g

IAB22M $\gamma 3/\gamma 1$ EH8 (N- to C-terminal)

Anti-CD8 variable light (VL) sequence
DVQITQSPSSLSASVGDRTTTCRTSRISQYLAWYQQKPGKVPKLLYSGSTLOSQVPSRFSGSGGTDFTLTISSLQPED
VATYYCQQHNENPLTFGGTKVEIK (SEQ ID NO: 15)

Linker
GSTSGGGGGSGGGSS (SEQ ID NO: 62)

Anti-CD8 variable heavy (VH) sequence
EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFINIKDTYIHVRQAPGKLEWIGRIDPANDNTLYASKFQGKATISADTSKNTAYLQ
MNSLRAEDTAVYYCGRGYGYVFDHWGGTILTVSS (SEQ ID NO: 16)

Full hinge (EH8)
ELKTPLGDTTHTCPPCPGPGGGSSGGSG (SEQ ID NO: 37)

Upper hinge
ELKTPLGDTTHT (SEQ ID NO: 48)

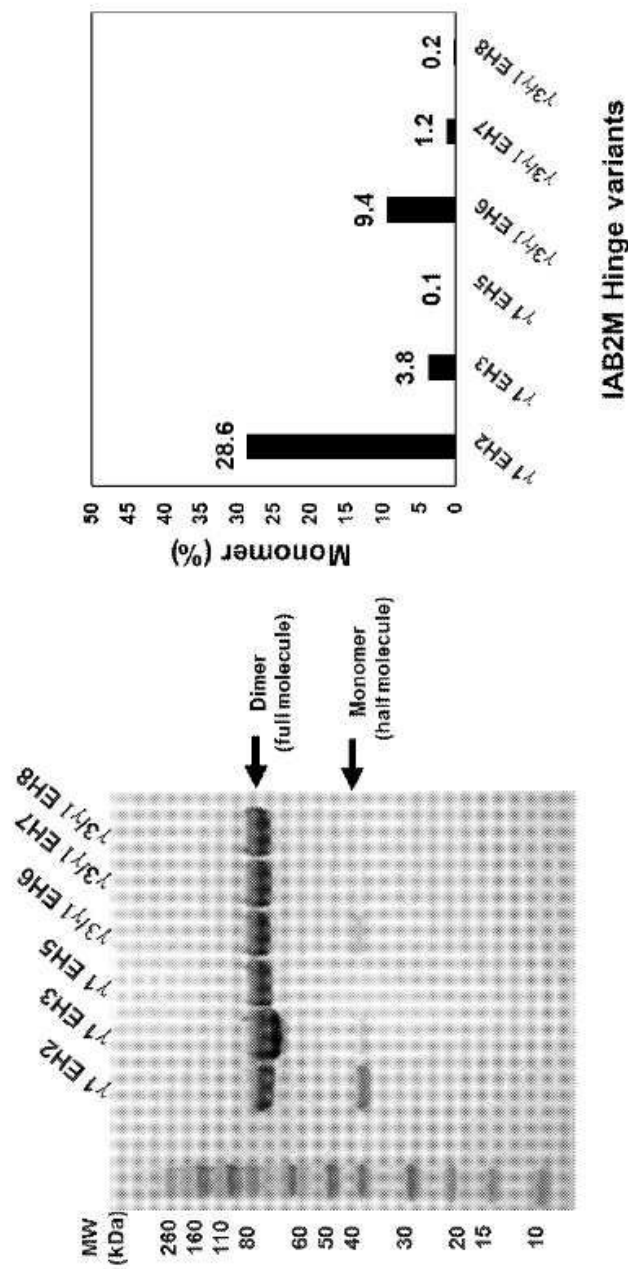
Core hinge
CPPCPPCPPC (SEQ ID NO: 54)

Lower hinge
GGSSGGSG (SEQ ID NO: 59)

Human IgG1 CH3 (G1m1 allotype)
GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQG
NVFSCSVMHREALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 40)

Human IgG1 CH3 (nG1m1 allotype)
GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQ
GNVFSCSVMHREALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 41)

도면21a



도면21b

IAB2M γ 1 EH5 (N- to C-terminal)

Anti-PSMA variable light (VL) sequence
DIVMTQSPSSLSASVGDRTTICKASQDVGTAVDWYQQKPGKAPKLLIYWASTRHTGVPDRFTGSGSGTDFTLTISSLQPE
DFADYFCQQYNSYPLTFGGGTKLEIK (SEQ ID NO: 13)

Linker
GSTSGGGGGGGGGSS (SEQ ID NO: 62)

Anti-PSMA variable heavy (VH) sequence
EVQLVQSGAEVKKPGASVKISCKTSGYTFEYTIHWVKQASGKGLIEWIGNINPNNGGTTYNQKFEDRATLTVDKSTSTAYM
ELSSLRSEDTAVYYCAAGWNFDYWGGGTTVTVSS (SEQ ID NO: 14)

Full hinge (EH5)
EPKSSDKTHTCPPCPPCGGGSSGGSG (SEQ ID NO: 30)

Upper hinge
EPKSSDKTHT (SEQ ID NO: 46)

Core hinge
CPPCPPCPPC (SEQ ID NO: 54)

Lower hinge
GGSSGGGGSG (SEQ ID NO: 59)

Human IgG1 CH3 (G1m1 allotype)
GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQG
NVFSCSVMEALHNHYTQKSLSPGK (SEQ ID NO: 40)

Human IgG1 CH3 (nG1m1 allotype)
GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQG
GNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSPGK (SEQ ID NO: 41)

도면21c

IAB2M $\gamma 3/\gamma 1$ EH6 (N- to C-terminal)

Anti-PSMA variable light (VL) sequence
DIVMTQSPSSLSASVGDRTITCKASQDVGTAVDWYQQKPGKAPKLLIYWASTRHTGVPDRFTGSGSGTDFTLTISLQPE
DFADYFCQQNSYPLTFGGGTKLEIK (SEQ ID NO: 13)

Linker
GSTSGGGGGGGGGSS (SEQ ID NO: 62)

Anti-PSMA variable heavy (VH) sequence
EVQLVQSGAEVKKPGASVKISCKTSGYTFEYTIHWVKQASGKGLWIGNINPNNGTTYNQKFEDRATLTVDKSTSTAYM
ELSSLRSEDAVYYCAAGWNFDYWGGGTTVTYSS (SEQ ID NO: 14)

Full hinge (EH6)
ELKTPLGDTTHTCVCPPCGGGSSGGSG (SEQ ID NO: 35)

Upper hinge
ELKTPLGDTTHT (SEQ ID NO: 48)

Core hinge
CVCPPC (SEQ ID NO: 57)

Lower hinge
GGSGGGSG (SEQ ID NO: 59)

Human IgG1 CH3 (G1m1 allotype)
GQPREPQVYTLPPSRDELTKNOVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQ
GNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 40)

Human IgG1 CH3 (nG1m1 allotype)
GQPREPQVYTLPPSRDEMTKNOVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQ
GNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 41)

도면21d

IAB2M $\gamma 3/\gamma 1$ EH7 (N- to C-terminal)

Anti-PSMA variable light (VL) sequence
DIVMTQSPSSLSASVGDRTITCKASQDVGTAVDWYQQKPGKAPKLLIYWASTRHTGVPDRFTGSGSGTDFLTISSLQPEDF
ADYFCQQYNSYPLTFGGGTKLEIK (SEQ ID NO: 13)

Linker
GSTSGGGGGGGGGSS (SEQ ID NO: 62)

Anti-PSMA variable heavy (VH) sequence
EVQLVQSGAEVKKPGASVKISCKTSGYTFTYTHWVKQASGKGLEWIGNINPNNGGTTYNOKFEDRATLTVDKSTSTAYMEL
SSLRSEDAVYYCAAGWNFDYWGQGTITVSS (SEQ ID NO: 14)

Full hinge (EH7)
ELKTPLGDTTHTCPPCPGSGGGSGG (SEQ ID NO: 36)

Upper hinge
ELKTPLGDTTHT (SEQ ID NO: 48)

Core hinge
CPPCP (SEQ ID NO: 52)

Lower hinge
GGSGGGSGG (SEQ ID NO: 59)

Human IgG1 CH3 (G1m1 allotype)
GQPREQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV
FSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 40)

Human IgG1 CH3 (nG1m1 allotype)
GQPREQVYTLPPSRDEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV
FSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 41)

도면21e

IAB2M $\gamma 3/\gamma 1$ EH8 (N- to C-terminal)

Anti-PSMA variable light (VL) sequence
DIVMTQSPSSLSASVGDRTITCKASQDVGTAVDWYQQKPGKAPKLLIYWASTRHTGVPDRFTGSGSGTDFLTISSL
OPEDFADYFCQQYNSYPLTFGGGKLEIK (SEQ ID NO: 13)

Linker
GSTSGGGSGGGGGSS (SEQ ID NO: 62)

Anti-PSMA variable heavy (VH) sequence
EVQLVQSGAEVKKPGASVKISCKTSGYTFEYTIHWVKQASGKGLEWIGNINPNNGGTTYNQKFEDRATLTVDKSTST
AYMELSSLRSEDTAVYYCAAGWNFDYWGGGTTVTSS (SEQ ID NO: 14)

Full hinge (EH8)
ELKTPLGDTTHTCPPCPGPGGGSGGGSG (SEQ ID NO: 37)

Upper hinge
ELKTPLGDTTHT (SEQ ID NO: 48)

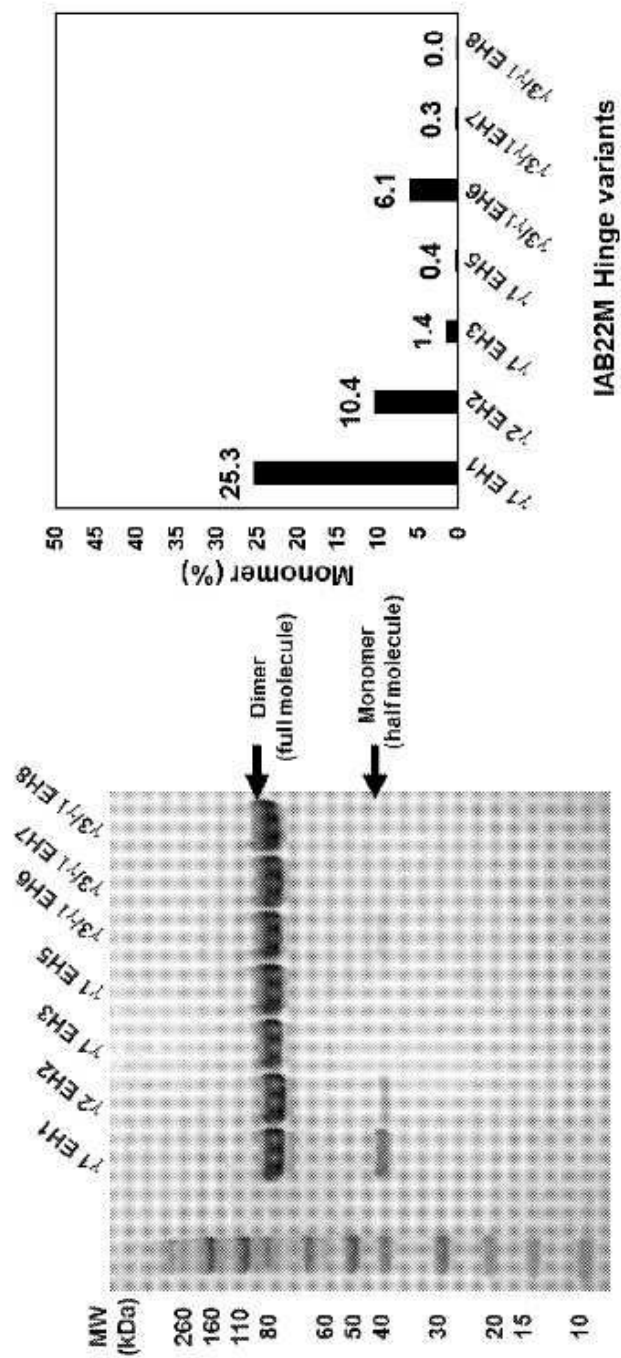
Core hinge
CPPCPGPGG (SEQ ID NO: 54)

Lower hinge
GGSGGGSG (SEQ ID NO: 59)

Human IgG1 CH3 (G1m1 allotype)
GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW
QQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 40)

Human IgG1 CH3 (nG1m1 allotype)
GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW
QQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 41)

도면22a



도면22b

IAB22M γ 1 EH2 (N- to C-terminal)

Anti-CD8 variable light (VL) sequence
DVQITQSPSSLSASVGDRTVITCRTSRISQYLAWYQQKPGKVPKLLIYSGSTLQSGVPSRFSGSGGTDFTLTIT
SSLPQEDVATYYCQQHNENPLTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO: 15)

Linker
GSTSGGGGGGGGGSS (SEQ ID NO: 62)

Anti-CD8 variable heavy (VH) sequence
EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHFVRQAPGKGLEWIGRIDPANDNTLYASKFQGKATISADT
SKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCGRGYYVFDHWGQGTLTVSS (SEQ ID NO: 16)

Full length (EH2)
EPKSSDKTHTCPPCGGGGGGGSG (SEQ ID NO: 24)

Upper hinge
EPKSSDKTHT (SEQ ID NO: 46)

Core hinge
CPPC (SEQ ID NO: 50)

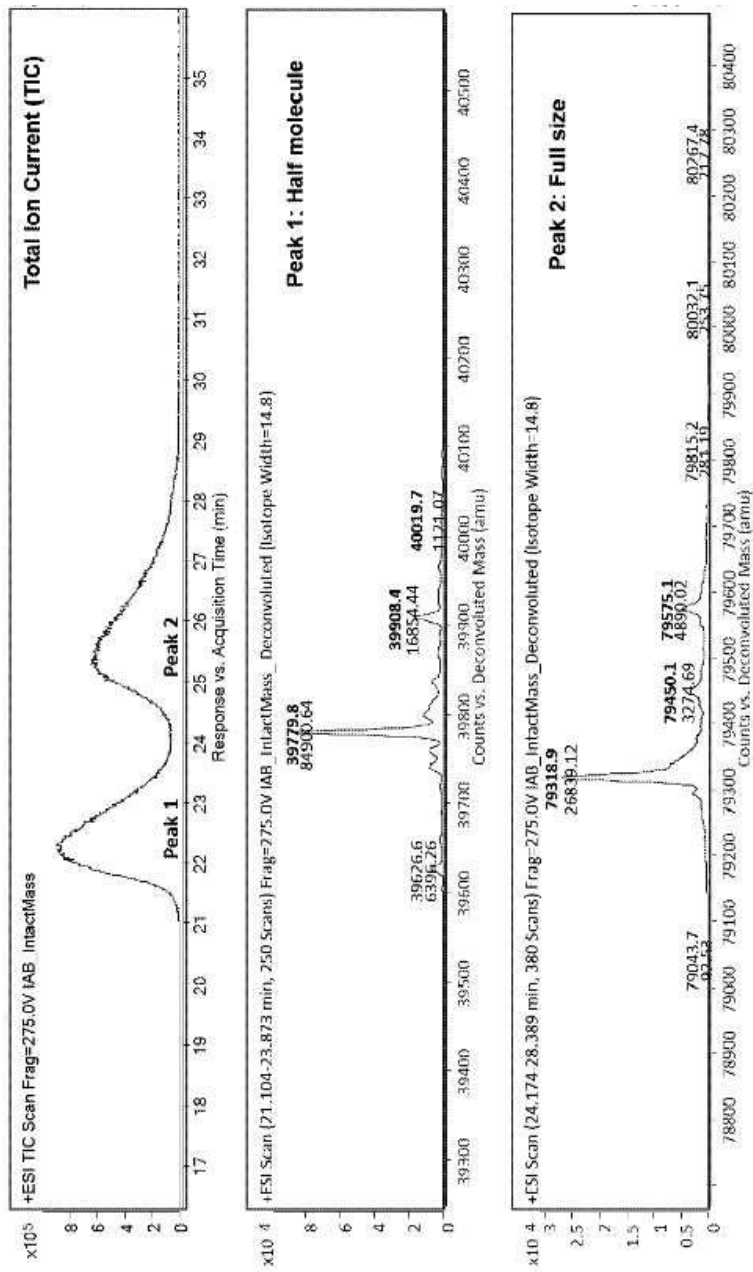
Lower hinge
GGSGGGGGSG (SEQ ID NO: 59)

Human IgG1 CH3 (G1m1 allotype)
GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVD
KSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 40)

Human IgG1 CH3 (nG1m1 allotype)
GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVD
KSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 41)

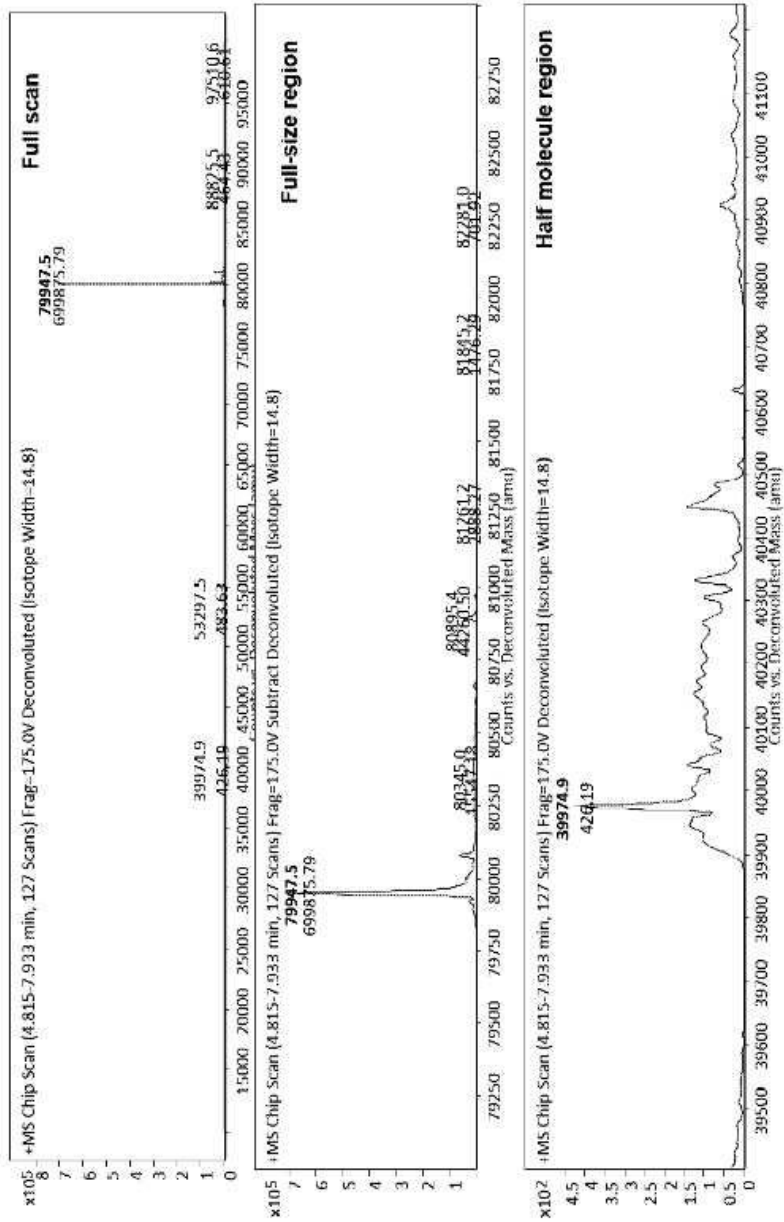
도면23

Intact mass analysis of IAB22M γ1 EH1



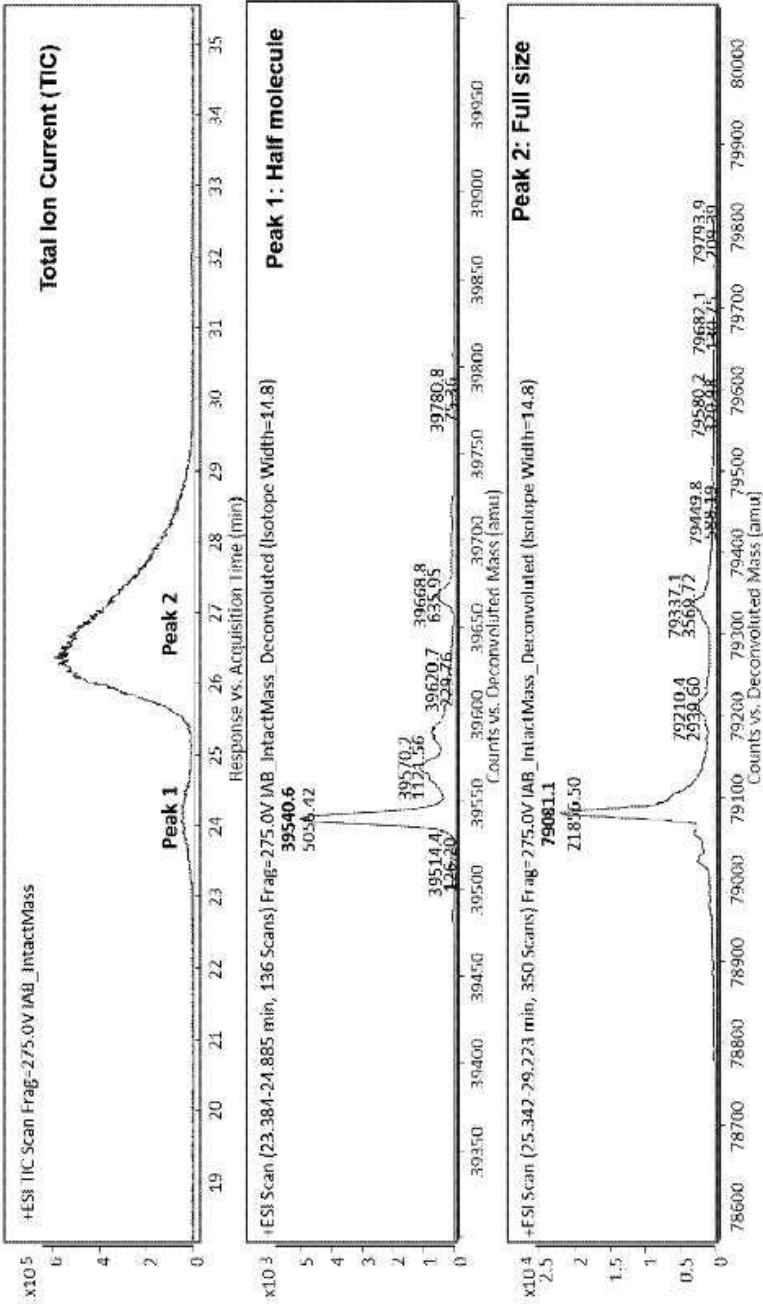
도면24

Intact mass analysis of IAB22M-γ1 EH3



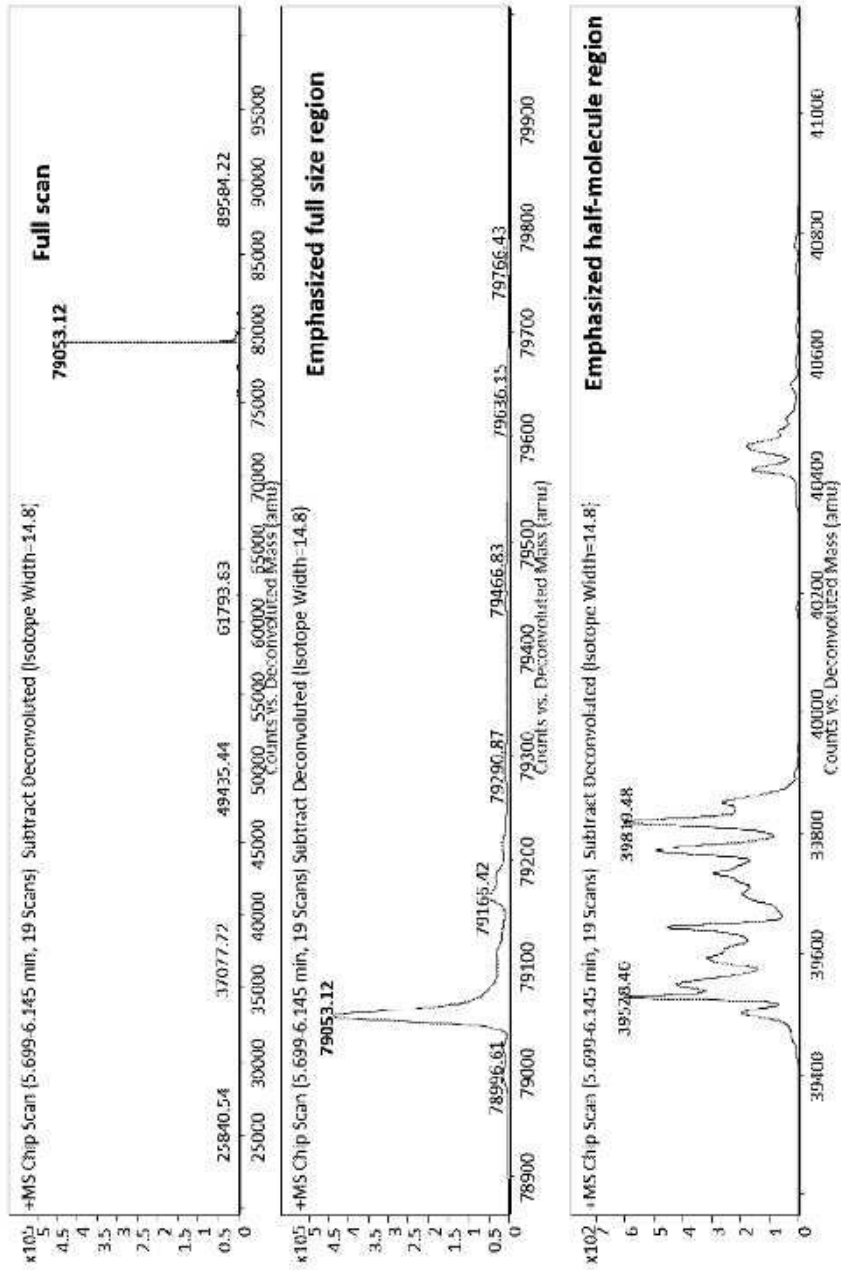
도면25a

Intact mass analysis of the IAB22M γ2 EH1



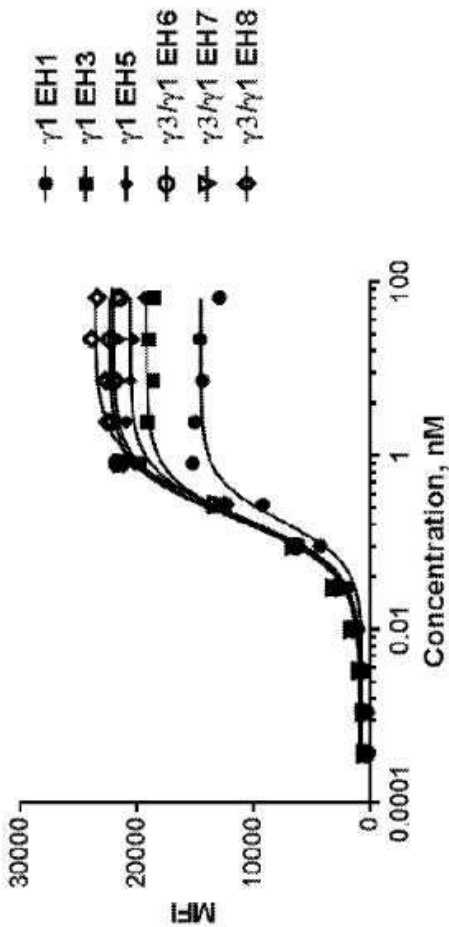
도면25b

Intact mass analysis of the IAB22M γ 2 EH2



도면26

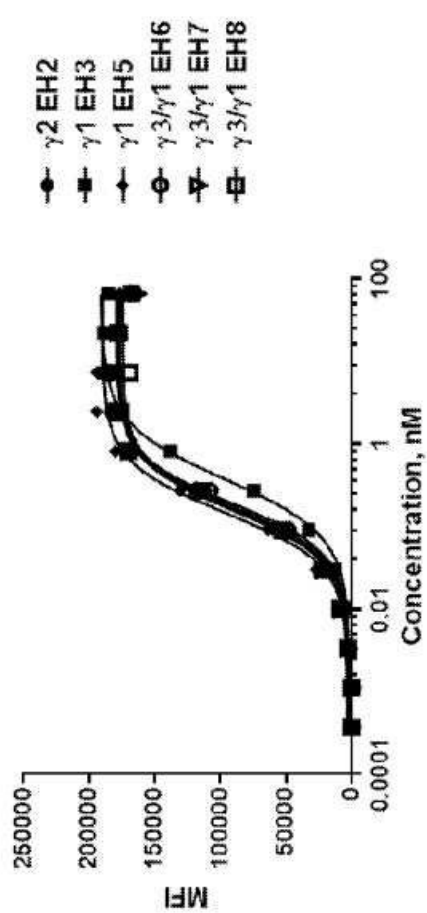
IAB2M hinge variants binding to C4-2 XCL cells



variant	$\gamma 2$ EH2	$\gamma 1$ EH3	$\gamma 1$ EH5	$\gamma 3/\gamma 1$ EH6	$\gamma 3/\gamma 1$ EH7	$\gamma 3/\gamma 1$ EH8
EC50, nM	0.176	0.1618	0.1831	0.1876	0.1859	0.2274

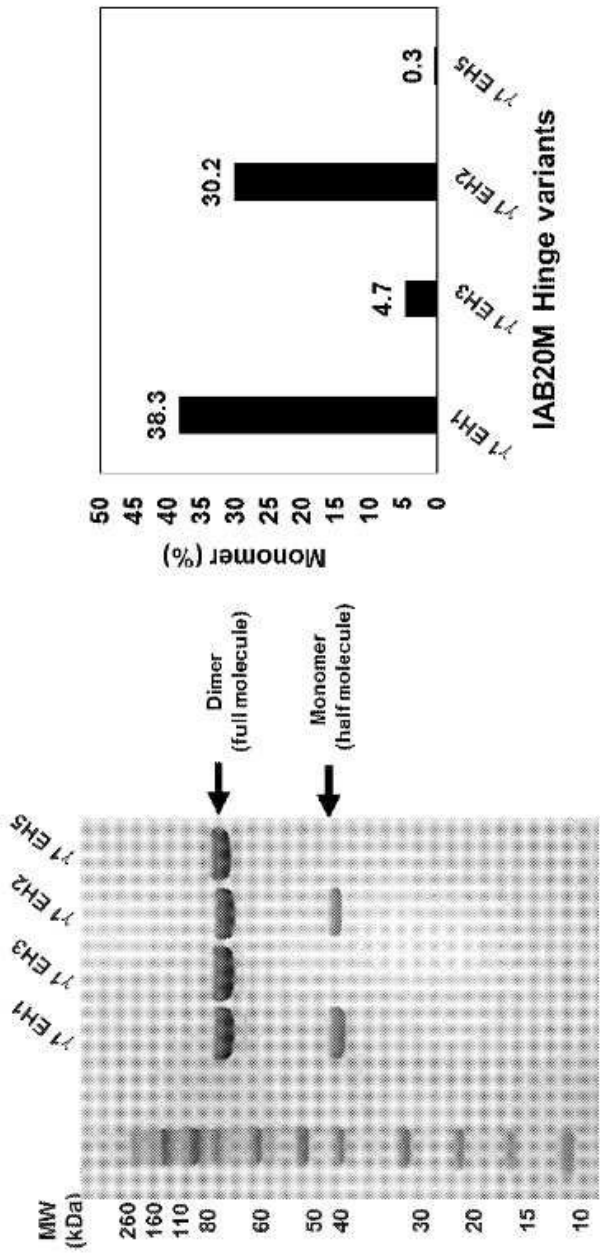
도면27

IAB22M hinge variants binding to HPB-ALL cells



variant	$\gamma 2$ EH2	$\gamma 1$ EH3	$\gamma 1$ EH5	$\gamma 3/\gamma 1$ EH6	$\gamma 3/\gamma 1$ EH7	$\gamma 3/\gamma 1$ EH8
EC50, nM	0.1561	0.3701	0.1457	0.1884	0.1701	0.1632

도면28a



도면28b

IAB20M γ 1 EH1 (N- to C-terminal)

Anti-5T4 variable light (VL) sequence
 DIVMTQSPATLSVSPGERATLSCSKASQSVNDVAWYQQKPKGQAPRLLISSRYAGVPDRFSGSGGTDFLTITSSLQ
 AEDVAVYCCQDYNSPPTFGQGTKEIK (SEQ ID NO: 17)

Linker
 GSTSGGGGGGGGGSS (SEQ ID NO: 62)

Anti-5T4 variable heavy (VH) sequence
 QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYFTGYMHWRQAPGGGLEWIGRINPNNGVTLYNQKFKDRVTMTVDTSIS
 TAYMELSRLRSDDTAVYFCARSTMITNYMDYWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 18)

Full hinge (EH1)
 EPKSCDKTHTCPPCGGSGSGGGSG (SEQ ID NO: 22)

Upper hinge
 EPKSCDKTHT (SEQ ID NO: 45)

Core hinge
 CPPC (SEQ ID NO: 50)

Lower hinge
 GGGSGGGSG (SEQ ID NO: 59)

Human IgG1 CH3 (G1m1 allotype)
 GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ
 QGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 40)

Human IgG1 CH3 (nG1m1 allotype)
 GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ
 QGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 41)

도면28c

IAB20M γ 1 EH3 (N- to C-terminal)

Anti-5T4 variable light (VL) sequence
 DIVMTQSPATLSVSPGERATLSCKASQSVSNDAVWYQQKPGQAPRLLISYTSSRYAGVPDRFSGSGTDFLTLTSSLSQA
 EDVAVYCCQDDYNSPPTFGQGTKEIK (SEQ ID NO: 17)

Linker
 GSTSGGGGGGGGGSS (SEQ ID NO: 62)

Anti-5T4 variable heavy (VH) sequence
 QVQLVQSGAEVKKPGASVKVCKASGYSFTGYMHWRQAPGQGLEWIGRINPNNGVTLYNQKFKDRVTMTVDTISIT
 AYMELSRRLRSDDTAVYYCARSTMITNYMDYWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 18)

Full hinge (EH3)
 EPKSSDKTHTCPPCPGGGGSSGGSG (SEQ ID NO: 26)

Upper hinge
 EPKSSDKTHT (SEQ ID NO: 46)

Core hinge
 CPPCPPC (SEQ ID NO: 52)

Lower hinge
 GGGSSGGSG (SEQ ID NO: 59)

Human IgG1 CH3 (G1m1 allotype)
 GOPREPVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ
 QGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 40)

Human IgG1 CH3 (nG1m1 allotype)
 GOPREPVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ
 QGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 41)

도면28d

IAB20M γ 1 EH2 (N- to C-terminal)

Anti-5T4 variable light (VL) sequence
DIVMTQSPATLSVSPGERATLSCKASQSVSNDVAWYQQKPGQAPRLLISYTSSRYAGVPDRFSGSGGTDFLTISLQA
EDVAVYYCQDDYNSPPTFGQGTKVEIK (SEQ ID NO: 17)

Linker
GSTSGGGSGGGGGGSS (SEQ ID NO: 62)

Anti-5T4 variable heavy (VH) sequence
QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSFTGYIMHWVRQAPGQGLEWIGRINPNNGVTLYNQKFDRVTMTVDTISIST
AYMELSRLRSDDTAVYYCARSTMITNVMYMDYWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 18)

Full hinge (EH2)
EPKSSDKTHTCPPCGGGSGGGSGG (SEQ ID NO: 24)

Upper hinge
EPKSSDKTHT (SEQ ID NO: 46)

Core hinge
CPPC (SEQ ID NO: 50)

Lower hinge
GGGSGGGSGG (SEQ ID NO: 59)

Human IgG1 CH3 (G1m1 allotype)
GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQ
GNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 40)

Human IgG1 CH3 (nG1m1 allotype)
GQPREPQVYTLPPSRDEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQ
QGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 41)

도면28e

IAB20M γ 1 EH5 (N- to C-terminal)

Anti-5T4 variable light (VL) sequence
DIVMTQSPATLSVSPGERATLSCASQSVNDVAWYQQKPGQAPRLISYTSSRYAGVPDRFSGSGSGTDFTLTISLQAE
DVAVYCCQDDYNSPPTFGQGTKVEIK (SEQ ID NO: 17)

Linker

GSTSGGGSGGGSGGGSS (SEQ ID NO: 62)

Anti-5T4 variable heavy (VH) sequence
QVQLVQSGAEVKKPGASVKVCSKASGYSFTGYMHWRQAPGGGLEWIGRINPNNGVTLYNQKFKDRVMTMTVDTISITA
YMELSRLRSDDTAVYYCARSTMITNYVMDYWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 18)

Full hinge (EH5)

EPKSSDKTHTCPPCPPCGGGSGGGSG (SEQ ID NO: 30)

Upper hinge

EPKSSDKTHT (SEQ ID NO: 46)

Core hinge

CPPCPPCPPC (SEQ ID NO: 54)

Lower hinge

GGSGGGSG (SEQ ID NO: 59)

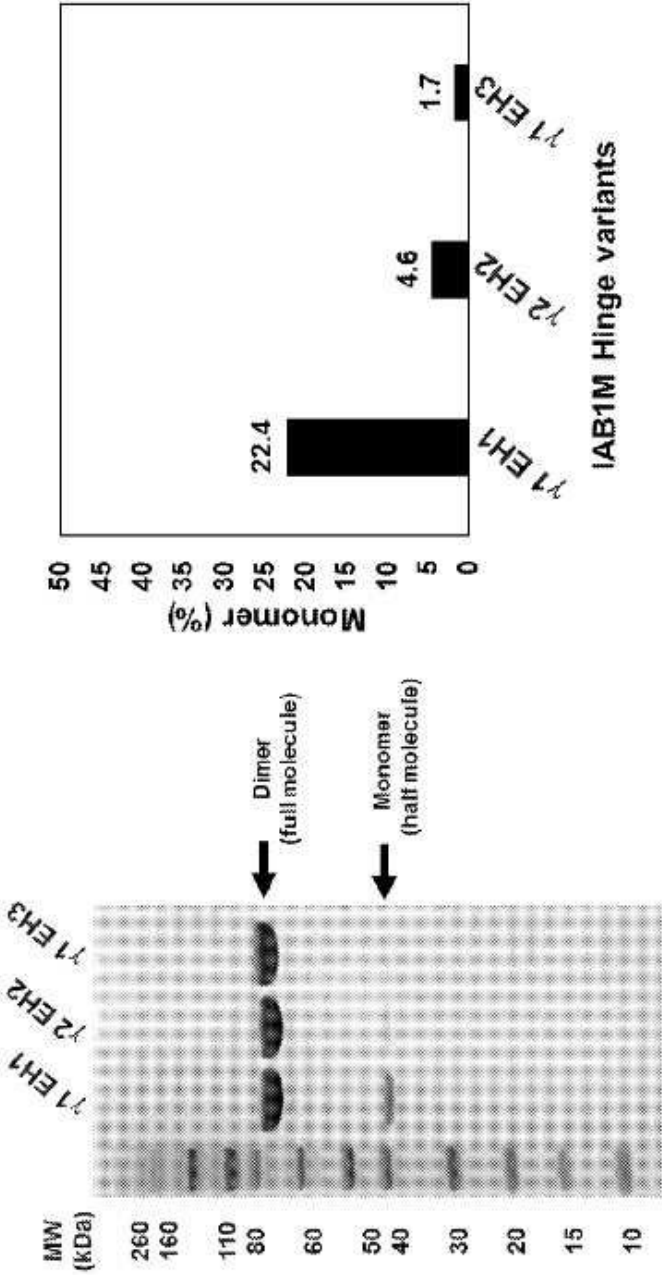
Human IgG1 CH3 (G1m1 allotype)

GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQ
GNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 40)

Human IgG1 CH3 (nG1m1 allotype)

GQPREPQVYTLPPSRDEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQ
GNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 41)

도면29a



도면29b

IAB1M γ 1 EH1 (N- to C-terminal)

Anti-PSCA (A11f) variable light (VL) sequence
DIQLTQSPSTLSASVGDRTTTCSSSVRFIHWYQQKPGKAPKRLIYDTSKLASGVPSRFSGSGGTDFTLTISD
LQPEDFATYYCCQWGGSSPFTFGQGTKVEIK (SEQ ID NO: 67)

Linker
GSTSGGGGGGGGGSS (SEQ ID NO: 62)

Anti-PSCA (A11) variable heavy (VH) sequence
EVQLVEYGGGLVQPGLSLRLSCAASGFIKDYIHVVVRQAPGKGLEWVAVWIDPENGDTFVFPKFQGRATMSAD
TSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCKTGGFWGQGLTVYSS (SEQ ID NO: 68)

Full hinge (EH1)
EPKCDKTHTCPPCGGGSSGGSG (SEQ ID NO: 22)

Upper hinge
EPKCDKTHT (SEQ ID NO: 45)

Core hinge
CPPC (SEQ ID NO: 50)

Lower hinge
GGSSGGSG (SEQ ID NO: 59)

Human IgG1 CH3 (G1m1 allotype)
GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDK
SRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 40)

Human IgG1 CH3 (nG1m1 allotype)
GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDK
SRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 41)

도면29c

IAB1M γ 2 EH2 (N- to C-terminal)

Anti-PSCA (A11) variable light (VL) sequence
 DIQLTQSPSTLSASVGDRTVITCSASSSVRFIHWYQKPGKAPKRLIYDTSKLSGVPSPRFSGSGSGTDFTLTI
 SSLQPEDFATYYCQQWGGSSPFTFGQGTKVEIK (SEQ ID NO: 67)

Linker
 GSTSGGGGGGGGGSS (SEQ ID NO: 62)

Anti-PSCA (A11) variable heavy (VH) sequence
 EVQLVEYGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDYIHWVRQAPGKGLEWVAWIDPENGDTFVFPKFGGRATMS
 ADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCKTGGFWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 68)

Full hinge (EH2)
 ERKSCVECPPCPGGGSSGGSG (SEQ ID NO: 34)

Upper hinge
 ERK (SEQ ID NO: 47)

Core hinge
 SCVECPPCP (SEQ ID NO: 56)

Lower hinge
 GGGSSGGSG (SEQ ID NO: 59)

Human IgG2 CH3
 GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPMLDSDGSFFLYSKLTV
 DKSRWQQGNVFSVCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 42)

도면29d

IAB1M γ 1 EH3 (N- to C-terminal)

Anti-PSCA (A11) variable light (VL) sequence
 DIQLTQSPSTLSASVGDRTITCSASSSVRFIHWYQQKPGKAPKRLIYDTSKLASGVPSRFSGSGSGTDFTLTIS
 SLOPEDFATYYCQQQWGSSPFTFGQGTKVEIK (SEQ ID NO: 67)

Linker

GSTSGGGSGGGSGGGSS (SEQ ID NO: 62)

Anti-PSCA (A11) variable heavy (VH) sequence
 EVQLVEYGGGLVQPGGSLRLSCAASGFINIKDYIHWVRQAPGKGLEWVAWIDPENGDTFVPKFQGRATMSA
 DTSKNTAYLQMINSRAEDTAVYYCTGGFWGQGLTVSS (SEQ ID NO: 68)

