



**(19) 대한민국특허청(KR)**  
**(12) 공개특허공보(A)**

(11) 공개번호 10-2024-0163751  
(43) 공개일자 2024년11월19일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)  
C07K 16/28 (2006.01) A61K 39/00 (2006.01)  
A61P 35/00 (2006.01)
- (52) CPC특허분류  
C07K 16/2863 (2013.01)  
A61P 35/00 (2018.01)
- (21) 출원번호 10-2024-7036173
- (22) 출원일자(국제) 2023년03월30일  
심사청구일자 없음
- (85) 번역문제출일자 2024년10월29일
- (86) 국제출원번호 PCT/US2023/016963
- (87) 국제공개번호 WO 2023/192514  
국제공개일자 2023년10월05일
- (30) 우선권주장  
63/325,312 2022년03월30일 미국(US)  
63/325,317 2022년03월30일 미국(US)

- (71) 출원인  
파인트리 테라퓨틱스 인코포레이티드  
미국 02138 매사추세츠주 캠브리지 767 콘코드 애비뉴
- (72) 발명자  
송 호준  
미국 02138 매사추세츠주 캠브리지 767 콘코드 애비뉴 파인트리 테라퓨틱스 인코포레이티드 내
- (74) 대리인  
김진희, 김태홍

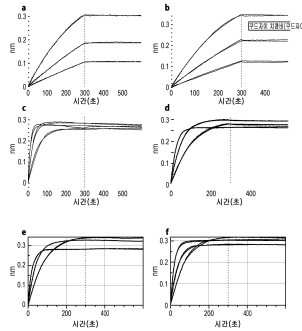
전체 청구항 수 : 총 30 항

(54) 발명의 명칭 **NRP1 결합 도메인을 포함하는 이중특이적 항체 및 이의 사용 방법**

**(57) 요약**

본 개시내용은 이중특이적 항체, 및 상기 이중특이적 항체를 포함하는 암 치료 조성물 및 방법을 제공한다. 이중특이적 항체는 C-말단에서 EGFR 결합 도메인 및 뉴로필린(NRP1) 특이적 결합 도메인을 포함하는 폴리펩타이드를 포함한다. NRP1에 특이적으로 결합하는 단일클론 항체도 제공한다.

**대표도**



(52) CPC특허분류

A61K 2039/505 (2013.01)

C07K 2317/31 (2013.01)

C07K 2317/622 (2013.01)

C07K 2317/73 (2013.01)

C07K 2317/76 (2013.01)

C07K 2317/77 (2013.01)

C07K 2317/92 (2013.01)

---

## 명세서

### 청구범위

#### 청구항 1

인간 뉴로필린-1 수용체(NRP1)에 결합하는 제1 결합 도메인, 및 NRP1 이외의 표적에 결합하는 제2 결합 도메인을 포함하는 이중특이적 항체로서, 제1 결합 도메인이

(i) CDR1, CDR2 및 CDR3 영역(각각 HCDR1, HCDR2 및 HCDR3)을 포함하는 항체 중쇄 가변(VH) 도메인으로서, 여기서 HCDR1은 서열번호 79로 제시된 서열로 구성되고, HCDR2는 서열번호 80으로 제시된 서열로 구성되며, HCDR3은 서열번호 81 내지 84 중 어느 하나로 제시된 서열로 구성되는 것인 항체 중쇄 가변(VH) 도메인; 및

(ii) CDR1, CDR2 및 CDR3 영역(각각 LCDR1, LCDR2 및 LCDR3)을 포함하는 항체 경쇄 가변(VL) 도메인으로서, 여기서 LCDR1은 서열번호 85 내지 87 중 어느 하나로 제시된 서열로 구성되고, LCDR2는 서열번호 88로 제시된 서열로 구성되며, LCDR3은 서열번호 89로 제시된 서열로 구성되는 것인 항체 경쇄 가변(VL) 도메인

을 포함하는 것인 이중특이적 항체.

#### 청구항 2

제1항에 있어서,

(i) HCDR1은 서열번호 79로 제시된 서열로 구성되고, HCDR2는 서열번호 80으로 제시된 서열로 구성되며, HCDR3은 서열번호 84 중 어느 하나로 제시된 서열로 구성되고;

(ii) LCDR1은 서열번호 85로 제시된 서열로 구성되고, LCDR2는 서열번호 88로 제시된 서열로 구성되며, LCDR3은 서열번호 89로 제시된 서열로 구성되는 것인 이중특이적 항체.

#### 청구항 3

인간 뉴로필린-1 수용체(NRP1)에 결합하는 제1 결합 도메인, 및 NRP1 이외의 표적에 결합하는 제2 결합 도메인을 포함하는 이중특이적 항체로서, 제1 결합 도메인이

(i) CDR1, CDR2 및 CDR3 영역(각각 HCDR1, HCDR2 및 HCDR3)을 포함하는 항체 중쇄 가변(VH) 도메인으로서, 여기서 HCDR1은 서열번호 79로 제시된 서열을 포함하고, HCDR2는 서열번호 80으로 제시된 서열을 포함하며, HCDR3은 서열번호 81 내지 84 중 어느 하나로 제시된 서열을 포함하는 것인 항체 중쇄 가변(VH) 도메인; 및

(ii) CDR1, CDR2 및 CDR3 영역(각각 LCDR1, LCDR2 및 LCDR3)을 포함하는 항체 경쇄 가변(VL) 도메인으로서, 여기서 LCDR1은 서열번호 85 내지 87 중 어느 하나로 제시된 서열을 포함하고, LCDR2는 서열번호 88로 제시된 서열을 포함하며, LCDR3은 서열번호 89로 제시된 서열을 포함하는 것인 항체 경쇄 가변(VL) 도메인

을 포함하는 것인 이중특이적 항체.

#### 청구항 4

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, 제2 결합 도메인이 EGFR을 표적화하는 것인 이중특이적 항체.

#### 청구항 5

제4항에 있어서, 제2 결합 도메인이 N-말단 EGFR 결합 중쇄 가변 도메인(VH) 및 중쇄 불변 1 도메인(CH1)으로 구성되고, 제1 결합 도메인이 C-말단 NRP1 결합 단일 체 가변 단편(scFv)으로 구성되며, 여기서 N-말단 가변 중쇄(VH) 및 C-말단 scFv 결합 도메인이 연속 서열의 반대쪽 말단에 있는 것인 이중특이적 항체.

#### 청구항 6

제5항에 있어서, 제2 결합 도메인이 중쇄 불변 2 도메인(CH2) 및 중쇄 불변 3 도메인(CH3)을 추가로 포함하는 것인 이중특이적 항체.

**청구항 7**

제6항에 있어서, C-말단 NRP1 결합 scFv가 가요성 링커 펩타이드에 의해 중쇄 가변 도메인(VH)에 연결된 경쇄 가변 도메인(VL)을 포함하는 것인 이중특이적 항체.

**청구항 8**

제7항에 있어서, 상응하는 EGFR 결합 경쇄 가변 도메인(VL) 및 경쇄 불변 도메인(CL)을 추가로 포함하고, 2개의 폴리펩타이드로 구성된 이중특이적 항체.

**청구항 9**

제4항에 있어서, EGFR을 표적화하는 제2 결합 도메인이

(i) CDR1, CDR2 및 CDR3 영역(각각 HCDR1, HCDR2 및 HCDR3)을 포함하는 항체 중쇄 가변(VH) 도메인으로서, 여기서 HCDR1은 서열번호 71로 제시된 서열로 구성되고, HCDR2는 서열번호 72로 제시된 서열로 구성되며, HCDR3은 서열번호 73으로 제시된 서열로 구성되는 것인 항체 중쇄 가변(VH) 도메인; 및

(ii) CDR1, CDR2 및 CDR3 영역(각각 LCDR1, LCDR2 및 LCDR3)을 포함하는 항체 경쇄 가변(VL) 도메인으로서, 여기서 LCDR1은 서열번호 74로 제시된 서열로 구성되고, LCDR2는 서열번호 75로 제시된 서열로 구성되며, LCDR3은 서열번호 76으로 제시된 서열로 구성되는 것인 항체 경쇄 가변(VL) 도메인

을 포함하는 것인 이중특이적 항체.

**청구항 10**

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, 제1 결합 도메인이 서열번호 77로 제시된 서열을 포함하는 VH 도메인 및 서열번호 78로 제시된 서열을 포함하는 VL 도메인을 포함하는 것인 이중특이적 항체.

**청구항 11**

제4항에 있어서, 제1 결합 도메인이 서열번호 77로 제시된 서열을 포함하는 VH 도메인 및 서열번호 78로 제시된 서열을 포함하는 VL 도메인을 포함하고; 제2 결합 도메인이 서열번호 69로 제시된 서열을 포함하는 VH 도메인 및 서열번호 70으로 제시된 서열을 포함하는 VL 도메인을 포함하는 것인 이중특이적 항체.

**청구항 12**

제4항에 있어서, 제1 결합 도메인 및 제2 결합 도메인이 서열번호 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 또는 39로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 이중특이적 항체 중쇄를 포함하는 것인 이중특이적 항체.

**청구항 13**

제12항에 있어서, 이중특이적 항체 중쇄가 서열번호 12로 제시된 아미노산 서열을 포함하는 항체 경쇄와 쌍을 이루는 것인 이중특이적 항체.

**청구항 14**

제13항에 있어서, 이중특이적 항체 중쇄가 서열번호 11 또는 39로 제시된 아미노산 서열을 포함하고, 이중특이적 항체 경쇄가 서열번호 12로 제시된 아미노산 서열을 포함하는 것인 이중특이적 항체.

**청구항 15**

제4항에 있어서, EGFR 결합 도메인의 결합 친화성( $K_D$ )이  $<0.1$  nM인 이중특이적 항체.

**청구항 16**

제4항에 있어서, NRP1 결합 도메인의 결합 친화성( $K_D$ )이 0.1 nM 내지 100 nM 범위인 이중특이적 항체.

**청구항 17**

제4항에 있어서, EGFR 결합 도메인이 NRP1 결합 도메인에 의한 NRP1에 대한  $K_D$ 보다 적어도 2배, 적어도 10배,

적어도 20배, 적어도 30배, 적어도 40배, 적어도 50배, 적어도 60배, 적어도 70배, 적어도 80배, 적어도 100배 또는 100배 이상 더 큰, EGFR에 대한  $K_D$ 를 포함하는 것인 이중특이적 항체.

**청구항 18**

인간 뉴로필린-1 수용체(NRP1)에 결합하는 제1 결합 도메인 및 인간 표피 성장 인자 수용체(EGFR)에 결합하는 제2 결합 도메인을 포함하는 이중특이적 항체.

**청구항 19**

제4항의 이중특이적 항체를 포함하는 약학 조성물.

**청구항 20**

제4항의 이중특이적 항체를 인코딩하는 폴리뉴클레오타이드.

**청구항 21**

제20항에 있어서, 이중특이적 항체가 서열번호 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24 및 40 중 어느 하나로 제시된 폴리뉴클레오타이드 서열에 의해 인코딩된 중쇄 폴리펩타이드를 포함하는 것인 폴리뉴클레오타이드.

**청구항 22**

제21항에 있어서, 폴리뉴클레오타이드 서열이 단백질 발현용 벡터에 삽입되는 것인 폴리뉴클레오타이드.

**청구항 23**

세포에 의해 뉴로필린-1(NRP1) 수용체를 내재화하는 방법으로서, 세포를 제1항의 이중특이적 항체와 접촉시켜 NRP1이 세포에 의해 내재화되도록 하는 단계를 포함하는 방법.

**청구항 24**

세포에 의해 표피 성장 인자 수용체(EGFR)를 내재화하는 방법으로서, 세포를 제4항의 이중특이적 항체와 접촉시켜 EGFR이 세포에 의해 내재화되도록 하는 단계를 포함하는 방법.

**청구항 25**

대상체에서 비정상적인 NRP1 발현과 관련된 암을 치료하는 방법으로서, 제1항의 이중특이적 항체 또는 이의 약학 조성물을 상기 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는 방법.

**청구항 26**

대상체에서 비정상적인 EGFR 발현과 관련된 암을 치료하는 방법으로서, 제4항의 이중특이적 항체 또는 이의 약학 조성물을 상기 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는 방법.

**청구항 27**

제26항에 있어서, 암이 비-소세포 폐암인 방법.

**청구항 28**

제26항에 있어서, 조합 요법을 위한 적어도 하나의 추가 화학요법제(들)를 대상체에게 투여하는 단계를 추가로 포함하는 방법.

**청구항 29**

요법에 사용하기 위한 의약의 제조에 있어서 제1항에 따른 이중특이적 항체의 용도.

**청구항 30**

비정상적인 EGFR 발현과 관련된 암을 치료하기 위한 의약의 제조에 있어서 제4항에 따른 이중특이적 항체의 용도.

**발명의 설명**

**기술 분야**

**관련 출원**

[0001]

[0002]

본 출원은 2022년 3월 30일에 출원된 미국 가출원 제63/325,312호 및 2022년 3월 30일에 출원된 미국 가출원 제 63/325,317호에 대한 우선권을 주장하며, 두 출원의 전체 내용은 본원에 참고로 포함된다.

**배경 기술**

[0003]

고형 종양 및 혈액암, 예컨대, 백혈병 및 림프종은 치료 항체로 치료된다. 고형 종양 및 혈액암에 대한 항체의 치료는 상이한 반응을 보인다. 예를 들어, 혈액암에서 항체 치료에 대한 반응률은 30% 내지 51%에 달하는 반면, 고형 종양에 대한 반응률은 8% 내지 15%에 불과하다. 이것은 혈액 내의 암 세포가 항체 표적화에 접근 가능한 반면, 고형 종양 효능은 혈관의 유출과 종양 침투에 의해 좌우되기 때문이다.

[0004]

항체는 1) 항체 크기 약 150 kDa이라는 고유 특성이 내피 장벽을 통한 침투를 방해한다는 점, 2) 높은 종양 간질액 압력, 및 3) 감소된 관류와 비정상적인 혈관신생, 낮은 림프관 형성, 높은 세포 밀도 및 높은 세포의 밀도를 비롯한, 종양 조직의 비정상적인 미세구조적/생리학적 특성을 포함하는 여러 이유로 감소된 종양 침투를 가진다(Jain and Stylianopoulos, 2010). 이러한 이유로, 종양 조직에 축적되는 항체의 양은 매우 적어(종양 조직 그램당 주사된 용량의 0.01% 내지 0.0001%), 낮은 반응을 초래한다(Thurber et al. 2008). 따라서, 항체가 종양 조직에 선택적으로 축적되고 종양 조직을 침투하는 높은 능력을 갖게 할 수 있는 항체 기술의 개발은 독성을 감소시킬 것이고 치료 효과를 증가시킬 것이다.