Full hinge (EH3)

EPKSSDKTHTCTPCPPCGGGSGGGSG (SEQ ID NO: 26)

Upper hinge

EPKSSDKTHT (SEQ ID NO: 46)

Core hinge

CPPCPPC (SEQ ID NO: 52)

Lower hinge

GGSGGGSGSG (SEQ ID NO: 59)

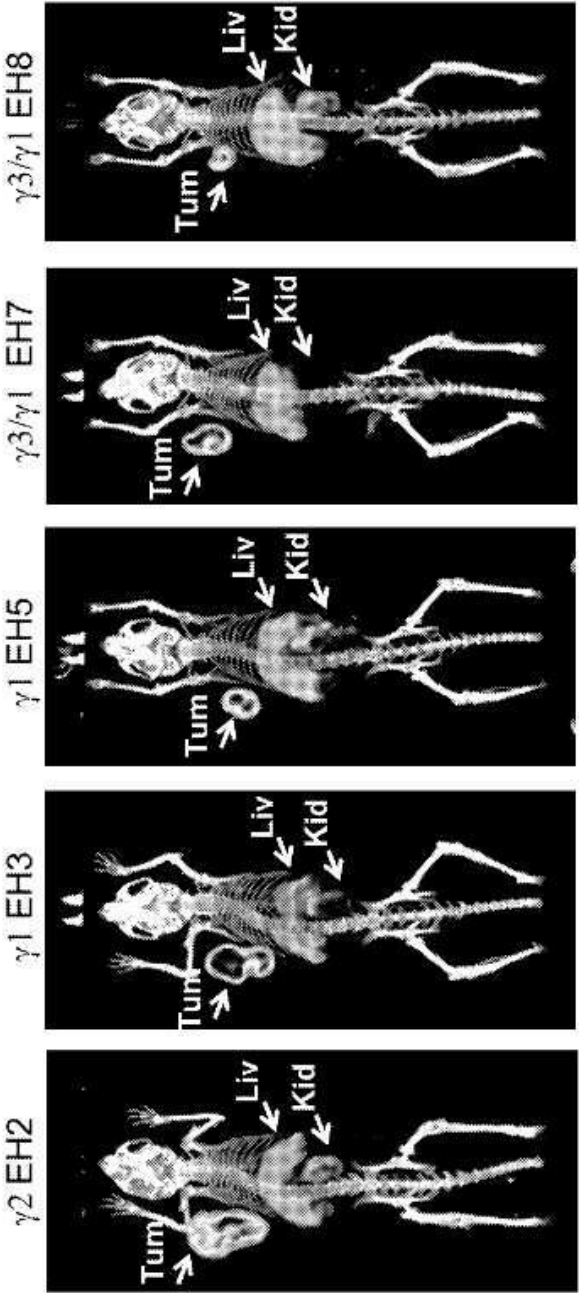
Human IgG1 CH3 (G1m1 allotype)

GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDK
 SRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 40)

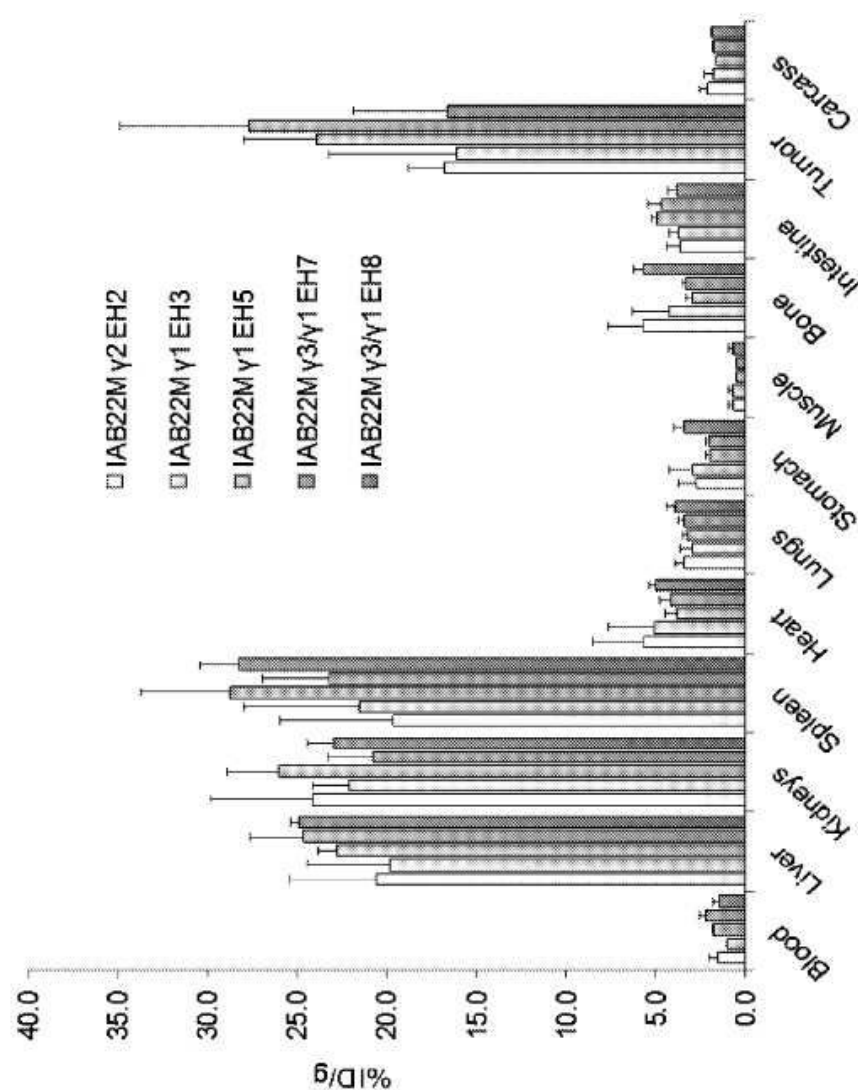
Human IgG1 CH3 (nG1m1 allotype)

GQPREPQVYTLPPSRDEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDK
 KSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 41)

도면30



도면31



IAB20M γ 2 EH2 (N- to C-terminal)

Anti-5T4 variable light (VL) sequence
DIVMTQSPATLSVSPGERATLSCKASQSVSNDVAWYQQKPGQAPRLISYTSSRYAGVPDRFSGSGSGTDFTLTIS
SLQAEDEVAVYYCQDYNPPTFGQGTKVEIK (SEQ ID NO: 17)

Linker
GSTSGGGSGGGGGSS (SEQ ID NO: 62)

Anti-5T4 variable heavy (VH) sequence
QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKKASGYSTGYMHWRQAPGQGLEWIGRINPNNGVTLYNQKFKDRVTMTVD
TSISTAYMELSRRLRSDDTAVYYCARSTMITNYVMDYWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 18)

Full hinge (EH2)
ERKSCVECPPCPGGGSGGGSG (SEQ ID NO: 34)

Upper hinge
ERK (SEQ ID NO: 47)

Core hinge
SCVECPPCP (SEQ ID NO: 56)

Lower hinge
GGSGGGSG (SEQ ID NO: 59)

Human IgG2 CH3
GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPMLDSDGSFFLYSKLTVDKS
RWQQGNVFCSCVMHEALHNYTKQSLSLSPGK (SEQ ID NO: 42)

도면33

IAB25M γ 2 EH2 (N- to C-terminal)

Anti-CD3 variable light (VL) sequence
 EVLTQSPATLSLSPGERATLSCSASSSVSYMNWYQQKPGQAPRLLIYDTSKLSGVPAHFRGSGSGTDFLTIT
 SSLEPEDFAVYYCQQWSSNPFTFGQGTKVEIK (SEQ ID NO: 19)

Linker
 GSTSGGGSGGGGGSS (SEQ ID NO: 62)

Anti-CD3 variable heavy (VH) sequence
 QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKKASGYTFTRYTMHWVRQAPGQGLEWMGYINPSRGYTNYNQKFKDRVTM
 TTDTISITAYMELSRRLRSDDTAVYYCARYYDDHYSLDYWGGQGLTVTSS (SEQ ID NO: 20)

Full hinge (EH2)
 ERKSCVECPPCPGGGSGGGSG (SEQ ID NO: 34)

Upper hinge
 ERK (SEQ ID NO: 47)

Core hinge
 SCVECPPCP (SEQ ID NO: 56)

Lower hinge
 GGGSSGGSG (SEQ ID NO: 59)

Human IgG2 CH3
 GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPMLDSDGSFFLYSKLTVD
 KSRWQQGNVDFCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 42)

도면34a

M1 = VL - VH
M2 = VH - VL

IAB2M γ 1 EH3 (M1) (SEQ ID NO: 162)

gatatgtgatgacccagagcccgagcagcctgagcgcgagcgtggcgcatcgcgtgacc
attacctgcaaaagcagccaggatgtggcaaccgcgtgattggtatcagcagaaaccg
ggcaaaagcgcgaactgctgatttattggcgagcaccgcctaccatccgcgtgccgat
cgctttaccggcagcgcgagcgcgaaccgattttaccctgaccattagcagcctgcagccg
gaagattttgcggattatttttgccagcagtgataaacagctatccgctgaccttggcggc
ggcaccaaactggaaattaaaggcagcaccagcggcggcgagcggcggcgagcggc
ggcggcgcagcagcgaagtgcagctggtgcagagcgcgcgcggaagtgaataaacgggc
gcgagcgtgaaattagctgcaaaaccagcggctatacctttaccgaatataccattcat
tgggtgaaacagcgcgagcgcgaaggcctggaatggattggcaacattaacccgaacaac
ggcggaaccacctataaccagaaaatttgaagatcgcgcgacccctgacctggataaaagc
accagcaccgcgtatatggaactgagcagcctgcgcagcgaagataccgcgtgtattat
tgcgcggcgggtggaacttgattattggggccagggcaccaccctgacctgagcagc
gaaccgaaaagcagcgcgataaaaccatacctgccgcctgccgcctgccgcggcggc
agcagcggcggcgcgagcgcggccagcgcgcggaaccgcaggtgtataccctgccgcg
agcgcgaagaaatgaccaaaccagcgcgtgagcctgacctgctggtgaaaggcttttat
ccgagcgatatgtcggtggaatgggaaagcaacggcagccgggaaacactataaaacc
acccgcgcgtgctggatagcgatggcagctttttctgtatagcaaacctgacctggat
aaaagccgctggcagcagggcaacgtgttagctgcagcgtgatgcatgaagcgcctgcat
aaccattatataccagaaaagcctgagcctgagcccgggc (SEQ ID NO: 162)

도면34b

IAB2M γ 1 EH5 (M1) (SEQ ID NO: 163)

gatatgtgatgacccagagcccgagcagcctgagcgcgagcgtggcgcatcgcgtagcc
attacctgcaaaagcagccaggtgtggcacccggttgatgggtatcagcagaaacgg
ggcaaaagcgcgaactgctgatttatttggcgagcaccgcgcataccggcgtgcggat
cgctttaccggcagcggcagcggcacccgattttaccctgaccattagcagcctgcagccg
gaagattttgcggattatttttgcagcagcagcagcagcagcagcagcagcagcagcagc
ggcaccaactggaaattaaaggcagcaccagcggcgcgagcggcgagcggcgagcggcg
ggcgcgcgagcagcgaagtgcagctggtgcagagcggcgcggaagtgaaaaaacccgggc
gcgagcgtgaaattagctgcataaacacagcggctataaccttaccgaatataccattcat
tgggtgaaacagcgagcggcgaaggcctggaatggattggcaaacattaacccgaacaac
ggcgccaccacctataaccagaaatttgaagatcgcgacccctgaccctggataaaagc
accagcacccggtatatggaaactgagcagcctgcgcagcgaagataccgcggtgtattat
tgcgcgcggtggaactttgattatttggggccagggcacccctgaccctgagcagc
gaaccgaaaagcagcgataaaaccataacctgccccgcgtgccccgcgtgccccgcgtgc
ggcgcgcgagcagcggcgcgagcggcgagcggcgagcggcgagcggcgagcggcgagcggcg
ctgcgcgcgagcgcgaagaaatgacccaaaaaacccaggtgagcctgacctggtgaaa
ggcttttatccgagcgatatcggttggaatgggaagaaagcagcagcgggaaacaaac
tataaaacccaccccggtgctggatagcgatggcagcttttctgtatagcaaaactg
accgtggataaaaagccgctggcagcagggcaacgtgttagctgcagcgtgatgcatagaa
gcgctgcataaacattatataccagaaaaagcctgagcctgagccccgggc (SEQ ID NO: 163)

도면34c

IAB2M γ I EH8 (M1) (SEQ ID NO: 164)

gataattgtgatgacccagagcccgagcagcagcctgagcgcgagcgtggcgcatcgcgtgacc
attacctgcaaaagcagccaggatgtggcacccgcggtggattgggtatcagcagaaacccg
ggcaaaagcgcgaaactgctgatttattggcgagcaccgcgcataccggcgtgccggat
cgctttaccggcagcggcagcggcaccgattttaccctgaccattagcagcctgcagcgg
gaagattttgcggattatttttgcacgcagtataacagctatccgctgacctttgcgcgc
ggcacccaaactggaaattaaaggcagcaccagcggcgcgagcggcgcgcgagcgggc
ggcgcgcgagcagcagcgaagtgcagctggtgcagagcggcgcggaagtgaaaaaacccgggc
gcgagcgtgaaaaattagctgcaaaaaccagcggctatacctttaccgaataataccattcat
tgggtgaaacacagcggcggcgaaggccttggaaatggattggcaacattaaacccgaacaaac
ggcgacaccacctataaccagaaatttgaagatcgcgcgacccctgacctggataaaaagc
accagcaccccggtatatggaactgagcagcctgcgcagcgaagataccgcggtgtattat
tgccgcggcggtggaaactttgattattggggccaggccaccacctgacctgagcagc
gaactgaaaaaccccgctggcgatataccaccataacctgccgcgctgccgcgctgccgc
ccgtgcggcgcgagcagcggcgcgagcggcgcgagcggcgcgagcggcggaacccgaggtg
tataacctgccgcgagcgcggaagaatgaccaaataaccaggtgacctgacctgcctg
gtgaaaggcttttatccgagcgatatatgcggtggaaatgggaaagcaacggcagccggaa
aacaactataaaaccccccgcggtgctggatagcgatggcagctttttctgtatagc
aaactgacctggataaaaagccgctggcagcagggcgaacgtgttagctgcagcgtgatg
catgaagcgtgcataaaccatatatatacccaaaaaagcctgagcctgagcccgggc (SEQ ID NO: 164)

도면34d

IAB2M γ 1 EH3 (M2) (SEQ ID NO: 165)

gaagtgcagctggtgcagagcggcggaagtgaataaacggcgcgagcgtgaaaatt
agctgcaaaaaccagcggctataacctttaccgaatataccattcattgggtgaacacggcg
agcggcaaaaggcctggaatggattggcaacattaacccgaacaacggcgccaccctat
aaccaagaatttgaagatcgcgcgacccctgacctggataaaaaaccagcacccgctat
atggaaactgagcagcctgcgcagcgaagataccgcgggtgtattattgcgcggcggtgg
aaacttgattattggggccagggcacccacctgacctgagcagcggcagcaccagcggc
ggcgacagcggcgcgagcggcgagcggcgcgagcagcagcagcagcagcagcagc
ccgagcagcctgagcgcgagcgtggcgagcgtgcgtgaccttacctgcaaaagcagccag
gatgtgggcaccgcggtggattgggtatcagcagaaaaccggggcaazgcgccgaaactgctg
atttatggcgagcacccgcacataccggcggtgcgggacgctttaccggcagcggcagc
ggcaccgattttacctgaccttagcagcctgcagcggggaagattttgcgggattatttt
tgccagcagtataacagctatccgctgacctttggcgcgcgccaccaaaactggaattaaa
gaaccgaaaagcagcgataaaaaccataacctgcccgcctgcccgcctgcccgcgggc
agcagcggcgcgagcggcgccagcggcggaaccggcaggtgtataccctgcccgcg
agccgcgaagaaatgacccaaaaaccaggtgagcctgacctgcctggtgaaaggctttat
ccgagcgatatgtcgggtggaatgggaaagcaacggccagccggaataataaaacc
acccgcgggtgctggatagcgatggcagctttttctgtatagcaaaactgacctggat
aaaagccgctggcagcagggcaacgtgttagctgcagcgtgatgcataagcgcctgc
aaccattataccagaaaagcctgagcctgagccccggc (SEQ ID NO: 165)

도면34e

IAB2M γ 1 EH5 (M2) (SEQ ID NO: 5)

gaagtgcagctggtgcagagcggcggaagtgaataaaacccggcgagcgtgaaaaatt
agctgcataaacacagcggctataacctttaccgaatatataccattcattgggtgaaacagcgcg
agcggcaaaagcctgggaatggattggcaacattaaacccgaacaaacggcgaccacctat
aaccaagaatttgaagatcgcgacacctgacctggataaaaagcaccagcaccgcgtat
atggaaactgagcagcctggcagcgaagataccgggtgtattatttgcgcggcgggctgg
aaacttggattattgggccaaggccaccacctgacctgagcagcggcagcaccagcggc
ggcggcagcggcgcgagcggcgcgcgcgcgagcagcagcagcagcagcagcagcagc
ccgagcagcctgagcgcgagcgtggcgagcgcgtgacctgacctgacctgacctgacctg
gatgtgggcacccgggtggattgggtatcagcagaaacccgggcaaaagcgcgaactgctg
atttattggcgagcaccggccataccggcgctgcccggatcgctttaccggcagcggcagc
ggcaaccgattttacctgaccttagcagcctgagcgcgggaagattttggcgattatttt
tgccagcagtataacagctatccgctgacctttggcgcgcgacccaaactggaaattaaa
gaaccgaaaagcagcgataaaacccataacctgcccgcctgcccgcctgcccgcctgc
ggcgcgcgagcagcggcgcgcgagcggcgcgcgcgcgcgcgcgcgcgcgcgcgcgcg
ctgcccgcggagcgggaagaatgacccaaaacacaggtgagcctgacctgctgtgaaa
ggcttttatccgagcgatattgcgggtggaatgggaagcaacggcgccagcgaaacac
tataaaacccacccgggtgctggatagcgatggcagctttttctgtatagcaaaactg
accgtggataaaaagcccgctggcagcagggcaacgtgttagctgcagcgtgatgcatgaa
ggcctgcataaacattatataccacagaaaagcctgagcctgagcccgggc (SEQ ID NO: 5)

도면34f

IAB2M γ 1 EH8 (M2) (SEQ ID NO: 6)

gaagtgcagctggtgcagagcggcggaagtgaataaacccggcgagcgtgaaaatt
agctgcaaaaaccagcgctataaccttiaccgaataataccattcattgggtgaaacaggcg
agcggcaaaaggcctggaatggattggcaacattaacccgaacaacggcgacaccctat
aaccagaaatttgaagatcgcggaacctgacctggataaaagcaccagcaccgcgtat
atggaactgagcagcctgcgcagcgaagataccgcggtgtattattgcggcggtgctgg
aactttgattattggggccagggaaccacccgtgacctgagcagcggcagcaccagcggc
ggcggcagcggcggcgcagcggcgcgcggcgcgcagcagcagcagcagcagcagcagc
ccgagcagcctgagcgcgagcgtgggcgagtcgcgtgaccattacctgcaaaqcagcagc
gatgtgggcaccgcggtggatttggtatcagcagaaacccggcaaacgcgcgaactgctg
atttattggcgagcaccgcgcataccggcggtgcggatcgctttaccggcagcggcagc
ggcaccgattttacctgaccattagcagcctgcagcgggaagattttgcggattatttt
tgccagcagttataacagctatccgctgacctttggcggggcacccaaactggaaattaaa
gaactgaaaaccgccgtggcgataaccaccataacctgcccgcgtgcccgcgtgcccg
ccgtgcggcggcgcagcggcggcgcgcgcgcgcgcgcgcgcgcgcgcgcgcgcgcgcgc
tataccctgcggcgagccgcgaagaaatgacccaaaaccacaggtgagcctgacctgctg
gtgaaaggccttttatccgagcgatatcgcggtggaatgggaaagcacaacggccagccggaa
aacaactataaaaccaccccgcggtgctggatagcgatggcagctttttctgtatagc
aaactgaccgctggataaaagccgctggcagcagggcacaacgtgttagctgcagcgtgatg
catgaagcgcctgcataaacattataccccagaaaaagcctgagcctgagccccggc (SEQ ID NO: 6)

도면 35a

M1 = VL – VH

M2 = VH – VL

Linkers

Hinges

IAB2M γ 1 EH3 (M1) (SEQ ID NO: 7)

DIVMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQDVGTAVDWYQQKPKAPKLLIYWASTRHTGVPDRFTGSGGTDFTLTI
SSLQPEDFADYFCQQYNSYPLTFGGGTKLEIKGSTSGGGGGGGGGSS\$EVQLVQSGAEVKKPGASVKISCKTS
GYTFEYTIHWVKQASGKGLEWIGNINPNNGGTTYNQKFEDRATLTVDKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCAAG
WNFDYWGGTTVTVSSEPKSSDKTHTCPPCPPCGGGGGGGGGGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVK
GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLS
PG (SEQ ID NO: 7)

IAB2M γ 1 EH5 (M1) (SEQ ID NO: 8)

DIVMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQDVGTAVDWYQQKPKAPKLLIYWASTRHTGVPDRFTGSGGTDFTLTI
SSLQPEDFADYFCQQYNSYPLTFGGGTKLEIKGSTSGGGGGGGGGSS\$EVQLVQSGAEVKKPGASVKISCKTS
GYTFEYTIHWVKQASGKGLEWIGNINPNNGGTTYNQKFEDRATLTVDKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCAAG
WNFDYWGGTTVTVSSEPKSSDKTHTCPPCPPCPGGGGGGGGGGGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTC
LVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSL
SLSPG (SEQ ID NO: 8)

도면35b

IAB2M γ1 EH8 (M1) (SEQ ID NO: 9)
 DIVMTQSPSSLSASVGDRTITCKASQDVGTAVDWYQQKPGKAPKLLIYWASTRHTGVPDRFTGSGSGTDFTLTI
 SSLQPEDFADYFCQQYNSYPLTFGGGKLEIKGSTGGSGGGGGSS\$EVQLVQSGAEVKKPGASVKISCKTS
 GYTFEYTIHWVKQASGKGLEWIGNINPNNGGTTYNQKFEDRATLTVDKSTAYMELSSLRSEDNAVYYCAAG
 WNFYWGQGTITVVSSELKTPPLGDTHTCPPCPPCGGGSGGGGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSL
 TCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCVMHEALHNHYTQK
 SLSLSPG (SEQ ID NO: 9)

IAB2M γ1 EH3 (M2) (SEQ ID NO: 10)
 EVQLVQSGAEVKKPGASVKISCKTSGYTFEYTIHWVKQASGKGLEWIGNINPNNGGTTYNQKFEDRATLTVDKS
 TSTAYMELSSLRSEDNAVYYCAAGWNFDYWGQGTITVVSSTSGGGSGGGGG\$DIVMTQSPSSLSASV
 GDRVTITCKASQDVGTAVDWYQQKPGKAPKLLIYWASTRHTGVPDRFTGSGSGTDFTLTISLQPEDFADYFCQ
 QYNSYPLTFGGGKLEIKEPKSSDKTHTCPPCPPCGGGSGGGGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVK
 GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCVMHEALHNHYTQKSLSL
 PG (SEQ ID NO: 10)

도면35c

IAB2M γ 1 EH5 (M2) (SEQ ID NO: 11)

EVQLVQSGAEVKKPGASVKISCKTSGYTFEYTIHWVKQASGKGLEWIGNINPNNGGTTYNQKFEDRATLTVDKS
TSTAYMELSSLRSEDTAVYYCAAGWNFDYWGQTTVTVSSGSTSGGGSGGGSGGGSDIVMTQSPSSLSASV
GDRVITITCKASQDVGTAVDWYQKPGKAPKLLIYWASTRHTGVPDRFTGSGGTDFTLTISLQPEDFADYFCQ
QYNSYPLTFGGGKLEIKEPKSSDKTHTCPPCPPCGGGSGGGGQPREPQVYVTLPPSREEMTKNQVSLTC
LVKGFYPDSIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCVMHEALHNHYTQKSL
SLSPG (SEQ ID NO: 11)

IAB2M γ 1 EH8 (M2) (SEQ ID NO: 12)

EVQLVQSGAEVKKPGASVKISCKTSGYTFEYTIHWVKQASGKGLEWIGNINPNNGGTTYNQKFEDRATLTVDKS
TSTAYMELSSLRSEDTAVYYCAAGWNFDYWGQTTVTVSSGSTSGGGSGGGSGGGSDIVMTQSPSSLSASV
GDRVITITCKASQDVGTAVDWYQKPGKAPKLLIYWASTRHTGVPDRFTGSGGTDFTLTISLQPEDFADYFCQ
QYNSYPLTFGGGKLEIKELKTPGLGDTTHTCPPCPPCGGGSGGGGQPREPQVYVTLPPSREEMTKNQVSL
TCLVKGFYPDSIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCVMHEALHNHYTQK
SLSLSPG (SEQ ID NO: 12)

도면36a

VH and VL domains
IAB2M variable light (VL) and heavy (VH) sequences

VL
DIVMTQSPSSLASVGDRTITCKASQDVGTAVDWYQQKPKAPKLLIYWASTRH
TGVPRDFTGSGSGTDFTLTISSLQPEDFADYFCQQYNISYPLTFGGGTKLEIK
(SEQ ID NO: 13)

VH
EVQLVQSGAEVKKPGASVKISKTSKSTGYTFTEYTIHWVKQASGKGLEWIGNINPNN
GGTTYNQKFEDRATLLTVDKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCAAGWNFDYWGQGT
VTVSS **(SEQ ID NO: 14)**

도면36b

IAB22M variable light (VL) and heavy (VH) sequences

VL
DVQITQSPSSLASVGDRTITCRTSRISQYLAWYQQKPGKPKLLIYSGSTL
QSGVPSRFSGSGGTDFLTITISLQPEDVATYYCQHNENPLTFGGGTKVEIK
(SEQ ID NO: 15)

VH
EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHFVRQAPGKLEWIGRIDPA
NDNTLYASKFQGKATISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCGRGYGYVFDHW
GGTLLVTVSS **(SEQ ID NO: 16)**

도면36c

IAB20M variable light (VL) and heavy (VH) sequences

VL

DIVMTQSPATLSVSPGERATLSCASQSVSNDVAWYQQKPGQAPRLLISYTSSR
YAGVPDRFSGSGGTDFLTITISLQAEDVAVYYCQQDYNSPPTFGQGTKVEIK
(SEQ ID NO: 17)

VH

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSFTGYMHWRQAPGQGLEWIGRINPN
NGVTLYNQKFKDRVTMTVDTSISTAYMELSLRSDDTAVYYCARSTMITNYVMD
YWGQGTLLVTVSS **(SEQ ID NO: 18)**

도면36d

Anti-CD3 variable light (VL) and heavy (VH) sequences

VL

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCSASSSVSYMNWYQQKPGQAPRLLIYDTSKLA
SGVPAHFRGSGGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQWSSNPFTFGQGTKVEIK

(SEQ ID NO: 19)

VH

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTRYTMHWVRQAPGQGLEWMGYINPS
RGYTNYNQKFKDRVTMTDTISISTAYMELSRRLSDDTAVYYCARYYDDHYSLDY

WGQGTLLVTVSS (SEQ ID NO: 20)

도면36e

IAB1M (All) variable light (VL) and heavy (VH)
sequences

VL

DIQLTQSPSTLSASVGDRVTITCSASSSVRFIHWYQQKPKAPKRLIYDTSKLA
SGVPSRFSGSGGTDFTLTISLQPEDFATYQCQQWGSSPFTFGQGTKVEIK
(SEQ ID NO: 67)

VH

EVQLVEYGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDYIHWVRQAPGKGLEWVAWIDPE
NGDTEFVPKFQGRATMSADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCKTGGFWGQGLV
TVSS **(SEQ ID NO: 68)**

도면37

Linker sequences:

GGGGS	5 aa	(SEQ ID NO: 66)
GGGGSGGGGS	10 aa	(SEQ ID NO: 65)
GGGGSGGGSGGGGS	15 aa	(SEQ ID NO: 64)
GSTSGGGSGGGGS	12 aa	(SEQ ID NO: 63)
GSTSGGGSGGGSGGGSS	18 aa	(SEQ ID NO: 62)

도면38

Full hinge:	Upper	Core	Lower
Human IgG1 NH1 (SEQ ID NO: 21)	EPKSCDKTHT (SEQ ID NO: 45)	CPPCP (SEQ ID NO: 51)	APELLGCP (SEQ ID NO: 58)
Human IgG1 EH1 (SEQ ID NO: 22)	EPKSCDKTHT (SEQ ID NO: 45)	CPPC (SEQ ID NO: 50)	GGSSSGGSG (SEQ ID NO: 59)
Human IgG1 NH2 (SEQ ID NO: 23)	EPKSCDKTHT (SEQ ID NO: 46)	CPPCP (SEQ ID NO: 51)	APELLGCP (SEQ ID NO: 58)
Human IgG1 EH2 (SEQ ID NO: 24)	EPKSCDKTHT (SEQ ID NO: 46)	CPPC (SEQ ID NO: 50)	GGSSSGGSG (SEQ ID NO: 59)
Human IgG1 NH3 (SEQ ID NO: 25)	EPKSCDKTHT (SEQ ID NO: 46)	CPPCPPC (SEQ ID NO: 52)	APELLGCP (SEQ ID NO: 58)
Human IgG1 EH3 (SEQ ID NO: 26)	EPKSCDKTHT (SEQ ID NO: 46)	CPPCPPC (SEQ ID NO: 52)	GGSSSGGSG (SEQ ID NO: 59)
Human IgG1 NH4 (SEQ ID NO: 27)	EPKSCDKTHT (SEQ ID NO: 46)	CPPCVCPPC (SEQ ID NO: 53)	APELLGCP (SEQ ID NO: 58)
Human IgG1 EH4 (SEQ ID NO: 28)	EPKSCDKTHT (SEQ ID NO: 46)	CPPCVCPPC (SEQ ID NO: 53)	GGSSSGGSG (SEQ ID NO: 59)
Human IgG1 NH5 (SEQ ID NO: 29)	EPKSCDKTHT (SEQ ID NO: 46)	CPPCPPCPPC (SEQ ID NO: 54)	APELLGCP (SEQ ID NO: 58)
Human IgG1 EH5 (SEQ ID NO: 30)	EPKSCDKTHT (SEQ ID NO: 46)	CPPCPPCPPC (SEQ ID NO: 54)	GGSSSGGSG (SEQ ID NO: 59)
Human IgG2 NH1 (SEQ ID NO: 31)	ERK (SEQ ID NO: 47)	CCVECPPCP (SEQ ID NO: 55)	APPVAGP (SEQ ID NO: 60)
Human IgG2 EH1 (SEQ ID NO: 32)	ERK (SEQ ID NO: 47)	CCVECPPCP (SEQ ID NO: 55)	GGSSSGGSG (SEQ ID NO: 59)
Human IgG2 NH2 (SEQ ID NO: 33)	ERK (SEQ ID NO: 47)	SCVECPPCP (SEQ ID NO: 56)	APPVAGP (SEQ ID NO: 60)
Human IgG2 EH2 (SEQ ID NO: 34)	ERK (SEQ ID NO: 47)	SCVECPPCP (SEQ ID NO: 56)	GGSSSGGSG (SEQ ID NO: 59)
IgG3/IgG1 EH6 (SEQ ID NO: 35)	ELKTPLGDTTHT (SEQ ID NO: 48)	CVECPPC (SEQ ID NO: 57)	GGSSSGGSG (SEQ ID NO: 59)
IgG3/IgG1 EH7 (SEQ ID NO: 36)	ELKTPLGDTTHT (SEQ ID NO: 48)	CPPCPPC (SEQ ID NO: 52)	GGSSSGGSG (SEQ ID NO: 59)
IgG3/IgG1 EH8 (SEQ ID NO: 37)	ELKTPLGDTTHT (SEQ ID NO: 48)	CPPCPPCPPC (SEQ ID NO: 54)	GGSSSGGSG (SEQ ID NO: 59)
IgG4 NH (SEQ ID NO: 38)	ESKYGPP (SEQ ID NO: 49)	CPPCP (SEQ ID NO: 51)	APETLGCP (SEQ ID NO: 61)
IgG4 EH (SEQ ID NO: 39)	ESKYGPP (SEQ ID NO: 49)	CPPCP (SEQ ID NO: 51)	GGSSSGGSG (SEQ ID NO: 59)

도면39

CH3 domains:

Human IgG1 CH3 (G1m1 allotype)
 GQPREPQVYITLPPSRDELITKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVD
 KSRWQQGNVFSCSVMHREALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 40)

Human IgG1 CH3 (nG1m1 allotype)
 GQPREPQVYITLPPSRDEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVD
 KSRWQQGNVFSCSVMHREALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 41)

Human IgG2 CH3
 GQPREPQVYITLPPSRDEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPMLDSDGSFFLYSKLTVD
 KSRWQQGNVFSCSVMHREALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 42)

Human IgG3 CH3
 GQPREPQVYITLPPSRDEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESSGQPENNYNTTPPMLDSDGSFFLYSKLTVD
 KSRWQQGNIFSCSVMHREALHNRTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 43)

Human IgG4 CH3
 GQPREPQVYITLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVD
 KSRWQEGNVFSCSVMHREALHNHYTQKSLSLSLGK (SEQ ID NO: 44)

도면40

Alignment compared IAB22M Y1 EH1 (M1) (SEQ ID NO: 105) vs IAB22M Y1 EH3 (M1) (SEQ ID NO: 106), differences shown in box.

```

IAB22M Y1 EH1 (M1) METDTLLWLLWVPGSTGVDVQITCSFSSLSASVGDVAVITTCRTSRGISCYLAWYQQKP 60
IAB22M Y1 EH3 (M1) METDTLLWLLWVPGSTGVDVQITCSFSSLSASVGDVAVITTCRTSRGISCYLAWYQQKP 60
IAB22M Y1 EH1 (M1) GAVPKLLIYSGSTLQSGVPSRFSGSGSGDFTLTISSLQPEDVAIYYCQCHNENPLTGG 120
IAB22M Y1 EH3 (M1) GAVPKLLIYSGSTLQSGVPSRFSGSGSGDFTLTISSLQPEDVAIYYCQCHNENPLTGG 120
IAB22M Y1 EH1 (M1) GTRVEIKGSTSGCGSCGCGSCGSEVQLVESCGGLVQPGCSLRLSCAASGFNINDTYIH 180
IAB22M Y1 EH3 (M1) GTRVEIKGSTSGCGSCGCGSCGSEVQLVESCGGLVQPGCSLRLSCAASGFNINDTYIH 180
IAB22M Y1 EH1 (M1) CTXVEIKGSTSGCGSCGCGSCGSEVQLVESCGGLVQPGCSLRLSCAASGFNINDTYIH 180
IAB22M Y1 EH3 (M1) CTXVEIKGSTSGCGSCGCGSCGSEVQLVESCGGLVQPGCSLRLSCAASGFNINDTYIH 180
IAB22M Y1 EH1 (M1) FVRQAPKCKLENTIGRIDPANDNTLYASFPQGRATISADTSKNTAYLQWNGSLRADTAVVY 240
IAB22M Y1 EH3 (M1) FVRQAPKCKLENTIGRIDPANDNTLYASFPQGRATISADTSKNTAYLQWNGSLRADTAVVY 240
IAB22M Y1 EH1 (M1) CGRGYGYVFDHWGGSTLVTSSEPKS C DKHTCP --- PCGGSSGGGGGGQPRFPQVYT 297
IAB22M Y1 EH3 (M1) CGRGYGYVFDHWGGSTLVTSSEPKS S DKHTCP PCP PCGGSSGGGGGGQPRFPQVYT 300
IAB22M Y1 EH1 (M1) LPPSR DEL LKQVSLTCLVKGCTYPRDIAVWENSGQPRNNKTTTPVWLDSSGFTLYSKL 357
IAB22M Y1 EH3 (M1) LPPSR EEM TKNQVSLTCLVKGCTYPRDIAVWENSGQPRNNKTTTPVWLDSSGFTLYSKL 360
IAB22M Y1 EH1 (M1) TVDKGRWQGNVTSQVMHEALINHYTKSLSPG K 394 (SEQ ID NO: 105)
IAB22M Y1 EH3 (M1) TVDKGRWQGNVTSQVMHEALINHYTKSLSPG --- 396 (SEQ ID NO: 106)

```

도면41

IAB22M γ1 EH3(M1), CDR regions are defined by Chothia definition (SEQ ID NO: 106)

```

atggagaccgataccctgctgctgtgggtgctgctgctgtgggtgcccggctccacaggc
M E T D T L L L W V L L L W V P G S T G

```

Signal peptide sequence

```

gatgtgcagatcacacagagccctagcagcctgagcgcagcgtgggagatagagtcacc
D V Q I T Q S P S S L S A S V C D R V T

```

VL

```

Atcacatgc aggaccagcagaagcattagccagtcactggcc cggtaaccagcaaaagccc
I T C R T S R S I S Q Y L A W Y Q Q K P

```

LCDR1

```

Gcaaggtgcccgaagctgctgactac agcggctcccctgcagagc ggcgtgcccagc
C K V P K L L I Y S G S T L Q S G V P S

```

LCDR2

```

agattctccggctccggagcgcagacagctttaccctgacccatctctccctgcagccc
R F S G S G S G T D F T L T I S S L Q F

```

```

gaggaatgcgccaccctactactgc cagcagcacaacgaaaccccccgaca ttggcggc
E D V A T Y Y C Q Q H N E N P L T F G G

```

LCDR3

```

ggcaccgaagtggaatcaag ggccagccagcggcggaggaagtggagtggaagtggga
C T K V E I K G S T S G C G S G C G S G

```

Linker

```

Ggagggggaagcggc gaggcgcagctggcggagagtggtggaggaatggcggagccggg
C G G S S E V Q L V E S C G G L V Q P G

```

Linker VH

```

Ggcagcgcgagactgagctgtgctgctcc ggatccaatatcagggaacc aacatccac
C S L R L S C A A S G F H I K D T Y I H

```

HCDR1

```

ttcgtgagacagcccccggcgaaggactggngtggaattggaaagatc gaccccgccaac
F V R Q A P G K G L E W I G R I D P A N

```

HCDR2

```

gacaa accctgtacgcagcaaatccaggcgaaggccacaatcagcccgccacacagc
E N T L Y A S K F O G K A T I S A D T S

```

HCDR3

```

aagaacacgcctactctgcagatgaactccctgcagagccgaggaacacagccgtgtactac
X N T A Y L Q M N S L R A E D T A V Y Y

```

```

tgccggcagg ggcacagcctattacgtgttcgaccac cggggccagggcaccctggcgaca
C G R G Y G Y Y V P D H W G Q G T L V T

```

Upper hinge

```

gtgagcagc gaacccaagagctccgacaaagaccacacc tgtcccccttgccctccctgt
V S S E P K S S D K T H T C P P C P P C

```

Core hinge

```

ggcggggaaggtccggagggcggagcggag gacagcctagggaagccaggtgtatacc
G G G S S G G S G G Q P R E P Q V Y T

```

Lower hinge

CH3

```

ctccccctccagggaagagatgaccaagaaccagggtgagcctgacctgcctcgtgaa
L P P S R E E M T K N Q V S L T C L V K

```

```

ggcttttatccctccgatatccgcgtggagtgaggagcaacggccagcctgagaacaat
G F Y P S D I A V E W E S N G Q P E N N

```

```

tacaagaccacccccctgtgctggactccgatggcagctctctcctgtattccaaagctg
Y K T T P P V L D S D C S F F L Y S K L

```

```

accgtgcgaagtccagggtggcaacagggaacgtcttcagctgcagcgtgatgcacag
T V D K S R W Q Q G N V F S C S V M H E

```

```

gccctgcacaatcaactacacccagaagtcctctccctgagccccggctga (SEQ ID NO: 140)
A L H N H Y T Q K S L S L S P G Stop (SEQ ID NO: 106)

```

도면42

IAB22M γ 1 EH5 (M1) (SEQ ID NO: 107)

atggagacagacacccctcctcctgtgggtgctgctgctgctgggtgcccggatccacccgga
M E T D T L L L W V L L L W V P G S T G
gacgtgcagatcacacagagcccccagctccctgtccgctagcgtgggagacagagtgacc
D V Q I T Q S P S S L S A S V G D R V T
atcacctgcaggaccagcaggagcatctcccagtagctcgttgggtaccagcagaagcct
I T C R T S R S I S Q Y L A W Y Q Q K F
ggcaagggtgcccgaagctgctgatttacagcggatccacccctgcagagcggcgtgcttagc
G K V P K L L I Y S G S T L Q S G V P S
aggcttagcggcagcggatccgggaacagactccaccctgacccatcagcagcctgcagcct
R F S G S G S G T D F T L T I S S L Q F
gaagatgtggccacctaactactgtcagcagcacaacgaaaaacccctcaccttcggcggc
E D V A T Y Y C Q Q H N E N P L T F G G
ggcacaaagggtggaatcaaggcagcacctccggaggaggcagcggcggagggcagcggga
G T K V E I K G S T S G G G S G G S G
ggcggcggctccagcgaagtgacgtggtcagagcggagggcggactggtgcaacccgga
G G G S S E V Q L V E S G G G L V Q P G
ggaagcctgagggctgagctgtgcccgcagcggcttcaacatcaaggacacatacattcac
G S L R L S C A A S G F N I K D T Y I H
tttgtgaggcaggctcctggaaaggcctggagtggatcggcagaatcgaccccgctaac
F V R Q A P G K G L E W I G R I D P A N
gacaacacccctgtacgccagcaagttccaggcgaaggccaccatctccggcagacacaagc
D N T L Y A S K F Q G K A T I S A D T S
aagaataaccgcctacactgcagatgaactccctgagggccgaggataaccgctgtactac
K N T A Y L Q M N S L R A E D T A V Y Y
tgccggcaggggctatggctactacgtgtttgaccactggggccagggcacactggtgaca
C G R G Y G Y Y V F D H W G Q G T L V T
gtgagctccgagcccaagagctccgacaagacacacacctgcccctcttgcccccttgt
V S S E P K S S D K T H T C P P C P P C
cctccctgtggaggaggaagcagcggaggaggaagcggcggacagcccagagagcctcaa
P P C G C G S S C G C S C G Q P R E P Q
gtgtataccctgccccccctccagggaagagatgaccaagaaccagggtgagcctgacatgc
V Y T L F F S R E E M T K N Q V S L T C
ctggtcaaggcttctacccccagcgatattgctgtggagtgggagagcaacggccagccc
L Y K G F Y P S E I A V E W E S N G Q F
gagaacaactacaagaccacacccccctcctggatagcgatggcagcttcttctctgtac
E N N Y K T T P F V L D S D G S F F L Y
agcaagctgaccgtggcaagttccagggtggcagcagggcaacgttcttctcctgcagcgtg
S K L T V D K S R W Q Q G N V F S C S V
atgcacgagggtctgtcataaccactacacacagaagtcctcagcctgagccctggatga (SEQ ID NO: 141)
M H E A L H N H Y T Q K S L S L S P G Stop (SEQ ID NO: 107)

도면43

IAB22M y1 EB7(M1) (SEQ ID NO: 108)

atgggacacagacacccctcctcctgtgggtgctgctgctgtgggtgcccgatccaccgga
M E T D T L L L W V L L L W V F G S T G
gagctgcagatcacacagagcccccagctcctgtccgctagcgtggcgacagagtgacc
D V Q I T Q S P S S L S A S V C D R V T
atcacctgcagagccagcaggagcatctccaglacctcgcllgytaccagcagaagcct
I T C R T S R S I S Q Y L A W Y Q Q K F
ggcaaggtgcccaagctgctgatttacagcggatccacccctgcagagcggcgtgcttagc
G K V P K L L I Y S G S T L Q S G V P S
aggcttagcggcgagcgatccggaacagacttcacccctgacccatcagcagcctgcagcct
R F S G S G S G T D F T L T I S S L Q F
gaagatgtggccacctaactactgtcagcagcacaacgaaaacccctcaccttcggcggc
E D V A T Y Y C Q Q H N E N P L T F G G
ggcacaaaggtggaaatcaaggcagcacctccggaggaggcagcgcgaggcagcggga
G T K V E I K G S T S G G G S G G S G
ggcgcgccgtccagcgaagtcagctggtcgagagcggaggcgactgggtgcaacccgga
G G G S S E V Q L V E S G G G L V Q P G
ggaagcctgagcgtgagctgtgcccgacagcggcttcaacatcaagacacatacattcac
G S L R L S C A A S G F N I K D T Y I H
tttgtgaggcaggctcctggaaaggcctggagtgagtcggcagaatcgaccccgctaac
F V R Q A F G K G L E W I G R I D P A N
gacaacacccctgtacgccagcaagtctccaggggcaaggccaccatctccgccgacacaagc
D N T L Y A S K F Q G K A T I S A D T S
aagaataaccgcctacctgcagatgaactccctgaggggccaggataccgcctgtactac
K N T A Y L Q M N S L R A E D T A V Y Y
tgcggcaggggctatggctactacgtgtttgaccactggggccagggcacactggtgaca
C G R G Y G Y Y V F D H W G Q G T L V T
gtgagctccgagctgaagacacccctctggcgacacacacacacacccctgcccccttgccct
V S S E L K T P L G D T T H T C F P C F
ccctgtggaggaggaagcagcggagggaggaagcggcgacagccacagagcctcaagtg
P C G G G S S G G G S G G Q P R E P Q V
tataccctgccccctccagggaagagatgaccaagaaccaggtgagcctgacatgcctg
Y T L P P S R E E M T K N Q V S L T C L
gtcaaggcttctacccagcgatattgctgtggagtgggagagcaacggccagcccgag
V K G F Y P S D I A V E W E S N G Q P E
aacaactacaagaccacacccccctcctggatagcgatggcagcttcttctgtacagc
N N Y K T T P P V L D S D C S F F L Y S
aagctgaccgtggacaagtcagggtggcagcagggcaacgtcttctcctgcagcgtgatg
K L T V D K S R W Q Q G N V F S C S V M
cacgaggctctgcataaccactacacacagaagtcacctcagcctgagccctggatga (SEQ ID NO: 142)
H E A L H N H Y T Q K S L S L S P G Stop (SEQ ID NO: 108)

도면44

IAB22M y1 EH8 (M1) (SEQ ID NO: 109)

atggagacagacacccctcctcctgtgggtgctgctgctgtgggtgcccggatccaccgga
M E T D T L L L W V L L L W V F G S T G
gagctgcagatcacacagagcccccagctccctgtccgctagcgtggcgagcagagtgacc
D V Q I T Q S P S S L S A S V G D R V T
atcactgcaggaccagcaggagcatctcccagtaacctcgcttggtaccagcagaagcct
I T C R T S R S I S Q Y L A W Y Q Q K F
ggcaagtgcccagctgctgatttacagcggatccaccctgcagagcggcgctgcctagc
G K V P K L L I Y S G S T L Q S G V P S
aggttttagcggcagcggatccggascagacttcacccctgaccatcagcagcctgcagcct
R F S G S G S G T D F T L T I S S L Q F
gaagatgtggccacctactactgtcagcagcacaaacgaaaacccctcaccttcggcggc
E D V A T Y Y C Q Q H N E N P L T F G G
ggcacaaagtggaatacaaggcagcactccggaggagcagcggcgaggcagcggga
G T K V E I K G S T S G G G S G G G S G
ggcggcggctccagcgaagtgcagctggtcgagagcggagcggactggtgcacccgga
G G G S S E V Q L V E S G G G L V Q P G
ggaagcctgaggtgagctgtgccgccagcggcttcaacatcaaggacacatacattcac
G S L R L S C A A S G F N I K D T Y I H
tttgtgagcagcgtcctcctgaaaggcctgagtgatcggcagaatcgaccccgctaac
F V R Q A F G K G L E W I G R I D P A N
gacaaacccctgtacgcccagcaagtccaggcgaagccaccatctccgcccagacacaagc
D N T L Y A S K F Q G K A T I S A D T S
aagaataccgcctacctgcagatgaactccctgagggccgaggataccgcccgtgtactac
K N T A Y L Q M N S L R A E D T A V Y Y
tcggcgagggctatggctactacgtgtttgaccactggggccagggcacactggtgaca
C G R G Y G Y Y V F D H W G Q G T L V T
gtgagctccgagctgaagacacccctcgggcgacacacacacacccctccttgcgcc
V S S E L K T P L G D T T H T C F P C F
ccttgcctccctgtggaggaggaagcagcggaggaggaagcggcggacagccagagag
P C P P C G G G S S G G G S G G Q P R E
cctcaagtgtataccctgccccctccagggaagagatgaccaagaaccaggtgagcctg
P Q V Y T L P P S R E E M T K N Q V S L
acatgcctggtcaaaggcttctaccccagcgatattgctgtggagtgggagagcaacggc
T C L V K G F Y P S D I A V E W E S N G
cagcccagagaacaactacaagaccacacccccctcctggatagcgatggcagcttcttc
Q P E N N Y K T T P P V L D S D G S F F
ctgtacagcaagctgaccgtggacaagtcagggtggcagcagggcaacgtcttctcctgc
L Y S K L T V D K S R W Q Q G N V F S C
agcgtgatgcacagggctctgcataaccactacacacagaagtccctcagcctgagcctt
S V M H E A L H N H Y T Q K S L S L S P

ggatga (SEQ ID NO: 143)

G Stop (SEQ ID NO: 109)

도면45

IAB22M γ2 EB2(M1) (SEQ ID NO: 110)

atggaaacccgacacactgctgctgtgggtgctgctgctgctgggtccctggctccaccgga
M E T D T L L L W V L L L W V F G S T G
gacgtccagatccacagagcccccagcagcctgtccgcccagcgtgggagacagggtgacc
D V Q I T Q S P S S L S A S V C D R V T
atcacctgcaggaccagcagatccatctccagtatctggcctggtagcaacagaagccc
I T C R T S R S I S Q Y L A W Y Q Q K P
ggcaagggtcccccactgctgctgctacagcgggtccaccctgcagtcggcgtgcctagc
G K V P K L L I Y S G S T L Q S G V P S
aggttctccggcagcggatccggcacccgacttcacccctgaccatcagctccctgcagcct
R F S G S G S G T D F T L T I S S L Q P
gaggagcgtgggtacctaactactgccaacagcacacagagaacccctgacctttggaggc
E D V A T Y Y C Q Q H N E N P L T F G G
ggcaccaagggtggaaatcaaggcagcaccagcggcggagggaagcggaggaggatccgga
G T K V E I K G S T S G G G S G G G S G
ggaggcggaaagctccgaggtgcagctgggtggaaagcggcgggactgggtgcagcctgga
G G G S S E V Q L V E S G G G L V Q P G
ggaagcctcagactgagctgtgcccagcgggattcaacatcaagacacctacattcat
G S L R L S C A A S G F N I K D T Y I H
ttcgtgagacaggccccccgcaaggcctcgaatggatcggaaagatcgaccccgctaac
F V R Q A P G K G L E W I G R I D P A N
gacaataccctgtacgcctccaagttccagggaagggccaccatctccgcgatacctcc
D N T L Y A S K F Q G K A T I S A D T S
aagaacaccgcctacctccagatgaactccctgaggccgaagataccgcgctactac
K N T A Y L Q M N S L R A E D T A V Y Y
tgtggcaggggtacggctactatgtgttcgatcactggggccaaggaacccctggtgacc
C G R G Y G Y Y V F D H W G Q G T L V T
gtgagcagcgaagggaagagctgcgtggagtgtcctccttgtcccgccggcgggtccagc
V S S E R K S C V E C F F C P G G G S S
ggcggagggtccggcggcagcctagagaacctcaggtgtacacccctccccccctccaga
G G G S G G Q P R E F Q V Y T L P P S R
gaggagatgaccaagaaccaggtgtccctgacctgacctggtgaaaggcttctatcccagc
E E M T K N Q V S L T C L V K G F Y P S
gacatgcgctggaatgggagtcacacggccagccccgagaacaactacaagaccacccct
D I A V E W E S N G Q P E N N Y K T I P
cccatgctggattccgacggcagctttttcctgtacagcaagctcacctggacaagagc
P M L D S D G S F F L Y S K L T V D K S
agatggcagcagggcgaacgtgttcagctgcagcgtgatgcacagaggtctgcataaccac
R W Q Q G N V F S C S V M H E A L H N H
tacaccagaagagcctgtccctgtccccggatga (SEQ ID NO: 144)
Y T Q K S L S L S P G Stop (SEQ ID NO: 110)

도면46

IAB22M γ2 EH2(M1) (VH-K67R) (SEQ ID NO: 111)

atggagaccgacacccctcctcctgtgggtgctgctgctgtgggtgctggaagcaccggc
M E T D T L L L W V L L L W V F G S T G
gatgtgcagatcacccagagccctagcagcctgtccgctccggtgggcgacaggtgacc
D V Q I T Q S P S S L S A S V C D R V T
atcacctgtaggacctccaggagcatctccagtagctggcctggtagcagcagaagccc
I T C R T S R S I S Q Y L A W Y Q Q K F
ggcaaggtgccccaaactgctcatctactccggcagcacactccagagcggcgtccctagc
G K V P K L L I Y S G S T L Q S G V P S
agattcagcgggaagcggcagcggcaccgacttcacccctgaccatcagctccctgcagccc
R F S G S G S G T D F T L T I S S L Q F
gaggagctggccacctattactgtcagcagcacacgaaacccctgaccttcggcggc
E D V A T Y Y C Q Q H N E N P L T F G G
ggcacaaaagtggagatcaaggcagcaccagcggaggcggatccggcggcggcagcggc
G T K V E I K G S T S G G G S G G G S G
ggcggaggatccagcgaagtgcagctgggtcgaaagcggaggcggactgggtgcagcctgga
G G G S S E V Q L V E S G G G L V Q P G
ggaagcctgagactcagctgcgcgcctccggtattcaacatcaagacacctacatccac
G S L R L S C A A S G F N I K D T Y I H
ttcgtgagcaggtcccccgaaggcctcagtggtgattggaaggattgaccccgccaac
F V R Q A P G K G L E W I G R I D P A N
gacaacacccctgtacgcccagcaagtcccaagggaaggccaccatctccgcccagaccagc
D N T L Y A S K F Q G R A T I S A D T S
aagaataccgcctacctgcagatgaactccctgagggtgagacaccccggtgtactac
K N T A Y L Q M N S L R A E D T A V Y Y
tgccggcagaggtcaggtactacgtgttcgaccactggggacagggcacactggtgaca
C G R G Y G Y Y V F D H W G Q G T L V T
gtgagcagcagaggaagagctgcgtggagtgccccccctgcccctggcggcggcagctcc
V S S E R K S C V E C F F C P G G G S S
ggcggaggaagcggaggaacccagggagccccaggtgtacacactccccctagcagg
G G G S G G Q P R E F Q V Y T L E P S R
gaagagatgaccaaagaaccaggtgtccctgacctgcctcgtgaagggtattctacccagc
E E M T K N Q V S L T C L V K G F Y P S
gacattgcccgtcagtgaggagcaacggccagcctgagaacaactacaagacaaccccc
D I A V E W E S N G Q F E N N Y K T T P
cctatgctcgatagcgtggctccttctctctgtactccaagctcacctgtcagaagagc
P M L D S D G S F F L Y S K L T V D K S
aggtggcagcagggcaacgtcttctcctgtagcgtgatgcacgaggtctgtcacaaccac
R W Q Q G N V F S C S V M H E A L H N H
tacaccagaagagcctgagcctgagccccggctga (SEQ ID NO: 145)
Y T Q K S L S L S P G Stop (SEQ ID NO: 111)

도면47

Alignment compared IAB2M Y1 EH1 (M2) (SEQ ID NO: 112) vs IAB2M Y1 EH3 (M2) (SEQ ID NO: 113), differences shown in box.

```

IAB2M Y1 EH1 (M2) METDTLLJLWVLLWVPGSGTGVQVQSGAEEVKKFCASVKISCKTSCYFTTEVYTIHWVQA 60
IAB2M Y1 EH3 (M2) METDTLLJLWVLLWVPGSGTGVQVQSGAEEVKKFCASVKISCKTSCYFTTEVYTIHWVQA 60
IAB2M Y1 EH1 (M2) SGKGLEWIGNINPNNGGTTYNOKFEDRATLVKSKTSTAYMELSLRSEDZAVYCAAGW 120
IAB2M Y1 EH3 (M2) SGKGLEWIGNINPNNGGTTYNOKFEDRATLVKSKTSTAYMELSLRSEDZAVYCAAGW 120
IAB2M Y1 EH1 (M2) NFDYWGQGLTVTVSSGSISGGSGSGSGSGSSQVMIQSPSSLSASVGDRAVITICKASQ 180
IAB2M Y1 EH3 (M2) NFDYWGQGLTVTVSSGSISGGSGSGSGSGSSQVMIQSPSSLSASVGDRAVITICKASQ 180
IAB2M Y1 EH1 (M2) DVGTAUDWYQQKCKAPKLLIYWASTRHICVDRETCSCGCTDTLTLSLQDEDAVP 240
IAB2M Y1 EH3 (M2) DVGTAUDWYQQKCKAPKLLIYWASTRHICVDRETCSCGCTDTLTLSLQDEDAVP 240
IAB2M Y1 EH1 (M2) COQYNSYPLTFGGCXLEIKPKS C DKHTCP ██████████ PCCGSSGCGGCGQPREQVYTLPP 297
IAB2M Y1 EH3 (M2) COQYNSYPLTFGGCXLEIKPKS S DXHTCP PCP PCCGSSGCGGCGQPREQVYTLPP 300
IAB2M Y1 EH1 (M2) SR DEL TKQVSLTLVKGFYSDIAVWESNGQDENNYKLTTPVLSDGSPFLYSKLTV 357
IAB2M Y1 EH3 (M2) SR EEM TKQVSLTLVKGFYSDIAVWESNGQDENNYKLTTPVLSDGSPFLYSKLTV 360
IAB2M Y1 EH1 (M2) KSRWQCCNVFSCSVNHEALNNHYTCESLSLPG K 391 (SEQ ID NO: 112)
IAB2M Y1 EH3 (M2) KSRWQCCNVFSCSVNHEALNNHYTCESLSLPG ██████████ 393 (SEQ ID NO: 113)

```


도면48

1AB2M y1 E83 (M2), CDR regions are defined by Chothia definition (SEQ ID NO: 113)

```

atggaaaccgacacccctgctgctgtggtgctgctgctgggtgccaggatctacaggc
K E T D T L L L W V L L L W V F G S T G

Signal peptide sequence
gaggtgcagctggtgcagtcctggtccgcgaagtgaagaaacctggcgctccgtgaagatc
E V Q L V O S G A E V K K P G A S V K I

VH
tcccgcaagacctccggctacaccttcaccgagtacaccatccactgggtcaagcaggcc
S C K T S G Y T F T E Y T I H W V K Q A

HCDR1
tccggcaaggcctggastggatggcaccatcaaccccaacacggcggcaccactac
S G K G L E W I G N I N P N N G C T T T Y

HCDR2
aaccaagaagttcgaggacccgggccacccctgacgtggacaagtctacccacacggctac
N Q K F E D R A T L T V D K S T S T A Y
atggaaactgtccctccctgaggagcaggacacgcgctgtaactatgtgcgctggctgg
M E L S S L R S E D T A V Y Y C A A G W

HCDR3
aacttcgactacggggccaggccaccacgtgacagtgccctctggctctacccctgggc
N F D Y W G Q G T T V T V S S G S T S G

Linker
ggaggaaagtggcggaggatcaggcggaggcggctccctctgatatcgtgatgaccagttcc
G G S G G G S G G G G S S D I V M T Q S

Linker VL
ccctccagcctgtctgcttccgtggggcagagagtgaccatcacatgcaggccctccag
P S S L S A S V G D R V T I T C K A S Q

LCDR1
gacgtgggcaccgctgtggacgggtatcagcagaagcctggcaaggccccaagctgctg
D V G T A V D W Y Q Q K F G K A F K L L

LCDR1
attctacgggctctaccagacacaccggcgtgcccgatagattaccggctctggtatcc
I Y W A S T R H T G V D D R F T G S G S

LCDR2
ggcaccgactttaccctgaccatcagctccctgcagcccgaggacttcgcgactacttc
C T D F T L T I S S L Q P E D F A D Y F
tgccagcagtcacaactcttacccttgacccttggggaggcaccgaagctggaatcaaa
C Q Q Y N S Y P L T F G G C T K L E I K

LCDR3
gagcccaagtcctccgcaagaccacaccggcctcccttgccctccatgtgggtggcggg
E P K S S D K T H T C P P C P P C G G C

Upper hinge Core hinge Lower hinge
agttctggggagggtctggtggccagcctcgggaacctcaggtgtacacactgccccct
S S G C C S C G Q P R E F Q V Y T L P P

Lower hinge CH3
agccgggaagagatgaccaagaaccaggtgtccctgacctgacctgtgaagggtctctac
S R E E M T K N Q V S L T C L V K G F Y
ccctccgatatcgccgtggatggagtcacacggcccgcccgagaaacactacaagacc
F S D I A V E W E S N G Q P E N N Y K T
acccccctgtgctggactccgacggctcattcttctgtactccaagctgacagtggtat
T P P V L D S D G S F F L Y S K L T V D
aagtcceggtaggcagcagggaacgtgttctcctgctccgtgatgcacagccctgcac
K S R W Q Q G N V F S C S V M H E A L H
aaccactataccagaagtcctcctgctccgtgagccccggctga (SEQ ID NO: 146)
N H Y T Q K S L S L S F G Stop (SEQ ID NO: 113)

```

도면49

IAB2M γ 1 EH3 (M2) (G1m1 allotype) (SEQ ID NO: 114)

atggaacacgataccctgctgctgtggtgctgctgctgctggtgcccggcagcacccggc
M E T D T L L L W V L L L W V F G S T G
gaagtgcagctggtgcagagcggcggcggcgtgaaaaacccgggcccagcgtgaaattt
E V Q L V Q S G A E V K K P G A S V K I
agctgcaaacacagcggctataccclttaccgaatataccattcattgggtgaaacagggc
S C K T S G Y T F T E Y T I H W V K Q A
agcggcaaacggcctgggaatggattggcaacattaacccgaacacggcggcaccacctat
S G K G L E W I G N I N P N N G G T T Y
aaccagaaatttggaagatcgccggcaccctgaccgtggataaaagcaccagcaccgcgtat
N O K F E D R A T L T V D K S T S T A Y
atggaactgagcagcctgcccagcgaagataccgcgggtgtattattgcccggcggcgtgg
M E L S S L R S E D T A V Y Y C A A G W
aactttgattattggggccagggcaccacccgtgaccgtgagcagcggcagcaccagcggc
N F D Y W G Q G T T V T V S S G S T S G
ggcggcagcggcggcggcagcggcggcggcggcggcagcagcagatattgtgatgaccagagc
G G S G G G S G G G G S S D I V M T Q S
ccgagcagcctgagcggcagcgtggcgatcgcgtagaccattacctgcaaacgagcagcag
P S S L S A S V G D R V T I T C K A S Q
gatgtggcaccgcgggtgattgggtatcagcagaacccgggcaaacgcggcaaacctgctg
D V G T A V D W Y Q Q K P G K A P K L L
attttattggggcagcaccccccataaccggcgtgcccgtatcgctttaccggcagcggcagc
I Y W A S T R H T G V P D R F T G S G S
ggcaccgattttaccctgaccattagcagcctgagcgggaagattttgcggattatttt
G T D F T L T I S S L Q P E D F A D Y F
tgccagcagctataacagctatccgctgaccttttgccggcggcaccacaaactggaattaaa
C O Q Y N S Y P L T F G G G T K L E I K
gaaccgaaaagcagcagataaaaaccataacctgcccgcgtgcccgcgtgcccgcggcggc
E P K S S D K T H T C P P C P P C G G G
agcagcggcggcggcagcggcggcggcggcggcggcggcggcggcggcggcggcggcggc
S S G G G S G G Q P R E P Q V Y T L P P
agccgcgatgaactgacaaaaaacaggtgagcctgacctgacctggtgaaaggcttttat
S R D E L T K N Q V S L T C L V K G F Y
ccgagcagatattgcgggtggaatgggaaagcaacggccagccggaaaacaactataaaacc
P S D I A V E W E S N C Q P E N N Y K T
acccccgcgggtgctggatagcagatggcagcttttttctgtatagcaaacctgaccgtggat
T P P V L D S D C S F F L Y S K L T V D
aaaaagccgctggcagcagggcaacgtgttttagctgcagcgtgatgcaggaagcgtgcat
K S R W Q Q G N V F S C S V M H E A L H
aaccattataccagaaaagcctgagcctgagcccggtga (SEQ ID NO: 147)
N H Y T Q K S L S L S F G Stop (SEQ ID NO: 114)

도면50

IAB2M γ 1 EH5 (M2) (SEQ ID NO: 115)

atggaaaccgataccctgctgctgtgggtgctgctgctgtgggtgccggcagcaccggc
M E T D T L L L W V L L L W V F G S T G
gaagtgcagctggtgcagagcggcgccggagtgaaaaaccggcgcgagcgtgaaatt
E V Q L V Q S G A E V K K P G A S V K I
agctgcaaaaccagcggctataccctttaccgaatataccattcatlgggtgaaccaggcg
S C K T S G Y T F T E Y T I H W V K Q A
agcggcaaaaggcctgggaatggattggcaacattaaaccgaacaacggcgccaccacctat
S G K G L E W I G N I N P N N G G T T Y
aaccagaaaatttgaagatcgccggcaccctgaccgtggataaaaagcaccagcaccggctat
N O K F E D R A T L T V D K S T S T A Y
atggaaactgagcagcctgcgcagcgaagataccgggtgtattatttgcgcggcgccgtgg
M E L S S L R S E D T A V Y Y C A A G W
aactttgattatttggggccagggcaccacccgtgaccgtgagcagcggcgagcaccagcggc
N F D Y W G Q G T T V T V S S G S T S G
ggcgccagcggcgccggcgccagcggcgccggcgccagcagcagatattgtgatgaccagagc
G G S G G G S G G G G S S D I V M T Q S
ccgagcagcctgagcgcgagcgtggcgatcgcgtagaccattaccctgcaaaagcagccag
P S S L S A S V G D R V T I T C K A S Q
gatgtgggcaccgcgggtggtattgtatcagcagaaaaccggcgaaagcgcgcaaaactgctg
D V G T A V D W Y Q Q K P G K A P K L L
atatttggggcagcaccggccataccggcgtgccggatcgctttaccggcagcggcagc
L Y W A S T R H T G V P D R F T G S G S
ggcaccgattttaccctgaccattagcagcctgcagccggaagattttgcggattatttt
G T D F T L T I S S L Q P E D F A D Y F
tgccagcagtataaacagctatccgctgaccttttggcgccggcaccaaaactgaaattaaa
C Q Q Y N S Y P L T F G G G T K L E I K
gaaccgaaaaagcagcgataaaaaccataacctgcccgcctgcccgcctgcccgcctg
E P K S S D K T H T C P P C P P C P P C
ggcgccggcagcagcggcgccggcgagcggcgccagccgcggaaccgcaggtgtataacc
G G G S S G G G S G G Q P R E F Q V Y T
ctgcccgcgagccggaagaatgacaaaaaccaggtgagcctgacctgacctggtgaaa
L P P S R E E M T K N Q V S L T C L V K
ggcttttatccgagcgatattgcgggtggaatgggaaagcaacggccagccgggaaaaaac
C F Y P S D I A V E W E S N G Q P E N N
tataaaaccaccccgccgtgctggatagcgatggcagctttttctgtatagcaaaactg
Y K T T P P V L D S D C S F P L Y S K L
accgtggataaaagccgctggcagcagggcaacgtgtttagctgcagcgtgatgcataaa
T V D K S R W Q Q G N V F S C S V M H E
gcgctgcataaccattataccagaaaaagcctgagcctgagcccggtga (SEQ ID NO: 148)
A L H N H Y T Q K S L S L S P G Stop (SEQ ID NO: 115)

도면51

IAB2M γ1 EH7 (M2) (SEQ ID NO: 116)

atggagacagacaccctcctcctgtgggtgctgctgctgctgggtccccggaagcaccgga
M E T D T L L L W V L L L W V F G S T G
gaagtgcagctgggtgcattccggagctgggtgaagaaacccggccagcgtgaagatt
E V Q L V Q S G A E V K K P G A S V K I
agctgcaasaccagcggctacacccitcaccgaglacaccatccactgggtcaagcagggc
S C K T S G Y T F T E Y T I H W V K Q A
agcggcaaggcctggagtgatcggaacattacccccataacggcggcaccacctac
S G K G L E W I G N I N F N N G G T T Y
aatcagaatttcgaggacagggccaccctgaccgtggataagtcaccctccaccgctac
N Q K F E D R A T L T V D K S T S T A Y
atggagctgctcctcctcctgagaagcaggatcacgacctctactactgctgcccgatgg
M E L S S L R S E D T A V Y Y C A A G W
aatttcgactactggggccaggccacaacccgtgaccgtgagcagcggatccacctccggc
N F D Y W G Q G T T V T V S S G S T S G
ggcggcagcggaggcggcagcggcggaggaggcagcagcagacatcgtgatgacacagtec
G G S G G G S G G G G S S D I V M T Q S
cccagcagcctgtccgtgacgtggcgacagagtgaccatcacctgcaaggcctccag
P S S L S A S V G D R V T I T C K A S Q
gacgtgggaacccgtgtgactggtaccagcagaagcccggaaggcccccagctgctg
D V G T A V D W Y Q Q K F G K A F K L L
atctactgggcccagcaccagacacacccggcgtgacctgacagattcacgggctccggaaagc
I Y W A S T R H T G V P D R F T G S G S
ggcaccagacttcaccctgaccatcagctccctccagcccaggagacttcggcactacttc
G T D F T L T I S S L Q P E D F A D Y F
tgccagcagtatataatagctaccccttgaccttcggcggcggcacaagctcgaatcaag
C Q Q Y N S Y P L T F G G G T K L E I K
gagctgaagaccctcctgaggacaccacccacacctgcccccttgccctccctgtgga
E L K T F L G D T T H T C P P C P P C G
ggcggaaagcagcggaggaggaagcggaggacagcccagggaacccaggtgtacacactg
G G S S G G G S G G Q P R E P Q V Y T L
ccccctccagagaggagatgacaaagaaccagggtgcctccacctgacctgtgaaaggc
P P S R E E M T K N Q V S L T C L V K G
ttctatcccagcagacatcgccgtggagtgaggagtcacggccaacccgaaaaaactac
F Y P S D I A V E W E S N G Q P E N N Y
aagaccacccctccctgctggattccgacggctccttttccctgtacagcaagctgacc
K T T P P V L D S D G S F F L Y S K L T
gtggacaagtccagtgqgcagcagggaatgtcttttagctgcagcgtcatgcacaggcc
V D K S R W Q Q G N V F S C S V M H E A
ctgcataaccactataccagagtgccctgtccctcagccctggatga (SEQ ID NO: 149)
L H N H Y T Q K S L S L S P G Stop (SEQ ID NO: 116)

도면53

IAB2M γ1 EH3(M1) (SEQ ID NO: 118)

atggaaaccgataacctgctgctgtgggtgctgctgctgtgggtgcccggcagcaccggc
M E T D T L L L W V L L L W V F G S T G
gatattgtgatgacccagagcccgagcagcctgagcgcgagcgtggcgcatcgctgacc
D I V M T Q S F S S L S A S V C D R V T
attacctgcaaaagcagccaggatgtgggcaccgggtggatlggtatcagcagaaaccg
I T C K A S Q D V G T A V D W Y Q Q K F
ggcaaaagcggcgaactgctgatttattgggcgagcaccggccataccggcgtgcccggat
G K A P K L L I Y W A S T R H T G V P D
cgctttaccggcagcggcagcggcaccggattttacctgaccattagcagcctgcagcgg
R F T G S G S G T D F T L T I S S L Q F
gaagattttgaggattttttggcagcagatataacagctatccgctgacctttggcggc
E D F A D Y F C Q Q Y N S Y P L T F G G
ggcaccaaactggaaattaaaggcagcaccagcggcggcggcggcggcggcggcggc
G T K L E I K G S T S G G G S G G G S G
ggcggcggcagcagcgaagtgcagctgggtgcagcggcggcggcgaagtgaaaaaaccggc
G G G S S E V Q L V Q S G A E V K K P G
ggcagcgtgaaaattagctgcaaaaccagcggctatacctttaccgaatataccattcat
A S V K I S C K T S G Y T F T E Y T I H
tgggtgaaaccagggcagcggcgaaggcctgggaatggattggcaacattaaccggaacaac
W V K Q A S G K G L E W I G N I N P N N
ggcggcaccacctataaccagaaatttgaagatgcgcgacccctgacccgtggaataaaagc
G G T T Y N Q K F E D R A T L T V D K S
accagcaccgcgtatatggaaactgagcagcctgcgcagcgaagataccggcgtgtattat
T S T A Y M E L S S L R S E D T A V Y Y
tgccggcggcgtggaactttgattattggggccaggccaccaccgtgacccgtgagcagc
C A A G W N F D Y W G Q G T T V T V S S
gaaccgaaaaagcagcagataaaaccatacctgcccgcctgcccgcctgcccgcggcggc
E P K S S D K T H T C P P C P P C G G G
agcagcggcggcggcagcggcggcggcggcggcggcggcggcggcggcggcggcggc
S S G G G S G G Q P R E F Q V Y T L P P
agcccggaagaatgacaaaaaccagggtgagcctgacccgctggtgaaggccttttat
S R E E M T K N Q V S L T C L V K G F Y
ccgagcgtatattgggtggaatgggaaagcaacggccagccggaaaaacaactataaaacc
P S D I A V E W E S N C Q P E N N Y K T
accccgccgggtgctggatagcgatggcagctttttctgtatagcaaaactgacccgtggat
T P P V L D S D G S F F L Y S K L T V D
aaaagccgctggcagcgggcaacgtgttttagctgcagcgtgatgcataagcgcctgcac
K S R W Q Q G N V F S C S V M H E A L H
aacattataaccagaaaagcctgagcctgagcccgggcctga (SEQ ID NO: 151)
N H Y T Q K S L S L S F G Step (SEQ ID NO: 118)

도면54

Alignment compared IAB20M Y1 EH1 (M2) (SEQ ID NO: 119) vs IAB20M Y1 EH3 (M2) (VL-Q79E, V83E; VH-Q1E, Q6E) (SEQ ID NO: 120), differences shown in box.

IAB20M Y1 EH1 (M2)	MEETILLIWLIIWVIGSG	Q	VLIV	Q	SGAEVKKPGASVSVKSKASGYSTGYVMHWVQA	50
IAB20M Y1 EH3 (M2)	MEETILLIWLIIWVIGSG	E	VLIV	E	SGAEVKKPGASVSVKSKASGYSTGYVMHWVQA	60
IAB20M Y1 EH1 (M2)	PGQGLEWIGRIINPNNGVTLVNOF	KDRVTN	VDT	SISTAYMELISRI	RSQPTAVVYCARST	120
IAB20M Y1 EH3 (M2)	PGQGLEWIGRIINPNNGVTLVNOF	KDRVTN	VDT	SISTAYMELISRLGSD	TAVYVCARST	120
IAB20M Y1 EH1 (M2)	MLINVMDSWSCGLTVIVASGS	SDGGSGSGSGSGSGSDIVMLQSF	AILVSPGERA	ILS	180	
IAB20M Y1 EH3 (M2)	MLINVMDSWSCGLTVIVASGS	SDGGSGSGSGSGSGSDIVMLQSF	AILVSPGERA	ILS	180	
IAB20M Y1 EH1 (M2)	CKASQSVSNVAVYQQA	KQALHLLIS	YTSRYAGVDR	SSGSGG	LDFTLLISSL	Q ASD 240
IAB20M Y1 EH3 (M2)	CKASQSVSNVAVYQQA	KQALHLLIS	YTSRYAGVDR	SSGSGG	LDFTLLISSL	E ASD 240
IAB20M Y1 EH1 (M2)	V	AVVYCCQDYN	SPPTFQQT	AVETREKRS	C	DRTHICP
IAB20M Y1 EH3 (M2)	E	AVVYCCQDYN	SPPTFQQT	AVETREKRS	S	DRTHICP
IAB20M Y1 EH1 (M2)	YTLPPRRDELTKNOV	SLTCLVKG	FPFSG	DIAVWPNQCP	PNNYKTTPTP	VIDSDGSFTLYS
IAB20M Y1 EH3 (M2)	YTLPPRRDELTKNOV	SLTCLVKG	FPFSG	DIAVWPNQCP	PNNYKTTPTP	VIDSDGSFTLYS
IAB20M Y1 EH1 (M2)	KLTVKRS	WMOGNV	FS	CSVNHEAL	HNHYTK	SLSLSG
IAB20M Y1 EH3 (M2)	KLTVKRS	WMOGNV	FS	CSVNHEAL	HNHYTK	SLSLSG

도면55

IAB20M y1 EH3(M2) (VL-Q79E, V83E; VH-Q1E, Q6E), CDR regions are defined by Chothia definition (SEQ ID NO: 120)

atggaaaccgataaccctgctgctgtgggtgctgctgctgtgggtgcctggcagcacagga
M E T D T L L L W V L L L W V F G S T G

Signal peptide sequence

gaggtgcagctggtggagagcggcgctgaagtgaaagagcccgccagcgtgaaggtg
Z V Q L V E S G A E V K K P G A S V K V

VH

agctgcaaggccagc ggctacagcttcacaggctac tacatgcactgggggagacaagcc
S C K A S G Y S F T G Y Y M H W V R Q A

HCDR1

cctggccaggggctcgagtggttggaaagatc **aaccccaacaacggagtg** aacactgtac
P G Q G L E W I G R I **N P N N G V** T L Y

HCDR2

AACCAGAAATTCAAGGACAGGGTCACCATGACCGTGGACACCAGCATCAGCACCGCCTAT
N Q K F K D R V T M T V D T S I S T A Y

atggagctgtgccggctgaggagcgcacccgctgtgtactactgcgccagg agcacc
M E L S R L R S D D T A V Y Y C A R S T

HCDR3

atgatcaccactacgtgatggattat tggggccagggcacactggtgcagtgagcagc
M I T N Y V M D Y W G Q G T L V T V S S

HCDR3

ggcagcaccagcggaggaggcagcggaggagggaagcggcggaggcggctcctcc gatatcc
G S T S G G G S G G G S G G G S S D I

Linker

VL

gtcgtatgaccacagagccccgctaccctcagcgtgtccctggcgagagaccacctgagc
V H T Q S P A T L S V S P G S R A T L S
tgc aggccgagccagtcggtgtccaacgacgtggcc tgggtatcacagagaccggccag
C K A S Q S V S N L V A W Y Q Q K F G Q

LCDR1

gctcctagggctgctgatctcc tacaccagcagcaggtacgcc ggccgtgcctgatagggttc
A P R L L I S Y T S S R Y A G V P E R F

LCDR2

agcggctccggcagcggcagcagacttcacccctgacaatcagcagcctggaggccgaggat
S G S G S G T D F T L T I S S L E A E D

gagggcgtgtactactgt cagcaggactacaactccccccccacc ctcgccagggcaca
E A V Y Y C Q Q D Y N S F P T F G Q G T

LCDR3

aagggtc	gagatcaaggagagcccaagtctctccgacaagaccacacc	tgtccccctgcct
K V	E I K E P K S S D K T H T	C P P C P

Upper hinge

Core hinge

cccttggtggagggcgggaagcagcgggaagggcgggaagcgggaaggacagcccagagaacccacaggtg

 G G G S S G G G S G G Q A M E P Q V

Core

Lower hinge

CH3

tatacctgccccctccagggaggagatgacaaaaaccaggtgagcctgacatgcctg

Y T L P P S R E E M T K N Q V S L T C L

gtgaagggtctctacccctccgacatcgccgtggagtgggaaagcaacggccagcccgag

V K G F Y P S D I A V E W E S N G Q P E

aacaactacaagaccacaccccccgctgctggatagcgacggctccttctttctgtacagc

N N Y K T T P P V L D S D G S F E L Y S

aagctgaccgtggataaaaagcaggtggcagcaaggcaacgtgttctctgtccgtcatg

K L T V D K S R W Q Q G N V F S C S V K

cacgaggtctctgcataaccactacacccccaaaaatccctgagcctgagccccggtga (SEQ ID NO: 152)

H E A L H N H Y T Q K S L S L S P G Stop (SEQ ID NO: 120)

도면56

IAB20M y1 EH3(M2) (SEQ ID NO: 121)

atggaaacccgataccctgctgctgtgggtgctgctgctgtgggtgcccggcagcacccggc
M E T D T L L L W V L L L W V F G S T G
cagggtgcagctgggtgcagagcgccgggaagtgaacaaacccggcgcgagcgtgaagtg
Q V Q L V Q S C A E V K K P C A S V K V
agctgcacaaagcgagcggctatagctttaccggctattatgcattgggltgcgcagggc
S C K A S G Y S F T G Y Y M H W V R Q A
ccgggccaggccctgggaatgggattggccgcattaacccgaacacggcgtgacctgtat
F G Q G L E W I G R I N F N N G V T L Y
aaccgagaatttaagatcgcgtagccatgacctggataccagcattagcacccgctat
N Q K F K D R V T M T V D T S I S T A Y
atgggaactgagccgcctgcgcgagcgtgataccggcgtgtattatgcgcgcgagcacc
M E L S R L R S D D T A V Y Y C A R S T
atgattaccaactatgtgatggattattggggccaggccaccctggtagccgtgagcagc
M I T N Y V M D Y W G Q G T L V T V S S
ggcagcacccagcggcgccggcagcggcgccggcagcggcgccggcagcagcagcattt
G S T S G G G S G G G S G G G G S S D I
gtgatgacccagagcccgccgagccctgagcgtgagcccgccgaacgcgcgacccctgagc
V M T Q S P A T L S V S P G E R A T L S
tgcaaaagcgagccagagcgtgagcaacgatgtggcgtgggtatcagcagaacccgggccag
C K A S Q S V S N D V A W Y Q Q K P G Q
ggcggcgccctgctgattagctataccagcagccgctatgcccggcgtgcgggtagccttt
A P R L L I S Y T S S R Y A G V P D R F
agcggcagcggcgagcggcaccgattttaccctgaccattagcagcctgcaggcggaagat
S G S G S G T D F T L T I S S L Q A E D
gtggcggtgtattattgccagcaggtattataacagcccgccgacctttggccagggcacc
V A V Y Y C Q Q D Y N S P P T F G Q G T
aaagtggaaatttaagaaccgaaagcagcagcgaataaaacccatacctgcccgcggtgcccg
K V E I K E P K S S D K T H T C P P C P
ccgtgcccggcgccgagcagcggcgccggcgagcggcgccagcggcggaacccgaggtg
P C G G G S S G G G S G G Q P R E P Q V
tataccctgccgcggcggcgaagaatgacccaaacccaggtgagcctgacctgcctg
Y T L P P S R E E M T K N Q V S L T C L
gtgaaaggcttttatccgagcgtatttgcgggtggaatgggaaagcaacggccagccggaa
V K C F Y P S D I A V E W E S N G Q P E
aacaactataaaaccccccggcgtgctggatagcgtggcagctttttctgtatagc
N N Y K T T P P V L D S D G S F F L Y S
aaactgacccgtggataaaagccgctggcagcagggcaacgtgttttagctgcagcgtgatg
K L T V D K S R W Q Q G N V F S C S V H
catgaagcgtgcataaccattataccagaaaagcctgagcctgagcccggtgga (SEQ ID NO: 153)
H E A L H N H Y T Q K S L S L S P G Stop (SEQ ID NO: 121)

도면58

IAB20M γ1 EH5 (M2) (VL-Q79E, V83E; VH-Q1E, Q6E) (SEQ ID NO: 123)

atggagacagacacccctcctcctgtgggtcctgctcctgtgggtgcccggatccacaggc
M E T D T L L L W V L L L W V F G S T G
gaggtccagctgggtggatccggagccgggtgaagaaacccggcgcctccgtgaaagt
E V Q L V E S G A E V K K P G A S V K V
tctgcaaggcctcgggtactccttcaccggctactacatgcactgggtgaggcaggcc
S C K A S G Y S F T G Y Y M H W V R Q A
cctggacagggactggatggatcggcaggattacccccaaacaggagtaccctgtac
P G Q G L E W I G R I N P N N G V T L Y
aaccagaagttcaaggacagggtaccatgacgtggacaccaggatctccaccgcctac
N Q K F K D R V T M T V D T S I S T A Y
atggagctgtccaggctgagaaaggacgacacccgtgtgtactactgcggccaggagcacc
M E L S R L R S D D T A V Y Y C A R S T
atgatcaccacactacgtgatggattattggggccagggcacccctcgtgacagtggcagc
M I T N Y V M D Y W G Q G T L V T V S S
ggatccacaagcggaggcggaaaggcggaggcggcagcggcggcggcggcagcagcagatc
G S T S G G G S G G G S G G G S S D I
gtgatgacccagagccccccaccctgagcgtgagccccggcgaaggccacactgagc
V M T Q S D A T L S V S P G E R A T L S
tgcaaggccagccagtcctcctcaccagatgtggcctggtagcagcagaagccggacag
C K A S Q S V S N D V A W Y Q Q K P G Q
gcctcctaggctcctgatctcctacaccagctccaggtagcggcgtcctgacagattc
A P R L L I S Y T S S R Y A G V P D R F
tccggcagcggcagcggcaccgatttcacccctcaccatcagcagcctggaaaggcgaagat
S G S G S G T D F T L T I S S L E A E D
gaagctgtgtattactgcccagcaggactacaacagccccccacatttggccagggaacc
E A V Y Y C Q Q D Y N S P D T F G Q G T
aaggtggagatcaaaggagcccaagagcagcgaagacccatacctgcccctccttgcctt
K V E I K E P K S S D K T H T C P P C P
ccttgcctcctgtggagcgggaagctccggagggaggtccggagggcagcctagagag
P C P P C G G G S S G G G S G G Q P R E
ccccagggtgtacacccctgcccctagcaggagggagatgaccaagaaccagggtgagcctg
P Q V Y T L P P S R E E M T K N Q V S L
acatgtctgtcaagggtttttaccccagcgacatcgccgtggagtgaggagcaacggc
T C L V K G F Y P S D I A V E W E S N G
cagcctgagaacaactacaagaccacccctcctgtgctggactccgagggcagctttttc
Q P E N N Y K T T P P V L D S D G S F F
ctgtacagcaagctgacccgtggtatgaagcaggtggcagcagggcaacgtcttcagctgc
L Y S K L T V D K S R W Q Q G N V F S C
agcgtgatgcacgaggtctctgcataaccactacaccagaagagcctgagcctgagccct
S V M H E A L H N H Y T Q K S L S L S P
ggatga (SEQ ID NO: 155)

G Step (SEQ ID NO: 123)

도면59

IAB20M y1 EH5(M2) (VL-A9D, T10S, S12A, P15L, L21I, S22N; VH-Q1E, Q6E) (SEQ ID NO: 124)

atggagacagacacccctcctcctgtgggtcctcctcctgtgggtgcccggatccacaggc
M E T D T L L L W V L L L W V F G S T G
gaggtccagctcgtggatccggagccgggtgaaagaacccgggcctcctggaagtc
E V Q L V E S G A E V K K P G A S V K V
tcccgcaaggcctccggctactccttcaccggctactacatgcactgggtgaggcaggcc
S C K A S G Y S F T G Y Y M H W V R Q A
cctggacagggaactggatggatcggcaggattacccccacaacggagtgacctgtac
P G Q G L E W I G R I N F N N G V T L Y
aaccagaagttcaaggacagggtcaccatgacctggacaccagcatttccaccgctac
N Q K F K D R V T M T V D T S I S T A Y
atggagctcgtccaggctgagaagcagcagacaccgctgtgtactactgcccaggagcacc
M E L S R L R S D D T A V Y Y C A R S T
atgatcaccacactacgtgatggattattggggccaggccacctcgtgacagtgaacagc
M I T N Y V M D Y W G Q G T L V T V S S
ggatccacaagcggaggcgggaagcggaggcggcggcggcggcggcggcggcggcggatcc
G S T S G G G S G G G S G G G G S S D I
gtgatgacccagagcccccgttccctcgcctgagcctgggcgaaggcccaatcaac
V M T Q S D D S L A V S L G E R A T I N
tgcaaggccagccagtcctcctccacagatgtggcctgggtaccagcagaagcccgacag
C K A S Q S V S N D V A W Y Q Q K P G Q
gcccctaggtcctcgtatcctacaccagtcacaggtaacgcccggctcctgacagattc
A F R L L I S Y T S S R Y A G V F D R F
tccggcagcggcagcggcaccgatttccacctcaccatcagcagcctgcaggccgaggac
S G S G S G T D F T L T I S S L Q A E D
gtggctgtgtattactgccagcaggactacaacagccccccacatttggccagggaacc
V A V Y Y C Q Q D Y N S F D T F G Q G T
aaggtggagatcaaggagcccaagcagcagcacaagaccatacctgcccctccttggcct
K V E I K E P K S S D K T H T C P P C P
ccttgcctccctcgtggaggcgggaagctccggaggaggatccggaggccagccctagagag
P C P P C G G G S S G G G S G G Q P R E
ccccagggtgacccctgccccctagcaggaggagatgaccaagaacagggtgagcctg
P Q V Y T L P P S R E E M T K N Q V S L
acatgtctgtcaagggtcttttaccaccagcagatcggcgtggagtgggagagcaacggc
T C L V K G F Y P S D I A V E W E S N G
cagcctgagaacaactacaagaccaccctcctgtgtgtgactccgacggcagctttttc
Q P E N N Y K T T P P V L D S D G S F F
ctgtacagcaagctgacctggataaagagcaggtggcagcagggcaacgtcttcagctgc
L Y S K L T V D K S R W Q Q G N V F S C
agcgtgatgcacgaggctctgcataaccactacaccagaagagcctgagcctgagccct
S V M H E A L H N H Y T Q K S L S L S P
ggatga (SEQ ID NO: 156)

G Stop (SEQ ID NO: 124)

도면60

Alignment compared IAB1M Y1 EH1 (M1) (SEQ ID NO: 125) vs IAB1M Y1 EH3 (M1) (SEQ ID NO: 126), differences shown in box.