[0005]

더 작은 항체를 조작하고 항원 결합 특이성을 조절하고 항체 투여를, 종양 조직 침투를 촉진하는 분자와 조합하여 종양 침투를 개선하고자 노력하는 중이다. 예를 들어, 항체 단편, 예컨대, 항원 결합 단편(Fab)(50 kDa), 단일쇄 가변 단편(scFv)(30 kDa) 및 중쇄 가변 도메인(VH)(14 kDa)은 내피 장벽을 극복하는 감소된 크기를 가진다. 그러나, 항체 단편은 Fc 단편을 갖지 않고 그의 작은 크기로 인해, 신장은 생체내 투여 후 혈청으로부터 단편을 빠르게 여과하여, 순환 반감기와 치료 효과를 감소시킨다(Behr et al. 1998). 항체는 종양 침투를 개선하는 특징을 갖출 수 있다.

**발명의 내용**

[0006]

본 개시내용은 뉴로필린-1 수용체(NRP1) 결합 도메인, 및 제2 표적에 결합하는 제2 결합 도메인, 예컨대, 수용체 티로신 키나제(RTK) 결합 도메인, 예를 들어, 표피 성장 인자 수용체(EGFR) 결합 도메인을 포함하는 이중특이적 항체를 제공한다. 따라서, 한 측면에서, 본 개시내용은 인간 뉴로필린-1 수용체(NRP1)에 결합하는 제1 결합 도메인, 및 인간 표피 성장 인자 수용체(EGFR)에 결합하는 제2 결합 도메인을 포함하는 이중특이적 항체를 제공한다.

[0007]

본 개시내용은 유익한 특성을 가진 이중특이적 항체를 형성하는 항-NRP1 단일클론 항체의 NRP1 결합 도메인을 제공한다. 예를 들어, 본 개시내용의 NRP1 x EGFR 이중특이적 항체는 항-EGFR mAb 또는 항-NRP1 mAb 단독 또는 조합에 비해 NRP1 및 EGFR 수용체의 내재화 및 분해 둘 다에 대한 향상된 능력을 나타낸다. 본 개시내용은 EGFR에 대한 높은 친화성을 가진 EGFR x NRP1 이중특이적 항체를 제공하여 EGFR을 발현하는 종양에 대한 높은 귀소 능력을 제공한다. 상기 이중특이적 항체는 EGFR 및 NRP1에 대한 비대칭적 결합 친화성을 가지며, 이때 EGFR에 대한 친화성은 NRP1에 대한 친화성보다 적어도 10배 더 높다. 항체의 NRP1 표적화 부분은 건강한 조직에서 독성을 감소시키기 위해 NRP1 점유 시간을 줄이는 NRP1 결합 도메인을 함유한다. 이중특이적 항체에서 이러한 특징의 조합은 독성 부작용을 감소시키면서, 암 치료에 대한 높은 치료 효능을 전달하는 잠재력을 유의미하게 증가시킨다.

[0008]

한 측면에서, 본 개시내용은 인간 뉴로필린-1 수용체(NRP1)에 결합하는 제1 결합 도메인, 및 NRP1 이외의 표적에 결합하는 제2 결합 도메인을 포함하는 이중특이적 항체에 관한 것으로, 여기서 제1 결합 도메인은

[0009]

i. CDR1, CDR2 및 CDR3 영역(각각 HCDR1, HCDR2 및 HCDR3)을 포함하는 항체 중쇄 가변(VH) 도메인; 및

[0010]

ii. CDR1, CDR2 및 CDR3 영역(각각 LCDR1, LCDR2 및 LCDR3)을 포함하는 항체 경쇄 가변(VL) 도메인

[0011]

을 포함하고, 여기서 HCDR1은 서열번호 79로 제시된 서열로 구성되고, HCDR2는 서열번호 80으로 제시된 서열로

구성되며, HCDR3은 서열번호 81 내지 84 중 어느 하나로 제시된 서열로 구성되고; LCDR1은 서열번호 85 내지 87 중 어느 하나로 제시된 서열로 구성되며, LCDR2는 서열번호 88로 제시된 서열로 구성되고, LCDR3은 서열번호 89로 제시된 서열을 구성된다.

- [0012] 특정 실시양태에서, (i) HCDR1은 서열번호 79로 제시된 서열로 구성되고, HCDR2는 서열번호 80으로 제시된 서열로 구성되고, HCDR3은 서열번호 84로 제시된 서열로 구성되고; (ii) LCDR1은 서열번호 85로 제시된 서열로 구성되고, LCDR2는 서열번호 88로 제시된 서열로 구성되고, LCDR3은 서열번호 89로 제시된 서열로 구성된다.
- [0013] 특정 실시양태에서, 제1 결합 도메인은 (i) CDR1, CDR2 및 CDR3 영역(각각 HCDR1, HCDR2 및 HCDR3)을 포함하는 항체 중쇄 가변(VH) 도메인; 및 (ii) CDR1, CDR2 및 CDR3 영역(각각 LCDR1, LCDR2 및 LCDR3)을 포함하는 항체 경쇄 가변(VL) 도메인을 포함하고, 여기서 HCDR1은 서열번호 79로 제시된 서열을 포함하고, HCDR2는 서열번호 80으로 제시된 서열을 포함하고, HCDR3은 서열번호 81 내지 84 중 어느 하나로 제시된 서열을 포함하고, LCDR1은 서열번호 85 내지 87 중 어느 하나로 제시된 서열을 포함하고, LCDR2는 서열번호 88로 제시된 서열을 포함하고, LCDR3은 서열번호 89로 제시된 서열을 포함한다.
- [0014] 특정 실시양태에서, 제2 결합 도메인은 EGFR을 표적화한다. 예를 들어, 한 실시양태에서, 제2 결합 도메인은 N-말단 EGFR 결합 중쇄 가변 도메인(VH) 및 중쇄 불변 1 도메인(CH1)으로 구성되고, 제1 결합 도메인은 C-말단 NRP1 결합 단일쇄 가변 단편(scFv)으로 구성되며, 여기서 N-말단 가변 중쇄(VH) 및 C-말단 scFv 결합 도메인은 연속 서열의 반대쪽 말단에 있다. 한 실시양태에서, 제2 결합 도메인은 중쇄 불변 2 도메인(CH2) 및 중쇄 불변 3 도메인(CH3)을 추가로 포함한다. 한 실시양태에서, C-말단 NRP1 결합 scFv는 가요성 링커 펩타이드에 의해 중쇄 가변 도메인(VH)에 연결된 경쇄 가변 도메인(VL)을 포함한다. 한 실시양태에서, 이중특이적 항체는 상응하는 EGFR 결합 경쇄 가변 도메인(VL) 및 경쇄 불변 도메인(CL)을 추가로 포함하고, 여기서 이중특이적 항체는 2개의 폴리펩타이드로 구성된다.
- [0015] 특정 실시양태에서, EGFR을 표적화하는 제2 결합 도메인은 (i) CDR1, CDR2 및 CDR3 영역(각각 HCDR1, HCDR2 및 HCDR3)을 포함하는 항체 중쇄 가변(VH) 도메인; 및 (ii) CDR1, CDR2 및 CDR3 영역(각각 LCDR1, LCDR2 및 LCDR3)을 포함하는 항체 경쇄 가변(VL) 도메인을 포함하고, 여기서 HCDR1은 서열번호 71로 제시된 서열로 구성되고, HCDR2는 서열번호 72로 제시된 서열로 구성되고, HCDR3은 서열번호 73으로 제시된 서열로 구성되고, LCDR1은 서열번호 74로 제시된 서열로 구성되며, LCDR2는 서열번호 75로 제시된 서열로 구성되고, LCDR3은 서열번호 76으로 제시된 서열로 구성된다.
- [0016] 특정 실시양태에서, 이중특이적 항체는 서열번호 77로 제시된 서열을 포함하는 VH 도메인 및 서열번호 78로 제시된 서열을 포함하는 VL 도메인을 포함하는 제1 결합 도메인(즉, NRP1 결합 도메인)을 포함한다.
- [0017] 특정 실시양태에서, 이중특이적 항체는 서열번호 77로 제시된 서열을 포함하는 VH 도메인 및 서열번호 78로 제시된 서열을 포함하는 VL 도메인을 포함하는 제1 결합 도메인(즉, NRP1 결합 도메인); 및 서열번호 69로 제시된 서열을 포함하는 VH 도메인 및 서열번호 70으로 제시된 서열을 포함하는 VL 도메인을 포함하는 제2 결합 도메인(즉, EGFR 결합 도메인)을 포함한다.
- [0018] 이중특이적 항체의 특정 실시양태에서, 제1 결합 도메인 및 제2 결합 도메인은 서열번호 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 또는 39로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 이중특이적 항체 중쇄를 포함한다. 특정 실시양태에서, 이중특이적 항체 중쇄는 서열번호 12로 제시된 아미노산 서열을 포함하는 항체 경쇄와 쌍을 이룬다. 특정 실시양태에서, 이중특이적 항체 중쇄는 서열번호 11 또는 39로 제시된 아미노산 서열을 포함하고, 이중특이적 항체 경쇄는 서열번호 12로 제시된 아미노산 서열을 포함한다.
- [0019] 이중특이적 항체의 특정 실시양태에서, EGFR 결합 도메인의 결합 친화성( $K_D$ )은  $<0.1$  nM이다. 특정 실시양태에서, NRP1 결합 도메인의 결합 친화성( $K_D$ )은 0.1 nM 내지 100 nM이다. 특정 실시양태에서, EGFR 결합 도메인은 NRP1 결합 도메인에 의한 NRP1에 대한  $K_D$ 보다 적어도 2배, 적어도 10배, 적어도 20배, 적어도 30배, 적어도 40배, 적어도 50배, 적어도 60배, 적어도 70배, 적어도 80배, 적어도 100배 또는 100배 이상 더 큰, EGFR에 대한  $K_D$ 를 포함한다.
- [0020] 또 다른 측면에서, 본 개시내용은 본 개시내용의 이중특이적 항체를 포함하는 약학 조성물에 관한 것이다.
- [0021] 또 다른 측면에서, 본 개시내용은 본 개시내용의 이중특이적 항체를 인코딩하는 폴리뉴클레오타이드에 관한 것이다. 한 실시양태에서, 이중특이적 항체는 서열번호 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24 및 40 중 어느 하나로 제시된 폴리뉴클레오타이드 서열에 의해 인코딩된 중쇄 폴리펩타이드를 포함한다. 한 실시양태에서, 폴

리뉴클레오타이드 서열은 단백질 발현용 벡터에 삽입된다.

[0022] 또 다른 측면에서, 본 개시내용은 세포에 의해 뉴로핀-1(NRP1) 수용체를 내재화하는 방법으로서, NRP1이 세포에 의해 내재화되도록 세포를 본 개시내용의 이중특이적 항체와 접촉시키는 단계를 포함하는 방법에 관한 것이다. 또 다른 실시양태에서, 본 개시내용은 세포에 의해 표피 성장 인자 수용체(EGFR)를 내재화하는 방법으로서, EGFR이 세포에 의해 내재화되도록 세포를 본 개시내용의 NRP1 x EGFR 이중특이적 항체와 접촉시키는 단계를 포함하는 방법을 제공한다.

[0023] 또 다른 측면에서, 본 개시내용은 대상체에서 비정상적인 NRP1 발현과 관련된 암을 치료하는 방법으로서, 본 개시내용의 이중특이적 항체 또는 이의 약학 조성물을 상기 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는 방법에 관한 것이다. 또 다른 실시양태에서, 본 개시내용은 대상체에서 비정상적인 EGFR 발현과 관련된 암을 치료하는 방법으로서, 본 개시내용의 NRP1 x EGFR 이중특이적 항체 또는 이의 약학 조성물을 상기 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는 방법을 제공한다. 한 실시양태에서, 암은 비-소세포 폐암이다. 한 실시양태에서, 상기 방법은 조합 요법을 위한 적어도 하나의 추가 화학요법제(들)를 대상체에게 투여하는 단계를 추가로 포함한다.

[0024] 또 다른 측면에서, 본 개시내용은 요법, 예를 들어, 본원에 설명된 바와 같은 암 치료에 사용하기 위한 의약의 제조에 있어서 본 개시내용의 이중특이적 항체의 용도에 관한 것이다. 한 실시양태에서, 본 개시내용은 비정상적인 EGFR 발현과 관련된 암을 치료하기 위한 의약의 제조에 있어서 본 개시내용의 NRP1 x EGFR 이중특이적 항체의 용도에 관한 것이다.

### 도면의 간단한 설명

[0025] 하기 도면은 예로서 제공되며, 본 발명의 범위를 제한하기 위한 것이 아니다.

도 1a: 옥테트 레드(Octet Red) 96 센서그램에 의해 측정된, 서열번호 1의 중쇄 폴리펩타이드를 가진 bsAb와 재조합 인간 EGFR의 결합은 중앙 관련 수용체 표적화 항체의 용량 의존적 결합을 묘사한다. 그래프 상의 각각의 선은 특정 bsAb 농도에서의 결합 동역학을 나타낸다(좌측에서 우측으로 10, 5 및 2.5 nM).

도 1b: 옥테트 레드 96 센서그램에 의해 측정된, 서열번호 2의 중쇄 폴리펩타이드를 가진 bsAb와 재조합 인간 EGFR의 결합은 중앙 관련 수용체 표적화 항체의 용량 의존적 결합을 묘사한다. 그래프 상의 각각의 선은 특정 bsAb 농도에서의 결합 동역학을 나타낸다(좌측에서 우측으로 10, 5 및 2.5 nM).

도 1c: 옥테트 레드 96 센서그램에 의해 측정된, 서열번호 3의 중쇄 폴리펩타이드를 가진 bsAb와 재조합 인간 EGFR의 결합은 중앙 관련 수용체 표적화 항체의 용량 의존적 결합을 묘사한다. 그래프 상의 각각의 선은 특정 bsAb 농도에서의 결합 동역학을 나타낸다(좌측에서 우측으로 10, 5 및 2.5 nM).

도 1d: 옥테트 레드 96 센서그램에 의해 측정된, 서열번호 4의 중쇄 폴리펩타이드를 가진 bsAb와 재조합 인간 EGFR의 결합은 중앙 관련 수용체 표적화 항체의 용량 의존적 결합을 묘사한다. 그래프 상의 각각의 선은 특정 bsAb 농도에서의 결합 동역학을 나타낸다(좌측에서 우측으로 10, 5 및 2.5 nM).

도 1e: 옥테트 레드 96 센서그램에 의해 측정된, 서열번호 5의 중쇄 폴리펩타이드를 가진 bsAb와 재조합 인간 EGFR의 결합은 중앙 관련 수용체 표적화 항체의 용량 의존적 결합을 묘사한다. 그래프 상의 각각의 선은 특정 bsAb 농도에서의 결합 동역학을 나타낸다(좌측에서 우측으로 10, 5 및 2.5 nM).

도 1f: 옥테트 레드 96 센서그램에 의해 측정된, 서열번호 6의 중쇄 폴리펩타이드를 가진 bsAb와 재조합 인간 EGFR의 결합은 중앙 관련 수용체 표적화 항체의 용량 의존적 결합을 묘사한다. 그래프 상의 각각의 선은 특정 bsAb 농도에서의 결합 동역학을 나타낸다(좌측에서 우측으로 10, 5 및 2.5 nM).

도 1g: 옥테트 레드 96 센서그램에 의해 측정된, 서열번호 7의 중쇄 폴리펩타이드를 가진 bsAb와 재조합 인간 EGFR의 결합은 중앙 관련 수용체 표적화 항체의 용량 의존적 결합을 묘사한다. 그래프 상의 각각의 선은 특정 bsAb 농도에서의 결합 동역학을 나타낸다(좌측에서 우측으로 10, 5 및 2.5 nM).

도 1h: 옥테트 레드 96 센서그램에 의해 측정된, 서열번호 8의 중쇄 폴리펩타이드를 가진 bsAb와 재조합 인간 EGFR의 결합은 중앙 관련 수용체 표적화 항체의 용량 의존적 결합을 묘사한다. 그래프 상의 각각의 선은 특정 bsAb 농도에서의 결합 동역학을 나타낸다(좌측에서 우측으로 10, 5 및 2.5 nM).

도 1i: 옥테트 레드 96 센서그램에 의해 측정된, 서열번호 9의 중쇄 폴리펩타이드를 가진 bsAb와 재조합 인간 EGFR의 결합은 중앙 관련 수용체 표적화 항체의 용량 의존적 결합을 묘사한다. 그래프 상의 각각의 선은 특정

bsAb 농도에서의 결합 동역학을 나타낸다(좌측에서 우측으로 10, 5 및 2.5 nM).

도 1j: 옥테트 레드 96 센서그램에 의해 측정된, 서열번호 10의 중쇄 폴리펩타이드를 가진 bsAb와 재조합 인간 EGFR의 결합은 중앙 관련 수용체 표적화 항체의 용량 의존적 결합을 묘사한다. 그래프 상의 각각의 선은 특정 bsAb 농도에서의 결합 동역학을 나타낸다(좌측에서 우측으로 10, 5 및 2.5 nM).

도 1k: 옥테트 레드 96 센서그램에 의해 측정된, 서열번호 11의 중쇄 폴리펩타이드를 가진 bsAb와 재조합 인간 EGFR의 결합은 중앙 관련 수용체 표적화 항체의 용량 의존적 결합을 묘사한다. 그래프 상의 각각의 선은 특정 bsAb 농도에서의 결합 동역학을 나타낸다(좌측에서 우측으로 10, 5 및 2.5 nM).

도 2a: 옥테트 레드 96 센서그램에 의해 측정된, 서열번호 1의 중쇄 폴리펩타이드를 가진 bsAb와 재조합 NRP1의 결합은 중앙 관련 수용체 표적화 항체의 용량 의존적 결합을 묘사한다. 그래프 상의 각각의 선은 특정 bsAb 농도에서의 결합 동역학을 나타낸다(좌측에서 우측으로 10, 5 및 2.5 nM).

도 2b: 옥테트 레드 96 센서그램에 의해 측정된, 서열번호 2의 중쇄 폴리펩타이드를 가진 bsAb와 재조합 NRP1의 결합은 중앙 관련 수용체 표적화 항체의 용량 의존적 결합을 묘사한다. 그래프 상의 각각의 선은 특정 bsAb 농도에서의 결합 동역학을 나타낸다(좌측에서 우측으로 10, 5 및 2.5 nM).

도 2c: 옥테트 레드 96 센서그램에 의해 측정된, 서열번호 3의 중쇄 폴리펩타이드를 가진 bsAb와 재조합 NRP1의 결합은 중앙 관련 수용체 표적화 항체의 용량 의존적 결합을 묘사한다. 그래프 상의 각각의 선은 특정 bsAb 농도에서의 결합 동역학을 나타낸다(좌측에서 우측으로 10, 5 및 2.5 nM).

도 2d: 옥테트 레드 96 센서그램에 의해 측정된, 서열번호 4의 중쇄 폴리펩타이드를 가진 bsAb와 재조합 NRP1의 결합은 중앙 관련 수용체 표적화 항체의 용량 의존적 결합을 묘사한다. 그래프 상의 각각의 선은 특정 bsAb 농도에서의 결합 동역학을 나타낸다(좌측에서 우측으로 10, 5 및 2.5 nM).

도 2e: 옥테트 레드 96 센서그램에 의해 측정된, 서열번호 5의 중쇄 폴리펩타이드를 가진 bsAb와 재조합 NRP1의 결합은 중앙 관련 수용체 표적화 항체의 용량 의존적 결합을 묘사한다. 그래프 상의 각각의 선은 특정 bsAb 농도에서의 결합 동역학을 나타낸다(좌측에서 우측으로 10, 5 및 2.5 nM).

도 2f: 옥테트 레드 96 센서그램에 의해 측정된, 서열번호 6의 중쇄 폴리펩타이드를 가진 bsAb와 재조합 NRP1의 결합은 중앙 관련 수용체 표적화 항체의 용량 의존적 결합을 묘사한다. 그래프 상의 각각의 선은 특정 bsAb 농도에서의 결합 동역학을 나타낸다(좌측에서 우측으로 10, 5 및 2.5 nM).

도 2g: 옥테트 레드 96 센서그램에 의해 측정된, 서열번호 7의 중쇄 폴리펩타이드를 가진 bsAb와 재조합 NRP1의 결합은 중앙 관련 수용체 표적화 항체의 용량 의존적 결합을 묘사한다. 그래프 상의 각각의 선은 특정 bsAb 농도에서의 결합 동역학을 나타낸다(좌측에서 우측으로 10, 5 및 2.5 nM).

도 2h: 옥테트 레드 96 센서그램에 의해 측정된, 서열번호 8의 중쇄 폴리펩타이드를 가진 bsAb와 재조합 NRP1의 결합은 중앙 관련 수용체 표적화 항체의 용량 의존적 결합을 묘사한다. 그래프 상의 각각의 선은 특정 bsAb 농도에서의 결합 동역학을 나타낸다(좌측에서 우측으로 10, 5 및 2.5 nM).

도 2i: 옥테트 레드 96 센서그램에 의해 측정된, 서열번호 9의 중쇄 폴리펩타이드를 가진 bsAb와 재조합 NRP1의 결합은 중앙 관련 수용체 표적화 항체의 용량 의존적 결합을 묘사한다. 그래프 상의 각각의 선은 특정 bsAb 농도에서의 결합 동역학을 나타낸다(좌측에서 우측으로 10, 5 및 2.5 nM).

도 2j: 옥테트 레드 96 센서그램에 의해 측정된, 서열번호 10의 중쇄 폴리펩타이드를 가진 bsAb와 재조합 NRP1의 결합은 중앙 관련 수용체 표적화 항체의 용량 의존적 결합을 묘사한다. 그래프 상의 각각의 선은 특정 bsAb 농도에서의 결합 동역학을 나타낸다(좌측에서 우측으로 10, 5 및 2.5 nM).

도 2k: 옥테트 레드 96 센서그램에 의해 측정된, 서열번호 11의 중쇄 폴리펩타이드를 가진 bsAb와 재조합 NRP1의 결합은 중앙 관련 수용체 표적화 항체의 용량 의존적 결합을 묘사한다. 그래프 상의 각각의 선은 특정 bsAb 농도에서의 결합 동역학을 나타낸다(좌측에서 우측으로 10, 5 및 2.5 nM).

도 3: 항-인-VEGFR2(Y1175)를 사용하여 인산화된 VEGFR2를 검출함으로써, 서열번호 1의 중쇄 폴리펩타이드를 가진 bsAb와 함께 HUVEC 세포를 인큐베이션하는 것이 VEGF 매개 VEGFR2 신호 활성화를 방해하지 못하는 것을 보여주는 웨스턴 블롯.

도 4a: 웨스턴 블롯 밀도는 VEGFR2 신호전달을 억제하는 데 있어서 서열번호 2의 중쇄 폴리펩타이드를 가진

bsAb의 용량 반응을 보여준다. HUVEC 세포를, 서열번호 2의 중쇄 폴리펩타이드를 가진 bsAb(1  $\mu$ M부터 6배 연속 희석된 농도)와 함께 30분 동안 사전인큐베이션하고 VEGF165(2.2 ng/ml)로 추가 10분 동안 처리하여 VEGFR2 활성화를 유도하였다. 항-인-VEGFR2(Y1175)를 사용하여 용해물의 웨스턴 블롯팅으로 VEGFR2 신호전달 활성화를 검출하였다. Image J 소프트웨어 밀도계 분석을 이용하여 밴드 강도를 VEGF165 대조군 용해물과 비교함으로써, 서열번호 2의 중쇄 폴리펩타이드를 가진 bsAb의 억제 효과를 계산하였다(숫자는 P-VEGFR2(Y1175) 블롯 아래에 표시됨).

도 4b: Prism9를 사용하여 VEGFR2 인산화에서 서열번호 2의 중쇄 폴리펩타이드를 가진 bsAb의 IC50을 계산하였다(n=2).

도 5a: 웨스턴 블롯 밀도는 VEGFR2 신호전달을 억제하는 데 있어서 서열번호 3의 중쇄 폴리펩타이드를 가진 bsAb의 용량 반응을 보여준다. HUVEC 세포를, 서열번호 3의 중쇄 폴리펩타이드를 가진 bsAb(1  $\mu$ M부터 6배 연속 희석된 농도)와 함께 30분 동안 사전인큐베이션하고 VEGF165(2.2 ng/ml)로 추가 10분 동안 처리하여 VEGFR2 활성화를 유도하였다. 항-인-VEGFR2(Y1175)를 사용하여 용해물의 웨스턴 블롯팅으로 VEGFR2 신호전달 활성화를 검출하였다. Image J 소프트웨어 밀도계 분석을 이용하여 밴드 강도를 VEGF165 대조군 용해물과 비교함으로써, 서열번호 3의 중쇄 폴리펩타이드를 가진 bsAb의 억제 효과를 계산하였다(숫자는 P-VEGFR2(Y1175) 블롯 아래에 표시됨).

도 5b: VEGFR2 인산화 억제에 있어서 서열번호 3의 중쇄 폴리펩타이드를 가진 bsAb의 IC50 그래프(n=2). Prism9를 사용하여 IC50을 계산하였다.

도 6a: 웨스턴 블롯 밀도는 서열번호 4의 중쇄 폴리펩타이드를 가진 bsAb 매개 VEGFR2 신호전달 억제의 용량 반응을 보여준다. HUVEC 세포를, 서열번호 4의 중쇄 폴리펩타이드를 가진 bsAb(1  $\mu$ M부터 6배 연속 희석된 농도)와 함께 30분 동안 사전인큐베이션하고 VEGF165(2.2 ng/ml)로 추가 10분 동안 처리하여 VEGFR2 활성화를 유도하였다. 항-인-VEGFR2(Y1175)를 사용하여 용해물의 웨스턴 블롯팅으로 VEGFR2 신호전달 활성화를 검출하였다. Image J 소프트웨어 밀도계 분석을 이용하여 밴드 강도를 VEGF165 대조군 용해물과 비교함으로써, 서열번호 4의 중쇄 폴리펩타이드를 가진 bsAb의 억제 효과를 계산하였다(숫자는 P-VEGFR2(Y1175) 블롯 아래에 표시됨).

도 6b: VEGFR2 인산화 억제에 있어서 서열번호 4의 중쇄 폴리펩타이드를 가진 bsAb의 IC50 그래프(n=2). Prism9를 사용하여 IC50을 계산하였다.

도 7a: 웨스턴 블롯 밀도는 VEGFR2 신호전달을 억제하는 데 있어서 서열번호 5의 중쇄 폴리펩타이드를 가진 bsAb의 용량 반응을 보여준다. HUVEC 세포를, 서열번호 5의 중쇄 폴리펩타이드를 가진 bsAb(1  $\mu$ M부터 6배 연속 희석된 농도)와 함께 30분 동안 사전인큐베이션하고 VEGF165(2.2 ng/ml)로 추가 10분 동안 처리하여 VEGFR2 활성화를 유도하였다. 항-인-VEGFR2(Y1175)를 사용하여 용해물의 웨스턴 블롯팅으로 VEGFR2 신호전달 활성화를 검출하였다. Image J 소프트웨어 밀도계 분석을 이용하여 밴드 강도를 VEGF165 대조군 용해물과 비교함으로써, 서열번호 5의 중쇄 폴리펩타이드를 가진 bsAb의 억제 효과를 계산하였다(숫자는 P-VEGFR2(Y1175) 블롯 아래에 표시됨).

도 7b: VEGFR2 인산화 억제에 있어서 서열번호 5의 중쇄 폴리펩타이드를 가진 bsAb의 IC50 그래프(n=1). Prism9를 사용하여 IC50을 계산하였다.

도 8a: 웨스턴 블롯 밀도는 VEGFR2 신호전달을 억제하는 데 있어서 서열번호 6의 중쇄 폴리펩타이드를 가진 bsAb의 용량 반응을 보여준다. HUVEC 세포를, 서열번호 6의 중쇄 폴리펩타이드를 가진 bsAb(1  $\mu$ M부터 6배 연속 희석된 농도)와 함께 30분 동안 사전인큐베이션하고 VEGF165(2.2 ng/ml)로 추가 10분 동안 처리하여 VEGFR2 활성화를 유도하였다. 항-인-VEGFR2(Y1175)를 사용하여 용해물의 웨스턴 블롯팅으로 VEGFR2 신호전달 활성화를 검출하였다. Image J 소프트웨어 밀도계 분석을 이용하여 밴드 강도를 VEGF165 대조군 용해물과 비교함으로써, 서열번호 6의 중쇄 폴리펩타이드를 가진 bsAb의 억제 효과를 계산하였다(숫자는 P-VEGFR2(Y1175) 블롯 아래에 표시됨).

도 8b: VEGFR2 인산화 억제에 있어서 서열번호 6의 중쇄 폴리펩타이드를 가진 bsAb의 IC50 그래프(n=2). Prism9를 사용하여 IC50을 계산하였다.

도 9a: 웨스턴 블롯 밀도는 VEGFR2 신호전달을 억제하는 데 있어서 서열번호 7의 중쇄 폴리펩타이드를 가진 bsAb의 용량 반응을 보여준다. HUVEC 세포를, 서열번호 7의 중쇄 폴리펩타이드를 가진 bsAb(1  $\mu$ M부터 6배 연속 희석된 농도)와 함께 30분 동안 사전인큐베이션하고 VEGF165(2.2 ng/ml)로 추가 10분 동안 처리하여 VEGFR2 활성화를 유도하였다. 항-인-VEGFR2(Y1175)를 사용하여 용해물의 웨스턴 블롯팅으로 VEGFR2 신호전달 활성화를 검

출하였다. Image J 소프트웨어 밀도계 분석을 이용하여 밴드 강도를 VEGF165 대조군 용해물과 비교함으로써, 서열번호 7의 중쇄 폴리펩타이드를 가진 bsAb의 억제 효과를 계산하였다(숫자는 P-VEGFR2(Y1175) 블롯 아래에 표시됨).