IAB1M Y1 EH1 (M1) METDTLLWVLLWVPGSTGDIQLTQSPFTLSASVCDRVTTTCSASSSVRFIHWYQOKDG 60

IAB1M Y1 EH3 (M1) METDTLLWVLLWVPGSTGDIQLTQSPFTLSASVCDRVTTTCSASSSVRFIHWYQOKDG 60

IAB1M Y1 EH1 (M1) KAPKRLIYDTSKLASGVTSRFSGGSGGTFDTLTISSLQEDDFATYYCQWGSSTFTTGGG 120

IAB1M Y1 EH3 (M1) KAPKRLIYDTSKLASGVTSRFSGGSGGTFDTLTISSLQEDDFATYYCQWGSSTFTTGGG 120

IAB1M Y1 EH1 (M1) TKVEIKGSTSGGGSGGGGGGGSSSEVQIVEYGGGIVQPGGSLRLSCAASGTFNIDYTIHW 180

IAB1M Y1 EH3 (M1) TKVEIKGSTSGGGSGGGGGGGSSSEVQIVEYGGGIVQPGGSLRLSCAASGTFNIDYTIHW 180

IAB1M Y1 EH1 (M1) VRCAPGKGLWVWAWLDPENGDITLVPKIQGRATMSADTSKNTAYLQNNLSLRAEDTAVVYC 240

IAB1M Y1 EH3 (M1) VRCAPGKGLWVWAWLDPENGDITLVPKIQGRATMSADTSKNTAYLQNNLSLRAEDTAVVYC 240

IAB1M Y1 EH1 (M1) KTGGFWQGGTLVTVSSEPKS C DKATHCP — PCGGSSGGSGGGQPRPQVYLLPFR DE 297

IAB1M Y1 EH3 (M1) KTGGFWQGGTLVTVSSEPKS S DKATHCP DCP PCGGSSGGSGGGQPRPQVYLLPFR EE 300

IAB1M Y1 EH1 (M1) L TRNQVSLTCLVKGFPYPSDIAVEWESNCQDENNVKTTTPVLDSDCSPFLYSKLTVDKSRW 357

IAB1M Y1 EH3 (M1) M TRNQVSLTCLVKGFPYPSDIAVEWESNCQDENNVKTTTPVLDSDCSPFLYSKLTVDKSRW 360

IAB1M Y1 EH1 (M1) QQGNVFSQVMHEALHNHYTQKSLSLSPG K 387 (SEQ ID NO: 125)

IAB1M Y1 EH3 (M1) QQGNVFSQVMHEALHNHYTQKSLSLSPG — 389 (SEQ ID NO: 126)

도면 63

IAB1M γ1 EH5 (M1) (SEQ ID NO: 128)

ttggaaacogataccctgtctgtgtgggtgctgtgctgtgggtgcccggagcaacccggc
M E T D T L L L L W V L L L L W V F G S T G
gatattcagctgaccccgagagcccgagaccctgagcgcgagcgtgggcgatcgcgctgacc
D I Q L T Q S P S T L S A S V C D R V T
attacctgcagcgcgagcagcagcgtgcgctttatttcattggtatcagcagaaacccggc
I T C S A S S S V R F I H W Y Q Q K P G
aaagcgccgaacccgctgatttatgataccagcaaacctggcgagcgcggtgccgagccgc
K A P K R L I Y D T S K L A S G V P S R
tttagcgccgacggcgagccggcaccgattttaccctgaccattagcagcctgcagccggaa
F S G S G S G T D F T L T I S S L O P E
gattttgcgacctattatttcgcagcagtgggggcagcagcccgcttacccttggccagggc
D F A T Y Y C Q Q W G S S P F T F G Q G
accaaagtggaaattaaaggcgagcaccagcggggggcgagcgccggcgagcggcgccg
T K V E I K G S T S G G G S G G G S G G
ggcgcgagcagcgaagtgcagctgggtggaatatggcgcgccgctggtgcagccggcgccg
G G S S E V Q L V E Y G G G L V O P G
agcctgcgcctgagctgcgcggcgagcggctttaacattaaagattattatattcattgg
S L R L S C A A S G F N I K D Y Y I H W
gtgcgcagcgcccgccgaaggcctgggaatgggtggcgtggtattgatccggaacacggc
V R Q A C F G K G L E W V A W I E F E N G
gataccggaattctgtgccgaaatttcaggggcgcgcgaccattgagcgcggataccagcaaa
D T E F V P K F Q G R A T M S A D T S K
aacaccgcgctatctgcagatgaacagcctgcgcgcgggaagataccgcgggtgtattattgc
N T A Y L Q M N S L R A E D T A V Y Y C
aaaaccggcggtcttttggggccaggcgaccctggtgacctgagcgcagcaaacgaaaaagc
K T G G F W G Q G T L V T V S S E P K S
agcgataaaaaccatacctgcgcccgctgcccccgctgcccccgctgcggcgccggcgagc
S D K I H T C P F C P F C P F C G G G S
agcggcgccggcgagcggcgccgacgcgcgcgaaccgcaggtgtataccctgcccgccgagc
S G G G S G G G R E F Q V Y T L P S
cgcggaagaatgacacaaaaaccagggtgagcctgacctgcctggtgaaaggcttttatccg
R E E M T K N Q V S L T C L V K G F Y F
agcgatatctgcggtggaatgggaagcaacggccagccggaaaaaaacctataaaaccacc
S D I A V E W E S N G Q P E N N Y K T T
ccgcgggtcgctggatagcgatggcagctttttttctgtatagcaaacctgacctgggataaa
P D V L D S D G S F F L Y S K L T V D K
agccgctggcagcagggcaacgtgttttagctgcagcgtgatgcatagaagcctgcataaac
S R W Q Q G N V F S C S V M H Z A L H N
cattatacccgagaaaacccgctgagcctgagcccgggctga (SEQ ID NO: 159)
H Y T Q K S L S L S P G Stop (SEQ ID NO: 128)

도면64

IAB1M y1 EH7(M1) (SEQ ID NO: 129)

```

atggaaaccgataccctgctgctgtggtgctgctgctgctgggtgcccggcagcacccggc
M E T D T L L L W V L L L W V F G S T G
gatattcagctgacccagagcccgagcacccctgagcgagcggtggcgatcggtgacc
D I Q L T Q S P S T L S A S V C D R V T
attacctgacgagcgagcagcagcggtgctgtttattcattggtatcagcagaaccgggc
I T C S A S S S V R F I H W Y Q Q K P G
aaagcgccgaaacgcctgatttatgataccagcaaacctggcgagcggtgcccagccgc
K A P K R L I Y D T S K L A S G V D S R
tttagcgccagcggcagcggcacccgattttacctgaccttagcagcctgacgcccga
F S G S G S G T D F T L T I S S L Q P E
gatttttgcgacctattatttgcagcagtgggggcagcagccgtttacctttggccagggc
D F A T Y Y C Q Q W G S S P F T F G Q G
accaaagtggaaattaaaggcagcacccagcggcgggcgagcggtggcgagcggcggc
T K V E I K G S T S G G S G G S G G
ggcgagcagcagcgaagtgcagctgggtggaatatggcgggccctggtgcagccggcggc
G G S S E V Q L V E Y G G G L V Q P G G
agcctgcgctgagctgcgcggcgagcggctttaacattaaagattattatattcattgg
S L R L S C A A S G F N I K D Y Y I H W
gtcgccagcgccgggcaaaagcctgggaatgggtggcgtggtgattgatccggaaaacggc
V R Q A F G K G L E W V A W I D P E N G
gataccgaatttctgcccgaattttcagggccgcgcgacccatgagcgcggataccagcaaa
D T E F V F K F Q G R A T M S A D T S K
aacaccgctatctgcagatgaacagcctgcgcgcggaagatacccggtgtattattgc
N T A Y L Q M N S L R A E D T A V Y Y C
aaaaccggcgcttttggggcagggcacccctggtgacctgagcagcgaactgaaaacc
K T G G F W G Q G T L V T V S S E L K T
ccgctggcgataaccaccatacctgcccgcctgcccgcctgcccgcggcgagcagc
P L G D T T H T C P P C P P C G G S S
ggcgggcagcggcgccagccgcgcgaaccgaggtgtataccctgccgcgagcggc
G G S S G G Q P R E P Q V Y T L P P S R
gaagaaatgacccaaaaccaggtgagcctgacctgctggtgaaaggcttttaccgagc
E E M I K N Q V S L T C L V K G F Y P S
gatattgcggtggaatgggaaagcaacggccagccggaaaaaactataaaaccaccccg
D I A V E W E S N G Q P E N N Y K T T P
ccggtgctggatagcgatggcagcttttttctgtatagcaaacctgacctggataaaagc
P V L D S D G S F F L Y S K L T V D K S
cgctggcagcagggcaacctgttttagctgcagcgtgatgcatgaaagcctgcataaccat
R W Q Q G N V F S C S V M H E A L H N H
tatacccgaaaaagcctgagcctgagccggcgctga (SEQ ID NO: 160)
Y T Q K S L S L S P G Stop (SEQ ID NO: 129)

```

도면65a

IAB1M γ1 EH8 (M1) (SEQ ID NO: 130)

atggaaaccgataccctgctgctgtgggtgctgctgctgtgggtgcccggcagcaccggc
M E T D T L L L W V L L L W V F G S T G
gatattcagctgacccgagcccgagccctgagcgcgagcgtggcgatccgctgacc
D I Q L T Q S P S T L S A S V C D R V T
attacctgcagcgcgagcagcagcgtgcgcttlatcattggatcagcagaaccgggc
I T C S A S S S V R F I H W Y Q Q K P G
aaagcgccgaaacgctgatttatgataccagcaaacctggcgagcgcgctgcccagccgc
K A P K R L I Y D T S K L A S G V P S R
tttagcgcgagcgcgagcggcaccgattttaccctgaccattagcagcctgcagccggaa
F S G S G S G T D F T L T I S S L Q P E
gatttttgcagcctattatttgcagcagtgggggcagcagccgctttacccttggccagggc
D F A T Y Y C Q Q W G S S P F T F G Q G
accaaagtggaaattaaaggcagcaccagcggcgggcgagcggcgggcgagcggcggc
T K V E I K G S T S G G G S G G G S G G
ggcgcgagcagcgaagtgcagctgggtggaatatggcgggggcctggtgcagccggcggc
G G S S E V Q L V E Y G G G L V Q P G G
agcctgcccctgagctgcgcggcgagcggctttaacattaaagattattatattcattgg
S L R L S C A A S G F N I K D Y Y I H W
gtgcgcaggcgccgggcaaaaggcctgggaatgggtggcgtggattgatccggaaaaacggc
V R Q A F G K G L E W V A W I E F E N G
gataccgaatttgcgcgaatttccaggcccgcgaccatgagcggcgataccagcaaa
D T E F V F K F Q G R A T M S A D T S K
aacaccgctgctgcagatgaacagcctgcgcggcggaagatacccggtgtattattgc
N T A Y L Q M N S L R A E D T A V Y Y C
aaaaccggcggttttggggccaggccacccctggtgaccgtgagcagcgaactgaaaacc
K T G G F W G Q G T L V T V S S E L K T
ccgctggcgataaccacccatacctgcccgcgctgcccgcgctgcccgcgctgcccgcg
F L G D T T H T C P P C P P C P P C G G
ggcagcagcggcgcgcgagcggcgccagccgcggcgaaccgcaggtgtataccctgccc
G S S G G G S G G Q P R E F Q V Y T L F
ccgagccgcgaagaatgacccaaaaaccaggtgagcctgacctgctggtgaaaggcttt
P S R E E M T K N Q V S L T C L V K G F
tatccgagcgtatttgcgtggaatgggaaagcaacggccagccggaaaaaactataaa
Y P S D I A V E W E S N G Q P E N N Y K
accaccccgccggtgctggtatagcgtggcagctttttctgtatagcaaacctgacggtg
T T P P V L D S D G S F F L Y S K L T V
gataaaaccgctgagcagcagggcaacgtgttttagctgcagcgtgatgcatgaagcgtg
D K S R W Q Q G N V F S C S V M H E A L
cataaccattatacccgaaaaagcctgagcctgagccgggctga (SEQ ID NO: 161)
H N H Y T Q K S L S L S P G Stop (SEQ ID NO: 130)

도면 65b

IAB25M γ_2 NH (M1)

ATTGAAACCGACACCCTGCTGCTGTGGGTSCTGCTGCTCTGGGTCCCAGGCTCCACCGGT
M E T D T L L L W V L L L W V P G S T G

Signal Peptide

GAAATTGTGTGACACAGTCTCCAGCCACCCTGTCTTTGTCTCCAGGGGAAGAGCCACC
E I V L T Q S P A T L S L S P G E R A T

VL

CTCTCCTGCAAGTGCCAGCTCAAGTGTAAGTTACATGAAGCTGGTACCAACAGAAACCTGGC
L S C S A S S S V S Y M N W Y Q Q K P G

LCDR1

CAGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATGACACATCCAACTGGCTTCTGGAGTCCCTGCTCAC
Q A P R L L I Y D T S K L A S G V P A H

LCDR2

TTCAGGGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGCCTAGAGCCTGAA
F R G S G S C T D F T L T I S S L E P E

GATTTTGCAGTTTATTACTGT CAGCAGTGGAGTAGTAACCCATTACCGTTCGGCCAAGGG
D F A V Y Y C Q Q W S S N P F T F G Q G

LCDR3

ACCAAGGTGGAATCAAA **GGCTCCACATCCGGCGGAGGCTCTGGCGGTGCATCTGGCGGA**
T K V E I K **G S T S G G G S G G S G G**

Linker

GGCGGCTCATCCAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCC
G G S S Q V Q L V Q S G A E V K K P G A

Linker

TCAGTGAAGGCTCTCCTGCAAGGCTTCTGGATACACCTTCACCAGGTACACGATGCACTGG
S V K V S C K A S C Y T F T R Y T M H W

HCDR1

GTSCGACAGGCCCTGGACAAGGGCTTGASTGGATGGGATACATTAAATCCTAGCCGTGGT
V R Q A P G Q G L E W M G Y I N P S R G

HCDR2

T A T A C T A A T T A C A A T C A G A A G T T C A A G G A C A G G G T C A C C A T G A C C A C A G A C A C G T C C A T C
 Y T N Y N Q K F K D R V T M T T D T S I

HCDR2

AGCACAGCCTACATGGAGCTGAGCAGGCTGAGATCTGACGACACGGCCGTGTATTACTGT
S T A Y M E L S R L R S D D T A V Y Y C

CGGAGATATTATGATGATCATTACTCACTTGACTACTGGGGCCAGGGCCACCCTGGTCACC
A R Y Y D D H Y S L D Y W G Q S T L V T

HCDR3

GTCTCCTCAAGAGCGCAAAAGTTGTGTCCAGTGCCCACCGTGCCCAAGCACCACCTGTGGCA
V S S E R K C C V E C P P C P A P P V A

Upper hinge Core hinge

Lower hinge (LH)

Upper hinge Core hinge Lower hinge (217)

GGACCGGGCCAGCCCCGAGAACCAAGGTGTACACCCTGCCCCATCCCGGGAGGAGATG
G P G Q P R E P Q V Y T L P P S R E E M

(LH)

CH3

ACCAAGAACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTSGTCAAAGGCTTCTACCCAGCGACATCGCC
T K N Q V S L T C L V K G F Y P S D I A

GTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACACTACAAGACCACGCCTCCCATGCTG
V E W E S N G Q P E N N Y K T T P P M L

GACTCCGACGGCTCCTTCTTCTCTACAGCAAGCTCACCCTGGACAAGAGCAGGTGGCAG
D S D G S F F L Y S K L T V D K S R W Q

CAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCA
O G N V F S C S V M H E A L H N H Y T O

AAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAA (SEQ ID NO: 231)

K S L S L S P G K (SEQ ID NO: 232)

도면65c

IAB25M γ 2 EH (M1)

ATGGAGACCCGACACCTCTCTGTGGCTCCTGCTCTGTGGTCCCTGGAAACACCCGC
M E T D T L L L W V L L L W V P G S T G

Signal Peptide Sequence

GAGATTGTGCTGACCCAGTCCCTGCCACCTGAGCCTGTCCCTGGAGAAAGAGCCACA
E I V L T Q S P A T L S L S P G E R A T

VL

CTGAGCTGTTCGGCTCTCTCCAGCTGAGCTACATGAACGGTACCAGCAGAACCCCGGA
L S C S A S S S V S Y M N W Y Q Q K P G

LCDR1

CAGGCTCCAGGCTGCTCATCTACACACAAGCAAGCTGGCTAGCGCGTGCCCGCTCAT
Q A P R L L I Y D T S K L A S G V F A H

LCDR2

TTCAGAGGCAGCGGACGCGCACAGATTTACCTGACCATTTCTCCCTGGAGCCTGAG
F R G S G S G T D F T L T I S S L E P E

GACTTCGCGGTGATTACTGCAGCAGTGGAGCTCCAACCCCTTCACATTCGGCCAGGGC
D F A V Y Y C Q Q W S S N P F T F G Q G

LCDR3

ACCAAGGTGGAATCAACGCATCCACAAGCGGAGCGCGCAGCGCGCGCCACCCGAGGC
T K V E I K G S T S G G G S G G G S G G

Linker

CGAGGCGAGCAGCCAGGTGCAACTGGTGCAGAGCGGAGCCGAGGTGAAGAAGCCCGAGCC
G G S S Q V Q L V Q S G A S V K K P G A

Linker VH

AGCGTGAAGGTGTCTGCAAGCCTCGGATACACCTTCACCAAGTACACAATGCACTGG
S V K V S C K A S G Y T F T R Y T M H W

HCDR1

GTGAGGCAGGCTCCCGCCAGCGCTGGAGTGGATGGGATACATCAACCCACGAGGGC
V R Q A P G Q G L E W M G Y I N P S R G

HCDR2

TACCAACTATAACCAAGAGTTCAAGGACAGGGTGACCATGACCACCGACACCAAGCATT
Y T N Y N Q K F K D R V T M T T D T S I

HCDR2

TCCACCGCTTATATGGAGCTCAGCAGACTGAGGTCCGACGACACCGCGGTGTACTACTGC
S T A Y M E L S R L R S D D T A V Y Y C

CCCAGCTATTACGACGACCACTACAGCCTGGACTACGGGGCCAGCGAACACTCTGACC
A R Y Y D D H Y S L D Y W G Q S T L V T

HCDR3

GTGTCCAGCGAGAGGAAGTGTGCGTGAATGTCCCTTGTCTTGGAGCGGAAGCTCC
V S S E R K C C V E C P P C P S G G C S S

Upper hinge

Core hinge

Lower hinge

CGAGGAGGATCCGGCGGACAGCCAGGGAACCTCAGGTGTACACCTGCCCCCAGCAGG
G G G S G G Q P R E P Q V Y T L P P S R

Lower hinge

CH3

CAGGAGATGACAAAGAACCAGGTGAGCCTGACCTGTCTGGTGAAGGCTTCTACCCAGC
E E M T K N Q V S L T C L V K G F Y P S

GACATCGCGTGGAGTGGGAGAGCAACGGCCAGCCTGAGAACAACTACAAGACAACCCCC
D I A V E W E S N G Q P E N N Y K T T P

CCATGCTGGATAGCGACGGCAGCTTCTTCTGTACTCCAAGCTCACCGTGGATAAGAGC
P M L D S D C S F F L Y S K L T V D K S

AGSTGCCACCGAGGAAACGTCCTTAGCTGTCCTGATGCACGACCCCTGCACAACCAC
R W Q Q G N V F S C S V M H E A L H N H

TACACCCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCCCCCGGCAAG (SEQ ID NO: 233)

Y T Q K S L S L S P G K (SEQ ID NO: 234)

도면66

IAB22M variable heavy (VH-K67R) sequence
VH
EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHFVRQAPGKGLEWIGRIDP
ANDNTLYASKFQGRATISADTSKNTAYLQMNLSLRAEDTAVYYCGRGYGYVFD
HWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 99)

도면67

IAB20M variable light (VL-Q79E, V83E)
VL
DIVMTQSPATLSVSPGERATLSCKASQSVSNDVAWYQQKPGQAPRLLISYTSRY
AGVPDRFSGSGGTDFTLTISSLEAEDEAVYYCQQDYNSPPTFGQGTKVEIK
(SEQ ID NO: 100)

IAB20M variable light (VL-A9D, T10S, S12A, P15L, L21I,
S22N)
VL
DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKASQSVSNDVAWYQQKPGQAPRLLISYTSRY
AGVPDRFSGSGGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQDYNSPPTFGQGTKVEIK
(SEQ ID NO: 101)

도면68

IAB20M variable heavy (VH-Q1E, Q6E)
VH
EVQLVESGAENVKKPGASVKVSVCKASGYSTGYYMHWVRQAPGQGLEWIGRINP
NNGVTLYNQKFKDRVTMTVDTSISTAYMELSRRLSRDDTAVYYCARSTMITNYV
MDYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 102)

도면69

Anti-CD3 variable light (VL, R62S) sequence
 EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCSASSSVSYMNWYQQKPGQAPRLLIYDTSKLASGVP
 AHFSGSGSGTDFTLTITSSLEPEDFAVYYCQQWSSNPFTFGQGTKVEIK (SEQ ID

NO: 103)

Anti-CD3 variable heavy (VH, Q1E, Q6E) sequence
 EVQLVESGAEVKKPGASVKVCKASGYTFTRYTMHWVRQAPGGGLEWMGYINPSRGYT
 NYNQKFKDRVTMTTDTISITAYMELSRRLRSDDTAVYYCARYYDDHYSLDYWGQGTLVT
 VSS (SEQ ID NO: 104)

도면70

PSMA (Prostate-Specific Membrane Antigen), Glutamate carboxypeptidase 2, Homo sapiens
UniProtKB/SwissProt: Q04609 (SEQ ID NO: 131)

MWNLHETDSAVATARRPRWLCAGALVLAGGFFLLGLFGWFIKSSNEATNITPKHNMKAFDELKAENI
 KKFLYNFTQIPHLAGTEQNFQLAKQIQSQWKEFGLDVELAHYDVLLSYPNKTHPNYISINEDGNEIFN
 TSLFEPPPPGYENVSDIVPPFSAFSPQGMPEGDLVYVNYARTEDFFKLERDMKINCSGKIVVIARYGKVFR
 GNKVKNAQLAGAKGVILYSDPADYFAPGVKSYPDGNLPGGGVQQRGNILNLNGAGDPLTPGYPANEEYAYR
 RGIAEAVGLPSIPVHPIGYYDAQKLLLEKMGGSAPPDSSWRGSLKVPYNVGPFGFTGNFSTQKVKMHIHSTN
 EVTRIYNVIGTLRGAVEPDYVILGGHRDSWVFGGIDPQSGAAVVHEIVRSFGTLKKEGWRPRRTILFAS
 WDAEEFGLLGSTEWAEENSRLQERGVAYINADSSIEGNYTLRVDCPLMYSLVHNLTKEKSPDEGEFEG
 KSLYESWTKKSPSPSEFSGMPRISKLGSGNDFEVFFQRLGIASGRARYTKNWEINKFSGYPLYIISVYETYE
 LVEKFYDPMFKYHLTVAQVRGGMVFEANSLVLPFDCRDYAVVLRKYADKIYSISMKHPQEMKITYSVSFD
 SLFSVKNFTEIASKFSERLQDFDKSNPIVLRMMNDQLMFLERAFIDPLGLPDRPFYRHHVIYAPSSHNKY
 AGESFPGLYDALFDLESKVDPSKAWGEVKKQIYVAAFTVQAAAEITLSEVA (SEQ ID NO: 131)

도면71

PSCA (Prostate Stem Cell Antigen), Homo sapiens
UniProtKB/SwissProt: O43653 (SEQ ID NO: 132)

MKAVLLALLMAGLALQPGTALLCYSCKAQVSNEDCLQVENCCTQLGEQCWTARIRAVGLLTVISKGCSLNC
VDDSDYYVVGKKNITCCDTDLCNASGAHALQPAVAAILALLPALGLLLLWPGQL (SEQ ID NO: 132)

도면72

5T4 (gi|435655|e5T4 oncofetal trophoblast glycoprotein, Homo sapiens
UniProtKB/SwissProt: Q13641 (SEQ ID NO: 133)

MPGGCSRGPAAGDGRRLRLARLALVLLGWVSSSSPTSSASSFSSSAFFLASAVSAQPPPLPDQCPCCECSE
AARTVKCVNRNLTEVPTDLPAVVRNLF LTGNQLAVLPAGAFARRPPLAELAAALNLGSRLLDEVRAFAFEH
LPSLRQLDLSENPLADLSPFAFSGSNASVSAPSPLVLELILNHIVPPEIDERQNRSFEGMVVAALLAGRAIQ
GLRRLELASNEFLYLPRDVLAQLPSLRHLDLSNNSLVSLTYVSFRNLTHLESLHLEDNALKVVLHNGTLAE
LQGLPHIRVFLDNNPWVCDCHMADMTWLKETEVVQKDRLLTCAYPEKMRNRVLLLENSADLDCDPIIPP
SLQTSYVFLGIVLALIGAIFFLLVLYLNRKGIKKWMHNIRDACRDHMEGYHYRYEINADPRLTNLSSNSDV

(SEQ ID NO: 133)

도면73

T-cell surface glycoprotein CD8 alpha chain, Homo sapiens

UniProtKB/SwissProt: P01732 (SEQ ID NO: 134)

MALFVTALLPLALLHAAARPSQFRVSPFLDRTWNLGETVELKCQVLLSNFTSGCSWLFQPRGAAASPFTFL
LYLSQNKPKAAEGLDTQRFSGKRLGDTFVLTLSDFRRENEGYYFCSALNSIMYFSHFVPVFLPAKPTTT
PAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCNHRN
RRRVCKCPRPVVKSGDKPSLSARYV (SEQ ID NO: 134)

도면74

T-cell surface glycoprotein CD8 beta chain, Homo sapiens

UniProtKB/SwissProt: P10966 (SEQ ID NO: 135)

MRPRLWLLAAQLTVLHGNSVLQQTPAYTKVQTNKMVMLSCEAKISLSNMRIYWLQRQAPSSDSHHEFLALWDSAK
GTIHGEEVEQEKIADVFRDASRFILNLTSVKPEDSGIYFCMIVGSPELTFGKGITQLSVVDLPTTAQPTKKSTLKKRV
CRLPRPETQKGPLCSPVTIGLLVAGVLVLLVSLGVAMHLCCRRRRARLRFMKQFYK (SEQ ID NO: 135)

도면75

T-cell surface glycoprotein CD3 delta chain, Homo sapiens
UniProtKB/SwissProt: P04234 (SEQ ID NO: 136)

MEHSTFLSGLVLATLLSQVSPFKIPFEELEDREVFNCSITWVEGTVGTLLSDITRLDLGKRILDP
YRCNGTDIYKDKESTVQVHYRMCQSCVELDPATVAGIIVTDVIATLLALGVFCFAGHETGRLSGA
ALLRNDQVYQPLRDRDDAQVSHLGGNWARNK (SEQ ID NO: 136)

도면76

T-cell surface glycoprotein CD3 gamma chain, Homo sapiens
UniProtKB/SwissProt: P09693 (SEQ ID NO: 137)

MEQQKGLAVLI LAI ILLQGTLAQSIKGNHLVKVYDYQEDGSVLLTCDAAEAKNITWFKDGKMIGELTEDKK
KWNLGSAKDPGRMYQCKGSQNKSKPLQVYYRMCQNCIELNAATISGFLFAEIVSIFVLAVGVYFIAGQD
GVRQSRASDKQTLLPNDQLYQPLKDRDDQYSHLQGNQLRRN (SEQ ID NO: 137)

도면77

T-cell surface glycoprotein CD3 epsilon chain
UniProtKB/SwissProt: P07766 (SEQ ID NO: 138)

MQSGTHWRVL GLCLLSVGWV GQDGNEEMGG ITQTPYKVS I SGTTVILTCP
QYPGSEILWQ HNDKNIGGDE DDKNIGSDED HLSLKEFSEL EQSGYYVCYP
RGSKPEDANF YLYLRARVCE NCMEMDVMSV ATIVIVDICI TGGLLLLVYY
WSKNRKAKAK PVTRGAGAGG RQRGQNKERP PPVPNPDYEP IRKGQRDLYS
GLNQRR I (SEQ ID NO: 138)

도면78

**T-cell surface glycoprotein CD3 zeta chain, Homo sapiens
UniProtKB/SwissProt: P20963 (SEQ ID NO: 139)**

MKWKALFTAA ILQAQLPITE AQSEGLLDPK LCYLDDGILF IYGVILTALF
LRVKFSRSAD APAYQQGQNQ LYNELNLGRR EEYDVLDKRR GRDPEMGGKP
QRRKNPQEG L YNELQDKKMA EAYSEIGMKG ERRRGKGHDG LYQGLSTATK
DTYDALHMQA LPPR (SEQ ID NO: 139)

도면 79

IAB25M $\gamma 2$ EH2 (N- to C-terminal)

IAB25 variable light (VL) sequence
 EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCSASSSVSYMNWYQQKPGQAPRLIYDTSKASGVPAHFRGSGSGTDFLTISSELEPE
 DFAVYYCQQWSSNPFTFGQGTKEIK (SEQ ID NO: 19)

Linker
 GSTSGGGSGGGGGSS (SEQ ID NO: 62)

IAB25 variable heavy (VH) sequence
 QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTRYTMHWVRQAPGQGLEWMGYINPSRGYTNYNQKFKDRVTMTTDTSSIS
 TAYMELSRLRSDDTAIVYCYARYDDHYSLDYWGGTLVTVSS (SEQ ID NO: 20)

Full hinge (EH2)
 ERKSCVECPPCPGGGSGGGSG (SEQ ID NO: 34)

Upper hinge
 ERK (SEQ ID NO: 47)

Core hinge
 SCVECPPCP (SEQ ID NO: 56)

Lower hinge
 GGGSGGGSG (SEQ ID NO: 59)

Human IgG2 CH3
 GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ
 QGNVFSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 42)

Human IgG2 CH3 T26S, L28A, M57V
 GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRW
 QQGNVFSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPG (SEQ ID NO: 181)

Human IgG2 CH3 T26W
 GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW
 QQGNVFSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPG (SEQ ID NO: 182)

도면80

IAB20M γ 2 EH2 (N- to C-terminal)	
Anti-5T4 variable light (VL) sequence	DIVMTQSPATLSVSPGERATLSCKASQSVNDVAWYQQKPGQAPRLLIISYTSRRYAGVPDRFSGSGSGTDFTLTISLQAEDVAVYCCQQDYNPPTFGQGTKEIK (SEQ ID NO: 17)
Linker	GSTSGGGGGGGGGSS (SEQ ID NO: 62)
Anti-5T4 variable heavy (VH) sequence	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKKASGYSTFTGYMHVVRQAPGQGLEWIGRINPNNGVTLYNQKFKDRVTMTVDTSISTAYMELSLRSDDTAVYYCARSTMITNYMDYWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 18)
Full hinge (EH2)	ERKSCVECPPCPGGGSSGGSG (SEQ ID NO: 34)
Upper hinge	ERK (SEQ ID NO: 47)
Core hinge	SCVECPPCP (SEQ ID NO: 56)
Lower hinge	GGSSGGGGSG (SEQ ID NO: 59)
Human IgG2 CH3	GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKLSLSPGK (SEQ ID NO: 42)
Human IgG2 CH3 T26S, L28A, M57V	GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVYLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKLSLSPG (SEQ ID NO: 181)
Human IgG2 CH3 T26W	GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKLSLSPG (SEQ ID NO: 182)

서열 목록

SEQUENCE LISTING

<110> ImaginAb, Inc.
Chan, Chio Mui
Gudas, Jean M.
Olafsen, Tove
Satpayev, Daulet Kadyl
Torgov, Michael Yuri

<120> ANTIGEN BINDING CONSTRUCTS TO TARGET
MOLECULES

<130> MPI18-002

<150> 62/202665

<151> 2015-08-07
 <160> 256
 <170> KoPatentIn 3.0
 <210> 1
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Hinge region
 <220>
 <221> VARIANT
 <222> 1
 <223> Xaa = any amino acid that does not form a covalent

crosslinking bond

<220>
 <221> VARIANT
 <222> 3
 <223> Xaa = any one of: A, R, N, D, E, Q, G, H, I, L, K,
 M, F, P, S, T, W, Y, or V
 <220>
 <221> VARIANT
 <222> 4, 6, 7
 <223> Xaa = any amino acid
 <400> 1

Xaa Cys Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Cys

1 5

<210> 2
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Hinge region
 <220>
 <221> VARIANT
 <222> 1

<223> Xaa = any amino acid that does not form a covalent
crosslinking bond with another amino acid

<220>

<221> VARIANT

<222> 2-6, 8, 9, 11, 12

<223> Xaa = any amino acid

<400> 2

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Cys

1 5 10

<210> 3

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Minibody

<220>

<221> VARIANT

<222> 1

<223> Xaa = any amino acid or no amino acid

<220>

<221> VARIANT

<222> 3, 4, 6, 7

<223> Xaa = any amino acid

<400> 3

Xaa Cys Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Cys

1 5

<210> 4

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Minibody

<220>

<221> VARIANT

<222> 1

<223> Xaa = any amino acid or no amino acid

<220>

<221> VARIANT

<222> 3, 4, 6, 7

<223> Xaa = any amino acid

<220>

<221> VARIANT

<222> 9

<223> Xaa = any amino acid, no amino acid, or P

<400> 4

Xaa Cys Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Cys Xaa

1 5

<210> 5

<211> 1128

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223>

IAB2M gamma 1 EH5 (Minibody 2)

<400> 5

gaagtgcagc tggcgcagag cggcgcggaa gtgaaaaaac cgggcgcgag cgtgaaaatt 60
agctgcacaaa ccagcggcta tacctttacc gaatatacca ttcattgggt gaaacaggcg 120
agcggcaaaag gcctggaatg gattggcaac attaacccga acaacggcgg caccacctat 180
aaccagaaat ttgaagatcg cgcgacctg accgtggata aaagcaccag caccgcgtat 240
atggaactga gcagcctgcg cagcgaagat accgcggtgt attattgcgc ggccgggctgg 300
aactttgatt attggggcca gggcaccacc gtgaccgtga gcagcggcag caccagcggc 360
ggcggcagcg gcggcggcag cggcggcggc ggcagcagcg atattgtgat gaccagagc 420

ccgagcagcc tgagcgcgag cgtgggcgat cgcgtgacca ttacctgcaa agcgagccag 480
gatgtgggca ccgcggtgga ttggtatcag cagaaaccgg gcaaagcgcc gaaactgctg 540
atattattggg cgagcacccg ccataccggc gtgccggatc gctttaccgg cagcggcagc 600
ggcaccgatt ttacctgac cattagcagc ctgcagccgg aagattttgc ggattatatt 660
tgccagcagt ataacagcta tccgtgacc ttggcggcg gcaccaaact ggaaattaaa 720

gaaccgaaaa gcagcgataa aaccataacc tgcccgcctg gcccgccgtg cccgccgtgc 780
ggcggcggca gcagcggcgg cggcagcggc ggccagccgc gcgaaccgca ggtgtatacc 840
ctgccgccga gccgcgaaga aatgacaaaa aaccaggtga gcctgacctg cctggtgaaa 900

ggcttttatc cgagcgatat tgcggtggaa tgggaaagca acggccagcc ggaaaacaac 960
tataaaacca ccccgccggt gctggatagc gatggcagct tttttctgta tagcaaaactg 1020
accgtggata aaagccgctg gcagcagggc aacgtgttta gctgcagcgt gatgcatgaa 1080
gcgctgcata accattatac ccagaaaagc ctgagcctga gcccgggc 1128

<210> 6

<211> 1134

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> IAB2M gamma 1 EH8 (Minibody 2)

<400> 6

gaagtgcagc tgggtgcagag cggcgcggaa gtgaaaaaac cgggcgcgag cgtgaaaatt 60
agctgcaaaa ccagcggcta tacctttacc gaataacca ttcatgtgggt gaaacaggcg 120

agcggcaaaag gcctggaatg gattggcaac attaaccga acaacggcgg caccacctat 180
aaccagaaat ttgaagatcg cgcgacctg accgtggata aaagcaccag caccgcgtat 240
atggaactga gcagcctcg cagcgaagat accgcggtgt attattgcgc ggcgggctgg 300
aactttgatt attggggcca gggcaccacc gtgacctga gcagcggcag caccagcggc 360
ggcggcagcg ggcggcggc cggcggcggc ggccagcagc atattgtgat gaccagagc 420
ccgagcagcc tgagcgcgag cgtgggcgat cgcgtgacca ttacctgcaa agcagaccag 480
gatgtgggca ccgcggtgga ttggtatcag cagaaaccgg gcaaagcgc gaaactgctg 540
atttattggg cgagcaccgg ccataccggc gtgccggatc gctttaccgg cagcggcagc 600

ggcaccgatt ttacctgac cattagcagc ctgcagccgg aagattttgc ggattatatt 660
tgccagcagt ataacagcta tccgtgacc ttggcggcg gcaccaaact ggaaattaaa 720
gaactgaaaa ccccgctggg cgataccacc catactgcc cgccgtgccc gccgtgccc 780
ccgtgcggcg gcggcagcag cggcggcggc agcggcggcc agccgcgca accgcaggtg 840
tataacctgc cgccgagccg cgaagaaatg accaaaaacc aggtgagcct gacctgcctg 900
gtgaaaggct tttatccgag cgatatcg gtggaatggg aaagcaacgg ccagccggaa 960
aacaactata aaaccacccc gccggtgctg gatagcgatg gcagcttttt tctgtatagc 1020

aaactgaccg tggataaaag ccgctggcag cagggcaacg tgtttagctg cagcgtgatg 1080

catgaagcgc tgcataacca ttataccag aaaagcctga gcctgagccc gggc 1134

<210> 7

<211> 373

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> IAB2M gamma 1 EH3 (Minibody 1)

<400> 7

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Tyr Trp Ala Ser Thr Arg His Thr Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr 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 Asp Tyr Phe Cys Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Pro Leu

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

Ile Ser Cys Lys Thr Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Glu Tyr Thr Ile His

145 150 155 160

Trp Val Lys Gln Ala Ser Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile Gly Asn Ile

165 170 175

Asn Pro Asn Asn Gly Gly Thr Thr Tyr Asn Gln Lys Phe Glu Asp Arg
 180 185 190
 Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr Met Glu Leu
 195 200 205
 Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ala Gly
 210 215 220
 Trp Asn Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
 225 230 235 240
 Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Pro
 245 250 255
 Cys Gly Gly Gly Ser Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gln Pro Arg Glu
 260 265 270
 Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn
 275 280 285
 Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile
 290 295 300
 Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr
 305 310 315 320
 Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys
 325 330 335
 Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys
 340 345 350
 Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
 355 360 365
 Ser Leu Ser Pro Gly
 370
 <210> 8
 <211> 376
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> IAB2M gamma 1 EH5 (Minibody 1)