도 9b: VEGFR2 인산화 억제에 있어서 서열번호 7의 중쇄 폴리펩타이드를 가진 bsAb의 IC50 그래프(n=2). Prism9를 사용하여 IC50을 계산하였다.

도 10a: 웨스턴 블롯 밀도는 VEGFR2 신호전달을 억제하는 데 있어서 서열번호 11의 중쇄 폴리펩타이드를 가진 bsAb의 용량 반응을 보여준다. HUVEC 세포를, 서열번호 11의 중쇄 폴리펩타이드를 가진 bsAb(1  $\mu$ M부터 6배 연속 희석된 농도)와 함께 30분 동안 사전인큐베이션하고 VEGF165(2.2 ng/ml)로 추가 10분 동안 처리하여 VEGFR2 활성화를 유도하였다. 항-인-VEGFR2(Y1175)를 사용하여 용해물의 웨스턴 블롯팅으로 VEGFR2 신호전달 활성화를 검출하였다. Image J 소프트웨어 밀도계 분석을 이용하여 밴드 강도를 VEGF165 대조군 용해물과 비교함으로써, 서열번호 11의 중쇄 폴리펩타이드를 가진 bsAb의 억제 효과를 계산하였다(숫자는 P-VEGFR2(Y1175) 블롯 아래에 표시됨).

도 10b: VEGFR2 인산화 억제에 있어서 서열번호 11의 중쇄 폴리펩타이드를 가진 bsAb의 IC50 그래프(n=2). Prism9를 사용하여 IC50을 계산하였다.

도 11a: 서열번호 1의 중쇄 폴리펩타이드를 가진 bsAb의 존재 하에서 대조군에 비해 H1975 세포의 퍼센트 성장률.

도 11b: 서열번호 3, 7, 9, 10 및 11의 중쇄 폴리펩타이드를 가진 bsAb의 존재 하에서 대조군에 비해 H1975 세포의 퍼센트 성장률.

도 12a: PBS(대조군) 및 서열번호 1의 중쇄 폴리펩타이드를 가진 bsAb(10 mg/kg, ip, BIW)로 치료한 H1975 이종이식 마우스 모델에서의 평균 종양 성장 억제.

도 12b: PBS(대조군), 파니투무맙(5 mg/kg, ip, BIW), 또는 서열번호 1의 중쇄 폴리펩타이드를 가진 bsAb(5 mg/kg, ip, BIW)로 치료한 H1975 이종이식 마우스 모델에서의 평균 종양 성장 억제.

도 12c: PBS(대조군), 파니투무맙(5 mg/kg, ip, BIW), 또는 서열번호 2의 중쇄 폴리펩타이드를 가진 bsAb(6.825 mg/kg, ip, BIW)로 치료한 H1975 이종이식 마우스 모델에서의 평균 종양 성장 억제.

도 12d: PBS(대조군), 파니투무맙(5 mg/kg, ip, BIW), 또는 서열번호 3의 중쇄 폴리펩타이드를 가진 bsAb(6.85 mg/kg, ip, BIW)로 치료한 H1975 이종이식 마우스 모델에서의 평균 종양 성장 억제.

도 12e: PBS(대조군), 파니투무맙(5 mg/kg, ip, BIW), 또는 서열번호 7의 중쇄 폴리펩타이드를 가진 bsAb(6.85 mg/kg, ip, BIW)로 치료한 H1975 이종이식 마우스 모델에서의 평균 종양 성장 억제.

도 12f: PBS(대조군), 파니투무맙(5 mg/kg, ip, BIW), 또는 서열번호 7, 9 및 11의 중쇄 폴리펩타이드를 가진 bsAb(6.86 mg/kg, ip, BIW)로 치료한 H1975 이종이식 마우스 모델에서의 평균 종양 성장 억제.

도 13a 및 도 13b: NRP1(도 13a) 또는 EGFR(도 13b)에의 결합에 대한 구축물 12의 결합 동역학, 여기서  $K_D$ 가 표시되어 있다.

도 14: IgG1 동형 대조군, 구축물 11 bsAb 또는 구축물 12 bsAb로 치료한 H1975 이종이식 마우스 모델에서의 평균 종양 성장 억제.

도 15: 본 개시내용의 이중특이적 항체의 개략도.

도 16a 내지 도 16d: 항-NRP1 단독, 항-EGFR 단독, 또는 항-NRP1 + 항-EGFR 조합과 비교될 때 구축물 11 bsAb에 의한 H1975 세포(도 16a, 도 16c) 또는 H1975-NRP1 OE 세포(도 16b, 도 16d)에서의 NRP1 수용체(도 16a, 도 16b) 또는 EGFR 수용체(도 16c, 도 16d)의 수용체 내재화.

도 17: 항-NRP1 단독, 항-EGFR 단독, 또는 항-NRP1 + 항-EGFR 조합과 비교될 때 구축물 11 bsAb에 의해 매개된 NRP1 수용체 또는 EGFR 수용체의 수용체 분해.

### 발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

정의

[0026]

- [0027] 달리 정의하지 않는 한, 본원에서 사용된 모든 기술 및 과학 용어는 본 개시내용이 속하는 분야에서 통상의 기술을 가진 자에 의해 일반적으로 이해되는 의미와 동일한 의미를 가진다. 따라서, 하기 용어들은 하기 의미를 가진다:
- [0028] 본 명세서 및 청구범위에서 사용된 바와 같이, 문맥이 달리 명시하지 않는 한, 단수형은 복수형을 포함한다.
- [0029] 본원에서 사용된 바와 같이, 개시된 폴리펩타이드의 "투여"는 예를 들어, 본원에 기재된 바와 같은 임의의 적합한 투여 제제 또는 경로를 이용하여, 본원에 기재된 바와 같이, 본 발명의 폴리펩타이드 또는 조성물, 또는 이의 프로드러그 또는 다른 약학적으로 허용되는 유도체를 대상체에게 전달하는 것을 포괄한다.
- [0030] 본원에서 사용된 바와 같이, 둘 이상의 항목의 목록에서 사용될 때, 용어 "및/또는"은 나열된 항목 중 어느 하나를 단독으로 사용할 수 있거나, 나열된 항목 중 둘 이상의 임의의 조합을 사용할 수 있음을 의미한다.
- [0031] 본원에서 사용된 바와 같이, 용어 "이중특이적 항체"는 적어도 2개의 상이한 표적 항원 또는 표적 에피토프에 결합하는 적어도 2개의 결합 부위를 포함하는 항체를 지칭한다.
- [0032] 본원에서 사용된 바와 같이, "치료", "치료한다" 또는 "치료하는"은 본원에서 교환 가능하게 사용되며, 치료적 이점을 얻는 접근법을 지칭한다. 치료적 이점은 중양이 위약에 비해 줄어들거나, 동일한 크기를 유지하거나, 무진행 생존이 증가하는지에 의해 결정된다.
- [0033] 본원에서 사용된 바와 같이, "대상체"는 암을 가진 임의의 동물, 예를 들어, 포유류, 예컨대, 실험 동물, 농장 동물, 애완동물 등을 지칭할 수 있다. 일부 실시양태에서, 동물은 영장류, 바람직하게는 인간이다. 본원에서 사용된 바와 같이, 용어 "대상체"와 "피험체"는 교환 가능하게 사용된다. 용어 "대상체" 및 "피험체"는 동물(예를 들어, 조류, 예컨대, 닭, 메추라기 또는 칠면조, 또는 포유류), 구체적으로 비영장류(예를 들어, 소, 돼지, 말, 양, 토끼, 기니피그, 래트, 고양이, 개 및 마우스) 및 영장류(예를 들어, 원숭이, 침팬지 및 인간)를 포함하는 "포유류", 더 구체적으로 인간을 지칭한다. 한 실시양태에서, 대상체는 비인간 동물, 예컨대, 농장 동물(예를 들어, 말, 소, 돼지 또는 양) 또는 애완동물(예를 들어, 개, 고양이, 기니피그 또는 토끼)이다. 바람직한 실시양태에서, 대상체는 "인간"이다.
- [0034] 본원에서 사용된 바와 같이, 용어 "융합"은 동일하거나 상이한 기능 또는 구조를 가진 두 분자를 통합하는 것을 의미하며, 융합 방법은 펩타이드를 단백질, 소분자 약물, 나노입자 또는 리포솜에 결합시킬 수 있는 임의의 물리적, 화학적 또는 생물학적 방법을 포함할 수 있다. 바람직하게는, 융합은 링커 펩타이드에 의해 매개될 수 있으며, 예를 들어, 링커 펩타이드는 항체 경쇄 가변 영역(Fc)의 단편의 C-말단에 융합될 수 있다. 대안적으로, 두 분자는 폴리펩타이드 서열 내에서의 다수의 도메인의 통합에 의해 융합된다.
- [0035] 본원에서 사용된 용어 "링커"는 두 폴리펩타이드 서브유닛을 함께 연결하는 분자 또는 펩타이드이다. 링커 펩타이드 서열은 아미노산 서열 (GGGS)<sub>n</sub>을 포함할 수 있고, 여기서 n은 반복부의 수를 정의한다. 서브유닛 반복부의 수는 링커 펩타이드 유연성을 정의한다. 가요성 펩타이드 링커는 두 결합 도메인 사이에 더 많은 유연성을 허용한다.
- [0036] 본원에서 사용된 바와 같이, "유효량"은 원하는 항암 반응을 유발하기에 충분한 양을 지칭한다. 본 발명에서, 원하는 생물학적 반응은 세포 증식을 억제하는 것이다. 대상체에게 투여되는 이중특이적 항체의 정확한 양은 투여 방식, 암의 유형과 중증도, 및 대상체의 특성, 예컨대, 전반적인 건강, 연령, 성별, 체중 및 약물에 대한 내성에 의해 좌우될 것이다. 숙련된 당업자는 이러한 요인 및 기타 요인에 따라 적절한 용량을 결정할 수 있을 것이다. 다른 항암제와 공투여할 때, 예를 들어, 화학요법과 공투여할 때, 제2 작용제의 "유효량"은 사용된 약물의 유형에 의해 좌우될 것이다. 승인된 작용제에 대한 적절한 용량은 알려져 있으며, 대상체의 상태, 치료되는 암의 유형 및 투여되는 본원의 폴리펩타이드의 양에 따라 숙련된 당업자에 의해 조절될 수 있다. 양이 명확하게 언급되지 않은 경우, 유효량을 추정해야 한다. 예를 들어, 본원에 기재된 이중특이적 항체는 매주 또는 2주마다 약 0.01 내지 100 mg/kg 체중/일의 용량 범위로 대상체에게 투여될 수 있다.
- [0037] 용어 "폴리펩타이드", "펩타이드" 및 "단백질"은 아미노산 잔기의 중합체를 지칭하기 위해 본원에서 교환 가능하게 사용된다.
- [0038] 본원에서 사용된 용어 "변이체"는 야생형, 통상적인 또는 1차 서열로부터 변경된 서열을 설명한다. 이러한 변경은 아미노산 또는 뉴클레오타이드의 결실, 치환 또는 삽입의 형태를 취할 수 있다. 변이체는 서열 변경의 조합을 비롯한 하나 이상을 함유할 수 있다.
- [0039] 용어 "감소한다" 또는 이 용어의 다른 형태, 예컨대, "감소하는" 또는 "감소"는 일반적으로 이벤트 또는 특성

(예를 들어, 하나 이상의 증상, 또는 한 단백질과 또 다른 단백질의 결합)을 낮추는 것을 의미한다. 이것은 전형적으로 일부 표준 또는 예상된 값과 비교한 것, 다시 말해, 상대적인 것으로 이해되지만, 표준 또는 상대적 값을 언급할 필요가 항상 있는 것은 아니다.

[0040] "결합 친화성"과 관련하여 사용된 용어 "친화성"은 또 다른 분자에 대한 한 분자의 친화성의 감소를 의미한다. 예를 들어, 일부 실시양태에서, 단백질, 도메인 또는 모티프는 특정 표적, 예를 들어, 펩타이드, 폴리펩타이드, 단백질, 탄수화물, 당류, 다당류, 글리코사미노글리칸 또는 이들의 임의의 에피토프에 주어진 친화성으로 특이적으로 결합할 수 있다. 용어 "친화성"은 분자의 단일 결합 부위와 그의 결합 표적 또는 파트너(예를 들어, 항원) 사이의 비공유 상호작용의 합계의 강도를 지칭한다. 분자의 표적에 대한 분자의 친화성은 해리 속도 상수와 결합 속도 상수(각각  $k_{off}$  및  $k_{on}$ )의 비인 해리 상수( $K_D$ )로 표시될 수 있다. 결합 상호작용의 강도 또는 친화성은 상호작용의 해리 상수( $K_D$ )의 관점에서 표현될 수 있고, 여기서 더 작은  $K_D$ 는 더 큰 친화성을 나타낸다. 선택된 폴리펩타이드의 결합 특성(친화성)은 당분야에 잘 알려진 방법을 이용함으로써 정량될 수 있다. 이러한 방법 중 하나는 항원 결합 부위/항원 복합체 형성 및 해리 속도를 측정하는 것을 수반하는데, 여기서 이 속도는 복합체 파트너의 농도, 상호작용의 친화성, 및 양방향으로 속도에 동등하게 영향을 미치는 기하학적 파라미터에 의해 좌우된다. 따라서, "결합 속도 상수"( $K_{on}$ ) 및 "해리 속도 상수"( $K_{off}$ ) 둘 다 농도 및 실제 결합 속도와 해리 속도의 계산에 의해 결정될 수 있다(문헌[Nature 361:186-87 (1993)] 참조).

[0041]  $K_{off}/K_{on}$ 의 비는 친화성과 관련되지 않은 모든 파라미터의 취소를 가능하게 하고, 해리 상수  $K_D$ 와 동등하다(일반적으로, 문헌[Davies et al. (1990) Annual Rev Biochem 59:439-473] 참조). 일부 실시양태에서, 본 발명의 재조합 폴리펩타이드는 평형 결합 상수( $K_D$ )가  $\leq 1 \mu\text{M}$ 일 때 에피토프에 특이적으로 결합할 수 있다. 일부 실시양태에서, 본 발명의 재조합 폴리펩타이드는 평형 결합 상수( $K_D$ )가  $\leq 100 \text{ nM}$ 일 때 에피토프에 특이적으로 결합할 수 있다. 일부 실시양태에서, 본 발명의 재조합 폴리펩타이드는 평형 결합 상수( $K_D$ )가  $\leq 10 \text{ nM}$ 일 때 에피토프에 특이적으로 결합할 수 있다. 일부 실시양태에서, 본 발명의 재조합 폴리펩타이드는 어세이, 예컨대, 표면 플라즈몬 공명(SPR), 옥테트 어세이 또는 당업자에게 알려진 유사한 어세이에 의해 측정된 평형 결합 상수( $K_D$ )가  $\leq 100 \text{ pM}$  내지 약  $1 \text{ pM}$ 일 때 에피토프에 특이적으로 결합할 수 있다. 일부 실시양태에서,  $K_D$ 는  $10^{-5} \text{ M}$  이하(예를 들어,  $10^{-6} \text{ M}$  이하,  $10^{-7} \text{ M}$  이하,  $10^{-8} \text{ M}$  이하,  $10^{-8} \text{ M}$  이하,  $10^{-10} \text{ M}$  이하,  $10^{-11} \text{ M}$  이하,  $10^{-12} \text{ M}$  이하,  $10^{-13} \text{ M}$  이하,  $10^{-14} \text{ M}$  이하,  $10^{-15} \text{ M}$  이하, 또는  $10^{-16} \text{ M}$  이하)일 수 있다.