<400> 8

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

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

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

35 40 45

Tyr Trp Ala Ser Thr Arg His Thr Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr 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 Asp Tyr Phe Cys Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Pro Leu
85 90 95

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

100 105 110

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

Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys
130 135 140

Ile Ser Cys Lys Thr Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Glu Tyr Thr Ile His
145 150 155 160

Trp Val Lys Gln Ala Ser Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile Gly Asn Ile

165 170 175

Asn Pro Asn Asn Gly Gly Thr Thr Tyr Asn Gln Lys Phe Glu Asp Arg
180 185 190

Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr Met Glu Leu
195 200 205

Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ala Gly
210 215 220

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

225 230 235 240

Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Pro
 245 250 255
 Cys Pro Pro Cys Gly Gly Gly Ser Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gln
 260 265 270
 Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met
 275 280 285
 Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
 290 295 300
 Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
 305 310 315 320
 Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
 325 330 335
 Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val
 340 345 350
 Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln
 355 360 365
 Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 370 375
 <210> 9
 <211> 378
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> IAB2M gamma 1 EH8 (Minibody 1)
 <400> 9
 Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asp Val Gly Thr Ala
 20 25 30
 Val Asp Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
 35 40 45
 Tyr Trp Ala Ser Thr Arg His Thr Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr 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 Asp Tyr Phe Cys Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Pro Leu			
	85	90	95
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Gly Ser Thr Ser Gly			
	100	105	110
Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ser Glu Val Gln			
	115	120	125
Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys			
	130	135	140
Ile Ser Cys Lys Thr Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Glu Tyr Thr Ile His			
145	150	155	160
Trp Val Lys Gln Ala Ser Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile Gly Asn Ile			
	165	170	175
Asn Pro Asn Asn Gly Gly Thr Thr Tyr Asn Gln Lys Phe Glu Asp Arg			
	180	185	190
Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr Met Glu Leu			
	195	200	205
Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ala Gly			
	210	215	220
Trp Asn Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser			
225	230	235	240
Glu Leu Lys Thr Pro Leu Gly Asp Thr Thr His Thr Cys Pro Pro Cys			
	245	250	255
Pro Pro Cys Pro Pro Cys Gly Gly Gly Ser Ser Gly Gly Gly Ser Gly			
	260	265	270
Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu			
	275	280	285
Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe			
	290	295	300

Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu
 305 310 315 320
 Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe
 325 330 335
 Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly
 340 345 350

Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr
 355 360 365
 Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 370 375

<210> 10

<211> 373

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> IAB2M gamma 1 EH3 (Minibody 2)

<400> 10

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

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

85 90 95
 Ala Ala Gly Trp Asn Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr
 100 105 110
 Val Ser Ser Gly Ser Thr Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly

115 120 125
 Gly Gly Gly Ser Ser Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu
 130 135 140
 Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln

 145 150 155 160
 Asp Val Gly Thr Ala Val Asp Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala
 165 170 175
 Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg His Thr Gly Val Pro
 180 185 190
 Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile
 195 200 205
 Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Asp Tyr Phe Cys Gln Gln Tyr

 210 215 220
 Asn Ser Tyr Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 225 230 235 240
 Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Pro
 245 250 255
 Cys Gly Gly Gly Ser Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gln Pro Arg Glu
 260 265 270
 Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn

 275 280 285
 Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile
 290 295 300
 Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr
 305 310 315 320
 Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys
 325 330 335
 Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys

 340 345 350
 Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
 355 360 365

Ser Leu Ser Pro Gly

370

<210> 11

<211> 376

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> IAB2M gamma 1 EH5 (Minibody 2)

<400> 11

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

1 5 10 15

Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Thr Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Glu Tyr

20 25 30

Thr Ile His Trp Val Lys Gln Ala Ser Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile

35 40 45

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

50 55 60

Glu Asp Arg Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Ala Gly Trp Asn Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

Asp Val Gly Thr Ala Val Asp Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala

165 170 175

Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg His Thr Gly Val Pro

180 185 190
 Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile
 195 200 205
 Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Asp Tyr Phe Cys Gln Gln Tyr

210 215 220
 Asn Ser Tyr Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 225 230 235 240
 Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Pro
 245 250 255
 Cys Pro Pro Cys Gly Gly Gly Ser Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gln
 260 265 270
 Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met

275 280 285
 Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
 290 295 300
 Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
 305 310 315 320
 Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
 325 330 335
 Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val

340 345 350
 Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln
 355 360 365
 Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly

370 375
 <210> 12
 <211> 378
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> IAB2M gamma 1 EH8 (Minibody 2)
 <400> 12

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

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

 Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Ala Gly Trp Asn Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr
 100 105 110
 Val Ser Ser Gly Ser Thr Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly
 115 120 125
 Gly Gly Gly Ser Ser Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu
 130 135 140

 Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln
 145 150 155 160
 Asp Val Gly Thr Ala Val Asp Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala
 165 170 175
 Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg His Thr Gly Val Pro
 180 185 190
 Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile
 195 200 205

 Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Asp Tyr Phe Cys Gln Gln Tyr
 210 215 220
 Asn Ser Tyr Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 225 230 235 240
 Glu Leu Lys Thr Pro Leu Gly Asp Thr Thr His Thr Cys Pro Pro Cys

245 250 255
Pro Pro Cys Pro Pro Cys Gly Gly Gly Ser Ser Gly Gly Gly Ser Gly
260 265 270

Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu
275 280 285

Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe
290 295 300

Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu
305 310 315 320

Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe
325 330 335

Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly
340 345 350

Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr
355 360 365

Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
370 375

<210> 13

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> IAB2M variable light sequence

<400> 13

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

1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asp Val Gly Thr Ala

20 25 30
Val Asp Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45
Tyr Trp Ala Ser Thr Arg His Thr Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr 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 Asp Tyr Phe Cys Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Pro Leu

85 90 95
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

100 105

<210> 14

<211> 115

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> IAB2M variable heavy sequence

<400> 14

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

Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Thr Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Glu Tyr
20 25 30

Thr Ile His Trp Val Lys Gln Ala Ser Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

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

Glu Asp Arg Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

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

Val Ser Ser
115

<210> 15

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> IAB22M variable light sequence

<400> 15

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Tyr Ser Gly 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 Gln His Asn Glu Asn Pro Leu

85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105

<210> 16

<211> 118

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> IAB22M variable heavy sequence

<400> 16

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 Asn Ile Lys Asp Thr

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60
Gln Gly Lys Ala Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95
Gly Arg Gly Tyr Gly Tyr Tyr Val Phe Asp His Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110
Leu Val Thr Val Ser Ser

115
<210> 17
<211> 107
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> IAB20M variable light sequence
<400> 17

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Val Ser Pro Gly
1 5 10 15
Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gln Ser Val Ser Asn Asp

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

85 90 95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105
<210> 18
<211> 120

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> IAB20M variable heavy sequence

<400> 18

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Gly Arg Ile Asn Pro Asn Asn Gly Val Thr Leu Tyr Asn Gln Lys Phe

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Ser Thr Met Ile Thr Asn Tyr Val Met Asp Tyr Trp Gly Gln

100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 19

<211> 106

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Anti-CD3 variable light sequence

<400> 19

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 Ser Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met

20 25 30

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

85 90 95
 Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105

<210> 20

<211> 119

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Anti-CD3 variable heavy sequence

<400> 20

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Arg Tyr
 20 25 30

Thr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 Gly Tyr Ile Asn Pro Ser Arg Gly Tyr Thr Asn Tyr Asn Gln Lys Phe
 50 55 60
 Lys Asp Arg Val Thr Met Thr Thr Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95

Ala Arg Tyr Tyr Asp Asp His Tyr Ser Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
 100 105 110
 Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 21

<211> 23

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Human IgG1 NH1

<400> 21

Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala

1 5 10 15

Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro

20

<210> 22

<211> 24

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Human IgG1 EH1

<400> 22

Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Gly Gly

1 5 10 15

Gly Ser Ser Gly Gly Gly Ser Gly

20

<210> 23

<211> 23

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> Human IgG1 NH2

<400> 23

Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala

1 5 10 15

Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro

20

<210> 24

<211> 24

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Human IgG1 EH2

<400> 24

Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Gly Gly

1 5 10 15

Gly Ser Ser Gly Gly Gly Ser Gly

20

<210> 25

<211> 25

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Human IgG1 NH3

<400> 25

Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Pro

1 5 10 15

Cys Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro

20 25

<210> 26

<211> 27

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Human IgG1 EH3

<400> 26

Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Pro

1 5 10 15

Cys Gly Gly Gly Ser Ser Gly Gly Gly Ser Gly

20 25

<210> 27

<211> 28

<212> PRT

<213>

> Artificial Sequence

<220>

<223> Human IgG1 NH4

<400> 27

Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Val Glu

1 5 10 15

Cys Pro Pro Cys Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro

20 25

<210> 28

<211> 30

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Human IgG1 EH4

<400> 28

Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Val Glu

1 5 10 15

Cys Pro Pro Cys Gly Gly Gly Ser Ser Gly Gly Gly Ser Gly

20 25 30

<210> 29

<211> 28

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Human IgG1 NH5

<400> 29

Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Pro

1 5 10 15

Cys Pro Pro Cys Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro

20 25

<210> 30

<211> 30

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Human IgG1 EH5

<400> 30

Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Pro

1 5 10 15

Cys Pro Pro Cys Gly Gly Gly Ser Ser Gly Gly Gly Ser Gly

20 25 30

<210> 31

<211> 19

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Human IgG2 NH1

<400> 31

Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val

1 5 10 15

Ala Gly Pro

<210> 32

<211> 22

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Human IgG2 EH1

<400> 32

Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Gly Gly Gly Ser

1 5 10 15

Ser Gly Gly Gly Ser Gly

20

<210> 33

<211> 19

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Human IgG2 NH2

<400> 33

Glu Arg Lys Ser Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val

1 5 10 15

Ala Gly Pro

<210> 34

<211> 22

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Human IgG2 EH2

<400> 34

Glu Arg Lys Ser Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Gly Gly Gly Ser

1 5 10 15

Ser Gly Gly Gly Ser Gly

20

<210> 35

<211> 29

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> IgG3/IgG1 EH6

<400> 35

Glu Leu Lys Thr Pro Leu Gly Asp Thr Thr His Thr Cys Val Glu Cys

1 5 10 15

Pro Pro Cys Gly Gly Gly Ser Ser Gly Gly Gly Ser Gly

20

25

<210> 36

<211> 29

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> IgG3/IgG1 EH7

<400> 36

Glu Leu Lys Thr Pro Leu Gly Asp Thr Thr His Thr Cys Pro Pro Cys

1 5 10 15

Pro Pro Cys Gly Gly Gly Ser Ser Gly Gly Gly Ser Gly

20 25

<210> 37

<211> 32

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> IgG3/IgG1 EH8

<400> 37

Glu Leu Lys Thr Pro Leu Gly Asp Thr Thr His Thr Cys Pro Pro Cys

1 5 10 15

Pro Pro Cys Pro Pro Cys Gly Gly Gly Ser Ser Gly Gly Gly Ser Gly

20 25 30

<210> 38

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> IgG4 NH

<400> 38

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

1 5 10 15

Leu Gly Gly Pro

20

<210> 39

<211> 22

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> IgG4 EH

<400> 39

Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Gly Gly Gly Ser

1 5 10 15

Ser Gly Gly Gly Ser Gly

20

<210> 40

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Human IgG1 CH3 (G1m1 allotype)

<400> 40

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

1 5 10 15

Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe

20 25 30

Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu

35 40 45

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

50 55 60

Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly

65 70 75 80

Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr

85 90 95

Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

100 105

<210> 41

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Human IgG1 CH3 (nG1m1 allotype)

<400> 41

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

1 5 10 15

Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe

20 25 30

Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu

35 40 45

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

50 55 60

Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly

65 70 75 80

Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr

85 90 95

Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

100 105

<210> 42

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Human IgG2 CH3

<400> 42

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

1 5 10 15

Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe

20 25 30

Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu

35 40 45
 Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe
 50 55 60
 Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly
 65 70 75 80
 Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr
 85 90 95

Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

100 105

<210> 43

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Human IgG3 CH3

<400> 43

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

35 40 45
 Asn Asn Tyr Asn Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe
 50 55 60
 Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly
 65 70 75 80
 Asn Ile Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn Arg Phe
 85 90 95

Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

100 105

<210> 44

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Human IgG4 CH3

<400> 44

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

1 5 10 15

Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe

20 25 30

Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu

35 40 45

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

50 55 60

Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly

65 70 75 80

Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr

85 90 95

Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys

100 105

<210> 45

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Upper hinge

<400> 45

Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr

1 5 10

<210> 46

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Upper hinge

<400> 46

Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr

1 5 10

<210> 47

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Upper hinge

<400> 47

Glu Arg Lys

1

<210> 48

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Upper hinge

<400> 48

Glu Leu Lys Thr Pro Leu Gly Asp Thr Thr His Thr

1 5 10

<210> 49

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Upper hinge

<400> 49

Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro

1 5

<210> 50

<211> 4

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 50

Cys Pro Pro Cys

1

<210> 51

<211> 5

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 51

Cys Pro Pro Cys Pro

1 5

<210> 52

<211> 7

<212> PRT

<213>

Homo sapiens

<400> 52

Cys Pro Pro Cys Pro Pro Cys

1 5

<210> 53

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 53

Cys Pro Pro Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys

1 5 10

<210> 54

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 54

Cys Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Pro Cys

1 5 10

<210> 55

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 55

Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro

1 5

<210> 56

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 56

Ser Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro

1 5

<210> 57

<211> 7

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 57

Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys

1 5

<210> 58

<211> 8

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 58

Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro

1 5

<210> 59

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 59

Gly Gly Gly Ser Ser Gly Gly Gly Ser Gly

1 5 10

<210> 60

<211> 7

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 60

Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro

1 5

<210> 61

<211> 8

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 61

Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro

1 5

<210> 62

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Linker sequence

<400> 62

Gly Ser Thr Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly

1 5 10 15

Ser Ser

<210> 63

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Linker sequence

<400> 63

Gly Ser Thr Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser

1 5 10

<210> 64
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Linker sequence
 <400> 64
 Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
 1 5 10 15

<210> 65
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223>

> Linker sequence
 <400> 65
 Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
 1 5 10

<210> 66
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Linker sequence
 <400> 66
 Gly Gly Gly Gly Ser

1 5

<210> 67
 <211> 106
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> IAB1M (A11) variable light sequence
 <400> 67

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Arg Phe Ile
20 25 30

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

Asp Thr Ser Lys Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60

Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu
65 70 75 80

Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Gly Ser Ser Pro Phe Thr
85 90 95

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

<210> 68

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> IAB1M (A11) variable heavy sequence

<400> 68

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Tyr
20 25 30

Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ala Trp Ile Asp Pro Glu Asn Gly Asp Thr Glu Phe Val Pro Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Ala Thr Met Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

85

90

95

Lys Thr Gly Gly Phe Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

100

105

110

<210> 69

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Mouse Ig kappa light chain

<400> 69

Met Glu Thr Asp Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro

1

5

10

15

Gly Ser Thr Gly

20

<210> 70

<211> 18

<212>

> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Human Serum Albumin (HSA)

<400> 70

Met Lys Trp Val Thr Phe Ile Ser Leu Leu Phe Leu Phe Ser Ser Ala

1

5

10

15

Tyr Ser

<210> 71

<211> 19

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Human Azurocidin (HAZ)

<400> 71

Met Thr Arg Leu Thr Val Leu Ala Leu Leu Ala Gly Leu Leu Ala Ser
 1 5 10 15
 Ser Arg Ala

<210> 72

<211> 28

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Prolactin

<400> 72

Met Asp Ser Lys Gly Ser Ser Gln Lys Gly Ser Arg Leu Leu Leu Leu
 1 5 10 15
 Leu Trp Ser Asn Leu Leu Leu Cys Gln Gly Trp Ser
 20 25

<210> 73

<211> 58

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> LCMV-GPC

<400> 73

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

<210> 74

<211> 98

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> MMTV-Rem

<400> 74

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

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

65	70	75	80
Leu Thr Leu Phe Leu Ala Leu Leu Ser Val Leu Gly Pro Pro Pro Val			
85	90	95	
Thr Gly			

<210> 75

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> HCDR1 IAB22M (CD8)

<400> 75

Gly Phe Asn Ile Lys Asp Thr

1	5
---	---

<210> 76

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> HCDR2 IAB22M (CD8)

<400> 76

Asp Pro Ala Asn Asp Asn

1 5

<210> 77

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> HCDR3 IAB22M (CD8)

<400> 77

Gly Tyr Gly Tyr Tyr Val Phe Asp His

1 5

<210> 78

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> LCDR1 IAB22M (CD8)

<400> 78

Arg Thr Ser Arg Ser Ile Ser Gln Tyr Leu Ala

1 5 10

<210> 79

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> LCDR2 IAB22M (CD8)

<400>

> 79

Ser Gly Ser Thr Leu Gln Ser

1 5

<210> 80

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> LCDR3 IAB22M (CD8)

<400> 80

Gln Gln His Asn Glu Asn Pro Leu Thr

1 5

<210> 81

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> HCDR1 IAB2M (PSMA)

<400> 81

Gly Tyr Thr Phe Thr Glu Tyr

1 5

<210> 82

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> HCDR2 IAB2M (PSMA)

<400> 82

Asn Ile Asn Pro Asn Asn Gly Gly

1 5

<210> 83

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> HCDR3 IAB2M (PSMA)

<400> 83

Gly Trp Asn Phe Asp Tyr

1 5

<210> 84

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> LCDR1 IAB2M (PSMA)

<400> 84

Lys Ala Ser Gln Asp Val Gly Thr Ala Val Asp

1 5 10

<210> 85

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> LCDR2 IAB2M (PSMA)

<400> 85

Trp Ala Ser Thr Arg His Thr

1 5

<210> 86

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> LCDR3 IAB2M (PSMA)

<400> 86

Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Pro Leu Thr

1 5

<210> 87

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> HCDR1 IAB20M (5T4)

<400> 87

Gly Tyr Ser Phe Thr Gly Tyr

1 5

<210> 88

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> HCDR2 IAB20M (5T4)

<400> 88

Asn Pro Asn Asn Gly Val

1 5

<210> 89

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> HCDR3 IAB20M (5T4)

<400> 89

Ser Thr Met Ile Thr Asn Tyr Val Met Asp Tyr

1 5 10

<210> 90

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> LCDR1 IAB20M (5T4)

<400> 90

Lys Ala Ser Gln Ser Val Ser Asn Asp Val Ala

1 5 10

<210> 91

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> LCDR2 IAB20M (5T4)
 <400> 91
 Tyr Thr Ser Ser Arg Tyr Ala
 1 5
 <210> 92
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> LCDR3 IAB20M (5T4)
 <400> 92
 Gln Gln Asp Tyr Asn Ser Pro Pro Thr
 1 5
 <210> 93
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> HCDR1 IAB1M (PSCA)
 <400> 93
 Gly Phe Asn Ile Lys Asp Tyr
 1 5
 <
 210> 94
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> HCDR2 IAB1M (PSCA)
 <400> 94
 Asp Pro Glu Asn Gly Asp
 1 5
 <210> 95
 <211> 3
 <212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> HCDR3 IAB1M (PSCA)

<400> 95

Gly Gly Phe

1

<210> 96

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> LCDR1 IAB1M (PSCA)

<400> 96

Ser Ala Ser Ser Ser Val Arg Phe Ile His

1 5 10

<210> 97

<211> 7

<

212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> LCDR2 IAB1M (PSCA)

<400> 97

Asp Thr Ser Lys Leu Ala Ser

1 5

<210> 98

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> LCDR3 IAB1M (PSCA)

<400> 98

Gln Gln Trp Gly Ser Ser Pro Phe Thr

1 5

<210> 99

<211> 118

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> IAB22M variable heavy (VH-K67R) sequence

<400> 99

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	Asn
Ile	Lys	Asp	Thr
20	25	30	
Tyr	Ile	His	Phe
Val	Arg	Gln	Ala
Pro	Gly	Lys	Gly
Leu	Glu	Trp	Ile
35	40	45	
Gly	Arg	Ile	Asp
Pro	Ala	Asn	Asp
Asn	Thr	Leu	Tyr
Ala	Ser	Lys	Phe
50	55	60	
Gln	Gly	Arg	Ala
Thr	Ile	Ser	Ala
Asp	Thr	Ser	Lys
Asn	Thr	Ala	Tyr
65	70	75	80
Leu	Gln	Met	Asn
Ser	Leu	Arg	Ala
Glu	Asp	Thr	Ala
Val	Tyr	Tyr	Cys
85	90	95	
Gly	Arg	Gly	Tyr
Gly	Tyr	Tyr	Val
Phe	Asp	His	Trp
Gly	Gln	Gly	Thr
100	105	110	
Leu	Val	Thr	Val
Ser	Ser		
115			

<210> 100

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> IAB20M variable light (VL-Q79E, V83E)

<400> 100

Asp	Ile	Val	Met	Thr	Gln	Ser	Pro	Ala	Thr	Leu	Ser	Val	Ser	Pro	Gly
1	5	10	15												
Glu	Arg	Ala	Thr	Leu	Ser	Cys	Lys	Ala	Ser	Gln	Ser	Val	Ser	Asn	Asp

20 25 30
Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile
35 40 45
Ser Tyr Thr Ser Ser Arg Tyr Ala Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

<210> 101

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> IAB20M variable light (VL-A9D, T10S, S12A, P15L,
L21I, S22N)

<400

> 101

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

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

100 105

<210> 102

<211> 120

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> IAB20M variable heavy (VH-Q1E, Q6E)

<400> 102

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Gly Arg Ile Asn Pro Asn Asn Gly Val Thr Leu Tyr Asn Gln Lys Phe

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Ser Thr Met Ile Thr Asn Tyr Val Met Asp Tyr Trp Gly Gln

100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 103

<211> 106

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Anti-CD3 variable light (VL, R62S) sequence

<400> 103

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 Ser Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met
 20 25 30
 Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile Tyr
 35 40 45
 Asp Thr Ser Lys Leu Ala Ser Gly Val Pro Ala His Phe Ser Gly Ser
 50 55 60

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

<210> 104

<211> 119

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Anti-CD3 variable heavy (VH, Q1E, Q6E) sequence

<400> 104

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

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

65 70 75 80
 Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95

Ala Arg Tyr Tyr Asp Asp His Tyr Ser Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 105

<211> 394

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> IAB22M gamma 1 EH1(Minibody 1)

<400> 105

Met Glu Thr Asp Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro
1 5 10 15

Gly Ser Thr Gly Asp Val Gln Ile Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser
20 25 30

Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Thr Ser Arg Ser
35 40 45

Ile Ser Gln Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Val Pro
50 55 60

Lys Leu Leu Ile Tyr Ser Gly Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser
65 70 75 80

Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser
85 90 95

Ser Leu Gln Pro Glu Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln His Asn
100 105 110

Glu Asn Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Gly
115 120 125

Ser Thr Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
130 135 140

Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly
145 150 155 160

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

165 170 175
 Thr Tyr Ile His Phe Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
 180 185 190

Ile Gly Arg Ile Asp Pro Ala Asn Asp Asn Thr Leu Tyr Ala Ser Lys
 195 200 205

Phe Gln Gly Lys Ala Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala
 210 215 220

Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr
 225 230 235 240

Cys Gly Arg Gly Tyr Gly Tyr Tyr Val Phe Asp His Trp Gly Gln Gly
 245 250 255

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His
 260 265 270

Thr Cys Pro Pro Cys Gly Gly Gly Ser Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly
 275 280 285

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu
 290 295 300

Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
 305 310 315 320

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
 325 330 335

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
 340 345 350

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
 355 360 365

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
 370 375 380

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 385 390

<210> 106

<211> 396

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> IAB22M gamma 1 EH3(Minibody 1)

<400> 106

Met Glu Thr Asp Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

Lys Leu Leu Ile Tyr Ser Gly Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser

65 70 75 80

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

85 90 95

Ser Leu Gln Pro Glu Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln His Asn

100 105 110

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

115 120 125

Ser Thr Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

Ile Gly Arg Ile Asp Pro Ala Asn Asp Asn Thr Leu Tyr Ala Ser Lys

195 200 205

Phe Gln Gly Lys Ala Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala

210 215 220
Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr

225 230 235 240
Cys Gly Arg Gly Tyr Gly Tyr Tyr Val Phe Asp His Trp Gly Gln Gly

245 250 255
Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His

260 265 270
Thr Cys Pro Pro Cys Pro Pro Cys Gly Gly Gly Ser Ser Gly Gly Gly

275 280 285
Ser Gly Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser

290 295 300
Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys

305 310 315 320
Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln

325 330 335
Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly

340 345 350
Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln

355 360 365
Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn

370 375 380
His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly

385 390 395

<210> 107

<211> 399

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> IAB22M gamma 1 EH5(M1)

<400> 107

Met Glu Thr Asp Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro

1	5	10	15
Gly Ser Thr Gly Asp Val Gln Ile Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser			
	20	25	30
Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Thr Ser Arg Ser			
	35	40	45
Ile Ser Gln Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Val Pro			
	50	55	60
Lys Leu Leu Ile Tyr Ser Gly Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser			
65	70	75	80
Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser			
	85	90	95
Ser Leu Gln Pro Glu Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln His Asn			
	100	105	110
Glu Asn Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Gly			
	115	120	125
Ser Thr Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser			
	130	135	140
Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly			
145	150	155	160
Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp			
	165	170	175
Thr Tyr Ile His Phe Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp			
	180	185	190
Ile Gly Arg Ile Asp Pro Ala Asn Asp Asn Thr Leu Tyr Ala Ser Lys			
	195	200	205
Phe Gln Gly Lys Ala Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala			
	210	215	220
Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr			
225	230	235	240
Cys Gly Arg Gly Tyr Gly Tyr Tyr Val Phe Asp His Trp Gly Gln Gly			
	245	250	255

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His
260 265 270

Thr Cys Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Pro Cys Gly Gly Gly Ser Ser
275 280 285

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu
290 295 300

Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys
305 310 315 320

Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser
325 330 335

Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp
340 345 350

Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser
355 360 365

Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala
370 375 380

Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
385 390 395

<210> 108

<211> 398

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> IAB22M gamma 1 EH7(Minibody 1)

<400> 108

Met Glu Thr Asp Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro
1 5 10 15

Gly Ser Thr Gly Asp Val Gln Ile Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser
20 25 30

Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Thr Ser Arg Ser
35 40 45

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

 Glu Asn Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Gly
 115 120 125
 Ser Thr Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
 130 135 140
 Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly
 145 150 155 160
 Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp
 165 170 175

 Thr Tyr Ile His Phe Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
 180 185 190
 Ile Gly Arg Ile Asp Pro Ala Asn Asp Asn Thr Leu Tyr Ala Ser Lys
 195 200 205
 Phe Gln Gly Lys Ala Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala
 210 215 220
 Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr
 225 230 235 240

 Cys Gly Arg Gly Tyr Gly Tyr Tyr Val Phe Asp His Trp Gly Gln Gly
 245 250 255
 Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Glu Leu Lys Thr Pro Leu Gly Asp Thr
 260 265 270
 Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Pro Cys Gly Gly Gly Ser Ser Gly
 275 280 285
 Gly Gly Ser Gly Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro

290 295 300

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

305 310 315 320

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

325 330 335

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

340 345 350

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

355 360 365

Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu

370 375 380

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

385 390 395

<210> 109

<211> 401

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> IAB22M gamma 1 EH8(Minibody 1)

<400> 109

Met Glu Thr Asp Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

Lys Leu Leu Ile Tyr Ser Gly Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser

65 70 75 80

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

85	90	95	
Ser Leu Gln Pro Glu Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln His Asn			
100	105	110	
Glu Asn Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Gly			
115	120	125	
Ser Thr Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser			
130	135	140	
Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly			
145	150	155	160
Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp			
165	170	175	
Thr Tyr Ile His Phe Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp			
180	185	190	
Ile Gly Arg Ile Asp Pro Ala Asn Asp Asn Thr Leu Tyr Ala Ser Lys			
195	200	205	
Phe Gln Gly Lys Ala Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala			
210	215	220	
Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr			
225	230	235	240
Cys Gly Arg Gly Tyr Gly Tyr Tyr Val Phe Asp His Trp Gly Gln Gly			
245	250	255	
Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Glu Leu Lys Thr Pro Leu Gly Asp Thr			
260	265	270	
Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Pro Cys Gly Gly Gly			
275	280	285	
Ser Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr			
290	295	300	
Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu			
305	310	315	320
Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp			
325	330	335	

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

340 345 350
 Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
 355 360 365
 Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
 370 375 380
 Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
 385 390 395 400
 Gly

<210> 110

<211> 391

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> IAB22M gamma 2 EH2(Minibody 1)

<400> 110

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

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

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

115 120 125

Ser Thr Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

Ile Gly Arg Ile Asp Pro Ala Asn Asp Asn Thr Leu Tyr Ala Ser Lys

195 200 205

Phe Gln Gly Lys Ala Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala

210 215 220

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

225 230 235 240

Cys Gly Arg Gly Tyr Gly Tyr Tyr Val Phe Asp His Trp Gly Gln Gly

245 250 255

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Glu Arg Lys Ser Cys Val Glu Cys Pro

260 265 270

Pro Cys Pro Gly Gly Gly Ser Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gln Pro

275 280 285

Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr

290 295 300

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

305 310 315 320

Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr

325 330 335

Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr

340 345 350

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

355 360 365
Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys

370 375 380

Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly

385 390

<210> 111

<211> 391

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> IAB22M gamma 2 EH2(Minibody 1)(VH-K67R)

<400> 111

Met Glu Thr Asp Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

Lys Leu Leu Ile Tyr Ser Gly Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser

65 70 75 80

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

85 90 95

Ser Leu Gln Pro Glu Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln His Asn

100 105 110

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

115 120 125

Ser Thr Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser

130 135 140

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

145				150				155				160			
Gly	Ser	Leu	Arg	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Phe	Asn	Ile	Lys	Asp
165				170				175							
Thr	Tyr	Ile	His	Phe	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp
180				185				190							
Ile	Gly	Arg	Ile	Asp	Pro	Ala	Asn	Asp	Asn	Thr	Leu	Tyr	Ala	Ser	Lys
195				200				205							
Phe	Gln	Gly	Arg	Ala	Thr	Ile	Ser	Ala	Asp	Thr	Ser	Lys	Asn	Thr	Ala
210				215				220							
Tyr	Leu	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Arg	Ala	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr
225				230				235				240			
Cys	Gly	Arg	Gly	Tyr	Gly	Tyr	Tyr	Val	Phe	Asp	His	Trp	Gly	Gln	Gly
245				250				255							
Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Glu	Arg	Lys	Ser	Cys	Val	Glu	Cys	Pro
260				265				270							
Pro	Cys	Pro	Gly	Gly	Gly	Ser	Ser	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gln	Pro
275				280				285							
Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Glu	Glu	Met	Thr
290				295				300							
Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser
305				310				315				320			
Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr
325				330				335							
Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Met	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr
340				345				350							
Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe
355				360				365							
Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys
370				375				380							
Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly									
385				390											

<210> 112

<211> 391

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> IAB2M gamma 1 EH1(Minibody 2)

<400> 112

Met Glu Thr Asp Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro

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

20 25 30
Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Thr Ser Gly Tyr Thr

35 40 45
Phe Thr Glu Tyr Thr Ile His Trp Val Lys Gln Ala Ser Gly Lys Gly

50 55 60
Leu Glu Trp Ile Gly Asn Ile Asn Pro Asn Asn Gly Gly Thr Thr Tyr

65 70 75 80
Asn Gln Lys Phe Glu Asp Arg Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Thr

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

100 105 110
Val Tyr Tyr Cys Ala Ala Gly Trp Asn Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly

115 120 125
Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Gly Ser Thr Ser Gly Gly Gly Ser Gly

130 135 140
Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ser Asp Ile Val Met Thr Gln Ser

145 150 155 160
Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys

165 170 175
Lys Ala Ser Gln Asp Val Gly Thr Ala Val Asp Trp Tyr Gln Gln Lys

180 185 190

Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg His

195 200 205
 Thr Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe
 210 215 220
 Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Asp Tyr Phe
 225 230 235 240
 Cys Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys
 245 250 255
 Leu Glu Ile Lys Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro

260 265 270
 Pro Cys Gly Gly Gly Ser Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gln Pro Arg
 275 280 285
 Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys
 290 295 300
 Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
 305 310 315 320
 Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys

325 330 335
 Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
 340 345 350
 Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser
 355 360 365
 Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
 370 375 380
 Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 385 390

<210> 113

<211> 393

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> IAB2M gamma 1 EH3(Minibody 2)

<400> 113

Met Glu Thr Asp Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Phe Thr Glu Tyr Thr Ile His Trp Val Lys Gln Ala Ser Gly Lys Gly

50 55 60

Leu Glu Trp Ile Gly Asn Ile Asn Pro Asn Asn Gly Gly Thr Thr Tyr

65 70 75 80

Asn Gln Lys Phe Glu Asp Arg Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Thr

85 90 95

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

100 105 110

Val Tyr Tyr Cys Ala Ala Gly Trp Asn Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys

165 170 175

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

180 185 190

Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg His

195 200 205

Thr Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe

210 215 220

Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Asp Tyr Phe

225 230 235 240

 Cys Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys
 245 250 255
 Leu Glu Ile Lys Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro
 260 265 270
 Pro Cys Pro Pro Cys Gly Gly Gly Ser Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly
 275 280 285
 Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
 290 295 300

 Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
 305 310 315 320
 Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
 325 330 335
 Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
 340 345 350
 Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
 355 360 365

 Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
 370 375 380
 Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 385 390
 <210> 114
 <211> 393
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> IAB2M gamma 1 EH3 (Minibody 2)
 <400> 114
 Met Glu Thr Asp Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro
 1 5 10 15
 Gly Ser Thr Gly Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys

20	25	30	
Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Thr Ser Gly Tyr Thr			
35	40	45	
Phe Thr Glu Tyr Thr Ile His Trp Val Lys Gln Ala Ser Gly Lys Gly			
50	55	60	
Leu Glu Trp Ile Gly Asn Ile Asn Pro Asn Asn Gly Gly Thr Thr Tyr			
65	70	75	80
Asn Gln Lys Phe Glu Asp Arg Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Thr			
85	90	95	
Ser Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala			
100	105	110	
Val Tyr Tyr Cys Ala Ala Gly Trp Asn Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly			
115	120	125	
Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Gly Ser Thr Ser Gly Gly Gly Ser Gly			
130	135	140	
Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ser Asp Ile Val Met Thr Gln Ser			
145	150	155	160
Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys			
165	170	175	
Lys Ala Ser Gln Asp Val Gly Thr Ala Val Asp Trp Tyr Gln Gln Lys			
180	185	190	
Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg His			
195	200	205	
Thr Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe			
210	215	220	
Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Asp Tyr Phe			
225	230	235	240
Cys Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys			
245	250	255	
Leu Glu Ile Lys Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro			
260	265	270	

Pro Cys Pro Pro Cys Gly Gly Gly Ser Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly

275 280 285
Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu
290 295 300
Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
305 310 315 320
Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
325 330 335
Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe

340 345 350
Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
355 360 365
Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
370 375 380

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly

385 390

<210> 115

<211> 396

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> IAB2M gamma 1 EH5(Minibody 2)

<400> 115

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

Leu Glu Trp Ile Gly Asn Ile Asn Pro Asn Asn Gly Gly Thr Thr Tyr
 65 70 75 80
 Asn Gln Lys Phe Glu Asp Arg Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Thr
 85 90 95
 Ser Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala
 100 105 110
 Val Tyr Tyr Cys Ala Ala Gly Trp Asn Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
 115 120 125

 Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Gly Ser Thr Ser Gly Gly Gly Ser Gly
 130 135 140
 Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ser Asp Ile Val Met Thr Gln Ser
 145 150 155 160
 Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys
 165 170 175
 Lys Ala Ser Gln Asp Val Gly Thr Ala Val Asp Trp Tyr Gln Gln Lys
 180 185 190

 Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg His
 195 200 205
 Thr Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe
 210 215 220
 Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Asp Tyr Phe
 225 230 235 240
 Cys Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys
 245 250 255

 Leu Glu Ile Lys Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro
 260 265 270
 Pro Cys Pro Pro Cys Pro Pro Cys Gly Gly Gly Ser Ser Gly Gly Gly
 275 280 285
 Ser Gly Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser
 290 295 300
 Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys

305	310										315					320				
Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln					
325					330					335										
Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly					
340					345					350										
Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln					
355					360					365										
Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn					
370					375					380										
His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly									
385					390					395										
<210> 116																				
<211> 395																				
<212> PRT																				
<213> Artificial Sequence																				
<220>																				
<223> IAB2M gamma 1 EH7(Minibody 2)																				
<400> 116																				
Met	Glu	Thr	Asp	Thr	Leu	Leu	Leu	Trp	Val	Leu	Leu	Leu	Trp	Val	Pro					
1				5				10				15								
Gly	Ser	Thr	Gly	Glu	Val	Gln	Leu	Val	Gln	Ser	Gly	Ala	Glu	Val	Lys					
20					25					30										
Lys	Pro	Gly	Ala	Ser	Val	Lys	Ile	Ser	Cys	Lys	Thr	Ser	Gly	Tyr	Thr					
35					40					45										
Phe	Thr	Glu	Tyr	Thr	Ile	His	Trp	Val	Lys	Gln	Ala	Ser	Gly	Lys	Gly					
50				55				60												
Leu	Glu	Trp	Ile	Gly	Asn	Ile	Asn	Pro	Asn	Asn	Gly	Gly	Thr	Thr	Tyr					
65					70					75					80					
Asn	Gln	Lys	Phe	Glu	Asp	Arg	Ala	Thr	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Thr					
85					90					95										
Ser	Thr	Ala	Tyr	Met	Glu	Leu	Ser	Ser	Leu	Arg	Ser	Glu	Asp	Thr	Ala					

100	105	110	
Val Tyr Tyr Cys Ala Ala Gly Trp Asn Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly			
115	120	125	
Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Gly Ser Thr Ser Gly Gly Gly Ser Gly			
130	135	140	
Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ser Asp Ile Val Met Thr Gln Ser			
145	150	155	160
Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys			
165	170	175	
Lys Ala Ser Gln Asp Val Gly Thr Ala Val Asp Trp Tyr Gln Gln Lys			
180	185	190	
Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg His			
195	200	205	
Thr Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe			
210	215	220	
Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Asp Tyr Phe			
225	230	235	240
Cys Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys			
245	250	255	
Leu Glu Ile Lys Glu Leu Lys Thr Pro Leu Gly Asp Thr Thr His Thr			
260	265	270	
Cys Pro Pro Cys Pro Pro Cys Gly Gly Gly Ser Ser Gly Gly Gly Ser			
275	280	285	
Gly Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg			
290	295	300	
Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly			
305	310	315	320
Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro			
325	330	335	
Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser			
340	345	350	

Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln

355 360 365
Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His

370 375 380
Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly

385 390 395

<210> 117

<211> 398

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> IAB2M gamma 1 EH8(Minibody 2)

<400> 117

Met Glu Thr Asp Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro
1 5 10 15

Gly Ser Thr Gly Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys
20 25 30

Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Thr Ser Gly Tyr Thr
35 40 45

Phe Thr Glu Tyr Thr Ile His Trp Val Lys Gln Ala Ser Gly Lys Gly
50 55 60

Leu Glu Trp Ile Gly Asn Ile Asn Pro Asn Asn Gly Gly Thr Thr Tyr
65 70 75 80

Asn Gln Lys Phe Glu Asp Arg Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Thr
85 90 95

Ser Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala
100 105 110

Val Tyr Tyr Cys Ala Ala Gly Trp Asn Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
115 120 125

Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Gly Ser Thr Ser Gly Gly Gly Ser Gly
130 135 140

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ser Asp Ile Val Met Thr Gln Ser
 145 150 155 160
 Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys
 165 170 175
 Lys Ala Ser Gln Asp Val Gly Thr Ala Val Asp Trp Tyr Gln Gln Lys
 180 185 190
 Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg His
 195 200 205

 Thr Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe
 210 215 220
 Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Asp Tyr Phe
 225 230 235 240
 Cys Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys
 245 250 255
 Leu Glu Ile Lys Glu Leu Lys Thr Pro Leu Gly Asp Thr Thr His Thr
 260 265 270

 Cys Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Pro Cys Gly Gly Gly Ser Ser Gly
 275 280 285
 Gly Gly Ser Gly Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro
 290 295 300
 Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu
 305 310 315 320
 Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn
 325 330 335

 Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser
 340 345 350
 Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
 355 360 365
 Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu
 370 375 380
 His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly

385	390	395													
<210> 118															
<211> 393															
<212> PRT															
<213> Artificial Sequence															
<220>															
<223> IAB2M gamma 1 EH3(Minibody 1)															
<400> 118															
Met	Glu	Thr	Asp	Thr	Leu	Leu	Leu	Trp	Val	Leu	Leu	Leu	Trp	Val	Pro
1				5					10					15	
Gly	Ser	Thr	Gly	Asp	Ile	Val	Met	Thr	Gln	Ser	Pro	Ser	Ser	Leu	Ser
			20						25				30		
Ala	Ser	Val	Gly	Asp	Arg	Val	Thr	Ile	Thr	Cys	Lys	Ala	Ser	Gln	Asp
		35						40				45			
Val	Gly	Thr	Ala	Val	Asp	Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Lys	Ala	Pro
	50					55					60				
Lys	Leu	Leu	Ile	Tyr	Trp	Ala	Ser	Thr	Arg	His	Thr	Gly	Val	Pro	Asp
65					70					75				80	
Arg	Phe	Thr	Gly	Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	Phe	Thr	Leu	Thr	Ile	Ser
			85						90				95		
Ser	Leu	Gln	Pro	Glu	Asp	Phe	Ala	Asp	Tyr	Phe	Cys	Gln	Gln	Tyr	Asn
		100						105				110			
Ser	Tyr	Pro	Leu	Thr	Phe	Gly	Gly	Gly	Thr	Lys	Leu	Glu	Ile	Lys	Gly
	115						120				125				
Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser
	130					135				140					
Ser	Glu	Val	Gln	Leu	Val	Gln	Ser	Gly	Ala	Glu	Val	Lys	Lys	Pro	Gly
145				150					155					160	
Ala	Ser	Val	Lys	Ile	Ser	Cys	Lys	Thr	Ser	Gly	Tyr	Thr	Phe	Thr	Glu
			165					170				175			
Tyr	Thr	Ile	His	Trp	Val	Lys	Gln	Ala	Ser	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp

180 185 190
Ile Gly Asn Ile Asn Pro Asn Asn Gly Gly Thr Thr Tyr Asn Gln Lys
195 200 205
Phe Glu Asp Arg Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala
210 215 220
Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr
225 230 235 240

Cys Ala Ala Gly Trp Asn Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val
245 250 255
Thr Val Ser Ser Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro
260 265 270
Pro Cys Pro Pro Cys Gly Gly Gly Ser Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly
275 280 285
Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
290 295 300

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
305 310 315 320
Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
325 330 335
Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
340 345 350
Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
355 360 365

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
370 375 380
Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
385 390

<210> 119

<211> 396

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> IAB20M gamma 1 EH1 (Minibody 2)

<400> 119

Met Glu Thr Asp Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro

1 5 10 15

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

20 25 30

Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser

35 40 45

Phe Thr Gly Tyr Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly

50 55 60

Leu Glu Trp Ile Gly Arg Ile Asn Pro Asn Asn Gly Val Thr Leu Tyr

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Ser Thr Met Ile Thr Asn Tyr Val Met Asp

115 120 125

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

130 135 140

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ser Asp Ile

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

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

225 230 235 240
 Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Asp Tyr Asn Ser Pro Pro Thr Phe
 245 250 255
 Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
 260 265 270
 Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Gly Gly Gly Ser Ser Gly Gly Gly Ser