[0042] 따라서, 속도 상수의 비가 동일하게 유지되는 한, 동등한 친화성은 상이한 속도 상수를 포함할 수 있다. 따라서, 일부 실시양태에서, "감소된 결합"은 해당 상호작용에 대한 친화성의 감소를 의미한다. 반대로, "증가된 결합"은 해당 상호작용에 대한 결합 친화성의 증가를 의미한다.

[0043] 본원에서 사용된 용어 "중쇄"는 항원 특이성을 부여하기에 충분한 가변 영역 서열을 가진 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 도메인(VH), 및 3개의 중쇄 불변 영역 도메인 CH1, CH2 및 CH3을 포함하는 전체 길이 중쇄 또는 이의 단편을 포함하는 것으로 해석될 수 있다. 또한, 본원에서 사용된 용어 "경쇄"는 항원 특이성을 부여하기에 충분한 가변 영역 서열을 가진 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 도메인(VL), 및 경쇄 불변 영역 도메인(CL)을 포함하는 전체 길이 경쇄 또는 이의 단편을 포함하는 것으로 해석될 수 있다. 본원에서 사용된 용어 "FAB"는 항원에 결합하는 영역을 지칭한다. FAB는 하나의 가변 중쇄와 경쇄 및 하나의 불변 중쇄와 경쇄로 구성된다.

[0044] 본원에서 사용된 바와 같이, 2개의 서열(예를 들어, 아미노산 또는 뉴클레오타이드 서열) 사이의 "퍼센트 동일성"이라는 용어는 (최적 정렬을 위해 적절히 삽입하거나 결실시키면서) 최적으로 정렬하고 비교할 때 동일한 위치의 (가능한 100% 중) 퍼센트를 의미한다. 2개의 서열 사이의 퍼센트 동일성은 2개의 서열의 최적 정렬을 위해 도입될 필요가 있는 갭의 수 및 각각의 갭의 길이를 고려하여 서열들에 의해 공유된 동일한 위치의 수의 함수이다(즉, % 동일성 = 동일한 위치의 #/위치의 총 # x 100). 2개의 서열 사이의 서열 비교 및 퍼센트 동일성의 측정은 하기 비제한적인 실시예에 설명된 바와 같이 수학 알고리즘을 사용함으로써 달성될 수 있다. 2개의 단백질 서열 사이의 % 상동성을 측정하는 방법과 알고리즘은 당분야에 잘 확립되어 있다.

[0045] 예를 들어, 2개의 아미노산 서열 사이의 퍼센트 동일성은 Blossum 62 매트릭스 또는 PAM250 매트릭스, 및 16, 14, 12, 10, 8, 6 또는 4의 갭 중량 및 1, 2, 3, 4, 5 또는 6의 길이 중량을 사용하는, GCG 소프트웨어 팩키지 (<http://www.gcg.com>에서 입수 가능함)의 GAP 프로그램 내로 혼입된, 니들만과 분슈(Needleman and

Wunsch)((1970) *J. Mol. Biol.* (48):444-453) 알고리즘을 사용함으로써 측정될 수 있다. 나아가, 단백질 아미노산 서열을 "조회(query) 서열"로서 사용하여 공용 데이터베이스에 대한 검색을 수행함으로써, 예를 들어, 관련 서열을 확인할 수 있다. 이러한 검색은 문헌[Altschul, et al. (1990) *J. Mol. Biol.* 215:403-10]의 XBLAST 프로그램(버전 2.0)을 사용함으로써 수행될 수 있다. XBLAST 프로그램, 점수 = 50, 단어길이 = 3을 사용하여 BLAST 단백질 검색을 수행함으로써, 본 발명의 단백질 분자와 상동한 아미노산 서열을 획득할 수 있다. 비교 목적으로 갭을 가진 정렬을 획득하기 위해, 갭핑(Gapped) BLAST를 문헌[Altschul et al., (1997) *Nucleic Acids Res.* 25:3389-3402]에 설명된 바와 같이 이용할 수 있다. BLAST 및 갭핑 BLAST 프로그램을 이용할 때, 각각의 프로그램(예를 들어, XBLAST 및 NBLAST)의 디폴트 파라미터를 사용할 수 있다.

[0046] 본원에서 사용된 바와 같이, 용어 "조합으로" 또는 "공투여"는 하나 초과의 요법(예를 들어, 하나 이상의 예방제 및/또는 치료제)의 사용을 의미하기 위해 교환 가능하게 사용될 수 있다. 이 용어의 사용은 요법(예를 들어, 예방제 및/또는 치료제)이 대상체에게 투여되는 순서를 제한하지 않는다.

[0047] 본원에서 사용된 바와 같이, 용어 "상승작용"은 요법의 상가적 효과보다 더 효과적인, 본 발명의 폴리펩타이드와 또 다른 요법(예를 들어, 예방제 또는 치료제)의 조합을 의미한다.

[0048] 용어 "약학적으로 허용되는 염"은 본원에 기재된 이중특이적 항체에서 발견되는 특정 치환기에 따라, 비교적 무독성 산 또는 염기로 제조한 활성 이중특이적 항체의 염을 포함하기 위한 것이다.

[0049] 본원에서 사용된 용어 "비경구"는 피하, 정맥내, 근육내, 관절내, 활막내, 흉골내, 척추강내, 간내, 병변내 및 두개내 주사 또는 주입 기법을 포함하나, 이들로 제한되지 않는다.

[0050] 용어 "담체"는 조성물의 제제화에 사용되는 비히클을 지칭하며, 여러 부형제로 구성될 수 있다.

[0051] 본원에서 사용된 용어 "부형제"는 본 발명의 활성 성분과 함께(예를 들어, 동시에) 또는 이러한 활성 성분 후에 제제화되는 임의의 약리학적 비활성 천연 또는 합성 성분 또는 물질을 지칭한다. 일부 실시양태에서, 부형제는 본 발명의 재조합 폴리펩타이드와 함께 투여될 수 있고/있거나 본 발명의 조성물을 제조하는 데 유용한 임의의 첨가제, 보강제, 결합제, 증량제, 담체, 코팅제, 희석제, 봉해제, 충전제, 유동화제, 활택제, 보존제, 비히클 또는 이들의 조합일 수 있다. 부형제는, 무독성이고 조성물의 다른 성분과 상호작용하지 않는 것으로 당분야에 알려진 임의의 이러한 물질을 포함한다. 일부 실시양태에서, 조성물을 증량하기 위해 조성물을 제조할 때 재조합 폴리펩타이드와 함께 부형제를 제제화할 수 있다(따라서 종종 증량제, 충전제 또는 희석제로서 지칭됨). 다른 실시양태에서, 부형제는 최종 제형에서 활성 성분에 대한 개선을 부여하는 데, 예컨대, 흡수 및/또는 용해를 용이하게 하는 데 사용될 수 있다. 다른 실시양태에서, 부형제는 안정성을 제공하거나 오염(예를 들어, 미생물 오염)을 방지하는 데 사용될 수 있다. 다른 실시양태에서, 부형제는 물리적 특성을 조성물(예를 들어, 건조 과립 또는 건조 유동성 분말 물리적 형태인 조성물)에 부여하는 데 사용될 수 있다. 부형제의 언급은 하나의 이러한 부형제 및 하나 초과의 이러한 부형제 둘 다를 포함한다. 적합한 약학 부형제는 이.더블유. 마틴(E.W. Martin)에 의해 문헌[Remington's Pharmaceutical Sciences]에 설명되어 있고, 이의 개시내용은 전체적으로 본원에 참고로 포함된다.

[0052] 본 명세서 전체에서, 문맥이 달리 요구하지 않는 한, 용어 "포함한다" 또는 변형어, 예컨대, "포함하고" 또는 "포함하는"은 언급된 단계, 요소 또는 정수, 또는 단계, 요소 또는 정수의 군을 포함하지만 임의의 다른 단계, 요소 또는 정수, 또는 요소, 단계 또는 정수의 군을 배제하는 것이 아님을 함축하는 것으로 이해될 것이다.

[0053] 본원에서 인용된 모든 특허 출원, 특허 및 인쇄된 간행물은 각각의 개별 간행물, 특허 또는 특허 출원이 전체적으로 참고로 포함되는 것으로 구체적 및 개별적으로 표시된 것처럼 동일한 정도로 전체적으로 참고로 포함된다. 그리고, 임의의 정의, 보호대상 부인 또는 부정을 제외하고, 포함된 자료가 본원의 명시적 개시내용과 일치하지 않는 경우(이러한 경우, 본 개시내용의 용어가 우선함)를 제외하고, 본원에서 인용된 모든 특허 출원, 특허 및 인쇄된 간행물은 전체적으로 본원에 참고로 포함된다.

[0054] 본 발명은 본원에 설명된 특정 실시양태에 의해 범위가 제한되지 않는다. 실제로, 본원에 설명된 변형 이외의 본 발명의 다양한 변형은 상기 설명 및 첨부된 도면으로부터 당업자에게 명백해질 것이다. 이러한 변형은 첨부된 청구범위에 속한다. 모든 값은 근사치이고 설명을 위해 제공된다는 것도 이해해야 한다.

[0055] **EGFR 결합 도메인 및 NRP1 결합 도메인을 가진 이중특이적 항체**

[0056] 이중특이적 항체는 단일클론 항체에 비해 많은 장점을 가진다. 첫째, 2개의 유효 표적을 가진 하나의 분자를 제조하는 것이 더 효율적이다. 예를 들어, 이중특이적 항체는 여러 면역 세포 수용체(CD3, CD16 또는 CD47) 또는

면역 체크포인트 단백질(PD1, LAG-3 또는 CTLA-4), 또는 둘 다를 표적화할 수 있다. 예를 들어, 이중특이적 항체는 EGFR과 같은 암 세포 항원, 및 뉴로필린 1 NRP1과 같은 면역 세포 수용체 또는 면역 체크포인트 조절제를 표적화할 수 있다. 항암 요법을 위한 이중특이적 항체는 항암 효능을 증가시키도록 설계된다.

[0057] EGFR 결합 도메인

[0058] 표피 성장 인자 수용체(EGFR)는 고형 종양에서 가장 자주 변경되는 발암유전자 중 하나이다. 증가된 EGFR 신호 전달은 유방암, 전립선암, 비-소세포 폐암(NSCLC), 식도위암, 간암, 교모세포종, 자궁경부암, 난소암, 방광암, 신장암, 췌장암, 결장암 및 직장암을 비롯한 많은 암 유형에서 증식 및 세포 생존을 유발한다. 증가된 EGFR 신호전달은 EGFR 과발현, 항시적 활성화를 초래하는, EGFR 또는 EGFR 신호전달 경로 내의 전달 인자의 돌연변이, 및/또는 EGFR 동족 리간드, 예컨대, EGF, 종양 괴사 인자- $\alpha$  (TGF- $\alpha$ ), 암피레굴린(AREG), 에피겐,  $\beta$ -셀룰린, 헤파린 결합 EGF(HB-EGF) 및 에피레굴린의 증가된 수준으로 인해 발생할 수 있다. EGFR 신호전달은 증식과 암 세포 생존으로 이어지는, RAS-RAF-MEK-ERK 및 PI3K-Akt-mTOR 축을 포함하는 다운스트림 신호전달 캐스케이드를 활성화한다. 불행하게도, 티로신 키나제 억제제, 단일클론 항체 및 방사선요법을 비롯한 항-EGFR 작용제는 전이성 대장암, 비-소세포 폐암(NSCLC) 및 진행성 두경부암과 같은 몇몇 암 유형에만 효과적이다. 게다가, 치료는 일부 개체에서 생존을 개선할 뿐이며, 초기 반응은 통상적으로 약물 내성으로 끝난다. 따라서, 치료 효능을 개선하기 위해 새로운 합리적 설계가 필요하다.

[0059] 항체는 높은 특이성과 높은 친화성으로 항원에 결합하는 단백질이고, 항원 활성을 중화할 수 있다. 항-EGFR 항체는 리간드에 의해 활성화되는 EGFR 신호전달을 차단하고 수용체 세포내이입을 유도하여, 프로테아좀에서 EGFR 분해를 유발한다. 대상체는 항체의 EGFR 결합 부위에서 돌연변이가 발생할 때 치료 과정 동안 항-EGFR 항체 내성을 획득할 수 있다. 키메라 마우스/인간 단일클론 항체인 세톡시맵, 및 완전히 인간화된 단일클론 항체인 파니투무맵은 EGFR에서 상이한 결합 부위를 가지므로, 파니투무맵은 세톡시맵에 대한 내성이 발생한 후에도 여전히 효과적이며 그 반대의 경우도 마찬가지이다. 따라서, 하나의 항-EGFR 항체에 대한 내성을 획득하는 대상체는 상이한 EGFR 결합 부위를 표적화하는 또 다른 항-EGFR 항체를 투여 받을 수 있다.

[0060] 파니투무맵은 IgG1 항-EGFR 키메라 인간/마우스 단일클론 항체인 세톡시맵보다 약 8배 더 큰 친화성으로 EGFR에 결합하는 IgG2 항-EGFR 인간화 단일클론 항체이다(Garcia-Foncillas et al. 2019). 세포내이입을 유도하기 전, 항체 결합은 면역 반응을 유도할 수 있다. 파니투무맵 결합은 항체 의존적 세포 매개 세포독성(ADCC)을 유도하고 호중구 및 단핵구의 활성화를 통해 항체 의존적 세포성 식세포작용(ADCP)을 시작한다(Schneider-Merk et al. 2010). 세톡시맵의 IgG1 Fc 도메인은 천연 킬러(NK) 세포의 Fc $\gamma$ RIIIA(CD16) 수용체에 결합하여 ADCC를 유도한다. 활성화된 NK 세포는 퍼포린과 그란자임을 분비하여, 암 세포를 용해시키고 면역자극 분자, 예컨대, 인터페론- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ), TNF- $\alpha$ , 케모카인 및 과립구 대식세포 콜로니 자극 인자(GM-CSF)를 방출한다. NK 세포에 의한 사이토카인의 분비는 수지상 세포 성숙, NK 세포 소통 및 CD137의 공발현을 자극한다. CD137 발현은 항-EGFR CD8<sup>+</sup> T 세포를 동원하여, EGFR 발현 암 세포의 사멸을 증가시킨다. 성숙 수지상 세포는 NK 세포를 더 활성화하고 종양 항원을 세포독성 CD8<sup>+</sup> T 세포에 제시한다. IgG1 Fc 영역은 또한 대식세포 또는 형질세포양 수지상 이펙터 세포의 Fc 수용체 또는 C1 보체 복합체의 제1 서브유닛(C1q)에 결합하여, 각각 세포에 의한 항체 의존적 세포성 식세포작용(ADCP) 또는 보체 의존적 세포독성(CDC)을 시작한다. 세톡시맵과 마찬가지로, 항-EGFR 항체 세톡시맵, 네시투무맵 및 니모투주맵도 ADCC 유도를 위한 IgG1 Fc 영역을 가진다.