 275 280 285
 Gly Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg
 290 295 300
 Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly
 305 310 315 320
 Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro
 325 330 335
 Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser

 340 345 350
 Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln
 355 360 365
 Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His
 370 375 380
 Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 385 390 395
 <210> 120
 <211> 398
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> IAB20M gamma 1 EH3 (Minibody 2)

 <400> 120
 Met Glu Thr Asp Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro
 1 5 10 15
 Gly Ser Thr Gly Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Ala Glu Val Lys
 20 25 30

Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser
 35 40 45
 Phe Thr Gly Tyr Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly
 50 55 60

 Leu Glu Trp Ile Gly Arg Ile Asn Pro Asn Asn Gly Val Thr Leu Tyr
 65 70 75 80
 Asn Gln Lys Phe Lys Asp Arg Val Thr Met Thr Val Asp Thr Ser Ile
 85 90 95
 Ser Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala
 100 105 110
 Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Ser Thr Met Ile Thr Asn Tyr Val Met Asp
 115 120 125

 Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Ser Thr Ser
 130 135 140
 Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ser Asp Ile
 145 150 155 160
 Val Met Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Val Ser Pro Gly Glu Arg
 165 170 175
 Ala Thr Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gln Ser Val Ser Asn Asp Val Ala
 180 185 190

 Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile Ser Tyr
 195 200 205
 Thr Ser Ser Arg Tyr Ala Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly
 210 215 220
 Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Ala Glu Asp
 225 230 235 240
 Glu Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Asp Tyr Asn Ser Pro Pro Thr Phe
 245 250 255

 Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys
 260 265 270
 Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Pro Cys Gly Gly Gly Ser Ser Gly

275 280 285
 Gly Gly Ser Gly Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro
 290 295 300
 Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu
 305 310 315 320

Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn
 325 330 335
 Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser
 340 345 350
 Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
 355 360 365
 Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu
 370 375 380

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

385 390 395

<210> 121

<211> 398

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> IAB20M gamma 1 EH3(Minibody 2)

<400> 121

Met Glu Thr Asp Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro
 1 5 10 15
 Gly Ser Thr Gly Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys
 20 25 30
 Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser

35 40 45
 Phe Thr Gly Tyr Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly
 50 55 60
 Leu Glu Trp Ile Gly Arg Ile Asn Pro Asn Asn Gly Val Thr Leu Tyr
 65 70 75 80

Asn Gln Lys Phe Lys Asp Arg Val Thr Met Thr Val Asp Thr Ser Ile
 85 90 95
 Ser Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala
 100 105 110
 Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Ser Thr Met Ile Thr Asn Tyr Val Met Asp
 115 120 125
 Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Ser Thr Ser
 130 135 140
 Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ser Asp Ile
 145 150 155 160
 Val Met Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Val Ser Pro Gly Glu Arg
 165 170 175
 Ala Thr Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gln Ser Val Ser Asn Asp Val Ala
 180 185 190
 Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile Ser Tyr
 195 200 205
 Thr Ser Ser Arg Tyr Ala Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly
 210 215 220
 Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp
 225 230 235 240
 Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Asp Tyr Asn Ser Pro Pro Thr Phe
 245 250 255
 Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys
 260 265 270
 Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Pro Cys Gly Gly Gly Ser Ser Gly
 275 280 285
 Gly Gly Ser Gly Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro
 290 295 300
 Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu
 305 310 315 320
 Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn

325 330 335
 Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser
 340 345 350
 Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg

355 360 365
 Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu
 370 375 380
 His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly

385 390 395

<210> 122

<211> 398

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> IAB20M gamma 1 EH3(Minibody 2)

<400> 122

Met Glu Thr Asp Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro
 1 5 10 15

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

20 25 30

Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser

35 40 45

Phe Thr Gly Tyr Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly

50 55 60

Leu Glu Trp Ile Gly Arg Ile Asn Pro Asn Asn Gly Val Thr Leu Tyr

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Ser Thr Met Ile Thr Asn Tyr Val Met Asp

115 120 125

Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Ser Thr Ser
130 135 140

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ser Asp Ile
145 150 155 160

Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly Glu Arg
165 170 175

Ala Thr Ile Asn Cys Lys Ala Ser Gln Ser Val Ser Asn Asp Val Ala
180 185 190

Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile Ser Tyr
195 200 205

Thr Ser Ser Arg Tyr Ala Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly
210 215 220

Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp
225 230 235 240

Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Asp Tyr Asn Ser Pro Pro Thr Phe
245 250 255

Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys
260 265 270

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Pro Cys Gly Gly Gly Ser Ser Gly
275 280 285

Gly Gly Ser Gly Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro
290 295 300

Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu
305 310 315 320

Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn
325 330 335

Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser
340 345 350

Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
355 360 365

Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu

370 375 380
 His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 385 390 395

 <210> 123
 <211> 401
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> IAB20M gamma 1 EH5(Minibody 2)
 <400> 123
 Met Glu Thr Asp Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro
 1 5 10 15
 Gly Ser Thr Gly Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Ala Glu Val Lys
 20 25 30
 Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser
 35 40 45

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

 Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Ser Thr Met Ile Thr Asn Tyr Val Met Asp
 115 120 125
 Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Ser Thr Ser
 130 135 140
 Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ser Asp Ile
 145 150 155 160
 Val Met Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Val Ser Pro Gly Glu Arg

165	170	175
Ala Thr Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gln Ser Val Ser Asn Asp Val Ala		
180	185	190
Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile Ser Tyr		
195	200	205
Thr Ser Ser Arg Tyr Ala Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly		
210	215	220
Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Ala Glu Asp		
225	230	235
		240
Glu Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Asp Tyr Asn Ser Pro Pro Thr Phe		
245	250	255
Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys		
260	265	270
Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Pro Cys Gly Gly Gly		
275	280	285
Ser Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr		
290	295	300
Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu		
305	310	315
Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp		
325	330	335
Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val		
340	345	350
Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp		
355	360	365
Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His		
370	375	380
Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro		
385	390	395
		400
Gly		

<210> 124

<211> 401

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> IAB20M gamma 1 EH5(Minibody 2)

<400> 124

Met Glu Thr Asp Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro

1 5 10 15

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

20 25 30

Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser

35 40 45

Phe Thr Gly Tyr Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly

50 55 60

Leu Glu Trp Ile Gly Arg Ile Asn Pro Asn Asn Gly Val Thr Leu Tyr

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Ser Thr Met Ile Thr Asn Tyr Val Met Asp

115 120 125

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

130 135 140

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ser Asp Ile

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195	200	205
Thr Ser Ser Arg Tyr Ala Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly		
210	215	220
Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp		
225	230	235
Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Asp Tyr Asn Ser Pro Pro Thr Phe		
245	250	255
Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys		
260	265	270
Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Pro Cys Gly Gly Gly		
275	280	285
Ser Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr		
290	295	300
Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu		
305	310	315
Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp		
325	330	335
Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val		
340	345	350
Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp		
355	360	365
Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His		
370	375	380
Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro		
385	390	395
		400

Gly

<210> 125

<211> 387

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> IAB1M gamma 1 EH1(Minibody 1)

<400> 125

Met Glu Thr Asp Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Val Arg Phe Ile His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Gly Ser

100 105 110

Ser Pro Phe Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Gly Ser

115 120 125

Thr Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ser

130 135 140

Glu Val Gln Leu Val Glu Tyr Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

145 150 155 160

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Tyr

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

Gln Gly Arg Ala Thr Met Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala Tyr

210 215 220

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

225 230 235 240

 Lys Thr Gly Gly Phe Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 245 250 255
 Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Gly Gly
 260 265 270
 Gly Ser Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
 275 280 285
 Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
 290 295 300

 Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
 305 310 315 320
 Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
 325 330 335
 Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
 340 345 350
 Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
 355 360 365

 His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
 370 375 380
 Pro Gly Lys
 385
 <210> 126
 <211> 389
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> IAB1M gamma 1 EH3(Minibody 1)
 <400> 126
 Met Glu Thr Asp Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro
 1 5 10 15
 Gly Ser Thr Gly Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser

20	25	30	
Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser			
35	40	45	
Val Arg Phe Ile His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys			
50	55	60	
Arg Leu Ile Tyr Asp Thr Ser Lys Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg			
65	70	75	80
Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser			
85	90	95	
Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Gly Ser			
100	105	110	
Ser Pro Phe Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Gly Ser			
115	120	125	
Thr Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ser			
130	135	140	
Glu Val Gln Leu Val Glu Tyr Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly			
145	150	155	160
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Tyr			
165	170	175	
Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val			
180	185	190	
Ala Trp Ile Asp Pro Glu Asn Gly Asp Thr Glu Phe Val Pro Lys Phe			
195	200	205	
Gln Gly Arg Ala Thr Met Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala Tyr			
210	215	220	
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys			
225	230	235	240
Lys Thr Gly Gly Phe Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser			
245	250	255	
Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Pro			
260	265	270	

Cys Gly Gly Gly Ser Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gln Pro Arg Glu
275 280 285

Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn
290 295 300

Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile
305 310 315 320

Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr
325 330 335

Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys
340 345 350

Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys
355 360 365

Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
370 375 380

Ser Leu Ser Pro Gly

385

<210> 127

<211> 384

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> IAB1M gamma 1 EH2(Minibody 1)

<400> 127

Met Glu Thr Asp Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro
1 5 10 15

Gly Ser Thr Gly Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser
20 25 30

Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser
35 40 45

Val Arg Phe Ile His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys
50 55 60

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

65	70	75	80
Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser			
	85	90	95
Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Gly Ser			
	100	105	110
Ser Pro Phe Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Gly Ser			
	115	120	125
Thr Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ser			
	130	135	140
Glu Val Gln Leu Val Glu Tyr Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly			
	145	150	155
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Tyr			
	165	170	175
Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val			
	180	185	190
Ala Trp Ile Asp Pro Glu Asn Gly Asp Thr Glu Phe Val Pro Lys Phe			
	195	200	205
Gln Gly Arg Ala Thr Met Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala Tyr			
	210	215	220
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys			
	225	230	235
Lys Thr Gly Gly Phe Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser			
	245	250	255
Glu Arg Lys Ser Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Gly Gly Gly Ser			
	260	265	270
Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr			
	275	280	285
Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr			
	290	295	300
Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu			
	305	310	315
			320

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu
325 330 335

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
340 345 350

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
355 360 365

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
370 375 380

<210> 128

<211> 392

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> IAB1M gamma 1 EH5(Minibody 1)

<400

> 128

Met Glu Thr Asp Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro
1 5 10 15

Gly Ser Thr Gly Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser
20 25 30

Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser
35 40 45

Val Arg Phe Ile His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys
50 55 60

Arg Leu Ile Tyr Asp Thr Ser Lys Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg
65 70 75 80

Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser
85 90 95

Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Gly Ser
100 105 110

Ser Pro Phe Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Gly Ser
115 120 125

Thr Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ser
 130 135 140
 Glu Val Gln Leu Val Glu Tyr Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 145 150 155 160
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Tyr
 165 170 175
 Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 180 185 190

 Ala Trp Ile Asp Pro Glu Asn Gly Asp Thr Glu Phe Val Pro Lys Phe
 195 200 205
 Gln Gly Arg Ala Thr Met Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala Tyr
 210 215 220
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 225 230 235 240
 Lys Thr Gly Gly Phe Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 245 250 255

 Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Pro
 260 265 270
 Cys Pro Pro Cys Gly Gly Gly Ser Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gln
 275 280 285
 Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met
 290 295 300
 Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
 305 310 315 320

 Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
 325 330 335
 Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
 340 345 350
 Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val
 355 360 365
 Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln

370

375

380

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly

385

390

<210> 129

<211> 391

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> IAB1M gamma 1 EH7(Minibody 1)

<400> 129

Met Glu Thr Asp Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro

1

5

10

15

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

20

25

30

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

35

40

45

Val Arg Phe Ile His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys

50

55

60

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

65

70

75

80

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

85

90

95

Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Gly Ser

100

105

110

Ser Pro Phe Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Gly Ser

115

120

125

Thr Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ser

130

135

140

Glu Val Gln Leu Val Glu Tyr Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

145

150

155

160

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Tyr

165 170 175
 Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 180 185 190
 Ala Trp Ile Asp Pro Glu Asn Gly Asp Thr Glu Phe Val Pro Lys Phe
 195 200 205
 Gln Gly Arg Ala Thr Met Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala Tyr
 210 215 220
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

 225 230 235 240
 Lys Thr Gly Gly Phe Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 245 250 255
 Glu Leu Lys Thr Pro Leu Gly Asp Thr Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
 260 265 270
 Pro Pro Cys Gly Gly Gly Ser Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gln Pro
 275 280 285
 Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr

 290 295 300
 Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser
 305 310 315 320
 Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr
 325 330 335
 Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr
 340 345 350
 Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe

 355 360 365
 Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys
 370 375 380
 Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 385 390
 <210> 130
 <211> 394
 <212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> IAB1M gamma 1 EH8(Minibody 1)

<400> 130

Met Glu Thr Asp Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Val Arg Phe Ile His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Gly Ser

100 105 110

Ser Pro Phe Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Gly Ser

115 120 125

Thr Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ser

130 135 140

Glu Val Gln Leu Val Glu Tyr Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

145 150 155 160

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Tyr

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

Gln Gly Arg Ala Thr Met Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala Tyr

210 215 220
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 225 230 235 240
 Lys Thr Gly Gly Phe Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 245 250 255
 Glu Leu Lys Thr Pro Leu Gly Asp Thr Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
 260 265 270

 Pro Pro Cys Pro Pro Cys Gly Gly Gly Ser Ser Gly Gly Gly Ser Gly
 275 280 285
 Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu
 290 295 300
 Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe
 305 310 315 320
 Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu
 325 330 335

 Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe
 340 345 350
 Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly
 355 360 365
 Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr
 370 375 380
 Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 385 390
 <210> 131
 <211> 750
 <212>
 PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 131
 Met Trp Asn Leu Leu His Glu Thr Asp Ser Ala Val Ala Thr Ala Arg
 1 5 10 15
 Arg Pro Arg Trp Leu Cys Ala Gly Ala Leu Val Leu Ala Gly Gly Phe
 20 25 30

Phe Leu Leu Gly Phe Leu Phe Gly Trp Phe Ile Lys Ser Ser Asn Glu
 35 40 45
 Ala Thr Asn Ile Thr Pro Lys His Asn Met Lys Ala Phe Leu Asp Glu
 50 55 60

 Leu Lys Ala Glu Asn Ile Lys Lys Phe Leu Tyr Asn Phe Thr Gln Ile
 65 70 75 80
 Pro His Leu Ala Gly Thr Glu Gln Asn Phe Gln Leu Ala Lys Gln Ile
 85 90 95
 Gln Ser Gln Trp Lys Glu Phe Gly Leu Asp Ser Val Glu Leu Ala His
 100 105 110
 Tyr Asp Val Leu Leu Ser Tyr Pro Asn Lys Thr His Pro Asn Tyr Ile
 115 120 125

 Ser Ile Ile Asn Glu Asp Gly Asn Glu Ile Phe Asn Thr Ser Leu Phe
 130 135 140
 Glu Pro Pro Pro Pro Gly Tyr Glu Asn Val Ser Asp Ile Val Pro Pro
 145 150 155 160
 Phe Ser Ala Phe Ser Pro Gln Gly Met Pro Glu Gly Asp Leu Val Tyr
 165 170 175
 Val Asn Tyr Ala Arg Thr Glu Asp Phe Phe Lys Leu Glu Arg Asp Met
 180 185 190

 Lys Ile Asn Cys Ser Gly Lys Ile Val Ile Ala Arg Tyr Gly Lys Val
 195 200 205
 Phe Arg Gly Asn Lys Val Lys Asn Ala Gln Leu Ala Gly Ala Lys Gly
 210 215 220
 Val Ile Leu Tyr Ser Asp Pro Ala Asp Tyr Phe Ala Pro Gly Val Lys
 225 230 235 240
 Ser Tyr Pro Asp Gly Trp Asn Leu Pro Gly Gly Gly Val Gln Arg Gly
 245 250 255

 Asn Ile Leu Asn Leu Asn Gly Ala Gly Asp Pro Leu Thr Pro Gly Tyr
 260 265 270
 Pro Ala Asn Glu Tyr Ala Tyr Arg Arg Gly Ile Ala Glu Ala Val Gly

275	280	285	
Leu Pro Ser Ile Pro Val His Pro Ile Gly Tyr Tyr Asp Ala Gln Lys			
290	295	300	
Leu Leu Glu Lys Met Gly Gly Ser Ala Pro Pro Asp Ser Ser Trp Arg			
305	310	315	320
Gly Ser Leu Lys Val Pro Tyr Asn Val Gly Pro Gly Phe Thr Gly Asn			
325	330	335	
Phe Ser Thr Gln Lys Val Lys Met His Ile His Ser Thr Asn Glu Val			
340	345	350	
Thr Arg Ile Tyr Asn Val Ile Gly Thr Leu Arg Gly Ala Val Glu Pro			
355	360	365	
Asp Arg Tyr Val Ile Leu Gly Gly His Arg Asp Ser Trp Val Phe Gly			
370	375	380	
Gly Ile Asp Pro Gln Ser Gly Ala Ala Val Val His Glu Ile Val Arg			
385	390	395	400
Ser Phe Gly Thr Leu Lys Lys Glu Gly Trp Arg Pro Arg Arg Thr Ile			
405	410	415	
Leu Phe Ala Ser Trp Asp Ala Glu Glu Phe Gly Leu Leu Gly Ser Thr			
420	425	430	
Glu Trp Ala Glu Glu Asn Ser Arg Leu Leu Gln Glu Arg Gly Val Ala			
435	440	445	
Tyr Ile Asn Ala Asp Ser Ser Ile Glu Gly Asn Tyr Thr Leu Arg Val			
450	455	460	
Asp Cys Thr Pro Leu Met Tyr Ser Leu Val His Asn Leu Thr Lys Glu			
465	470	475	480
Leu Lys Ser Pro Asp Glu Gly Phe Glu Gly Lys Ser Leu Tyr Glu Ser			
485	490	495	
Trp Thr Lys Lys Ser Pro Ser Pro Glu Phe Ser Gly Met Pro Arg Ile			
500	505	510	
Ser Lys Leu Gly Ser Gly Asn Asp Phe Glu Val Phe Phe Gln Arg Leu			
515	520	525	

Gly Ile Ala Ser Gly Arg Ala Arg Tyr Thr Lys Asn Trp Glu Thr Asn
530 535 540
Lys Phe Ser Gly Tyr Pro Leu Tyr His Ser Val Tyr Glu Thr Tyr Glu
545 550 555 560
Leu Val Glu Lys Phe Tyr Asp Pro Met Phe Lys Tyr His Leu Thr Val
565 570 575
Ala Gln Val Arg Gly Gly Met Val Phe Glu Leu Ala Asn Ser Ile Val
580 585 590
Leu Pro Phe Asp Cys Arg Asp Tyr Ala Val Val Leu Arg Lys Tyr Ala
595 600 605
Asp Lys Ile Tyr Ser Ile Ser Met Lys His Pro Gln Glu Met Lys Thr
610 615 620
Tyr Ser Val Ser Phe Asp Ser Leu Phe Ser Ala Val Lys Asn Phe Thr
625 630 635 640
Glu Ile Ala Ser Lys Phe Ser Glu Arg Leu Gln Asp Phe Asp Lys Ser
645 650 655
Asn Pro Ile Val Leu Arg Met Met Asn Asp Gln Leu Met Phe Leu Glu
660 665 670
Arg Ala Phe Ile Asp Pro Leu Gly Leu Pro Asp Arg Pro Phe Tyr Arg
675 680 685
His Val Ile Tyr Ala Pro Ser Ser His Asn Lys Tyr Ala Gly Glu Ser
690 695 700
Phe Pro Gly Ile Tyr Asp Ala Leu Phe Asp Ile Glu Ser Lys Val Asp
705 710 715 720
Pro Ser Lys Ala Trp Gly Glu Val Lys Arg Gln Ile Tyr Val Ala Ala
725 730 735
Phe Thr Val Gln Ala Ala Ala Glu Thr Leu Ser Glu Val Ala
740 745 750

<210> 132

<211> 123

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 132

Met Lys Ala Val Leu Leu Ala Leu Leu Met Ala Gly Leu Ala Leu Gln

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

65	70	75	80
Lys Lys Asn Ile Thr Cys Cys Asp Thr Asp Leu Cys Asn Ala Ser Gly			
	85	90	95
Ala His Ala Leu Gln Pro Ala Ala Ala Ile Leu Ala Leu Leu Pro Ala			
	100	105	110
Leu Gly Leu Leu Leu Trp Gly Pro Gly Gln Leu			
	115	120	

<210> 133

<211> 420

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 133

Met Pro Gly Gly Cys Ser Arg Gly Pro Ala Ala Gly Asp Gly Arg Leu

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

65	70	75	80
Asn Leu Thr	Glu Val Pro Thr	Asp Leu Pro Ala Tyr	Val Arg Asn Leu
	85	90	95
Phe Leu Thr	Gly Asn Gln Leu Ala Val	Leu Pro Ala Gly Ala	Phe Ala
	100	105	110
Arg Arg Pro	Pro Leu Ala Glu Leu Ala Ala	Leu Asn Leu Ser Gly	Ser
	115	120	125
Arg Leu Asp	Glu Val Arg Ala Gly Ala Phe	Glu His Leu Pro Ser	Leu
	130	135	140
Arg Gln Leu	Asp Leu Ser His Asn Pro Leu Ala	Asp Leu Ser Pro	Phe
	145	150	155
Ala Phe Ser	Gly Ser Asn Ala Ser Val Ser Ala	Pro Ser Pro Leu	Val
	165	170	175
Glu Leu Ile	Leu Asn His Ile Val Pro Pro Glu	Asp Glu Arg Gln	Asn
	180	185	190
Arg Ser Phe	Glu Gly Met Val Val Ala Ala Leu	Leu Ala Gly Arg	Ala
	195	200	205
Leu Gln Gly	Leu Arg Arg Leu Glu Leu Ala Ser	Asn His Phe Leu	Tyr
	210	215	220
Leu Pro Arg	Asp Val Leu Ala Gln Leu Pro Ser	Leu Arg His Leu	Asp
	225	230	235
Leu Ser Asn	Asn Ser Leu Val Ser Leu Thr Tyr	Val Ser Phe Arg	Asn
	245	250	255
Leu Thr His	Leu Glu Ser Leu His Leu Glu	Asp Asn Ala Leu	Lys Val
	260	265	270
Leu His Asn	Gly Thr Leu Ala Glu Leu Gln Gly	Leu Pro His Ile	Arg
	275	280	285
Val Phe Leu	Asp Asn Asn Pro Trp Val Cys	Asp Cys His Met	Ala Asp
	290	295	300
Met Val Thr	Trp Leu Lys Glu Thr Glu Val Val	Gln Gly Lys Asp	Arg
	305	310	315
			320

Leu Thr Cys Ala Tyr Pro Glu Lys Met Arg Asn Arg Val Leu Leu Glu

325 330 335

Leu Asn Ser Ala Asp Leu Asp Cys Asp Pro Ile Leu Pro Pro Ser Leu

340 345 350

Gln Thr Ser Tyr Val Phe Leu Gly Ile Val Leu Ala Leu Ile Gly Ala

355 360 365

Ile Phe Leu Leu Val Leu Tyr Leu Asn Arg Lys Gly Ile Lys Lys Trp

370 375 380

Met His Asn Ile Arg Asp Ala Cys Arg Asp His Met Glu Gly Tyr His

385 390 395 400

Tyr Arg Tyr Glu Ile Asn Ala Asp Pro Arg Leu Thr Asn Leu Ser Ser

405 410 415

Asn Ser Asp Val

420

<210> 134

<211> 235

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 134

Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu

1 5 10 15

His Ala Ala Arg Pro Ser Gln Phe Arg Val Ser Pro Leu Asp Arg Thr

20 25 30

Trp Asn Leu Gly Glu Thr Val Glu Leu Lys Cys Gln Val Leu Leu Ser

35 40 45

Asn Pro Thr Ser Gly Cys Ser Trp Leu Phe Gln Pro Arg Gly Ala Ala

50 55 60

Ala Ser Pro Thr Phe Leu Leu Tyr Leu Ser Gln Asn Lys Pro Lys Ala

65 70 75 80

Ala Glu Gly Leu Asp Thr Gln Arg Phe Ser Gly Lys Arg Leu Gly Asp

85 90 95

Thr Phe Val Leu Thr Leu Ser Asp Phe Arg Arg Glu Asn Glu Gly Tyr
 100 105 110
 Tyr Phe Cys Ser Ala Leu Ser Asn Ser Ile Met Tyr Phe Ser His Phe
 115 120 125
 Val Pro Val Phe Leu Pro Ala Lys Pro Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg
 130 135 140
 Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg
 145 150 155 160

Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly
 165 170 175
 Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly Thr
 180 185 190
 Cys Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys Asn His
 195 200 205
 Arg Asn Arg Arg Arg Val Cys Lys Cys Pro Arg Pro Val Val Lys Ser
 210 215 220

Gly Asp Lys Pro Ser Leu Ser Ala Arg Tyr Val
 225 230 235

<210> 135

<211> 210

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 135

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

Asn Met Arg Ile Tyr Trp Leu Arg Gln Arg Gln Ala Pro Ser Ser Asp
 50 55 60
 Ser His His Glu Phe Leu Ala Leu Trp Asp Ser Ala Lys Gly Thr Ile

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

Ile Tyr Phe Cys Met Ile Val Gly Ser Pro Glu Leu Thr Phe Gly Lys
 115 120 125
 Gly Thr Gln Leu Ser Val Val Asp Phe Leu Pro Thr Thr Ala Gln Pro
 130 135 140
 Thr Lys Lys Ser Thr Leu Lys Lys Arg Val Cys Arg Leu Pro Arg Pro
 145 150 155 160
 Glu Thr Gln Lys Gly Pro Leu Cys Ser Pro Val Thr Leu Gly Leu Leu
 165 170 175

Val Ala Gly Val Leu Val Leu Leu Val Ser Leu Gly Val Ala Met His
 180 185 190
 Leu Cys Cys Arg Arg Arg Arg Ala Arg Leu Arg Phe Met Lys Gln Phe
 195 200 205

Tyr Lys

210

<210> 136

<211> 171

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 136

Met Glu His Ser Thr Phe Leu Ser Gly Leu Val Leu Ala Thr Leu Leu
 1 5 10 15
 Ser Gln Val Ser Pro Phe Lys Ile Pro Ile Glu Glu Leu Glu Asp Arg

 20 25 30
 Val Phe Val Asn Cys Asn Thr Ser Ile Thr Trp Val Glu Gly Thr Val
 35 40 45
 Gly Thr Leu Leu Ser Asp Ile Thr Arg Leu Asp Leu Gly Lys Arg Ile
 50 55 60

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

 85 90 95
 Val Glu Leu Asp Pro Ala Thr Val Ala Gly Ile Ile Val Thr Asp Val
 100 105 110
 Ile Ala Thr Leu Leu Leu Ala Leu Gly Val Phe Cys Phe Ala Gly His
 115 120 125
 Glu Thr Gly Arg Leu Ser Gly Ala Ala Asp Thr Gln Ala Leu Leu Arg
 130 135 140
 Asn Asp Gln Val Tyr Gln Pro Leu Arg Asp Arg Asp Asp Ala Gln Tyr

 145 150 155 160
 Ser His Leu Gly Gly Asn Trp Ala Arg Asn Lys
 165 170

 <210> 137
 <211> 182
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 137
 Met Glu Gln Gly Lys Gly Leu Ala Val Leu Ile Leu Ala Ile Ile Leu
 1 5 10 15
 Leu Gln Gly Thr Leu Ala Gln Ser Ile Lys Gly Asn His Leu Val Lys
 20 25 30
 Val Tyr Asp Tyr Gln Glu Asp Gly Ser Val Leu Leu Thr Cys Asp Ala

 35 40 45
 Glu Ala Lys Asn Ile Thr Trp Phe Lys Asp Gly Lys Met Ile Gly Phe
 50 55 60
 Leu Thr Glu Asp Lys Lys Lys Trp Asn Leu Gly Ser Asn Ala Lys Asp
 65 70 75 80
 Pro Arg Gly Met Tyr Gln Cys Lys Gly Ser Gln Asn Lys Ser Lys Pro
 85 90 95

Leu Gln Val Tyr Tyr Arg Met Cys Gln Asn Cys Ile Glu Leu Asn Ala

100 105 110

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

115 120 125

Leu Ala Val Gly Val Tyr Phe Ile Ala Gly Gln Asp Gly Val Arg Gln

130 135 140

Ser Arg Ala Ser Asp Lys Gln Thr Leu Leu Pro Asn Asp Gln Leu Tyr

145 150 155 160

Gln Pro Leu Lys Asp Arg Glu Asp Asp Gln Tyr Ser His Leu Gln Gly

165 170 175

Asn Gln Leu Arg Arg Asn

180

<210> 138

<211> 207

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 138

Met Gln Ser Gly Thr His Trp Arg Val Leu Gly Leu Cys Leu Leu Ser

1 5 10 15

Val Gly Val Trp Gly Gln Asp Gly Asn Glu Glu Met Gly Gly Ile Thr

20 25 30

Gln Thr Pro Tyr Lys Val Ser Ile Ser Gly Thr Thr Val Ile Leu Thr

35 40 45

Cys Pro Gln Tyr Pro Gly Ser Glu Ile Leu Trp Gln His Asn Asp Lys

50 55 60

Asn Ile Gly Gly Asp Glu Asp Asp Lys Asn Ile Gly Ser Asp Glu Asp

65 70 75 80

His Leu Ser Leu Lys Glu Phe Ser Glu Leu Glu Gln Ser Gly Tyr Tyr

85 90 95

Val Cys Tyr Pro Arg Gly Ser Lys Pro Glu Asp Ala Asn Phe Tyr Leu

100 105 110

Tyr Leu Arg Ala Arg Val Cys Glu Asn Cys Met Glu Met Asp Val Met
 115 120 125
 Ser Val Ala Thr Ile Val Ile Val Asp Ile Cys Ile Thr Gly Gly Leu
 130 135 140
 Leu Leu Leu Val Tyr Tyr Trp Ser Lys Asn Arg Lys Ala Lys Ala Lys
 145 150 155 160
 Pro Val Thr Arg Gly Ala Gly Ala Gly Gly Arg Gln Arg Gly Gln Asn
 165 170 175
 Lys Glu Arg Pro Pro Pro Val Pro Asn Pro Asp Tyr Glu Pro Ile Arg
 180 185 190
 Lys Gly Gln Arg Asp Leu Tyr Ser Gly Leu Asn Gln Arg Arg Ile
 195 200 205
 <210> 139
 <211> 164
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 139
 Met Lys Trp Lys Ala Leu Phe Thr Ala Ala Ile Leu Gln Ala Gln Leu
 1 5 10 15
 Pro Ile Thr Glu Ala Gln Ser Phe Gly Leu Leu Asp Pro Lys Leu Cys
 20 25 30
 Tyr Leu Leu Asp Gly Ile Leu Phe Ile Tyr Gly Val Ile Leu Thr Ala
 35 40 45
 Leu Phe Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr
 50 55 60
 Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg
 65 70 75 80
 Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met
 85 90 95
 Gly Gly Lys Pro Gln Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn
 100 105 110
 Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met

115 120 125
 Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly
 130 135 140

Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala
 145 150 155 160
 Leu Pro Pro Arg

<210> 140

<211> 1191

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> IAB22M gamma 1 EH3(M1)

<400> 140

atggagaccg ataccctgct gctgtgggtg ctgctgctgt ggggtcccg cttcacaggc 60
 gatgtgcaga tcacacagag ccctagcagc ctgagcgcca gcgtgggaga tagagtcacc 120
 atcacatgca ggaccagcag aagcattagc cagtacctgg cctggtacca gcaaaagccc 180
 ggcaaggtgc ccaagctgct gatctacagc ggctccaccc tgcagagcgg cgtgcccg 240

agattctccg gctccggaag cggcacagac ttaccctga ccatctctc cctgcagccc 300
 gaggatgtcg ccacctacta ctgccagcag cacaacgaaa acccctgac atttggcggc 360
 ggcaccaagg tggagatcaa gggcagcacc agcgggtggag gaagtggagg tggaaagtga 420
 ggaggcggaa gcagcgaggt gcagctggtg gagagtgggt gaggactggt gcagcccga 480
 ggcagcctga gactgagctg tgctgcctcc ggattcaata tcaaggacac ctacatccac 540
 ttcgtgagac aggcccccg caagggactg gaggtgattg gaaggatcga ccccgccaac 600
 gacaacacc tgtacgccag caaatccag ggcaaggcca caatcagcgc cgacaccagc 660
 aagaacaccg cctatctgca gatgaactcc ctgagagccg aggacacagc cgtgtactac 720

tgcggcaggg gctacggcta ttacgtgttc gaccactggg gccagggcac cctggtgaca 780
 gtgagcagcg aaccaagag ctccgacaag acccacacct gtcccccttg cctccttgt 840
 ggcggaggaa gctccggagg cggaagcgga ggacagccta gggagccca ggtgtatacc 900
 ctccccct ccaggaaga gatgaccaag aaccaggtga gcctgacctg cctcgtgaag 960
 ggcttttacc cctccgatat cgccgtggag tgggagagca acggccagcc tgagaacaat 1020
 tacaagacca cccccctgt gctggactcc gatggcagct tcttctgta ttccaagctg 1080

accgtcgaca agtccaggtg gcaacagggc aacgtcttca gctgcagcgt gatgcacgag 1140
gcccctgcaca atcactacac ccagaagtcc ctctccctga gccccggctg a 1191

<210> 141

<211> 1200

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> IAB22M gamma 1 EH5(M1)

<400> 141

atggagacag acaccctcct cctgtgggtg ctgctgctgt gggtgcccgg atccaccgga 60
gacgtgcaga tcacacagag cccagctcc ctgtccgcta gcgtgggcga cagagtgacc 120
atcacctgca ggaccagcag gagcatctcc cagtacctcg cttggtacca gcagaagcct 180
ggcaaggtgc ccaagctgct gatttacagc ggatccaccc tgcagagcgg cgtgcctagc 240
aggttttagc gcagcggatc cggaacagac ttaccctga ccatcagcag cctgcagcct 300
gaagatgtgg ccacctacta ctgtcagcag cacaacgaaa accccctcac cttcggcggc 360

ggcacaaagg tggaaatcaa gggcagcacc tccggaggag gcagcggcgg aggcagcggga 420
ggcggcggct ccagcgaagt gcagctggtc gagagcggag gcggactggt gcaaccggga 480
ggaagcctga ggctgagctg tgccgccagc ggcttcaaca tcaaggacac atacattcac 540
tttgtgaggc aggtctctgg aaagggcctg gagtggatcg gcagaatcga ccccgctaac 600
gacaacaccc tgtacgccag caagttccag ggcaaggcca ccatctccgc cgacacaagc 660
aagaataccg cctacctgca gatgaactcc ctgagggccg aggataccgc cgtgtactac 720
tgcggcaggg gctatggcta ctacgtgttt gaccactggg gccagggcac actggtgaca 780
gtgagctccg agcccaagag ctccgacaag acacacacct gccctccttg ccccccttgt 840

ctcctctgtg gaggaggaag cagcggagga ggaagcggcg gacagcccag agagcctcaa 900
gtgtataccc tgccccctc caggaagag atgaccaaga accaggtgag cctgacatgc 960
ctggtcaaag gcttctaccc cagcgatatt gctgtggagt gggagagcaa cggccagccc 1020
gagaacaact acaagaccac accccccgtc ctggatagcg atggcagctt ctctctgtac 1080
agcaagctga ccgtggacaa gtccaggtgg cagcagggca acgtcttctc ctgcagcgtg 1140
atgcacgagg ctctgcataa ccactacaca cagaagtccc tcagcctgag ccctggatga 1200

<210> 142

<211> 1197

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223>

> IAB22M gamma 1 EH7(Minibody 1)

<400> 142

atggagacag acaccctcct cctgtgggtg ctgctgctgt ggggtccccg atccaccgga 60
gacgtgcaga tcacacagag cccagctcc ctgtccgcta gcgtgggcga cagagtgacc 120
atcacctgca ggaccagcag gagcatctcc cagtacctcg cttggtacca gcagaagcct 180
ggcaaggtgc ccaagctgct gatttacagc ggatccaccc tgcagagcgg cgtgcctagc 240
aggtttagcg gcagcggatc cggaacagac ttcaccctga ccatcagcag cctgcagcct 300
gaagatgtgg ccacctacta ctgtcagcag cacaacgaaa accccctcac cttcggcggc 360
ggcacaaagg tggaaatcaa gggcagcacc tccggaggag gcagcggcgg aggcagcggg 420

ggcggcggct ccagcgaagt gcagctggtc gagagcggag gcggactggt gcaaccgga 480
ggaagcctga ggctgagctg tgccgccagc ggcttcaaca tcaaggacac atacattcac 540
tttgtgagcg aggtcctctg aaagggcctg gagtggatcg gcagaatcga ccccgtac 600
gacaacaccc tgiacgccag caagttccag ggcaaggcca ccatctccgc cgacacaagc 660
aagaataccg cctacctgca gatgaactcc ctgagggccg aggataccgc cgtgtactac 720
tgccggcagg gctatggcta ctacgtgttt gaccactggg gccagggcac actggtgaca 780
gtgagctccg agctgaagac acctctgggc gacacaacac acacctgccc cccttgcct 840
ccctgtggag gaggaagcag cggaggagga agcggcggac agcccagaga gcctcaagtg 900

tataacctgc cccctccag ggaagagatg accaagaacc aggtgagcct gacatgcctg 960
gtcaaaggct tctacccag cgatattgct gtggagtggg agagcaacgg ccagcccag 1020
aacaactaca agaccacac cccgtcctg gatagcgatg gcagcttctt cctgtacagc 1080
aagctgaccg tggacaagtc caggtggcag cagggaacg tcttctcctg cagcgtgatg 1140
cacgaggctc tgcataacca ctacacacag aagtcctca gcctgagccc tggatga 1197

<210> 143

<211> 1206

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> IAB22M gamma 1 EH8(Minibody 1)

<400> 143

atggagacag acacccctct cctgtgggtg ctgctgctgt ggggtcccgg atccaccgga 60

gacgtgcaga tcacacagag cccagctcc ctgtccgcta gcgtgggga cagagtacc 120

atcacctgca ggaccagcag gagcatctcc cagtacctcg cttggtacca gcagaagcct 180

ggcaaggtgc ccaagctgct gatttacagc ggatccacc tgcagagcgg cgtgcctagc 240

aggttttagc gcagcggatc cggaacagac ttcacctga ccatcagcag cctgcagcct 300

gaagatgtgg ccacctacta ctgtcagcag cacaacgaaa accccctcac cttcgcggc 360

ggcacaagg tggaaatcaa gggcagcacc tccggaggag gcagcggcgg aggcagcga 420

ggcggcggct ccagcgaagt gcagctggc gagagcggag gcgactggt gcaaccgga 480

ggaagcctga ggctgagctg tgccccagc ggcttcaaca tcaaggacac atacattcac 540

tttgtgaggc aggtcctgg aaaggcctg gagtggatcg gcagaatcga ccccgtaac 600

gacaacacc tgtagccag caagttccag ggcaaggcca ccatctccgc cgacacaagc 660

aagaataccg cctacctgca gatgaactcc ctgaggccg aggataccgc cgtgtactac 720

tgcggcagg gctatggcta ctacgtgtt gaccactgg gccaggcac actggtgaca 780

gtgagctccg agctgaagac acctctgggc gacacaacac acacctgcc tccttgccc 840

ccttgctct cctgtggagg aggaagcagc ggaggaggaa gcggcggaca gcccagagag 900

cctcaagtgt atacctgcc cccctccagg gaagagatga ccaagaacca ggtgagcctg 960

acatgcctgg tcaaagctt ctacccagc gatattgctg tggagtggga gagcaacggc 1020

cagcccaga acaactacaa gaccacacc cccgtcctgg atagcgatgg cagcttcttc 1080

ctgtacagca agctgaccgt ggacaagtcc aggtggcagc agggcaacgt cttctcctgc 1140

agcgtgatgc acgaggctct gcataaccac tacacacaga agtcctcag cctgagccct 1200

ggatga 1206

<210> 144

<211> 1236

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> IAB22M gamma 2 EH2(Minibody 1)

<400> 144

atggaaccg acacactgct gctgtgggtg ctgctgctgt gggtccttg ctcaccgga 60

gacgtccaga tcacacagag cccagcagc ctgtccgcca gcgtgggaga cagggtgacc 120

gacgtccaga tcacacagag cccagcagc ctgtccgcca gcgtgggaga cagggtgacc 180

gacgtccaga tcacacagag ccccagcagc ctgtccgcca gcgtgggaga cagggtgacc 240
 ggcaaggtcc ccaaactgct gatctacagc ggctccaccc tgcagtccgg cgtgcctagc 300
 aggtttctccg gcagcggatc cggcaccgac ttcacctga ccatcagctc cctgcagcct 360
 gaggacgtgg ctacctacta ctgccaacag cacaacgaga accccctgac ctttggaggc 420
 ggcaccaagg tggaaatcaa gggcagcacc agcggcggag gaagcggagg aggatccgga 480
 ggaggcggaa gctccgaggt gcagctggtg gaaagcggcg gcggactggt gcagcctgga 540
 ggaagcctca gactgagctg tgccgccagc ggattcaaca tcaaagacac ctacattcat 600

ttcgtgagac aggcccccg caaggcctc gaatggatcg gaaggatcga ccccgctaac 660
 gacaatacc tgiacgctc caagttccag ggaaaggcca ccatctccgc cgatactcc 720
 aagaacaccg cctacctca gatgaactcc ctgagggccg aagataccgc cgtctactac 780
 tgtggcagg gctacggcta ctatgtgttc gatcactggg gccaaaggaac cctggtgacc 840
 gtgagcagcg aaaggaagag ctgcgtggag tgcctcctt gtcccggcgg cggtccagc 900
 ggcggaggct ccggcggcca gcctagagaa cctcaggtgt acaccctccc cccctccaga 960
 gaggagatga ccaagaacca ggtgtcctg acctgcctgg tgaaaggctt ctatcccagc 1020
 gacatcgccg tggaatggga gtccaacggc cagcccagaga acaactacaa gaccaccct 1080

cccatgctgg attccgacgg cagctttttc ctgtacagca agctcacctg ggacaagagc 1140
 agatggcagc agggcaactg gttcagctgc agcgtgatgc acgaggctct gcataaccac 1200
 tacaccaga agagcctgtc cctgtcccc ggatga 1236

<210> 145

<211> 1176

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> IAB22M gamma 2 EH2(Minibody 1)

<400> 145

atggagaccg acaccctcct cctgtgggtg ctgctgctgt gggcgcctgg aagcaccggc 60
 gatgtgcaga tcaccagag ccctagcagc ctgtccgctt ccgtgggcga cagggtgacc 120
 atcacctgta ggacctccag gagcatctcc cagtacctgg cctggtacca gcagaagccc 180

ggcaaggtgc ccaaactgct catctactcc ggcagcacac tccagagcgg cgtccctagc 240
 agattcagcg gaagcggcag cggcaccgac ttcacctga ccatcagctc cctgcagccc 300
 gaggacgtgg ccacctatta ctgtcagcag cacaacgaaa accccctgac cttcggcggc 360
 ggcacaaaag tggagatcaa gggcagcacc agcggaggcg gatccggcgg cggcagcggc 420

ggcggaggat ccagcgaagt gcagctggtc gaaagcggag gcggactggt gcagcctgga 480
 ggaagcctga gactcagctg cgccgcctcc ggattcaaca tcaaggacac ctacatccac 540
 ttcgtgaggc aggctcccgg caaaggcctc gagtggattg gaaggattga ccccgccaac 600
 gacaacaccc tgiacgccag caagttccaa ggaagggccca ccatctccgc cgacaccagc 660

aagaataccg cctacctgca gatgaactcc ctgagggtg aggacaccgc cgtgtactac 720
 tgcggcagag gctacggcta ctacgtgttc gaccactggg gacagggcac actggtgaca 780
 gtgagcagcg agaggaaaag ctgctgtggag tgccccccct gccctggcgg cggcagctcc 840
 ggcggaggaa gcggaggaca acccagggtg cccaggtgt acacactccc ccctagcagg 900
 gaagagatga ccaagaacca ggtgtccctg acctgcctcg tgaagggtt ctacccagc 960
 gacattgccg tcgagtggga gagcaacggc cagcctgaga acaactaaa gacaaccccc 1020
 cctatgctcg atagcgatgg ctctctcttc ctgtactcca agctcaccgt cgacaagagc 1080
 aggtggcagc agggcaacgt cttctcctgt agcgtgatgc acgaggctct gcacaaccac 1140

tacaccaga agagcctgag cctgagcccc ggctga 1176

<210> 146

<211> 1182

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> IAB2M gamma 1 EH3(Minibody 2)

<400> 146

atggaaccg acaccctgct gctgtgggtg ctgctgctgt ggggtccagg atctacaggc 60
 gaggtgcagc tgggtgcagtc tggcgccgaa gtgaagaaac ctggcgctc cgtgaagatc 120
 tcctgcaaga cctccggcta caccttcacc gactacacca tccactgggt caagcaggcc 180
 tccggcaagg gcctggaatg gatcggaac atcaaccca acaacggcgg caccacctac 240
 aaccagaagt tcgaggaccg ggccaccctg accgtggaca agtctacctc caccgcctac 300

atggaactgt cctccctgcg gagcaggac accgccgtgt actattgtgc cgctggctgg 360
 aacttcgact actggggcca gggcaccacc gtgacagtgt cctctggctc tacctccggc 420
 ggaggaagtg gcggaggatc aggcggaggc ggctcctctg atatcgtgat gaccagctcc 480
 ccctccagcc tgctgtcttc cgtgggcgac agagtgaaca tcacatgcaa ggcctcccag 540
 gacgtgggca ccgtgtgga ctggtatcag cagaagcctg gcaaggcccc caagctgctg 600
 atctactggg cctctaccag acacaccggc gtgcccagata gattcaccgg ctctggatcc 660
 ggcaccgact ttaccctgac catcagctcc ctgcagcccg aggacttcgc cgactacttc 720

tgccagcagt acaactccta cccctgacc tttggcggag gcaccaagct ggaaatcaaa 780

gagcccaagt cctccgacaa gaccacacc tgtccccctt gccctccatg tgggtggcga 840
agttctgggg gaggttctgg tggccagcct cggaacctc aggtgtacac actgccccct 900
agccgggaag agatgaccaa gaaccagggtg tccctgacct gcctcgtgaa gggttctac 960
ccctccgata tcgccgtgga atgggagtc aacggccagc ccgagaacaa ctacaagacc 1020
acccccctg tgetggactc cgacggctca ttttctctgt actccaagct gacagtggat 1080
aagtcccggt ggcagcaggg caacgtgttc tctgtctcg tgatgcacga ggccctgcac 1140
aaccactata ccagaagtc cctgtccctg agccccggt ga 1182

<210>

147

<211> 1182

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> IAB2M gamma 1 EH3 (Minibody 2)

<400> 147

atggaaccg ataccctgct gctgtgggtg ctgctgctgt gggtgccggg cagcaccggc 60
gaagtgcagc tgggtgcagag cggcgcgga gtgaaaaaac cggcgcgag cgtgaaaatt 120
agctgcaaaa ccagcggcta tacctttacc gaatatacca ttcatgggt gaaacaggcg 180
agcggcaaag gcctggaatg gattggcaac attaaccca acaacggcg caccacctat 240
aaccagaaat ttgaagatcg cgcgacctg accgtggata aaagcaccag caccgcgtat 300
atggaactga gcagcctcg cagcgaagat acccggtgt attattgcgc ggcgggctgg 360

aactttgatt attggggcca gggcaccacc gtgacctga gcagcggcag caccagcggc 420
ggcggcagcg gcggcgagc cggcgcggc ggcagcagcg atattgtgat gaccagagc 480
ccgagcagcc tgagcgcgag cgtggcgat cgcgtgacca ttacctgaa agcagccag 540
gatgtgggca ccgcggtgga ttggatcag cagaaaccgg gcaaagccc gaaactgctg 600
atttattggg cgagcaccg ccataccggc gtgccggatc gctttaccg cagcggcagc 660
ggcaccgatt ttacctgac cattagcagc ctgcagccg aagatgttc ggattatatt 720
tgccagcagt ataacagcta tccgtgacc tttggcggc gcaccaaact ggaaattaaa 780
gaaccgaaaa gcagcgaata aaccatacc tgcccgcgt gcccgccgtg cggcgcggc 840

agcagcggcg gcggcagcg cggccagcc cgcgaaccg aggtgtatac cctgccgcg 900
agccgcgatg aactgaccaa aaaccagggt agcctgacct gcctggtgaa aggttttat 960

ccgagcgata ttgcggtgga atgggaaagc aacggccagc cggaatacaa ctataaaacc 1020
 accccgccgg tgctggatag cgatggcagc ttttttctgt atagcaaact gaccgtggat 1080
 aaaagccgct ggcagcaggg caacgtgttt agctgcagcg tgatgcatga agcgctgcat 1140
 aaccattata ccagaaaaag cctgagcctg agccccgggt ga 1182

<210> 148

<211> 1191

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223>

> IAB2M gamma 1 EH5(Minibody 2)

<400> 148

atggaaccg ataccctgct gctgtgggtg ctgctgctgt gggtgccggg cagcaccggc 60
 gaagtgcagc tgggtgcagag cggcgcggaa gtgaaaaaac cgggcgcgag cgtgaaaatt 120
 agctgcaaaa ccagcggcta tacctttacc gaatatacca ttcattgggt gaaacaggcg 180
 agcggcaaaag gcctggaatg gattggcaac attaacccga acaacggcgg caccacctat 240
 aaccagaaat ttgaagatcg cgcgaccctg accgtggata aaagcaccag caccgcgtat 300
 atggaactga gcagcctcg cagcgaagat accgcggtgt attattgcgc ggcgggctgg 360
 aactttgatt attggggcca gggcaccacc gtgaccgtga gcagcggcag caccagcggc 420

ggcggcagcg gcggcggcag cggcggcggc ggcagcagcg atattgtgat gaccagagc 480
 ccgagcagcc tgagcgcgag cgtgggcgat cgcgtgacca ttacctgcaa agcagaccag 540
 gatgtgggca ccgcggtgga ttggtatcag cagaaaccgg gcaaagcgc gaaactgctg 600
 atttattggg cgagcaccog ccataccggc gtgccggatc gctttaccgg cagcggcagc 660
 ggcaccgatt ttaccctgac cattagcagc ctgcagccgg aagattttgc ggattatatt 720
 tgccagcagt ataacagcta tccgtgacc tttggcggcg gcacaaact ggaaattaaa 780
 gaaccgaaaa gcagcgataa aaccataacc tgcccgcgt gcccgcgtg cccgcgtgc 840
 ggcggcggca gcagcggcgg cggcagcggc ggccagccgc gcgaaccgca ggtgtatacc 900

ctgccgccga gcccggaaga aatgacaaa aaccaggtga gcctgacctg cctggtgaaa 960
 ggcttttatt cgagcgatat tgcggtggaa tgggaaagca acggccagcc ggaaaacaac 1020
 tataaaacca ccccgccggt gctggatagc gatggcagct ttttctgta tagcaactg 1080
 accgtggata aaagccgctg gcagcagggc aacgtgttta gctgcagcgt gatgcatgaa 1140
 gcgctgcata accattatac ccagaaaagc ctgagcctga gcccgggctg a 1191

<210> 149

<211> 1188

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> IAB2M gamma 1 EH7(Minibody 2)

<400> 149

atggagacag acacccctct cctgtgggtg ctgctgctgt gggccccgg aagcacgga 60

gaagtgcagc tggcgcaatc cggagccgag gtgaagaaac ccggcgccag cgtgaagatt 120

agctgcaaaa ccagcggcta caccttcacc gactacacca tccactgggt caagcaggcc 180

agcggcaagg gcctggagtg gatcggcaac attaaccca ataacggcgg caccacctac 240

aatcagaaat tcgaggacag ggccaccctg accgtggata agtccacctc caccgcctac 300

atggagctgt cctccctgag aagcaggat acagccgtct actactgcgc tgccgatgg 360

aatttcgact actggggcca gggcacaacc gtgacctga gcagcggatc cacctccggc 420

ggcggcagcg gaggcggcag cggcggagga ggcagcagcg acatcgtgat gacacagtcc 480

cccagcagcc tgtccgctag cgtgggcgac agagtgaacca tcacctgcaa ggcctcccag 540

gacgtgggaa ccgctgtgga ctggtaccag cagaagcccc gcaaggcccc caagctgctg 600

atctactggg ccagcaccag acacaccggc gtgcctgaca gattaccgg ctccggaagc 660

ggcaccgact tcacctgac catcagctcc ctccagcccc aggacttcgc cgactacttc 720

tgccagcagt ataatagcta cccctgacc ttccggcgcg gcacaaagct cgaaatcaag 780

gagctgaaga cccctctggg agacaccacc cacacctgcc ccccttgccc tccctgtgga 840

ggcgggaagca gcggaggagg aagcggagga cagcccaggg aacccaggt gtacacactg 900

ccccctcca gagaggagat gacaaagaac caggtgtccc tcacctgcct ggtgaaaggc 960

ttctatccca gcgacatcgc cgtggagtgg gagtccaacg gccaacccga aaacaactac 1020

aagaccaccc ctccctgctt ggattccgac ggctcctttt tctgtacag caagctgacc 1080

gtggacaagt ccaggtggca gcagggcaat gtcttttagt gcagcgtcat gcacgagcc 1140

ctgcataacc actataccca gaagtccctg tcctcagcc ctggatga 1188

<210> 150

<211> 1197

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> IAB2M gamma 1 EH8(Minibody 2)

<400> 150

atggaaccg ataccctgct gctgtgggtg ctgctgctgt ggggtccggg cagcaccggc 60
gaagtgcagc tgggtgcagag cggcgcgga gtgaaaaaac cggcgcgag cgtgaaaatt 120
agctgcacaaa ccagcggcta tacctttacc gaatatacca ttcatgtgggt gaaacaggcg 180

agcggcacaag gcctggaatg gattggcaac attaacccga acaacggcgg caccacctat 240
aaccagaaat ttgaagatcg cgcgacctg accgtggata aaagcaccag caccgcgtat 300
atggaactga gcagcctgcg cagcgaagat accgcggtgt attattgcgc ggcgggctgg 360
aactttgatt attggggcca gggcaccacc gtgacctga gcagcggcag caccagcggc 420
ggcggcagcg ggcggcgag cggcgcggc ggacagcagc atattgtgat gaccagagc 480
ccgagcagcc tgagcgcgag cgtgggcgat cgcgtgacca ttacctgca agcagaccag 540
gatgtgggca ccgcggtgga ttggtatcag cagaaaccgg gcaaagcgcc gaaactgctg 600
atttattggg cgagcaccgg ccataccggc gtgccggatc gctttaccgg cagcggcagc 660

ggcaccgatt ttacctgac cattagcagc ctgcagccgg aagattttgc ggattatatt 720
tgccagcagt ataacagcta tccgtgacc ttggcggcg gcaccaaact ggaaattaaa 780
gaactgaaaa ccccgctggg cgataccacc catactgcc cgccgtgccc gccgtgccc 840
ccgtgcgcg ggcgcagcag cggcgcggc agcggcgcc agccgcgca accgcaggtg 900
tataccctgc cgccgagccg cgaagaaatg accaaaaacc aggtgagcct gacctgcctg 960
gtgaaaggct ttatccgag cgatattgcg gtggaatggg aaagcaacgg ccagccggaa 1020
aacaactata aaaccacccc gccgtgctg gatagcgatg gcagcttttt tctgtatagc 1080
aaactgaccg tggataaaag ccgctggcag cagggaacg tgtttagctg cagcgtgatg 1140

catgaagcgc tgcataacca ttataccag aaaagcctga gcctgagccc gggctga 1197

<210> 151

<211> 1182

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> IAB2M gamma 1 EH3(Minibody 1)

<400> 151

atggaaccg ataccctgct gctgtgggtg ctgctgctgt ggggtccggg cagcaccggc 60
gatattgtga tgaccagag cccgagcagc ctgagcgcga gcgtggcgga tcgctgacc 120
attacctgca aagcgagcca ggatgtgggc accgcggtgg attggtatca gcagaaaccg 180
ggcaaagcgc cgaactgct gatttattgg gcgagcacc gccataccgg cgtgccggat 240

cgctttaccg gcagcggcag cggcaccgat ttaccctga ccattagcag cctgcagccg 300

gaagattttg cggattatit ttgccagcag tataacagct atccgctgac ctttggcggc 360

ggcaccaaac tggaaattaa aggcagcacc agcggcggcg gcagcggcgg cggcagcggc 420

ggcggcggca gcagcgaagt gcagctgggtg cagagcggcg cggaagtga aaaaccgggc 480

gcgagcgtga aaattagctg caaaaccagc ggctatacct ttaccgaata taccattcat 540

tgggtgaaac aggcgagcgg caaaggcctg gaatggattg gcaacattaa cccgaacaac 600

ggcggcacca cctataacca gaaatttgaa gatcgcgca ccctgaccgt ggataaaagc 660

accagcaccg cgtatatgga actgagcagc ctgcgcagcg aagataccgc ggtgtattat 720

tgcgcgggcg gctggaactt tgattattgg ggccagggca ccaccgtgac cgtgagcagc 780

gaaccgaaaa gcagcgataa aaccatacc tgcccgcctg gcccgccgtg cggcggcggc 840

agcagcggcg gggcagcgg cggccagccg cgcgaaccgc aggtgtatac cctgccgcgg 900

agccgcgaag aaatgacaa aaaccagggtg agcctgacct gcctgggtgaa aggcctttat 960

ccgagcgata ttgcggtgga atgggaaagc aacggccagc cggaaaacaa ctataaaacc 1020

accccgccgg tgctggatag cgatggcagc tttttctgt atagcaaact gaccgtggat 1080

aaaagccgct ggagcaggg caacgtgttt agctgcagcg tgatgcatga agcgtgcat 1140

aaccattata ccagaaaaag cctgagcctg agcccggtg ga 1182

<210>

152

<211> 1197

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> IAB20M gamma 1 EH3(Minibody 2)

<400> 152

atggaaaccg ataccctgct gctgtgggtg ctgctgctgt gggtgcctgg cagcacagga 60

gaggtgcagc tgggtggagag cggcgctgaa gtgaagaagc ccggcgccag cgtgaaggtg 120

agctgcaagg ccagcggcta cagcttcaca ggctactaca tgactgggt gagacaagcc 180

cctggccagg gcctcgagtg gattggaagg atcaacccca acaacggagt gacactgtac 240

aaccagaaat tcaaggacag ggtcaccatg accgtggaca ccagcatcag caccgcctat 300

atggagctgt ccaggctgag gagcgacgac accgtgtgt actactgcgc caggagcacc 360

atgatcacca actacgtgat ggattattgg ggccagggca cactgggtgac agtgagcagc 420

ggcagcacca gcggaggagg cagcggagga ggaagcggcg gaggcggctc ctccgatatc 480

gtcatgaccc agagccccgc taccctcagc gtgtcccttg gcgagagagc caccctgagc 540
 tgcaaggcca gccagtcctg gtccaacgac gtggcctggt atcaacagaa gcccggccag 600
 gctcctaggc tgctgatctc ctacaccagc agcaggtacg ccggcgtgcc tgataggttc 660
 agcggctccg gcagcggcac agacttcacc ctgacaatca gcagcctgga ggccgaggat 720
 gaggccgtgt actactgtca gcaggactac aactcccccc ccaccttcgg ccagggcaca 780
 aaggtcgaga tcaaggagcc caagtcctcc gacaagaccc acacctgtcc cccctgccct 840

ccttgtggag gcggaagcag cggaggcggg agcggaggac agcccagaga accccagggtg 900
 tataacctgc cccctccag ggaggagatg accaaaaacc aggtgagcct gacatgcctg 960
 gtgaagggtt tctaccctc cgacatgcc gtggagtggg aaagcaacgg ccagcccag 1020
 aacaactaca agaccacacc cccgtgtctg gatagcgacg gctccttctt tctgtacagc 1080
 aagctgaccg tggataaaag caggtggcag caaggcaacg tgttctctg ctccgtcatg 1140
 cacgaggtc tgcataacca ctacacccaa aaatccctga gcctgagccc cggtga 1197

<210> 153

<211> 1197

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223>

> IAB20M gamma 1 EH3(Minibody 2)

<400> 153

atggaacccg atacctgtct gctgtgggtg ctgtgtctgt gggtgccggg cagcaccggc 60
 caggtgcagc tgggtgcagag cggcgccgaa gtgaaaaaac cgggcgcgag cgtgaaagt 120
 agctgcaaag cgagcggcta tagctttacc ggctattata tgcatagggt gcgccaggcg 180
 ccgggccagg gcctggaatg gattggccgc attaacccga acaacggcgt gaccctgtat 240
 aaccagaaat ttaaagatcg cgtgacatg accgtggata ccagcattag caccgcgtat 300
 atggaactga gccgcctcg cagcgatgat accgcggtgt attattgcgc gcgcagcacc 360
 atgattacca actatgtgat ggattattgg ggccagggca ccctgggtgac cgtgagcagc 420

ggcagcacca gcggcggcgg cagcggcggc ggcagcggcg gcggcggcag cagcgatatt 480
 gtgatgaccc agagcccggc gaccctgagc gtgagcccgg gcgaacgcgc gaccctgagc 540
 tgcaaagcga gccagagcgt gagcaacgat gtggcgtggt atcagcagaa accgggccag 600
 gcgccgcgcc tgctgattag ctataccagc agccgctatg cgggcgtgcc ggatcgcttt 660
 agcggcagcg gcagcggcac cgattttacc ctgaccatta gcagcctgca ggccggaagat 720
 gtggcgggtgt attattgcca gcaggattat aacagcccgc cgacctttgg ccagggcacc 780

aaagtggaaa ttaaagaacc gaaaagcagc gataaaaccc atacctgccc gccgtgcccc 840
ccgtgcggcg gcggcagcag cggcggcggc agcggcggcc agccgcgcga accgcaggtg 900

tataccctgc cgccgagccg cgaagaaatg accaaaaacc aggtgagcct gacctgcctg 960
gtgaaaggct tttatccgag cgatatgtcg gtggaatggg aaagcaacgg ccagccggaa 1020
aacaactata aaaccacccc gccgtgtctg gatagcgatg gcagcttttt tctgtatagc 1080
aaactgaccg tggataaaag ccgctggcag cagggcaacg tgtttagctg cagcgtgatg 1140
catgaagcgc tgcataacca ttatacccag aaaagcctga gcctgagccc gggtga 1197

<210> 154

<211> 1197

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> IAB20M gamma 1 EH3(Minibody 2)

<400> 154

atggaaaccg ataccctgct gctgtgggtg ctgctgctgt gggcgcctgg cagcacagga 60

gaggtgcagc tggaggagag cggcgtgaa gtgaagaagc ccggcgccag cgtgaagggt 120
agctgcaagg ccagcggtca cagcttcaca ggctactaca tgcaactggg gagacaagcc 180
cctggccagg gcctcgagtg gattggaagg atcaaccca acaacggagt gacactgtac 240
aaccagaaat tcaaggacag ggtcaccatg accgtggaca ccagcatcag caccgcctat 300
atggagctgt ccaggctgag gagcgacgac accgtgtgt actactgagc caggagcacc 360
atgatcacca actacgtgat ggattattgg ggccagggca cactgggtgac agtgagcagc 420
ggcagcacca gcggaggagg cagcggagga ggaagcggcg gaggcggctc ctccgatatc 480
gtcatgaccc agagccccga tagcctggcc gtgagcctgg gcgagagagc caccatcaat 540

tgaaggcca gccagtcctg gtccaacgac gtggcctggt atcaacagaa gcccgccag 600
gtccttaggc tgetgatctc ctacaccagc agcaggtacg ccggcgtgcc tgataggttc 660
agcggctccg gcagcggcac agacttcacc ctgacaatca gcagcctgca agccgaagat 720
gtggccgtgt actactgtca gcaggactac aactcccccc ccacttcgg ccagggcaca 780
aaggtcgaga tcaaggagcc caagtcctcc gacaagaccc acactgtcc cccctgccct 840
ccttgtggag gcggaagcag cggaggcggg agcggaggac agcccagaga accccaggtg 900
tataccctgc cccctccag ggaggagatg accaaaaacc aggtgagcct gacatgcctg 960
gtgaagggtc tctaccctc cgacatcgcc gtggagtggg aaagcaacgg ccagcccag 1020

aacaactaca agaccacacc ccccgctgctg gatagcgacg gctccttctt tctgtacagc 1080
aagctgaccg tggataaaag cagggtggcag caaggcaacg tgttctcctg ctccgtcatg 1140
cacgaggtc tgcataacca ctacacccaa aaatccctga gcctgagccc cggtga 1197
<210> 155
<211> 1206
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> IAB20M gamma 1 EH5(Minibody 2)
<400> 155
atggagacag acaccctcct cctgtgggtc ctgctcctgt ggggtccccg atccacagc 60
gaggtccagc tgggtggaatc cggagccgag gtgaagaaac ccggcgctc cgtgaaagtc 120
tcttgcaagg cctccggcta ctcttcacc ggctactaca tgcactgggt gaggcaggcc 180

cctggacagg gactggaatg gatcggcagg attaacccca acaacggagt gaccctgtac 240
aaccagaagt tcaaggacag ggtcaccatg accgtggaca ccagcatttc caccgcctac 300
atggagctgt ccaggctgag aagcgacgac accgtgtgt actactgcgc caggagcacc 360
atgatcacca actacgtgat ggattattgg ggccagggca cctcgtgac agtgagcagc 420
ggatccacaa gcggaggcgg aagcggaggc ggcagcggcg gcggcggcag cagcgatc 480
gtgatgaccc agagccccgc caccctgagc gtgagccccg gcgaaagggc cactctgagc 540
tgcaaggcca gccagtcct ctccaacgat gtggcctggt accagcagaa gcccggacag 600
gcccctaggc tctgatctc ctacaccagc tccagtgacg ccggcgctcc tgacagattc 660

tccggcagcg gcagcggcac cgatttcacc ctacccatca gcagcctgga agccgaagat 720
gaagctgtgt attactgcca gcaggactac aacagcccc ccacatttgg ccagggaacc 780
aaggtggaga tcaaggagcc caagagcagc gacaagacc atacctgcc tccttgccct 840
ccttgctctc cctgtggagg cggaagctcc ggaggaggat ccggaggcca gcctagagag 900
ccccaggtgt acaccctgcc ccctagcagg gaggagatga ccaagaacca ggtgagcctg 960
acatgtctgg tcaagggtt ttacccagc gacatcgccg tggagtggga gagcaacggc 1020
cagcctgaga acaactaaa gaccaccct cctgtgctgg actccgacgg cagctttttc 1080
ctgtacagca agctgaccgt ggataagagc aggtggcagc agggcaacgt cttcagctgc 1140

agcgtgatgc acgaggctct gcataaccac tacaccaga agagcctgag cctgagccct 1200
ggatga 1206
<210> 156

<211> 1206

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> IAB20M gamma 1 EH5(Minibody 2)

<400> 156

atggagacag acacccctct cctgtgggtc ctgctcctgt gggtgcccgg atccacaggc 60
gaggtccagc tgggtggaatc cggagccgag gtgaagaaac cggcgccctc cgtgaaagtc 120
tcctgcaagg cctccggeta ctcccttacc ggctactaca tgcaactgggt gaggcaggcc 180
cctggacagg gactggaatg gatcggcagg attaaccca acaacggagt gaccctgtac 240

aaccagaagt tcaaggacag ggtcaccatg accgtggaca ccagcatttc caccgcctac 300
atggagctgt ccaggctgag aagcgacgac accgtgtgt actactgccc caggagcacc 360
atgatcacca actacgtgat ggattattgg ggccagggca ccctcgtgac agtgagcagc 420
ggatccacaa gcggaggcgg aagcggaggc ggacgcggcg gcggcggcag cagcgatata 480
gtgatgacct agagccccga ttccctcgcc gtgagcctgg gcgaaagggc cacaatcaac 540
tgcaaggcca gccagtccgt ctccaacgat gtggcctgg accagcagaa gcccggacag 600
gcccctaggc tctgatctc ctacaccagc tccaggtacg ccggcgctcc tgacagattc 660
tccggcagcg gcagcggcac cgatttcacc ctacccatca gcagcctgca ggccgaggac 720

gtggctgtgt attactgcca gcaggactac aacagccccc ccacatttgg ccagggaacc 780
aaggtggaga tcaaggagcc caagagcagc gacaagacc atacctgccc tccttgccct 840
ccttgctcct cctgtggagg cggaagctcc ggaggaggat ccggaggcca gcctagagag 900
ccccaggtgt acaccctgcc ccctagcagg gaggagatga ccaagaacca ggtgagcctg 960
acatgtctgg tcaagggttt ttaccccagc gacatcgccg tggagtggga gagcaacggc 1020
cagcctgaga acaactaaa gaccaccct cctgtgctgg actccgacgg cagctttttc 1080
ctgtacgca agctgaccgt ggataagagc aggtggcagc agggcaacgt ctacagctgc 1140
agcgtgatgc acgaggctct gcataaccac tacaccaga agagcctgag cctgagccct 1200

ggatga 1206

<210> 157

<211> 1170

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> IAB1M gamma 1 EH3(Minibody 1)

<400> 157

```

atggagaccg ataccctgct gctgtgggtg ctgctgctgt gggcgcctgg cagcaccggc 60
gacattcagc tgaccacagc cccttcacaca ctgagcgctt ccgtgggcga cagggtcaca 120
attacatgtt ccgcctccag cagcgtcagg tttatccact ggtatcagca gaagcccggc 180
aaggccccc agagactgat ctacgacaca agcaagctgg cctccggagt gcccagcaga 240
ttcagcggca gcggatccgg caccgatttc aactgacca tcagcagcct gcagcccga 300

gacttcgcca cctactactg ccagcagtgg ggctcctccc cttcacctt cggacagggc 360
accaaggtgg agatcaaggg ctccacaagc ggccggcgaa gcggcggcgg cagcggcggc 420
ggcggctcca gcgaagtga gctggtggag tacggcggcg gactggtcca gcctggagga 480
agcctgaggc tgagctgcgc gcctccggc tttaacatca aagattacta cattacttg 540
gtcagacagg cccttgcaa aggcctggag tgggtggcct ggatcgatcc cgagaacga 600
gacaccgagt tcgtgccc aa gttccaggga agagccacca tgagcgccga caccagcaag 660
aacaccgctt acctgcgat gaattccctc agggccgagg ataccgtgt gtactactgc 720
aagaccggcg gatcttgggg ccagggaacc ctggtgaccg tcagctccga gcctaagagc 780

agcgataaga cccacacctg cctccttgc ccccttgtg gcggaggatc ctccggagga 840
ggatccggag gacagcccag ggagcctcag gtgtacacce tccctccag caggaggag 900
atgaccaaga accaggtgtc cctgacctgc ctgctcaagg gcttctacc cagcgacatc 960
gctgtggagt gggagagcaa cggccagccc gaaaacaact acaagaccac ccctccctg 1020
ctggacagcg acggcagctt ctctctctac tccaagctga cagtggacaa gagcaggtgg 1080
cagcagggca acgtgttcag ctgtccctg atgcacgagg ccctgcacaa tcactatacc 1140
cagaagtcct tgtccctctc ccccgctag                                     1170

```

<210>

158

<211> 1155

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> IAB1M gamma 1 EH2(Minibody 1)

<400> 158

```

atggagaccg ataccctgct gctgtgggtg ctgctgctgt gggcgcctgg cagcaccggc 60
gacattcagc tgaccacagc cccttcacaca ctgagcgctt ccgtgggcga cagggtcaca 120
attacatgtt ccgcctccag cagcgtcagg tttatccact ggtatcagca gaagcccggc 180

```

aaggccccc agagactgat ctacgacaca agcaagctgg cctccggagt gcccagcaga 240
ttcagcggca gcggatccgg caccgatttc aactgacca tcagcagcct gcagcccgaa 300
gacttcgcca cctactactg ccagcagtgg ggctcctccc ccttcacctt cggacagggc 360

accaaggtgg agatcaaggg ctccacaagc ggcgggcgaa gcggcgggcg cagcgggcgc 420
ggcggtctca gcgaagtga gctggtggag tacggcgggc gactggtcca gcctggagga 480
agcctgagggc tgagctgcgc cgcctccggc ttaacatca aagattacta cattcactgg 540
gtcagacagg cccctggcaa aggcctggag tgggtggcct ggatcgatcc cgagaacgga 600
gacaccgagt tcgtgccaa gttccaggga agagccacca tgagcgccga caccagcaag 660
aacaccgcct acctgcagat gaattccctc agggccgagg ataccgctgt gtactactgc 720
aagaccggcg gatattgggg ccagggaacc ctggtgaccg tcagctccga gagaaagagc 780
tgctggagt gtctccttg tccggcgga ggatcctccg gaggaggatc cggaggacag 840

cccaggaggc ctcagggtga caccctccct ccagcaggg aggagatgac caagaaccag 900
gtgtccctga cctgcctcgt caagggttc taccccagcg acatcgctgt ggagtgggag 960
agcaacggcc agccgaaaa caactacaag accaccctc ccatgctgga cagcgacggc 1020
agctttcttc tctactcaa gctgacagtg gacaagagca ggtggcagca gggcaacgtg 1080
ttcagctgct ccgtgatgca cgaggccctg cacaatcact ataccagaa gtccctgtcc 1140
ctctcccccg gctag 1155

<210> 159

<211> 1179

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223>

> IAB1M gamma 1 EH5(Minibody 1)

<400> 159

atggaaccg ataccctgct gctgtgggtg ctgctgctgt gggtgccggg cagcaccggc 60
gatattcagc tgaccagag cccgagcacc ctgagcgga gcgtgggcga tcgctgacc 120
attacctga gcgcgagcag cagcgtgcgc ttatttcatt ggtatcagca gaaaccgggc 180
aaagcgccga aacgcctgat ttatgatac agcaactgg cgagcggcgt gccgagccgc 240
tttagcggca gcggcagcgg caccgatttt accctgacca ttagcagcct gcagccggaa 300
gattttgcga cctattatg ccagcagtgg ggcagcagcc cgtttacctt tggccagggc 360
accaaagtgg aaattaaagg cagcaccagc ggcgggcgga gcggcgggcg cagcgggcgc 420

ggcggcagca gcaagtga gctggtggaa tatggcggcg gcctggtgca gccgggcggc 480
 agcctgcgcc tgagctgcgc ggcgagcggc tttacatta aagattatta tattcattgg 540
 gtgcgccagg cccggggcaa aggcctggaa tgggtggcgt ggattgatcc ggaaaacggc 600
 gataccgaat ttgtgccgaa atttcagggc cgcgcgacca tgagcgcgga taccagcaaa 660
 aacaccgcgt atctgcagat gaacagcctg cgcgcggaag ataccgcggt gtattattgc 720
 aaaaccggcg gcttttgggg ccagggcacc ctggtgaccg tgagcagcga accgaaaagc 780
 agcgataaaa ccataacctg cccgccgtgc ccgccgtgcc cgccgtgcgg cggcggcagc 840
 agcggcggcg gcagcggcgg ccagccgcgc gaaccgcagg tgtataacct gccgccgagc 900

cgcaagaaa tgacaaaaa ccaggtgagc ctgacctgcc tggtgaaagg cttttatccg 960
 agcgatattg cgggtggaatg ggaaagcaac ggccagccgg aaaacaacta taaaaccacc 1020
 ccgccgtgc tgatagcga tggcagcttt tttctgtata gcaactgac cgtggataaa 1080
 agccgctggc agcagggcaa cgtgtttagc tgcagcgtga tgcatgaagc gctgcataac 1140
 cattataccc agaaaagcct gagcctgagc ccgggctga 1179

<210> 160

<211> 1176

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> IAB1M gamma 1 EH7(Minibody 1)

<400> 160

atggaaaccg ataccctgct gctgtgggtg ctgctgctgt ggggtccggg cagcaccggc 60

gatattcagc tgaccagag cccgagcacc ctgagcgcga gcgtgggcga tcgcgtgacc 120
 attacctgca gcgcgagcag cagcgtgcgc tttattcatt ggtatcagca gaaaccgggc 180
 aaagcgcga aacgcctgat ttatgatacc agcaaactgg cgagcggcgt gccgagccgc 240
 tttagcggca gcggcagcgg caccgatatt accctgacca ttagcagcct gcagccggaa 300
 gatatttcga cctattattg ccagcagtgg ggcagcagcc cgtttacatt tggccagggc 360
 accaaagtgg aaattaaagg cagcaccagc ggcgccggca gcggcggcg cagcggcggc 420
 ggcggcagca gcaagtga gctggtggaa tatggcggcg gcctggtgca gccgggcggc 480
 agcctgcgcc tgagctgcgc ggcgagcggc tttacatta aagattatta tattcattgg 540

gtgcgccagg cccggggcaa aggcctggaa tgggtggcgt ggattgatcc ggaaaacggc 600
 gataccgaat ttgtgccgaa atttcagggc cgcgcgacca tgagcgcgga taccagcaaa 660
 aacaccgcgt atctgcagat gaacagcctg cgcgcggaag ataccgcggt gtattattgc 720

aaaaccggcg gcttttgggg ccagggcacc ctggtgaccg tgagcagcga actgaaaacc 780
 ccgctgggcg ataccacca tacctgcccg ccgtgcccgc cgtgcccggc cggcagcagc 840
 ggcgcgcgca gcggcgccca gccgcgcgaa ccgcaggtgt ataccctgcc gccgagccgc 900
 gaagaaatga ccaaaaacca ggtgagcctg acctgcctgg tgaaaggctt ttatccgagc 960
 gatattgcgg tggaatggga aagcaacggc cagccggaaa acaactataa aaccaccccg 1020

ccggtgctgg atagcgatgg cagctttttt ctgtatagca aactgaccgt ggataaaagc 1080
 cgctggcagc agggcaacgt gtttagctgc agcgtgatgc atgaagcgt gcataacat 1140
 tataccaga aaagcctgag cctgagcccg ggctga 1176

<210> 161

<211> 1185

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> IAB1M gamma 1 EH8(Minibody 1)

<400> 161

atggaacccg ataccctgct gctgtgggtg ctgctgctgt gggtgccggg cagcaccggc 60
 gatattcagc tgaccagag cccgagcacc ctgagcgcga gcgtgggcga tcgctgacc 120
 attacctgca gcgcgagcag cagcgtgcgc ttatttcatt ggatcagca gaaaccgggc 180

aaagcgccga aagcctgat ttatgatacc agcaaactgg cgagcggcgt gccgagccgc 240
 tttagcgga gcggcagcgg caccgatttt accctgacca ttagcagcct gcagccggaa 300
 gattttcgca cctattattg ccagcagtgg ggcagcagcc cgtttacctt tggccagggc 360
 accaaagtgg aaattaaagg cagcaccagc ggcgcgcgca gcggcgccgg cagcgcgccg 420
 ggcgcgagca gcgaagtga gctggtggaa tatggcgcg gcctggtgca gccggcgccg 480
 agcctgcgcc tgagctgcgc ggcgagcggc tttaacatta aagattatta tattcattgg 540
 gtgcgccagg cgcggggcaa aggcctggaa tgggtggcgt ggattgatcc gaaaaacggc 600
 gataccgaat ttgtgccgaa atttcagggc cgcgcgacca tgagcgcgga taccagcaa 660

aacaccgct atctgcagat gaacagcctg cgcgcggaag ataccgctgt gtattattgc 720
 aaaaccggcg gcttttgggg ccagggcacc ctggtgaccg tgagcagcga actgaaaacc 780
 ccgctgggcg ataccacca tacctgcccg ccgtgcccgc cgtgcccgc gtgcggcgcc 840
 ggcagcagc gcggcgagc cggcgccag ccgcgcgaac cgcaggtgta taccctgccg 900
 ccgagccgcg aagaaatgac caaaaaccag gtgagcctga cctgcctggt gaaaggcttt 960
 tatccgagcg atattgcgtt ggaatgggaa agcaacggcc agccggaaaa caactataaa 1020

accacccgc cggctgctgga tagcgatggc agcttttttc tgtatagcaa actgaccgtg 1080
gataaaagcc gctggcagca gggcaacgtg tttagctgca gcgtgatgca tgaagcgctg 1140

cataaccatt ataccagaa aagcctgagc ctgagcccg gctga 1185

<210> 162

<211> 1119

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> IAB2M gamma 1 EH3 (Minibody 1)

<400> 162

gatattgtga tgaccagag cccgagcagc ctgagcgca gcgtggcgca tcgctgacc 60
attacctgca aagcgagcca ggatgtggc accgcggtgg attggtatca gcagaaaccg 120
ggcaaagcgc cgaactgct gatttattgg gcgagcacc gccataccgg cgtgccggat 180
cgctttaccg gcagcggcag cggcaccgat ttacctga ccattagcag cctgcagccg 240
gaagattttg cggattattt ttgccagcag tataacagct atccgctgac ctttggcggc 300

ggcaccaaac tggaaattaa aggcagcacc agcggcggcg gcagcggcgg cggcagcggc 360
ggcggcggca gcagcgaagt gcagctggtg cagagcggcg cggaagtga aaaaccgggc 420
gcgagcgtga aaattagctg caaaaccagc ggctatacct ttaccgaata taccattcat 480
tgggtgaaac aggcgagcgg caaaggcctg gaatggattg gcaacattaa cccgaacaac 540
ggcggcacca cctataacca gaaatttgaa gatcgcgca ccctgaccgt ggataaaagc 600
accagaccg cgtatatgga actgagcagc ctgcgcagcg aagataccgc ggtgtattat 660
tgcgcggcgg gctggaactt tgattattgg ggccagggca ccaccgtgac cgtgagcagc 720
gaaccgaaaa gcagcgataa aaccatacc tgcccgcgt gcccgccgtg cggcggcggc 780

agcagcggcg gcggcagcgg cggccagccg cgcgaaccgc aggtgtatac cctgccgccg 840
agccgcgaag aaatgaccaa aaaccagtg agcctgacct gcctggtgaa aggcttttat 900
ccgagcgata ttgcggtgga atgggaaagc aacggccagc cggaatacaa ctataaaacc 960
accccgccgg tgctggatag cgatggcagc tttttctgt atagcaaact gaccgtggat 1020
aaaagccgct ggcagcagg caactgttt agctgcagcg tgatgcatga agcgtgcat 1080
aaccattata ccagaaaag cctgagcctg agcccgggc 1119

<210> 163

<211> 1128

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223>

> IAB2M gamma 1 EH5 (Minibody 1)

<400> 163

gatattgtga tgaccagag cccgagcagc ctgagcgcga gcgtgggcga tcgcgtgacc 60
 attacctgca aagcgagcca ggatgtgggc accgcgtgg attggtatca gcagaaaccg 120
 ggcaaagcgc cgaactgct gattttattgg gcgagcacc gccataccgg cgtgccggat 180
 cgctttaccg gcagcggcag cggcaccgat ttaccctga ccattagcag cctgcagccg 240
 gaagattttg cggattattt ttgccagcag tataacagct atccgctgac ctttggcggc 300
 ggcaccaaac tggaaattaa aggcagcacc agcggcggcg gcagcggcgg cggcagcggc 360
 ggcggcggca gcagcgaagt gcagctggtg cagagcggcg cggaagtga aaaaccgggc 420

gcgagcgtga aaattagctg caaaaccagc ggctatacct ttaccgaata taccattcat 480
 tgggtgaaac aggcgagcgg caaaggcctg gaatggattg gcaacattaa cccgaacaac 540
 ggcggcacca cctataacca gaaatttgaa gatcgcgca ccctgaccgt ggataaaagc 600
 accagcaccg cgtatatgga actgagcagc ctgcgcagcg aagataccgc ggtgtattat 660
 tgcgcggcgg gctggaactt tgattattgg ggccagggca ccaccgtgac cgtgagcagc 720
 gaaccgaaaa gcagcgataa aaccatacc tgcccgccgt gcccgccgtg cccgccgtgc 780
 ggcggcggca gcagcggcgg cggcagcggc ggccagccgc gcgaaccgca ggtgtatacc 840
 ctgccgccga gccgcgaaga aatgacaaa aaccaggtga gcctgacctg cctggtgaaa 900

ggcttttattc cgagcgatat tgcgttgga tgggaaagca acggccagcc ggaaaacaac 960
 tataaaacca ccccgccggt gctgtagc gatggcagct tttttctgta tagcaaaactg 1020
 accgtggata aaagccgctg gcagcagggc aacgtgttta gctgcagcgt gatgcatgaa 1080
 gcgctgcata accattatac ccagaaaagc ctgagcctga gcccgggc 1128

<210> 164

<211> 1134

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> IAB2M gamma 1 EH8 (Minibody 1)

<400> 164

gatattgtga tgaccagag cccgagcagc ctgagcgcga gcgtgggcga tcgcgtgacc 60

attacctgca aagcgagcca ggatgtgggc accgcggtgg attggtatca gcagaaaccg 120

ggcaaagcgc cgaactgct gatttattgg gcgagcacc gccataccgg cgtgccggat 180

cgctttaccg gcagcggcag cggcaccgat ttaccctga ccattagcag cctgcagcgg 240

gaagattttg cggattatit ttgccagcag tataacagct atccgctgac ctttggcggc 300

ggcaccaaac tggaattaa aggcagcacc agcggcggcg gcagcggcgg cggcagcggc 360

ggcggcggca gcagcgaagt gcagctggcg cagagcggcg cggaagtga aaaaccgggc 420

gcgagcgtga aaattagctg caaaaccagc ggctatacct ttaccgaata taccattcat 480

tgggtgaaac aggcgagcgg caaaggcctg gaatggattg gcaacattaa cccgaacaac 540

ggcggcacca cctataacca gaaatttgaa gatcgcgca ccctgaccgt ggataaaagc 600

accagcaccg cgtatatgga actgagcagc ctgcgcagcg aagataccgc ggtgtattat 660

tgcgcgggcg gctggaactt tgattattgg ggccagggca ccaccgtgac cgtgagcagc 720

gaactgaaaa ccccgctggg cgataccacc catacctgcc cgccgtgccc gccgtgccc 780

ccgtgcggcg gcggcagcag cggcggcggc agcggcggcc agccgcgca accgcaggtg 840

tataccctgc cgccgagccg cgaagaaatg accaaaaacc aggtgagcct gacctgcctg 900

gtgaaaggct ttatccgag cgatattgcg gtggaatggg aaagcaacgg ccagccggaa 960

aacaactata aaaccacccc gccgtgctg gatagcgatg gcagcttttt tctgtatagc 1020

aaactgaccg tggataaaag ccgctggcag cagggaacg tgtttagctg cagcgtgatg 1080

catgaagcgc tgcataacca ttatacccag aaaagcctga gcctgagccc gggc 1134

<210> 165

<211> 1119

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> IAB2M gamma 1 EH3 (Minibody 2)