[0061] NRP1 결합 도메인

[0062] 암 세포는 새로운 혈관의 빠른 성장을 촉진하는 혈관신생 촉진 인자를 과발현한다. 종양을 둘러싼 혈관은 비정상적이며, 이때 모세혈관 수축은 종양으로 향하는 전체 혈류를 감소시킨다. 감소된 혈류 속도는 종양 간질액 압력을 증가시키고 혈관으로부터 종양으로의 약물 유동을 감소시킨다(Milosevic et al., 1999). 정상 조직과 달리, 종양 조직에서 림프관이 부족한 것도 비정상적인 혈관신생 및 높은 종양 간질 압력에 기여한다. 혈관 내피 세포 성장 인자-A(VEGF<sub>165</sub>)를 표적화하여 혈관신생을 억제하는 것은 혈관 형성과 혈관액 압력을 정상화할 수 있고, 종양 부위에서 치료 약물 축적을 증가시킬 수 있다(Marcucci et al. 2013). 그러나, 베바시주맵과 같은 항-VEGF 항체는 부작용을 가질 수 있으며 좁은 노출 범위에서만 효과적이다(Kamba and McDonald, 2007).

[0063] 뉴로필린-1(NRP1) 및 뉴로필린-2(NRP2) 수용체는 각각 혈관신생 및 림프관신생에서 중요한 역할을 하는 다기능성 단일 통과 막횡단 당단백질이다. NRP1 및 NRP2에 결합하는 VEGF 리간드 패밀리 및 Sema3 리간드 각각의 C-말단 영역은 NRP1 및 NRP2의 b1 도메인에 있는 아르기닌 결합 포켓에 결합한다(Parker et al., 2012). 아르기닌 결합 포켓에의 결합은 통상적으로 NRP 결합 리간드의 C-말단 영역에 존재하며 "C-말단 규칙"(CendR)으로서 알려

져 있는 R/K-x-x-R/K(R = 아르기닌, K = 라이신 및 x = 임의의 아미노산)의 모티프에 의해 발생한다(Teesalu et al. 2009). C-말단 규칙 서열을 함유하는 단백질 또는 펩타이드는 C-말단 아르기닌(Arg) 또는 라이신(Lys) 잔기에 의해 NRP에 결합할 수 있다(Zanuy et al., 2013).

- [0064] NRP2의 침묵이 폐암 및 위암 세포에서 EGFR 발현을 유의미하게 증가시키기 때문에, NRP1의 선별적 표적화는 항-EGFR 암 치료에 중요하다(Rizzolio et al., 2017). 더욱이, NRP1은 결장 암종, 흑색종, 성상세포종, 폐암, 전립선암 및 췌장관 선암종을 포함하는 많은 암 세포들에서 과발현되고, 암 진행에서 결정적인 역할을 한다(Graziani and Lacal, 2015). NRP1은 다양한 암에서 과발현되는 것 이외에, NRP1은 종양 관련 내피 세포에서도 과발현된다. NRP1은 혈관신생에 관여하는 리간드, 예컨대, 혈관 내피 성장 인자(VEGF<sub>165</sub>), 클래스 3 세마포린 리간드, 인테그린 β1, TGF-β, HGF, FGF, PDGF 및 갈락틴-1에 대한 공유수용체로서 작용한다. NRP1은 VEGFR1 및 VEGFR2와 같은 수용체 티로신 키나제(RTK)와 상호작용함으로써, VEGFR 신호 전달도입에 기여하여 혈관신생을 증가시킨다. NRP1은 또한 분비된 클래스-3 세마포린 리간드(Sema3A, Sema3B, Sema3C, Sema3D, Sema3E, Sema3F, Sema3G)에 결합하여, 마찬가지로 혈관신생을 조절하는 플렉신 패밀리의 수용체에 대한 공유수용체로서 작용한다.
- [0065] 항-NRP1 특이적 결합 도메인을 사용한 NRP1 리간드 결합 차단은 내피 부착 분자 VE-카드헤린의 발현을 감소시켜, 혈관으로부터의 항-EGFR 항체의 혈관외유출을 증가시킨다. 증가된 혈관외유출은 또한 종양 간질 압력을 감소시켜, 약물이 혈관으로부터 종양 환경까지 더 자유롭게 유통할 수 있게 한다.
- [0066] 고형 종양 주위의 상피 장벽은 세포간 부착 인자에 의해 연결된 간질 상피 세포로 조밀하게 채워진 세포간 공간으로 구성되며, 치료제가 종양을 침투하지 못하게 한다. E-카드헤린 과발현은 세포간 부착에 기여한다. E-카드헤린을 감소시키는 물질이 바이러스(아데노바이러스-3)에서 발견된 이후, 바이러스를 구성하는 단백질을 중에서 밀착 연결에서의 세포 E-카드헤린을 감소시키는 활성을 가진 부분(JO-1)만을 항체와 공유하여, 항체의 항암 효과를 증가시킨 사례가 보고되었다(Beyer et al. 2011). NRP1의 표적화는 많은 고형 종양에서 과발현되고 세포 외 매트릭스 연결성을 증가시켜 약물 침투를 감소시키는 상피 장벽 부착 분자 E-카드헤린과 인테그린 β1 서브유닛의 발현을 감소시킨다, 더욱이, 인테그린 β1 서브유닛은 성장 인자 수용체 매개 세포 증식을 활성화하는데 관여한다.
- [0067] 요약하자면, NRP1의 표적화는 혈관신생과 종양 간질 압력을 감소시키고 항-EGFR 항체의 혈관외유출과 종양 침투를 증가시키는 역할을 함께 하는, VEGF<sub>165</sub> 결합, 및 VE-카드헤린, E-카드헤린 및 인테그린 β1 발현을 감소시킬 수 있다.
- [0068] 암 세포는 면역 반응을 억제하는 면역 체크포인트 분자를 생성한다. NRP1은 면역 체크포인트 분자이며, 그의 발현은 종양 관련 내피 세포 및 암 세포에서 증가한다. NRP1 발현은 Treg 활성을 증가시키고 종양 특이적 CD8<sup>+</sup> T 세포 반응을 감소시킴으로써 면역억제를 유도한다(Chuckran et al. 2020). 따라서, NRP1 결합 도메인은 약물 혈관외유출과 침투를 증가시키는 것 외에도, 면역 체크포인트 억제제로서 작용한다. 또 다른 측면에서, 본 개시내용은 NRP1을 표적화하여 암 매개 체크포인트 분자 면역억제를 감소시킴으로써, 종양 부위에서 자연 면역을 허용하고 종양 반응의 가능성을 증가시키는 이중특이적 항체를 제공한다.
- [0069] 베센쿠맙으로서도 알려진 항-NRP1 항체 MNRP1685A는 NRP1의 VEGF<sub>165</sub>와 경쟁적으로 결합하고 VEGFR2를 통한 VEGF 신호전달을 억제하는 작용을 함으로써, 혈관신생, 세포 생존, 이동, 부착 및 침습에 영향을 미친다(Pan Q et al. 2007). 그러나, 진행성 고형 종양에 대한 I 상 시험에서 베센쿠맙으로 치료한 대상체는 위장 출혈, 균혈증, 십이지장 폐쇄, 혈소판감소증, 단백뇨, 탈모, 발성장애, 피로 및 메스꺼움을 포함하는 견딜 수 없는 부작용을 겪었고, 이는 추가 시험의 중단으로 이어졌다(Weekes et al., 2014, Patnaik et al., 2014).
- [0070] NRP1은 동종이량체 또는 이종이량체로서 활성을 띠고, 절단된 침투 펩타이드 iRGD와 같은 단량체성 펩타이드만이 NRP1 생물학적 활성을 조절하는 약한 능력을 가진다(Sugahara et al. 2010). 따라서, 생물학적 활성을 조절하기 위해 동종이량체로서 NRP1에 선별적으로 결합하는 펩타이드가 바람직하다. 불행하게도, Fc 중쇄 융합된 NRP 결합 펩타이드 A22p가 이중 펩타이드(동종이량체)로서 제시되지만, A22p는 NRP1 및 NRP2 둘 다에 결합한다(Shin et al. 2014). 따라서, 효과적인 무독성 NRP1 선별적 표적화 분자를 확인하는 것이 중요하다.
- [0071] 한 측면에서, 본 개시내용은 본 개시내용의 이중특이적 항체에서 사용될 수 있는, NRP1에 결합하는 단일클론 항체(항-NRP1 mAb)에 관한 것이다. 실시양태에서, 본 개시내용은 N-말단 NRP1 결합 도메인을 포함하는, 서열번호 41 내지 47로 제시된 중쇄 폴리펩타이드 서열을 가진 단일클론 항체를 제공한다. 일부 실시양태에서, 단일클론 항체 중쇄 폴리펩타이드는 가변 중쇄(VH)와 불변 중쇄 1(CH1)을 포함하는 N-말단 NRP1 결합 도메인, 및 불변 중

쇄 2(CH2)와 불변 중쇄 3(CH3)을 포함하는 Fc 도메인을 포함한다. 일부 실시양태에서, 단일클론 항체는 서열번호 48 내지 54 중 임의의 서열번호로 제시된 경쇄 폴리펩타이드 서열을 포함한다. 따라서, 서열번호 41 내지 47의 중쇄는 서열번호 48 내지 54의 경쇄와 쌍을 이룰 수 있다. 중쇄 및 경쇄 폴리펩타이드를 인코딩하는 폴리뉴클레오타이드 서열은 각각 서열번호 55 내지 61 및 62 내지 68로 제시되어 있다. 실시예 8은 단일클론 항체 제조 방법을 설명한다.

[0072] 일부 실시양태에서, 단일클론 항체의 NRP1 결합 도메인은 서열번호 41 내지 47로 제시된 중쇄 폴리펩타이드 서열 및 서열번호 48 내지 54로 제시된 이들의 상응하는 경쇄 폴리펩타이드 서열을 가진 단일클론 항체의 경우 70 nM 내지 나노몰 미만의 범위의 NRP1 친화성( $K_D$ )을 가진다.

[0073] 단일클론 항체의 NRP1 결합 도메인으로 VEGF와 NRP1의 결합을 차단하는 것은 VEGFR2 인산화에 의해 측정될 때, VEGFR2의 활성화를 억제할 수 있다.

[0074] 일부 실시양태에서, 단일클론 항체는 암 세포 성장을 억제한다. 일부 실시양태에서, 불변 중쇄 2 및 3(CH2 및 CH3)을 포함하는 단일클론 항체 Fc 도메인은 IgG1 또는 IgG2 서브클래스에 속한다. 일부 실시양태에서, 본 개시내용은 암 세포주 H1975에서 세포 증식을 강력하게 억제하는 단일클론 항체 NRP1 결합 도메인을 제공한다.

[0075] EGFR 및 NRP1에 대한 결합 친화성을 가진 이중특이적 항체

[0076] 본 개시내용은 N-말단 EGFR 결합 도메인 및 C-말단 NRP1 결합 도메인을 포함하는 중쇄 폴리펩타이드 서열을 가진 이중특이적 항체를 제공한다. 이중특이적 항체 중쇄 폴리펩타이드는 가변 중쇄(VH)와 불변 중쇄 1(CH1)을 포함하는 N-말단 EGFR 결합 도메인, 및 불변 중쇄 2(CH2)와 불변 중쇄 3(CH3)을 포함하는 Fc 도메인, 및 C-말단 단쇄 가변 단편(scFv) NRP1 결합 도메인을 포함한다.

[0077] 본 개시내용의 대표적인 이중특이적 항체 구조의 개략도는 도 15에 제시되어 있다.

[0078] ScFv NRP1 결합 도메인은 가요성 펩타이드 링커에 의해 연결된 가변 중쇄와 가변 경쇄로 구성된다. 일부 측면에서, 가요성 펩타이드 링커는 서열번호 13의 서브유닛 서열의 반복부이다. 일부 측면에서, 펩타이드 링커는 ScFv를 CH3에 연결한다. 일부 측면에서, 펩타이드 링커는 서열번호 13의 하나 이상의 펩타이드 링커 서브유닛으로 구성되며, 여기서 GGGGS는 하나의 서브유닛이다.

[0079] bsAb 중쇄 폴리펩타이드 서열은 서열번호 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 및 39로 제시되어 있고, 이중특이적 항체의 중쇄 항체 폴리펩타이드 서열을 인코딩하는 폴리뉴클레오타이드 서열은 서열번호 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24 및 40으로 제시되어 있다. 일부 측면에서, 이중특이적 항체는 중쇄 폴리펩타이드와 짝을 이루고 서열번호 12로 제시되어 있는, 가변 경쇄와 불변 경쇄를 포함하는 경쇄 폴리펩타이드 서열을 추가로 포함한다. 서열번호 12의 경쇄 폴리펩타이드를 인코딩하는 폴리뉴클레오타이드 서열은 서열번호 25로 제시되어 있다. 일부 측면에서, 본 개시내용은 GGGGS 서브유닛을 인코딩하는 데 사용되는 폴리뉴클레오타이드 서열을 제공하며, 이러한 폴리뉴클레오타이드 서열의 대표적인 예는 서열번호 26 내지 38로 제시되어 있다. 실시예 1은 이중특이적 항체 제조 방법을 설명한다.

[0080] 일부 측면에서, 이중특이적 항체는 서열번호 69로 제시된 VH 아미노산 서열 및 서열번호 70으로 제시된 VL 아미노산 서열을 포함하는(또는 이로 구성된) 항-EGFR 결합 아암을 포함한다. 일부 측면에서, 이중특이적 항체는 각각 서열번호 71, 72 및 73으로 제시된 아미노산 서열을 포함하는(또는 이로 구성된) 중쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3 영역을 포함하는 항-EGFR 결합 아암을 포함한다. 일부 측면에서, 이중특이적 항체는 서열번호 73으로 제시된 아미노산 서열을 포함하는(또는 이로 구성된) 중쇄 CDR3 영역을 포함하는 항-EGFR 결합 아암을 포함한다. 일부 측면에서, 이중특이적 항체는 서열번호 76으로 제시된 아미노산 서열을 포함하는(또는 이로 구성된) 경쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3 영역을 포함하는 항-EGFR 결합 아암을 포함한다. 일부 측면에서, 이중특이적 항체는 서열번호 76으로 제시된 아미노산 서열을 포함하는(또는 이로 구성된) 경쇄 CDR3 영역을 포함하는 항-EGFR 결합 아암을 포함한다. 일부 실시양태에서, 항-EGFR 결합 아암은 상기 언급된 VH, VL, HCDR 또는 LCDR 서열 중 임의의 서열과 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 99.5% 또는 99.8% 동일한 하나 이상의 서열을 포함한다(또는 이로 구성된다).

[0081] 일부 측면에서, 이중특이적 항체는 서열번호 77로 제시된 VH 아미노산 서열 및 서열번호 78로 제시된 VL 아미노산 서열을 포함하는(또는 이로 구성된) 항-NRP1 결합 아암을 포함한다. 일부 측면에서, 이중특이적 항체는 중쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3 영역(각각 HCDR1, HCDR2 및 HCDR3)을 포함하는 항-NRP1 결합 아암을 포함하며, 여기서 HCDR1은 서열번호 79로 제시된 서열을 포함하고(또는 이로 구성되고), HCDR2는 서열번호 80으로 제시된 서열을

포함하고(또는 이로 구성되고), HCDR3은 서열번호 81 내지 84 중 어느 하나로 제시된 서열을 포함한다(또는 이로 구성된다). 일부 측면에서, 이중특이적 항체는 경쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3 영역(각각 LCDR1, LCDR2 및 LCDR3)을 포함하는 항-NRP1 결합 아암을 포함하며, 여기서 LCDR1은 서열번호 85 내지 87 중 어느 하나로 제시된 서열을 포함하고(또는 이로 구성되고), LCDR2는 서열번호 88로 제시된 서열을 포함하고(또는 이로 구성되고), LCDR3은 서열번호 89로 제시된 서열을 포함한다(또는 이로 구성된다). 일부 측면에서, 이중특이적 항체는 서열번호 81 내지 84 중 어느 하나로 제시된 아미노산 서열을 포함하는(또는 이로 구성된) 중쇄 CDR3 영역을 포함하는 항-NRP1 결합 아암을 포함한다. 일부 측면에서, 이중특이적 항체는 각각 서열번호 79, 80 및 84로 제시된 아미노산 서열을 포함하는(또는 이로 구성된) 중쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3 영역, 및 각각 서열번호 85, 88 및 89로 제시된 아미노산 서열을 포함하는(또는 이로 구성된) 경쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3 영역을 포함하는 항-NRP1 결합 아암을 포함한다. 일부 실시양태에서, 항-NRP1 결합 아암은 상기 언급된 VH, VL, HCDR 또는 LCDR 서열 중 임의의 서열과 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 99.5% 또는 99.8% 동일한 하나 이상의 서열을 포함한다(또는 이로 구성된다).

[0082] 일부 실시양태에서, 이중특이적 항체의 EGFR 결합 도메인은 나노몰 미만의 범위(<0.1 nM)에서 EGFR 친화성( $K_D$ )을 가진다. 일부 실시양태에서, 이중특이적 항체의 NRP1 결합 도메인은 서열번호 1을 가진 조절 폴리펩타이드 서열을 가진 이중특이적 항체 구축물에 대한 70 nM부터 서열번호 2, 3, 5, 7, 10 및 11로 제시된 폴리펩타이드 서열을 가진 이중특이적 항체에 대한 나노몰 미만의 범위에 이르는 NRP1 친화성( $K_D$ )을 가진다. 따라서, 한 측면에서, 본 개시내용은 실시예 2의 표 1에 나타낸 바와 같이, 나노몰 미만의 범위에서 EGFR에 대한 친화성을 가진 EGFR 결합 도메인, 및 나노몰 미만의 범위에서 NRP1에 대한 친화성을 가진 NRP1 결합 도메인을 가진 이중특이적 항체를 제공한다. 도 1a 내지 1h는 고정된 huEGFR에 대한 이중특이적 항체 결합 친화성 곡선을 보여준다. 도 2a 내지 2i는 고정된 huNRP1에 대한 이중특이적 항체 결합 친화성 곡선을 보여준다.

[0083] 본 개시내용의 한 측면은 EGFR 및 NRP1에 대한 비대칭적 결합 친화성을 가진 이중특이적 항체를 제공한다(실시예 참조). 일부 실시양태에서, EGFR에 대한 EGFR 결합 도메인의  $K_D$ 는 NRP1에 대한 NRP1 결합 도메인  $K_D$ 보다 적어도 2배, 적어도 10배, 적어도 20배, 적어도 30배, 적어도 40배, 적어도 50배, 적어도 60배, 적어도 70배, 적어도 80배, 적어도 100배 또는 100배 이상 더 크다. 비대칭적 친화성은 NRP1 표적화 세포독성을 감소시키는 동시에 EGFR 발현 암 세포로의 더 우수한 귀소를 제공한다.

[0084] 이중특이적 항체의 NRP1 결합 도메인으로 VEGF와 NRP1의 결합을 차단하는 것은 VEGFR2 인산화에 의해 측정될 때, VEGFR2의 활성화를 억제할 수 있다. 그러나, 서열번호 1의 중쇄를 가진 이중특이적 항체는 69.7 nM의 NRP1  $K_D$ 를 갖고, VEGFR 인산화를 억제하지 않는다(도 3). 일부 실시양태에서, 이중특이적 항체는 VEGFR2 인산화를 억제하여 혈관신생을 방지한다(표 2 및 도 4a와 4b 내지 10a와 10b 참조). 일부 실시양태에서, 본 발명자들은 NRP1 결합 도메인의 해리 상수( $K_D$ )가 VEGFR2 인산화를 억제하는 이중특이적 항체의 능력을 반영하지 않는다는 것을 발견하였다. 예를 들어, 서열번호 6의 중쇄를 가진 이중특이적 항체는 10130 nM(IC50)에서 50% VEGFR2 인산화를 억제하지만, NRP1  $K_D$ 는 3.76 nM인 반면, 서열번호 4의 중쇄를 가진 이중특이적 항체는 410 nM(IC50)에서 50% VEGFR2 인산화를 억제하지만, NRP1  $K_D$ 는 8.8 nM이다. 따라서, 일부 측면에서, 본 개시내용은 NRP1 결합 도메인 친화성과 생물학적 기능이 VEGFR2 인산화를 억제하는 데 있어서 불균형적인 이중특이적 항체를 제공한다.

[0085] 일부 측면에서, 상기 이중특이적 항체는 암 세포 성장을 억제한다. 일부 실시양태에서, 불변 중쇄 2 및 3(CH2 및 CH3)을 포함하는 이중특이적 항체 Fc 도메인은 IgG1 또는 IgG2 서브클래스에 속한다. 일부 측면에서, 본 개시내용은 암 세포주 H1975에서 세포 증식을 강력하게 억제하는 EGFR 결합 도메인 및 NRP1 scFv 결합 도메인을 가진 이중특이적 항체를 제공한다(표 3 및 도 11a와 11b). 실시예 4는 H1975 암 세포주에서 세포 성장 억제를 위한 이중특이적 항체 IC50을 측정하는 데 이용된 방법을 설명한다.

[0086] 이중특이적 항체를 위한 추가 결합 아암

[0087] 다른 실시양태에서, (본원에 기재된 바와 같이) 항-NRP1 결합 아암은 이중특이적 항체에서 제2 표적 단백질에 결합하는 제2 결합 아암과 짝을 이룰 수 있다. 본원에 기재된 바와 같이 본 개시내용의 이중특이적 항체에 사용될 수 있는, 이러한 제2 표적 단백질에 결합하는 항체는 당분야에 알려져 있다.

[0088] 일부 실시양태에서, 제2 표적 단백질은 수용체 티로신 키나제(RTK)를 포함한다. 일부 실시양태에서, 티로신 키나제는 혈소판 유래 성장 인자 수용체(PDGFR), 섬유모세포 성장 인자 수용체(FGFR), 수용체 티로신 키나제 Met(MET) 및 수용체 혈관 내피 성장 인자(VEGFR)를 포함한다. 일부 실시양태에서, 수용체 티로신 키나제는

EGFR/HER1/Erb1, HER2/ErbB2, HER3/ErbB3, HER4/ErbB4, FGFR1, FGFR2, FGFR3, FGFR4, MET, RON, PDGFR, PDGFR  $\alpha$ , PDGFR  $\beta$ , CSF-1R, Kit, FLT-3, VEGFR1, VEGFR2 및 VEGFR3을 포함한다.

- [0089] 일부 실시양태에서, 표적 단백질은 EGFR을 포함한다. 일부 실시양태에서, EGFR은 EGFR/HER1/Erb1, HER2/ErbB2, HER3/ErbB3 및 HER4/ErbB4로 구성된 군으로부터 선택된다. 일부 실시양태에서, 표적 단백질은 EGFR이다.
- [0090] 일부 실시양태에서, 표적 단백질은 FGFR을 포함한다. 일부 실시양태에서, FGFR1은 FGFR1, FGFR2, FGFR3 및 FGFR4로 구성된 군으로부터 선택된다.
- [0091] 일부 실시양태에서, 표적 단백질은 티로신 키나제 MET를 포함한다. 일부 실시양태에서, 수용체 티로신 키나제 MET는 MET 또는 대식세포 자극 단백질 수용체(MST1R/RON)이다.
- [0092] 일부 실시양태에서, 표적 단백질은 PDGFR을 포함한다. 일부 실시양태에서, PDGFR은 PDGFR, PDGFR  $\alpha$ , PDGFR  $\beta$ , CSF-1R, Kit 및 FLT-3으로 구성된 군으로부터 선택된다.
- [0093] 일부 실시양태에서, 표적 단백질은 VEGFR을 포함한다. 일부 실시양태에서, VEGFR은 VEGFR1, VEGFR2 및 VEGFR3으로 구성된 군으로부터 선택된다.
- [0094] 일부 실시양태에서, 수용체 티로신 키나제는 EGFR/HER1/Erb1, HER2/ErbB2, HER3/ErbB3, HER4/ErbB4 VEGFR1, VEGFR2 및 VEGFR3으로 구성된 군으로부터 선택된다.
- [0095] 일부 실시양태에서, 표적 단백질은 세린/트레오닌 키나제(RSTK), G-단백질 커플링 수용체(GPCR), 면역 체크포인트 수용체 및 이온 채널 수용체를 포함한다.
- [0096] 일부 실시양태에서, 표적 단백질은 수용체 세린/트레오닌 키나제(RSTK)를 포함한다. 일부 실시양태에서, RSTK는 ACVRL1, ACVR1, ACVR1B, ACVR1C, BMPR1A, BMPR1B, TGFBR1, ACVR2A, ACVR2B, AMHR2, BMPR2, TGFBR2를 포함한다.
- [0097] 일부 실시양태에서, 표적 단백질은 G-단백질 커플링 수용체(GPCR)를 포함한다. 일부 실시양태에서, GPCR은 CXCR4, CCR5, FFAR2, GLP2R, 5-HT1A 수용체, 5-HT2A 수용체, 5-HT4 수용체, 5-HT5A 수용체, M1 수용체, M2 수용체, A1 수용체, A2A 수용체,  $\alpha$ 1A-아드레날린수용체,  $\alpha$ 2A-아드레날린수용체,  $\beta$ 1-아드레날린수용체,  $\beta$ 3-아드레날린수용체, AT1 수용체, BB1 수용체, B1 수용체, CB1 수용체, CB2 수용체, 케메린 수용체 1, CCR1, CX3CR1, ACKR3, CCK1 수용체, GPR3, GPR12, GPR17, GPR32, GPR35로 구성된 군으로부터 선택된다.
- [0098] 일부 실시양태에서, 표적 단백질은 면역 체크포인트 수용체를 포함한다. 일부 실시양태에서, 면역 체크포인트 수용체는 CD27, CD28, CD40, CD122, CD137, OX40, GITR, ICOS, A2AR, B7-H3, B7-H4, BTLA, CTLA-4, IDO, KIR, LAG3, NOX2, PD-1, TIM-3, VISTA, SIGEC7 및 PD-L1로 구성된 군으로부터 선택된다.
- [0099] 일부 실시양태에서, 표적 단백질은 이온 채널 수용체를 포함한다. 일부 실시양태에서, 이온 채널 수용체는 KCa1.1, KCa2.1, CatSper1, TPC1, CNGA1, HCN1, Kir1.1, Kir3.2, RyR1, TRPA1, TRPC3, TRPM1, TRPP1, TRPV1, K2P1.1, K2P10.1, Cav1.1, Cav2.1, Kv1.1, Kv1.8, Kv11.2, Hv1, Nav1.1 및 Nav1.2로 구성된 군으로부터 선택된다.
- [0100] 일부 실시양태에서, 표적 단백질은 막 관련 표적 단백질을 포함하며, 이중특이적 결합 분자의 표적 단백질 결합 도메인은 세포 표면 수용체에 결합한다. 일부 실시양태에서, 이중특이적 결합 분자의 표적 단백질 결합 도메인은 막 관련 표적 단백질의 세포외 에피토프에 결합한다. 일부 실시양태에서, 표적 세포는 신생물 세포를 포함한다. 일부 실시양태에서, 표적 세포는 암 세포이다. 일부 실시양태에서, 암 세포는 폐암, 유방암, 결장 및 직장암, 두경부암, 식도위암, 간암, 교모세포종, 전립선암, 자궁경부암, 난소암, 방광암, 신장암 및 췌장암으로 구성된 군으로부터 선택된다. 일부 실시양태에서, 표적 세포는 면역 세포를 포함한다.
- [0101] 종양 마우스 모델에서의 이중특이적 항체 종양 성장 억제
- [0102] 본 개시내용의 일부 측면에서, 이중특이적 항체를 사용한 치료는 종양 성장을 감소시킨다. 일부 측면에서, 서열 번호 11의 중쇄 및 서열번호 12의 경쇄를 가진 이중특이적 항체(본원에서 구축물 11로서도 지칭됨)는 종양 성장을 유의미하게 감소시킨다. 일부 측면에서, 서열번호 39의 중쇄 및 서열번호 12의 경쇄를 가진 이중특이적 항체(본원에서 구축물 12로서도 지칭됨)는 종양 성장을 유의미하게 감소시킨다. 일부 측면에서, scFv NRP1 결합 도메인의 추가는 종양 성장 억제의 효능을 유의미하게 증가시킨다. 실시예 5는 종양 성장 억제를 위해 H1975 이중 이식 마우스 모델을 이중특이적 항체로 치료하는 방법 및 결과를 설명한다. 표 4는 종양 성장 억제율(%)을 보여주고, 도 12a 내지 12g 및 도 17은 이식 후 며칠에 걸쳐 종양 성장을 보여준다.