<400> 165

gaagtgcagc tggcgcagag cggcgcggaa gtgaaaaaac cgggcgcgag cgtgaaaatt 60

agctgcaaaa ccagcggcta tacctttacc gaatatacca ttcattgggt gaaacaggcg 120

agcggcaaaag gcctggaatg gattggcaac attaaccga acaacggcgg caccacctat 180

aaccagaaat ttgaagatcg cgcgacctg accgtggata aaagcaccag caccgcgtat 240

atggaactga gcagcctgcg cagcgaagat accgcggtgt attattgcgc ggcgggctgg 300

aactttgatt attggggcca gggcaccacc gtgacctga gcagcggcag caccagcggc 360

ggcggcagcg gcggcggcag cggcggcggc ggcagcagcg atattgtgat gacccagagc 420
 ccgagcagcc tgagcgcgag cgtgggcgat cgcgtgacca ttacctgcaa agcgagccag 480
 gatgtgggca ccgcggtgga ttggtatcag cagaaaccgg gcaaagcgcc gaaactgctg 540
 atttattggg cgagcacccg ccataccggc gtgccggatc gctttaccgg cagcggcagc 600
 ggcaccgatt ttaccctgac cattagcagc ctgcagccgg aagattttgc ggattatatt 660
 tgccagcagt ataacagcta tccgtgacc ttggcggcg gcaccaaact ggaaattaaa 720
 gaaccgaaaa gcagcgataa aaccataacc tgcccgcctg gcccgcctg cggcggcggc 780

agcagcggcg gcggcagcgg cggccagccg cggaaccgc aggtgtatac cctgccgccg 840
 agccgcgaag aaatgaccaa aaaccaggcg agcctgacct gcctgggtgaa aggcttttat 900
 ccgagcgata ttgcggtgga atgggaaagc aacggccagc cggaaaacaa ctataaaacc 960
 accccgccgg tgctggatag cgatggcagc ttttttctgt atagcaaact gaccgtggat 1020
 aaaagccgct ggcagcaggg caacgtgttt agctgcagcg tgatgcatga agcgctgcat 1080
 aaccattata ccagaaaaag cctgagcctg agcccgggc 1119

<210> 166

<211> 8

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 166

Thr Cys Pro Pro Cys Pro Pro Cys

1 5

<210> 167

<211> 12

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 167

Glu Arg Lys Ser Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro

1 5 10

<210> 168

<211> 17

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 168

Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Pro

1 5 10 15
Cys

<210> 169
<211> 20
<212> PRT
<213> Homo sapiens
<400> 169
Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Val Glu

1 5 10 15
Cys Pro Pro Cys
20
<210> 170
<211> 20
<212> PRT
<213> Homo sapiens
<400> 170
Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Pro

1 5 10 15
Cys Pro Pro Cys
20
<210> 171
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens
<220>
<223> Hinge region
<220>
<221> VARIANT
<222> 2, 3, 5, 6, 8, 9
<223> Xaa = P, V, or E
<400>
> 171
Cys Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Cys Xaa Xaa

1 5

<210> 172

<211> 6

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<221> VARIANT

<222> 2, 3, 5, 6

<223> Xaa = P, V, or E

<400> 172

Cys Xaa Xaa Cys Xaa Xaa

1 5

<210> 173

<211> 12

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<221> VARIANT

<222> 2, 3, 5, 6, 8, 9, 11, 12

<223> Xaa = P, V, or E

<400> 173

Cys Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Cys Xaa Xaa

1 5 10

<210> 174

<211> 7

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 174

Gly Tyr Thr Phe Thr Arg Tyr

1 5

<210> 175

<211> 6

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 175

Asn Pro Ser Arg Gly Tyr

1 5

<210> 176

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 176

Tyr Tyr Asp Asp His Tyr Ser Leu Asp Tyr

1 5 10

<210> 177

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 177

Ser Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met Asn

1 5 10

<210> 178

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 178

Gln Gln Trp Ser Ser Asn Pro Phe Thr

1 5

<210> 179

<211> 742

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 179

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

1 5 10 15

Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Thr Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Glu Tyr

20 25 30

Thr Ile His Trp Val Lys Gln Ala Ser Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile

35 40 45

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

50 55 60

Glu Asp Arg Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Ala Gly Trp Asn Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

Asp Val Gly Thr Ala Val Asp Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala

165 170 175

Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg His Thr Gly Val Pro

180 185 190

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

195 200 205

Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Asp Tyr Phe Cys Gln Gln Tyr

210 215 220

Asn Ser Tyr Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

225 230 235 240

Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Gly Gly

245 250 255

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

260 265 270

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser

275 280 285
Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu

290 295 300
Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
305 310 315 320
Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
325 330 335
Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
340 345 350
His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser

355 360 365
Pro Gly Lys Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys
370 375 380
Pro Gly Ala Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Thr Ser Gly Tyr Thr Phe
385 390 395 400
Thr Glu Tyr Thr Ile His Trp Val Lys Gln Ala Ser Gly Lys Gly Leu
405 410 415
Glu Trp Ile Gly Asn Ile Asn Pro Asn Asn Gly Gly Thr Thr Tyr Asn

420 425 430
Gln Lys Phe Glu Asp Arg Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Thr Ser
435 440 445
Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val
450 455 460
Tyr Tyr Cys Ala Ala Gly Trp Asn Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
465 470 475 480
Thr Val Thr Val Ser Ser Gly Ser Thr Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly

485 490 495
Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ser Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro
500 505 510
Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys
515 520 525

Ala Ser Gln Asp Val Gly Thr Ala Val Asp Trp Tyr Gln Gln Lys Pro
530 535 540
Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg His Thr
545 550 555 560
Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr
565 570 575
Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Asp Tyr Phe Cys
580 585 590
Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu
595 600 605
Glu Ile Lys Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro
610 615 620
Cys Gly Gly Gly Ser Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gln Pro Arg Glu
625 630 635 640
Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn
645 650 655
Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile
660 665 670
Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr
675 680 685
Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys
690 695 700
Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys
705 710 715 720
Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
725 730 735
Ser Leu Ser Pro Gly Lys
740

<210> 180

<211> 738

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 180

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

1 5 10 15

Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Thr Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Glu Tyr

20 25 30

Thr Ile His Trp Val Lys Gln Ala Ser Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile

35 40 45

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

50 55 60

Glu Asp Arg Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Ala Gly Trp Asn Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

Asp Val Gly Thr Ala Val Asp Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala

165 170 175

Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg His Thr Gly Val Pro

180 185 190

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

195 200 205

Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Asp Tyr Phe Cys Gln Gln Tyr

210 215 220

Asn Ser Tyr Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

225 230 235 240

Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Gly Gly Gly Ser

245 250 255

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

260 265 270

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

275 280 285

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

290 295 300

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

305 310 315 320

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

325 330 335

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

340 345 350

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

355 360 365

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

370 375 380

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

385 390 395 400

Tyr Thr Ile His Trp Val Lys Gln Ala Ser Gly Lys Gly Leu Glu Trp

405 410 415

Ile Gly Asn Ile Asn Pro Asn Asn Gly Gly Thr Thr Tyr Asn Gln Lys

420 425 430

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

435 440 445

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

450 455 460

Cys Ala Ala Gly Trp Asn Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val

465 470 475 480

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

485 490 495
Gly Gly Gly Gly Ser Ser Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser

500 505 510
Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser

515 520 525
Gln Asp Val Gly Thr Ala Val Asp Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys

530 535 540
Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg His Thr Gly Val

545 550 555 560
Pro Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr

565 570 575
Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Asp Tyr Phe Cys Gln Gln

580 585 590
Tyr Asn Ser Tyr Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile

595 600 605
Lys Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Gly Gly Gly

610 615 620
Ser Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr

625 630 635 640
Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu

645 650 655
Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp

660 665 670
Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met

675 680 685
Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp

690 695 700
Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His

705 710 715 720
Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro

725 730 735

Gly Lys

<210> 181

<211> 106

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 181

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

1 5 10 15

Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys Ala Val Lys Gly Phe

20 25 30

Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr

85 90 95

Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly

100 105

<210> 182

<211> 106

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 182

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

1 5 10 15

Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe

20 25 30

Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu

35 40 45

Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe
50 55 60
Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly
65 70 75 80
Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr
85 90 95

Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
100 105

<210> 183

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> C5 forms a disulfide bond with C27 of SEQ ID 184;

C5 forms a disulfide bond with C34 of SEQ ID 185

<400> 183

Val Thr Ile Thr Cys Lys

1 5

<210> 184

<211> 42

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> C27 forms a disulfide bond with C5 of SEQ ID 183

<400> 184

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

1 5 10 15

Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Asp Tyr Phe Cys Gln Gln Tyr Asn Ser

20 25 30

Tyr Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys

35 40

<210> 185

<211> 49

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> C34 forms a disulfide bond with C5 of SEQ ID 183

<400> 185

His Thr Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp

1 5 10 15

Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Asp Tyr

20 25 30

Phe Cys Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr

35 40 45

Lys

<210> 186

<211> 21

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> C4 forms a disulfide bond with C4 of SEQ ID 186;

C7 forms a disulfide bond with C7 of SEQ ID 186

<400> 186

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Gly Gly Gly Ser Ser Gly Gly Gly Ser

1 5 10 15

Gly Gly Gln Pro Arg

20

<210> 187

<211> 4

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> C2 forms a disulfide bond with C7 of SEQ ID 188

<400> 187

Ser Cys Asp Lys

1

<210> 188

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> C7 forms a disulfide bond with C2 of SEQ ID 187;

C7 forms a disulfide bond with C9 of SEQ ID 189;

C7 forms a disulfide bond with C11 of SEQ ID 190;

Alkylation of C7

<400> 188

Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys

1 5 10

<210> 189

<211> 23

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> C9 forms a disulfide bond with C7 of SEQ ID 188;

Alkylation of C9

<400> 189

Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu

1 5 10 15

His Asn His Tyr Thr Gln Lys

20

<210> 190

<211> 25

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> C11 forms a disulfide bond with C7 of SEQ ID 188

<400> 190

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

1 5 10 15

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys

 20 25

<210> 191

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Hinge region

<220>

<221> VARIANT

<222> 1

<223> Xaa does not form a covalent crosslinking bond
with another amino acid

<220>

<221> VARIANT

<222> 3

<223> Xaa = any one of: A, R, N, D, E, Q, G, H, I, L, K,
M, F, P, S, T, W, Y, or V

<220>

<221> VARIANT

<222> 4, 6, 7

<223> Xaa = any amino acid

<400> 191

Xaa Cys Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Cys

1 5

<210> 192

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Hinge region

<220>

<221> VARIANT

<222> 1

<223> Xaa is not a cysteine

<220>

<221> VARIANT

<222> 3

<223> Xaa = any one of: A, R, N, D, E, Q, G, H, I, L, K,

M, F, P, S, T, W, Y, or V

<220>

<221> VARIANT

<222> 4, 6, 7

<223> Xaa = any amino acid

<400> 192

Xaa Cys Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Cys

1

5

<210> 193

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Hinge region

<220>

<221> VARIANT

<222> 1

<223> Xaa = one of A, R, N, D, E, Q, G, H, I, L, K, M,

F, P, S, T, W, Y, or V

<220>

<221> VARIANT

<222> 3

<223> Xaa = any one of A, R, N, D, E, Q, G, H, I, L, K,

M, F, P, S, T, W, Y, or V

<220>

<221> VARIANT

<222> 4, 6, 7

<223> Xaa = any amino acid

<400> 193

Xaa Cys Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Cys

1 5

<210> 194

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Hinge region

<220>

<221> VARIANT

<222> 1

<223> Xaa = any amino acid that does not form a covalent
crosslinking bond

<220>

<221> VARIANT

<222> 3

<223> Xaa = P, V, or E

<220>

<221> VARIANT

<222> 4, 6, 7

<223> Xaa = any amino acid

<400> 194

Xaa Cys Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Cys

1 5

<210> 195

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Hinge region

<220>

<221> VARIANT

<222> 1

<223> Xaa = any amino acid that does not form a covalent
crosslinking bond

<220>

<221> VARIANT

<222> 3

<223> Xaa = P or V

<220>

<221> VARIANT

<222> 4, 6, 7

<223> Xaa = any amino acid

<400> 195

Xaa Cys Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Cys

1

5

<210> 196

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Hinge region

<220>

<221> VARIANT

<222> 1

<223> Xaa = any amino acid that does not form a covalent
crosslinking bond

<220>

<221> VARIANT

<222> 3

<223> Xaa = any one of A, R, N, D, E, Q, G, H, I, L, K,
M, F, P, S, T, W, Y, or V

<220>

<221> VARIANT

<222> 4, 7

<223> Xaa = any amino acid

<220>

<221> VARIANT

<222> 6

<223>

Xaa = P, V, or E

<400> 196

Xaa Cys Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Cys

1 5

<210> 197

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Hinge region

<220>

<221> VARIANT

<222> 1

<223> Xaa = any amino acid that does not form a covalent
crosslinking bond

<220>

<221> VARIANT

<222> 3

<223> Xaa = any one of A, R, N, D, E, Q, G, H, I, L, K,
M, F, P, S, T, W, Y, or V

<220>

<221> VARIANT

<222> 4, 7

<223> Xaa = any amino acid

<220>

<221> VARIANT

<222> 6

<223> Xaa = P or V

<400> 197

Xaa Cys Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Cys

1	5
---	---

<210> 198

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Hinge region

<220>

<221> VARIANT

<222> 1

<223> Xaa = any amino acid that does not form a covalent
crosslinking bond

<220>

<221> VARIANT

<222> 3

<223> Xaa = any one of A, R, N, D, E, Q, G, H, I, L, K,
M, F, P, S, T, W, Y, or V

<220>

<221>

> VARIANT

<222> 4

<223> P or E

<220>

<221> VARIANT

<222> 6, 7

<223> Xaa = any amino acid

<400> 198

Xaa Cys Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Cys

1	5
---	---

<210> 199

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Hinge region

<220>

<221> VARIANT

<222> 1

<223> Xaa = any amino acid that does not form a covalent
crosslinking bond

<220>

<221> VARIANT

<222> 3

<223> Xaa = any one of A, R, N, D, E, Q, G, H, I, L, K,

M, F, P, S, T, W, Y, or V

<220>

<221> VARIANT

<222> 4, 6

<223> Xaa = any amino acid

<220>

<221> VARIANT

<222> 7

<223> Xaa = P or E

<400> 199

Xaa Cys Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Cys

1

5

<210> 200

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Hinge region

<220>

<221> VARIANT

<222> 1

<223> Xaa = any amino acid that does not form a covalent
crosslinking bond

<220>

<221> VARIANT

<222> 3

<223> Xaa = any one of A, R, N, D, E, Q, G, H, I, L, K,
M, F, P, S, T, W, Y, or V

<220>

<221> VARIANT

<222> 4

<223> Xaa = P or E

<220>

<221> VARIANT

<222> 6, 7

<223> Xaa = any amino acid

<400> 200

Xaa Cys Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Cys

1 5

<210> 201

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Hinge region

<220>

<221> VARIANT

<222> 1

<223> Xaa = any amino acid that does not form a covalent
crosslinking bond

<220>

<221> VARIANT

<222> 3, 4

<223> Xaa = VE

<220>

<221> VARIANT

<222> 6, 7

<223> Xaa = any amino acid

<400> 201

Xaa Cys Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Cys

1 5

<210> 202

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Hinge region

<220>

<221> VARIANT

<222> 1

<223> Xaa = any amino acid that does not form a covalent
crosslinking bond

<220>

<221> VARIANT

<222> 3, 4

<223> Xaa = PP

<220>

<221>

> VARIANT

<222> 6, 7

<223> Xaa = any amino acid

<400> 202

Xaa Cys Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Cys

1 5

<210> 203

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Hinge region

<220>

<221> VARIANT

<222> 1

<223> Xaa = any amino acid that does not form a covalent
crosslinking bond

<220>

<221> VARIANT

<222> 3

<223> Xaa = any one of A, R, N, D, E, Q, G, H, I, L, K,
M, F, P, S, T, W, Y, or V

<220>

<221> VARIANT

<222> 4

<223> Xaa = any amino acid

<220>

<221> VARIANT

<222> 6, 7

<223> Xaa = VE

<400> 203

Xaa Cys Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Cys

1 5

<210> 204

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Hinge region

<220>

<221> VARIANT

<222> 1

<223> Xaa = any amino acid that does not form a covalent
crosslinking bond

<220>

<221> VARIANT

<222> 3

<223> Xaa = any one of A, R, N, D, E, Q, G, H, I, L, K,

M, F, P, S, T, W, Y, or V

<220>

<221> VARIANT

<222> 4

<223> Xaa = any amino acid

<220>

<221> VARIANT

<222> 6, 7

<223> Xaa = PP

<400> 204

Xaa Cys Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Cys

1 5

<210> 205

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Hinge region

<220>

<221> VARIANT

<222> 1

<223> Xaa = any amino acid that does not form a covalent
crosslinking bond

<220>

<221> VARIANT

<222> 3, 4

<223> Xaa = VE

<220>

<221>

VARIANT

<222> 6, 7

<223> Xaa = PP

<400> 205

Xaa Cys Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Cys

1 5

<210> 206

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Hinge region

<220>

<221> VARIANT

<222> 1

<223> Xaa = any amino acid that does not form a covalent
crosslinking bond

<220>

<221> VARIANT

<222> 3, 4

<223> Xaa = PP

<220>

<221> VARIANT

<222> 6, 7

<223> Xaa = PP or VE

<400> 206

Xaa Cys Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Cys

1 5

<210> 207

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Hinge region

<220>

<221> VARIANT

<222> 1

<223> Xaa = any amino acid that does not form a covalent
crosslinking bond

<220>

<221> VARIANT

<222> 3, 4

<223> Xaa = VE

<220>

<221> VARIANT

<222> 6, 7

<223> Xaa = VE or PP

<400> 207

Xaa Cys Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Cys

1 5

<210> 208

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Minibody

<220>

<221> VARIANT

<222> 1

<223> Xaa = any amino acid that does not form a covalent
crosslinking bond with another identical amino
acid

<220>

<221> VARIANT

<222> 2-6, 8-9, 11-12

<223> Xaa = any amino acid

<400> 208

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Cys

1 5 10

<210> 209

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Hinge region

<220>

<221> VARIANT

<222> 1

<223> Xaa = serine, threonine, or alanine

<220>

<221> VARIANT

<222> 3

<223> Xaa = any one of A, R, N, D, E, Q, G, H, I, L, K,
M, F, P, S, T, W, Y, or V

<220>

<221> VARIANT

<222> 4, 6, 7

<223> Xaa = any amino acid

<400> 209

Xaa Cys Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Cys

1 5

<210> 210

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Hinge region

<220>

<221> VARIANT

<222> 1

<223> Xaa = serine

<220>

<221> VARIANT

<222> 3

<223> Xaa = any one of A, R, N, D, E, Q, G, H, I, L, K,
M, F, P, S, T, W, Y, or V

<220>

<221> VARIANT

<222> 4, 6, 7

<223> Xaa = any amino acid

<400> 210

Xaa Cys Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Cys

1 5

<210> 211

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Hinge region

<220>

<221> VARIANT

<222> 1

<223> Xaa = alanine

<220>

<221> VARIANT

<222> 3

<223> Xaa = any one of A, R, N, D, E, Q, G, H, I, L, K,

M, F, P, S, T, W, Y, or V

<220>

<221> VARIANT

<222> 4, 6, 7

<223> Xaa = any amino acid

<400> 211

Xaa Cys Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Cys

1 5

<210> 212

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Hinge region

<220>

<221> VARIANT

<222> 1

<223> Xaa = any m amino acids where m is any number of
amino acids of any type

<220>

<221> VARIANT

<222> 2, 3, 4, 5, 8, 9, 11, 12

<223> Xaa = any amino acid

<220>

<221> VARIANT

<222> 6

<223> Xaa = any amino acid other than a cysteine

<400> 212

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Cys

1

5

10

<210> 213

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Hinge region

<220>

<221> VARIANT

<222> 1

<223> Xaa = any m amino acids and is not a cysteine

<220>

<221> VARIANT

<222> 2, 3, 4, 5, 8, 9, 11, 12

<223> Xaa = any amino acid

<220>

<221>

> VARIANT

<222> 6

<223> Xaa = any amino acid other than a cysteine

<400> 213

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Cys

1 5 10

<210> 214

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Hinge region

<220>

<221> VARIANT

<222> 1

<223> Xaa = any m amino acids where m is any number of
amino acids of any type

<220>

<221> VARIANT

<222> 2

<223> Xaa = not a cysteine

<220>

<221>

VARIANT

<222> 3, 4, 5, 8, 9, 11, 12

<223> Xaa = any amino acid

<220>

<221> VARIANT

<222> 6

<223> Xaa = any amino acid other than a cysteine

<400> 214

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Cys

1 5 10

<210> 215

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Hinge region

<220>

<221> VARIANT

<222> 1

<223> Xaa = any m amino acids where m is any number of
amino acids of any type

<220>

<221> VARIANT

<222> 2

<223> Xaa = D

<220>

<221> VARIANT

<222> 3, 4, 5, 8, 9, 11, 12

<223> Xaa = any amino acid

<220>

<221> VARIANT

<222> 6

<223> Xaa = any amino acid other than a cysteine

<400> 215

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Cys

1

5

10

<210> 216

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Hinge region

<220>

<221> VARIANT

<222> 1

<223> Xaa = any m amino acids where m is any number of

amino acids of any type

<220>

<221> VARIANT

<222> 2, 4, 5, 8, 9, 11, 12

<223> Xaa = any amino acid

<220>

<221> VARIANT

<222> 3

<223> Xaa = K

<220>

<221> VARIANT

<222> 6

<223> Xaa = any amino acid other than a cysteine

<400> 216

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Cys

1 5 10

<210> 217

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Hinge region

<220>

<221> VARIANT

<222> 1

<223> Xaa = any m amino acids where m is any number of

amino acids of any type

<220>

<221> VARIANT

<222> 2, 3, 5, 8, 9, 11, 12

<223> Xaa = any amino acid

<220>

<221> VARIANT

<222> 4

<223> Xaa = T

<220>

<221> VARIANT

<222> 6

<223> Xaa = any amino acid other than a cysteine

<400> 217

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Cys

1 5 10

<210> 218

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Hinge region

<220>

<221> VARIANT

<222> 1

<223> Xaa = any m amino acids where m is any number of
amino acids of any type

<220>

<221> VARIANT

<222> 2, 3, 4, 8, 9, 11, 12

<223> Xaa = any amino acid

<220>

<221> VARIANT

<222> 5

<223> Xaa = H

<220>

<221> VARIANT

<222> 6

<223> Xaa = any amino acid other than a cysteine

<400> 218

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Cys

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

<210> 219

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Hinge region

<220>

<221> VARIANT

<222> 1

<223> Xaa = any m amino acids where m is any number of
amino acids of any type

<220>

<221> VARIANT

<222> 2, 3, 4, 5, 8, 9, 11, 12

<223> Xaa = any amino acid

<220>

<221> VARIANT

<222> 6

<223> Xaa = T

<400> 219

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Cys

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

<210> 220

<

211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Hinge region

<220>

<221> VARIANT

<222> 1

<223> Xaa = any m amino acids where m is any number of

amino acids of any type

<220>

<221> VARIANT

<222> 2, 3, 4, 5, 9, 11, 12

<223> Xaa = any amino acid

<220>

<221> VARIANT

<222> 6

<223> Xaa = any amino acid other than a cysteine

<220>

<221> VARIANT

<222> 8

<223> Xaa = a P or a V

<400> 220

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Cys

1

5

10

<210> 221

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Hinge region

<220>

<221> VARIANT

<222> 1

<223> Xaa = any m amino acids where m is any number of

amino acids of any type

<220>

<221> VARIANT

<222> 2, 3, 4, 5, 8, 11, 12

<223> Xaa = any amino acid

<220>

<221> VARIANT

<222> 6

<223> Xaa = any amino acid other than a cysteine

<220>

<221> VARIANT

<222> 9

<223>

> Xaa = a P or a E

<400> 221

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Cys

1 5 10

<210> 222

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Hinge region

<220>

<221> VARIANT

<222> 1

<223> Xaa = any m amino acids where m is any number of
amino acids of any type

<220>

<221> VARIANT

<222> 2, 3, 4, 5, 8, 9, 12

<223> Xaa = any amino acid

<220>

<221> VARIANT

<222> 6

<223> Xaa = any amino acid other than a cysteine

<220>

<221> VARIANT

<222> 11

<223> Xaa = a P or a V

<400> 222

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Cys

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

<210> 223

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Hinge region

<220>

<221> VARIANT

<222> 1

<223> Xaa = any m amino acids where m is any number of
amino acids of any type

<220>

<221> VARIANT

<222> 2, 3, 4, 5, 8, 9, 11

<223> Xaa = any amino acid

<220>

<221> VARIANT

<222> 6

<223> Xaa = any amino acid other than a cysteine

<220>

<221> VARIANT

<222> 12

<223> Xaa = a P or a E

<400> 223

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Cys

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

<210> 224

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Hinge region

<220>

<221> VARIANT

<222> 2, 3, 7, 8, 9, 12, 13, 15, 16

<223> Xaa = any amino acid

<220>

<221> VARIANT

<222> 5

<223>

> Xaa = any m amino acids where m is any number of
amino acids of any type

<220>

<221> VARIANT

<222> 6

<223> Xaa = any amino acid residue other than a cysteine

<220>

<221> VARIANT

<222> 10

<223> Xaa = any amino acid other than a cysteine

<400> 224

Cys Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Cys Xaa Xaa

1 5 10 15

Cys

<210> 225

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<

223> Hinge region

<220>

<221> VARIANT

<222> 2, 6, 7, 8, 9, 12, 13, 15, 16

<223> Xaa = any amino acid

<220>

<221> VARIANT

<222> 3

<223> Xaa = any amino acids other than the amino acid at
position 2

<220>

<221> VARIANT

<222> 5

<223> Xaa = any m amino acids where m is any number of
amino acids of any type

<220>

<221> VARIANT

<222> 10

<223> Xaa = any amino acid other than a cysteine

<400> 225

Cys Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Cys Xaa Xaa

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

Cys

<210> 226

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Hinge region

<220>

<221> VARIANT

<222> 1

<223> Xaa = any m amino acids where m is any number of
amino acids of any type

<220>

<221> VARIANT

<222> 2, 3, 4, 5, 8, 9, 11, 12, 14, 15

<223> Xaa = any amino acid

<220>

<221> VARIANT

<222> 6

<223> Xaa = any amino acid other than a cysteine

<400> 226

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Cys

1 5 10 15

<210> 227

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Hinge region

<220>

<221> VARIANT

<222> 1

<223> Xaa = any m amino acids where m is any number of
amino acids of any type

<220>

<221> VARIANT

<222> 2, 3, 4, 5, 8, 9, 11, 12

<223> Xaa = any amino acid

<220>

<221> VARIANT

<222> 6

<223> Xaa = any amino acid other than a cysteine

<220>

<221> VARIANT

<222> 14

<223> Xaa = a P or a V

<220>

<221> VARIANT

<222> 15

<223> Xaa = a P or an E

<400> 227

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Cys

1 5 10 15

<210> 228

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Hinge region

<220>

<221> VARIANT

<222> 1

<223> Xaa = serine

<220>

<221> VARIANT

<222> 2

<223> Xaa = D

<220>

<221>

> VARIANT

<222> 3

<223> Xaa = K

<220>

<221> VARIANT

<222> 4, 6

<223> Xaa = T

<220>

<221> VARIANT

<222> 5

<223> Xaa = H

<220>

<221> VARIANT

<222> (7)...(10)

<223> Xaa = P

<400> 228

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Cys

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

<210> 229

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Core hinge region of the minibody

<220>

<221> VARIANT

<222> 1

<

223> Xaa = any amino acid other than a cysteine

<220>

<221> VARIANT

<222> 3, 4, 6, 7

<223> Xaa = any amino acid

<400> 229

Xaa Cys Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Cys

1	5
---	---

<210> 230

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Core hinge region of the minibody

<220>

<221> VARIANT

<222> 1

<223> Xaa - = serine

<220>

<221> VARIANT

<222> 3, 4, 6, 7

<223> Xaa = any amino acid

<400> 230

Xaa Cys Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Cys

1 5

<210> 231

<211> 1167

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> IAB25M gamma 2 NH (M1)

<400> 231

atggaaaccg acaccctgct gctgtgggtg ctgctgctct ggggtcccagg ctccaccggt 60

gaaattgtgt tgacacagtc tccagccacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 120

ctctcctgca gtgccagctc aagtgtagt tacatgaact ggtaccaaca gaaacctggc 180

caggctccca ggctcctcat ctatgacaca tccaaactgg cttctggagt ccttgctcac 240

ttcaggggca gtgggtctgg gacagacttc actctacca tcagcagcct agagcctgaa 300

gattttgcag tttattactg tcagcagtgg agtagtaacc cattcacgtt cggccaaggg 360

accaaggtgg aaatcaaagg ctccacatcc ggcggaggct ctggcgggtg atctggcgga 420

ggcggctcat cccaggtgca gctggtgcag tctggggctg aggtgaagaa gcctggggcc 480

tcagtgaagg tctcctgcaa ggcttctgga tacacctca ccaggtacac gatgcactgg 540

gtgcgacagg cccctggaca agggcttgag tggatgggat acattaatcc tagccgtggt 600

tatactaatt acaatcagaa gttcaaggac aggggtacca tgaccacaga cacgtccatc 660

agcacagcct acatggagct gagcaggctg agatctgacg acacggccgt gtattactgt 720

gcgagatatt atgatgatca ttactcactt gactactggg gccagggcac cctggtcacc 780

gtctctcag agcgcaaatg ttgtgtcgag tgcccaccgt gcccagcacc acctgtggca 840

ggaccggggc agccccgaga accacaggtg tacaccctgc cccatcccg ggaggagatg 900

accaagaacc aggtcagcct gacctgcctg gtcaaaggct tctacccag cgacatcgcc 960

gtggagtggg agagcaatgg gcagccggag aacaactaca agaccacgcc tcccatgctg 1020

gactccgacg gctccttctt cctctacagc aagctcaccg tggacaagag caggtggcag 1080

caggggaacg tcttctcatg ctccgtgatg catgaggctc tgcacaacca ctacacgag 1140

aagagcctct ccctgtctcc gggtaaa 1167

<210> 232

<211> 389

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223>

> IAB25M gamma 2 NH (M1)

<400> 232

Met Glu Thr Asp Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro

1 5 10 15

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

20 25 30

Leu Ser Pro Gly Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Ser Ala Ser Ser Ser

35 40 45

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

50 55 60

Leu Leu Ile Tyr Asp Thr Ser Lys Leu Ala Ser Gly Val Pro Ala His

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

Asn Pro Phe Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Gly Ser

115 120 125

Thr Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ser

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

Thr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220
Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
225 230 235 240
Ala Arg Tyr Tyr Asp Asp His Tyr Ser Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
245 250 255

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro
260 265 270
Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Gly Gln Pro Arg Glu Pro
275 280 285
Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln
290 295 300
Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala
305 310 315 320

Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr
325 330 335
Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu
340 345 350
Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser
355 360 365
Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser
370 375 380

Leu Ser Pro Gly Lys

385

<210> 233

<211> 1176

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> IAB25M gamma 2 EH (M1)

<400> 233

atggagaccg acaccctcct cctgtgggtc ctgctgctgt gggcgcctgg aagcaccggc 60
gagattgtgc tgaccagtc ccctgccacc ctgagcctgt cccctggaga aagagccaca 120

ctgagctgtt ccgcctctc cagcgtgagc tacatgaact ggtaccagca gaagcccga 180
caggctccca ggctgctcat ctacgacaca agcaagctgg ctacggcgt gcccgctcat 240
ttcagaggca gcggaagcgg cacagatatt accctgacca tttcctcct ggagcctgag 300

gacttcgccg tgiattactg ccagcagtgg agtccaacc cttcacatt cggccagggc 360
accaaggtgg aaatcaagg atccacaagc ggaggcggca gcggcggcgg cagcggaggc 420
ggaggcagca gccaggtgca actggtgcag agcggagccg aggtgaagaa gcccgaggcc 480
agcgtgaagg tgtcctgcaa agcctccgga tacacctca ccaggtacac aatgcactgg 540
gtgaggcagg ctcccgcca gggcctggag tggatgggat acatcaacc cagcaggggc 600
tacaccaact ataaccagaa gttcaaggac agggtagca tgaccaccga caccagcatt 660
tccaccgtt atatggagct cagcagactg aggtccgacg acaccgccgt gtactactgc 720
gccaggtatt acgacgacca ctacagcctg gactactggg gccagggaac actcgtgacc 780

gtgtccagcg agaggaagtg ctgctggaa tgtccctt gtcctggagg cggaagctcc 840
ggaggaggat ccggcggaca gccaggga cctcaggtgt acaccctgcc cccagcagg 900
gaggagatga caaagaacca ggtgagcctg acctgtctgg tgaagggtt ctacccagc 960
gacatcgccg tggagtggga gagcaacggc cagcctgaga acaactaca gacaacccc 1020
cctatgctgg atagcgacgg cagctcttc ctgtactcca agtcaccgt ggataagagc 1080
aggtggcagc agggaaacgt ctttagctgt tccgtgatgc acgaggcct gcacaaccac 1140
tacaccaga agagcctctc cctgtcccc ggcaag 1176

<210>

234

<211> 392

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> IAB25M gamma 2 EH (M1)

<400> 234

Met Glu Thr Asp Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro

1 5 10 15

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

20 25 30

Leu Ser Pro Gly Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Ser Ala Ser Ser Ser

35 40 45

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

50

55

60

Leu Leu Ile Tyr Asp Thr Ser Lys Leu Ala Ser Gly Val Pro Ala His

65

70

75

80

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

85

90

95

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

100

105

110

Asn Pro Phe Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Gly Ser

115

120

125

Thr Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ser

130

135

140

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

145

150

155

160

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

165

170

175

Thr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met

180

185

190

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

195

200

205

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

210

215

220

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

225

230

235

240

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

245

250

255

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro

260

265

270

Pro Cys Pro Gly Gly Gly Ser Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gln Pro

275

280

285

Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr

290 295 300
Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser

305 310 315 320
Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr
325 330 335
Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr
340 345 350
Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe
355 360 365
Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys

370 375 380
Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
385 390
<210> 235
<211> 8
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Hinge region
<220>
<221> VARIANT
<222> 1
<223> Xaa = a serine or an alanine
<220>
<221> VARIANT
<222> 3
<223> Xaa = any one of A, R, N, D, E, Q, G, H, I, L, K,
M, F, P, S, T, W, Y, or V
<220>
<221> VARIANT
<222> 4, 6, 7
<223> Xaa = any amino acid

<400> 235

Xaa Cys Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Cys

1 5

<210> 236

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Hinge region

<220>

<221> VARIANT

<222> 1

<223> Xaa = T

<220>

<221> VARIANT

<222> 3

<223> Xaa = any one of A, R, N, D, E, Q, G, H, I, L, K,
M, F, P, S, T, W, Y, or V

<220>

<221> VARIANT

<222> 4, 6, 7

<223> Xaa = any amino acid

<400> 236

Xaa Cys Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Cys

1 5

<210> 237

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Hinge region

<220>

<221> VARIANT

<222> 1

<223> Xaa = any amino acid that does not form a covalent
crosslinking bond

<220>

<221> VARIANT

<222> 3

<223> Xaa = any one of A, R, N, D, E, Q, G, H, I, L, K,
M, F, P, S, T, W, Y, or V

<220>

<221> VARIANT

<222> 4, 7

<223> Xaa = P or E

<220>

<221> VARIANT

<222> 6

<223> Xaa = any amino acid

<400> 237

Xaa Cys Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Cys

1 5

<210> 238

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Hinge region

<220>

<221> VARIANT

<222> 1

<223> Xaa = any amino acid that does not form a covalent
crosslinking bond

<220>

<221> VARIANT

<222> 3, 4

<223> Xaa = VE or PP

<220>

<221> VARIANT

<222> 6, 7

<223> Xaa = any amino acid

<400> 238

Xaa Cys Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Cys

1 5

<210> 239

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Hinge region

<220>

<221> VARIANT

<222> 1

<223> Xaa = any amino acid that does not form a covalent
crosslinking bond

<220>

<221> VARIANT

<222> 3, 4

<223> Xaa = VE

<220>

<221> VARIANT

<222> 6, 7

<223> Xaa = any amino acid

<400> 239

Xaa Cys Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Cys

1 5

<210> 240

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Hinge region

<220>

<221> VARIANT

<222> 1

<223> Xaa = any amino acid that does not form a covalent
crosslinking bond with another amino acid

<220>

<221> VARIANT

<222> 2-6, 8-9, 11-12

<223> Xaa = any amino acid

<400> 240

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Cys

1 5 10

<210> 241

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Hinge region

<220>

<221> VARIANT

<222> 1-5, 8-9, 11-12

<223> Xaa = any amino acid

<220>

<221> VARIANT

<222> 6

<223> Xaa = any amino acid other than a cysteine

<400> 241

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Cys

1 5 10

<210> 242

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Hinge region

<220>

<221> VARIANT

<222> 1

<223> Xaa = serine or alanine

<220>

<221> VARIANT

<222> 2, 3, 4, 5, 8, 9, 11, 12

<223> Xaa = any amino acid

<220>

<221> VARIANT

<222> 6

<

223> Xaa = any amino acid other than a cysteine

<400> 242

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Cys

1

5

10

<210> 243

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Hinge region

<220>

<221> VARIANT

<222> 1

<223> Xaa = any m amino acids where m is any number of
amino acids of any type

<220>

<221> VARIANT

<222> 2

<223> Xaa = D

<220>

<221> VARIANT

<222> 3

<223> Xaa = K

<220>

<221> VARIANT

<222> 4, 6

<223> Xaa = T

<220>

<221> VARIANT

<222> 8, 11

<223> Xaa = P or V

<220>

<221> VARIANT

<222> (5)...(5)

<223> Xaa = H

<220>

<221> VARIANT

<222> (9)...(9)

<223> Xaa = P or E

<220>

<221> VARIANT

<222> (12)...(12)

<223> Xaa = any amino acid

<400> 243

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Cys

1

5

10

<210> 244

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Hinge region

<220>

<221> VARIANT

<222> 1

<223> Xaa = any amino acid that does not form a covalent crosslinking bond

<220>

<221> VARIANT

<222> 3

<223> Xaa = any one of A, R, N, D, E, Q, G, H, I, L, K, M, F, P, S, T, W, Y, or V

<220>

<221> VARIANT

<222> 4, 6, 7, 9, 10

<223> Xaa = any amino acid

<400> 244

Xaa Cys Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Cys

1 5 10

<210> 245

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Hinge region

<220>

<221> VARIANT

<222> 1

<223> Xaa = any m amino acids where m is any number of amino acids of any type

<220>

<221> VARIANT

<222> 2, 3, 4, 5, 8, 9, 11, 12, 14, 15

<223> Xaa = any amino acid

<220>

<221> VARIANT

<222> 6

<223> Xaa = any amino acid other than a cysteine

<400> 245

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Cys

1 5 10 15

<210> 246

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Hinge region

<220>

<221> VARIANT

<222> 1

<223> Xaa = any m amino acids where m is any number of
amino acids of any type

<220>

<221> VARIANT

<222> 2, 3, 4, 5, 8, 9, 11, 12

<223> Xaa = any amino acid

<220>

<221> VARIANT

<222> 6

<223> Xaa = any amino acid other than a cysteine

<220>

<221> VARIANT

<222> 14

<223> Xaa = P or V

<220>

<221> VARIANT

<

222> 15

<223> Xaa = P or E

<400> 246

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Cys

1 5 10 15

<210> 247

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Hinge region

<220>

<221> VARIANT

<222> 1

<223> Xaa = serine

<220>

<221> VARIANT

<222> 2

<223> Xaa = D

<220>

<221> VARIANT

<222> 3

<223> Xaa = K

<220>

<221> VARIANT

<222> 4, 6

<223> Xaa = T

<220>

<221> VARIANT

<222> 8, 9, 11, 12

<223> Xaa = P

<220>

<221> VARIANT

<222> (5)...(5)

<223> Xaa = H

<400> 247

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Cys

1

5

10

<210> 248

<211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Hinge region
 <220>
 <221> VARIANT
 <222> 2, 3, 5, 6, 8, 9
 <223> Xaa = not a cysteine
 <400> 248
 Cys Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Cys Xaa Xaa
 1 5

<210> 249
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Hinge region
 <220>
 <221> VARIANT
 <222> 2, 3, 5, 6
 <223> Xaa = not a cysteine
 <400> 249
 Cys Xaa Xaa Cys Xaa Xaa
 1 5

<210> 250
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Hinge region
 <220>
 <221> VARIANT
 <222> 2, 3, 5, 6, 8, 9, 11, 12

<223> Xaa = not a cysteine

<400> 250

Cys Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Cys Xaa Xaa

1 5 10

<210> 251

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Minibody

<220>

<221> VARIANT

<222> 1, 3, 4, 6, 7

<223> Xaa = cannot be a cysteine

<400> 251

Xaa Cys Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Cys

1 5

<210> 252

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Minibody

<220>

<221> VARIANT

<222> 1

<223> Xaa = any amino acid or no amino acid

<220>

<221> VARIANT

<222> 3, 4, 6, 7

<223> Xaa = any amino acid

<220>

<221> VARIANT

<222> 9

<223> Xaa = any amino acid, no amino acid, or P

<400> 252

Xaa Cys Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Cys Xaa

1 5

<210> 253

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Minibody

<220>

<221> VARIANT

<222> 1, 3, 4, 6, 7

<223> Xaa = cannot be a cysteine

<220>

<221> VARIANT

<222> 9

<223> Xaa = any amino acid, no amino acid, or P

<400> 253

Xaa Cys Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Cys Xaa

1 5

<210> 254

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Minibody

<220>

<221> VARIANT

<222> 1

<223> Xaa = any amino acid other than a cysteine

<220>

<221> VARIANT

<222> 3, 4, 6, 7

<223> Xaa = any amino acid

<220>

<221> VARIANT

<222> 9

<223> Xaa = any amino acid, no amino acid, or P

<400> 254

Xaa Cys Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Cys Xaa

1 5

<210> 255

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Minibody

<220>

<221> VARIANT

<222> 1

<223> Xaa = Serine

<220>

<221> VARIANT

<222> 3, 4, 6, 7

<223> Xaa = any amino acid

<220>

<221> VARIANT

<222> 9

<223> Xaa = any amino acid, no amino acid, or P

<400> 255

Xaa Cys Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Cys Xaa

1 5

<210> 256

<211> 50

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 256

Cys Pro Arg Cys Pro Glu Pro Lys Ser Cys Asp Thr Pro Pro Pro Cys

1 5 10 15

Pro Arg Cys Pro Glu Pro Lys Ser Cys Asp Thr Pro Pro Pro Cys Pro

20 25 30

Arg Cys Pro Glu Pro Lys Ser Cys Asp Thr Pro Pro Pro Cys Pro Arg

35 40 45

Cys Pro

50