[0103] 이중특이적 항체 생물학적 효과의 요약

[0104] 요약하면, 본 개시내용은 NRP1 결합 도메인을 포함하는 이중특이적 항체, 예컨대, EGFR 결합 도메인과 NRP1 결합 도메인을 겸비하여 증가된 EGFR 친화성으로 EGFR 발현이 높은 종양으로의 귀소를 용이하게 하는 이중특이적 항체를 제공한다. 이중특이적 항체는 비정상적인 혈관신생을 감소시키는 것과, VE-카드헤린, E-카드헤린 및 인테그린  $\beta 1$  발현을 감소시켜 혈관의 유출 및 침투를 증가시키는 것을 포함하는, 조합되어 암 세포 증식 및 생존을 감소시키는 다수의 생물학적 효과를 가질 것이다. NRP1 표적화는 EGFR 표면 폴딩을 더 감소시켜, EGFR 하향 조절을 향상시키고 NRP1 체크포인트 면역억제를 억제한다. 이러한 특징의 조합은 EGFR 매개 암 세포 증식 및 생존을 감소시키는 강력한 능력을 가진 이중특이적 항체를 제공한다.

[0105] 트랜스사이토시스 재순환을 위한 FcRn 결합

[0106] 약 150 kD의 항체 크기는 긴 혈청 반감기를 보장함으로써, 오래 지속되는 치료 효과를 보장한다. 또한, 중쇄 불변 영역 2와 3(CH2와 CH3)으로 구성된 항체 IgG Fc 부분은 세포 표면에서 신생아 Fc 수용체(FcRn)와 Fc 감마 수용체(Fc $\gamma$ R)에 결합하여 세포내이입되고, 트랜스사이토시스를 통해 혈청으로 다시 재순환되어, 항체 혈청 반감기를 더 증가시킨다. FcRn 또는 Fc $\gamma$ R 발현이 낮은 암은 좋지 않은 예후와 관련되어 있으므로(Pyzik et al., 2019), FcRn 또는 Fc $\gamma$ R 매개 재순환은 항체 혈청 농도를 유지하는 데 중요한 역할을 한다. IgG1 항체는 IgG2 항체보다 더 효율적인 FcRn 및 Fc $\gamma$ R 재순환 과정을 가진다. 따라서, 치료 항체에서 IgG1 Fc 도메인을 가진다는 것은 약물 치료 수준을 유지하고 투여 빈도를 줄이는 데 도움이 되지만, 반감기 감소는 진단 검사 또는 독성 조절에 이상적일 것이다.

[0107] 일부 실시양태에서, 본 발명의 폴리펩타이드는 IgG1 서브클래스로부터 선택된 Fc 도메인을 포함하는 면역글로불린 도메인을 포함하는 폴리펩타이드를 포함하는 면역글로불린 도메인을 포함한다.

[0108] 발현 구축물

[0109] 본원에서 사용된 용어 "벡터"는 숙주 세포에서 표적 유전자를 발현시키는 수단을 지칭한다. 예를 들어, 벡터는 플라스미드 벡터, 코스미드 벡터, 박테리오파지 벡터 및 바이러스 벡터, 예컨대, 아데노바이러스 벡터, 레트로바이러스 벡터 및 아데노 관련 바이러스 벡터를 포함할 수 있다. 재조합 벡터는 관련 분야에서 통상적으로 사용되는 플라스미드(예를 들어, pSC101, pGV1106, pACYC177, CoIE1, pKT230, pME290, pBR322, pUC8/9, pUC6, pBD9, pHC79, pIJ61, pLAFR1, pHV14, pGEX 시리즈, pET 시리즈 및 pUC19 등), 파지(예를 들어, Agt4AB, A-Charon, AAz1 및 M13 등) 또는 바이러스(예를 들어, CMV, SV40 등)를 작동시킴으로써 제조될 수 있다.

[0110] 또 다른 측면에서, 본 개시내용은 이중특이적 항체 중쇄 및 경쇄 아미노산 서열을 인코딩하는 단리된 폴리뉴클레오타이드를 제공한다. 재조합 벡터에서 인코딩하는 폴리뉴클레오타이드는 프로모터에 작동 가능하게 연결될 수 있다. 본원에서 사용된 용어 "작동 가능하게 연결된"은 뉴클레오타이드 발현 조절 서열(예컨대, 프로모터 서열)과 제2 뉴클레오타이드 서열 사이의 기능적 연결을 의미한다. 따라서, 조절 서열은 제2 뉴클레오타이드 서열의 전사 및/또는 번역을 조절할 수 있다. 재조합 벡터는 일반적으로 클로닝용 벡터 또는 발현용 벡터로서 구축될 수 있다. 발현용 벡터로서, 관련 분야에서 식물, 동물 또는 미생물의 외래 단백질을 발현시키는 데 일반적으로 사용되는 벡터를 사용할 수 있다. 재조합 벡터는 관련 분야에서 알려진 다양한 방법에 의해 구축될 수 있다. 재조합 벡터는 f1 복제 기점, SV40 복제 기점, pMB1 복제 기점, 아데노 복제 기점, AAV 복제 기점, CMV 복제 기점 및 BBV 복제 기점 등을 가진 숙주로서 진핵생물 세포를 사용함으로써 구축될 수 있지만, 이들로 제한되지 않는다.

[0111] 또한, 포유류 세포의 게놈으로부터 유래한 프로모터(예를 들어, 메탈티오닌 프로모터) 또는 포유류 세포의 바이러스로부터 유래한 프로모터(예를 들어, 아데노바이러스 후기 프로모터, 백시니아 바이러스 7.5K 프로모터, SV40 프로모터, 사이토메갈로 바이러스(CMV) 프로모터 또는 HSV의 tk 프로모터)를 사용할 수 있으며, 프로모터는 일반적으로 전사 종결 서열로서 폴리아데닐화 서열을 가진다. 벡터는 본 개시내용에 따라 NRP1에 특이적으로 결합하는 펩타이드 도메인뿐만 아니라, 융합된 펩타이드를 가진 항체도 발현할 수 있을 뿐만 아니라, 링커 펩타이드도 발현할 수 있다. 융합된 펩타이드를 가진 항체의 경우, 벡터는 하나의 벡터에서 펩타이드 및 항체 또는 이의 단편을 발현하는 벡터 시스템, 및 별도의 벡터에서 펩타이드 및 항체 또는 이의 단편을 발현하는 벡터 시스템 둘 다를 사용할 수 있다. 후자의 경우, 두 벡터는 공형질전환 및 표적화 형질전환을 통해 숙주 세포에 도입될 수 있다. 따라서, 또 다른 측면에서, 본 개시내용은 서열번호 14 내지 38 및 40 중 임의의 서열번호로 개시된 핵산을 함유하는 벡터를 포함한다. 실시예 1은 이중특이적 항체의 생성에 사용될 수 있는 벡터 특성을 설명한다.

[0112] 본 개시내용의 또 다른 측면은 재조합 벡터로 형질전환된 숙주 세포를 제공한다. 관련 분야에 알려진 임의의 종류의 숙주 세포를 숙주 세포로서 사용할 수 있다. 원핵생물 세포의 예는 이. 콜라이(E. coli) JM109, 이. 콜라이 BL21, 이. 콜라이 RR1, 이. 콜라이 LE392, 이. 콜라이 B, 이. 콜라이 X 1776, 이. 콜라이 W3110과 같은 균주, 또는 바실러스(Bacillus) 속에 속하는 균주, 예컨대, 바실러스 서브틸러스(Bacillus subtilis) 및 바실러스 투링기엔시스(Bacillus thuringiensis), 살모넬라 타이피뮤리움(Salmonella typhimurium), 세라티아 마르세센스(Serratia marcescens), 및 장내 세균총 및 균주, 예컨대, 다양한 슈도모나스(Pseudomonas) 종 등을 포함한다. 원핵생물 세포 형질전환은 대규모로 플라스미드를 클로닝하는 데 유용하다. 원핵생물 숙주 세포는 항체 조립 및 구조에 필요한 필수적인 번역 후 변형의 결핍을 가질 수 있으므로, 바람직한 실시양태는 진핵생물 숙주 세포, 예컨대, 효모(사카로마이세스 세레비시아(Saccharomyce cerevisiae)), 곤충 세포, 식물 세포, 포유류 세포, 예를 들어, SP2/0, CHO(중국 햄스터 난소) K1, CHO DG44, PER.C6, W138, BHK, COS-7, 293, HepG2, Huh7, 3T3, RN 및 MDCK 세포주 등에서의 벡터 형질전환이다.

[0113] 본 개시내용의 또 다른 측면은 NRP1에 특이적으로 결합하는 펩타이드를 제조하는 방법으로서, 앞에서 설명된 숙주 세포를 배양하는 단계를 포함하는 방법을 제공한다. 폴리뉴클레오타이드, 및 폴리뉴클레오타이드를 포함하는 재조합 벡터는 관련 분야에 잘 알려진 삽입 방법을 이용함으로써 숙주 세포에 삽입될 수 있다. 예를 들어, 숙주 세포가 원핵생물 세포일 때, CaCl2 방법 또는 전기천공법 등에 따라 전달을 수행할 수 있으며, 숙주 세포가 진핵생물 세포일 때, 현미경 주입, 인산칼슘 침전, 전기천공, 리포솜 매개 형질전환 및 유전자 폭격 등을 포함하는 다양한 방법으로 벡터를 숙주 세포에 전달할 수 있으나, 전달 방법은 이들로 제한되지 않는다. 형질전환된 숙주 세포를 선별하는 방법은 선별된 표지에 의해 발현되는 표현형을 사용함으로써 관련 분야에 잘 알려진 방법에 따라 쉽게 수행될 수 있다. 예를 들어, 선별된 표지가 특정 항생제 내성 유전자일 때, 항생제를 함유하는 배지에서 형질전환체를 배양하여 형질전환체를 쉽게 선별할 수 있다.

[0114] **약학 조성물**

[0115] 본원에 기재된 폴리펩타이드(bsAb 및 mAb)는 약학적으로 허용되는 담체, 희석제, 보조제 또는 비히클을 추가로 포함하는 약학 조성물로 제제화될 수 있다. 한 실시양태에서, 본 발명은 개시된 폴리펩타이드, 및 약학적으로 허용되는 담체, 희석제, 보조제 또는 비히클을 포함하는 약학 조성물에 관한 것이다. 한 실시양태에서, 본 발명은 유효량의 본 발명의 폴리펩타이드 또는 이의 약학적으로 허용되는 염, 및 약학적으로 허용되는 담체, 희석제, 보조제 또는 비히클을 포함하는 약학 조성물이다. 약학적으로 허용되는 담체는 예를 들어, 의도된 투여 형태와 관련하여 적절하게 선별되고 통상적인 약학 관행과 일치하는 약학 희석제, 부형제 또는 담체를 포함한다.

[0116] 약학적으로 허용되는 담체 또는 부형제는 폴리펩타이드의 생물학적 활성을 과도하게 억제하지 않는 불활성 성분을 함유할 수 있다. 약학적으로 허용되는 담체는 대상체에게 투여될 때 생체적합성을 가져야 하고, 예를 들어, 무독성, 비-염증성 또는 비-면역원성을 갖거나 다른 원하지 않는 반응 또는 부작용을 결여해야 한다. 표준 약학 제제화 기법을 이용할 수 있다.

[0117] 본원에서 사용된 바와 같이, 약학적으로 허용되는 담체, 보조제 또는 비히클은 원하는 특정 제형에 맞추어진 임의의 모든 용매, 희석제 또는 기타 액체 비히클, 분산 또는 현탁 보조제, 표면 활성제, 등장화제, 증점제 또는 유화제, 보존제, 고체 결합제, 활택제 등을 포함한다. 문헌[Remington's Pharmaceutical Sciences, Sixteenth Edition, E. W. Martin (Mack Publishing Co., Easton, Pa., 1980)]은 약학적으로 허용되는 조성물을 제제화하는 데 사용되는 다양한 담체, 및 이를 제조하는 공지된 기법을 개시한다. 예컨대, 임의의 바람직하지 않은 생물학적 효과를 생성하거나 약학적으로 허용되는 조성물의 임의의 다른 성분(들)과 해로운 방식으로 상호작용함으로써, 임의의 통상적인 담체 매질이 본원에 기재된 폴리펩타이드와 배합될 수 없는 경우를 제외하고, 그의 사용은 본 발명의 범위 내에 있는 것으로 간주된다. 본원에서 사용된 바와 같이, 용어 "부작용"은 치료의 원치 않는 불리한 효과를 포괄한다.

[0118] 항체에 대한 약학적으로 허용되는 담체로서 작용할 수 있는 물질은 입체구조 안정성을 증가시키고, 단백질 동역학을 감소시키고, 응집을 억제하고, 액체 공기 계면에서의 단백질 흡착을 보호하며, 사이클로텍스트린 하이드로겔, 이온 교환제, 알루미늄, 스테아르산알루미늄, 레시틴, 혈청 단백질(예컨대, 인간 혈청 알부민), 완충제 물질(예컨대, 트윈 80, 인산염, 글리신, 소르브산 또는 소르브산칼륨), 포화 식물성 지방산의 부분 글리세라이드 혼합물, 물, 염 또는 전해질(예컨대, 프로타민 황산염, 인산수소이온트륨, 인산수소칼륨, 염화나트륨 또는 아연 염), 콜로이드성 실리카, 삼규산마그네슘, 폴리비닐 피롤리돈, 폴리아크릴레이트, 왁스, 폴리에틸렌-폴리옥시프로필렌-블록 중합체, 메틸셀룰로스, 하이드록시프로필 메틸셀룰로스, 양모 지방, 당, 예컨대, 락토스,

글루코스 및 수크로스; 전분, 예컨대, 옥수수 전분 및 감자 전분; 셀룰로스 및 이의 유도체, 예컨대, 나트륨 카복시메틸 셀룰로스, 에틸 셀룰로스 및 셀룰로스 아세테이트; 분말화된 트라가칸트; 맥아; 젤라틴; 활석; 부형제, 예컨대, 코코아 버터 및 좌약 왁스; 오일, 예컨대, 땅콩유, 면실유; 홍화유; 참깨유; 올리브유; 옥수수유 및 대두유; 글리콜, 예컨대, 프로필렌 글리콜 또는 폴리에틸렌 글리콜; 에스테르, 예컨대, 에틸 올레이트 및 에틸 라우레이트; 한천; 완충제, 예컨대, 수산화마그네슘 및 수산화알루미늄; 알긴산; 발열된 무함유 물; 등장성 식염수; 링거 용액; 에틸 알코올 및 인산염 완충제 용액뿐만 아니라, 다른 무독성 배합 가능한 활택제, 예컨대, 라우릴황산나트륨 및 스테아르산마그네슘도 포함하나, 이들로 제한되지 않고, 착색제, 이형제, 코팅제, 감미제, 향미제 및 방향제, 보존제 및 항산화제도 조제자의 판단에 따라 조성물에 존재할 수 있다.

[0119] 일부 실시양태에서, 본 발명의 조성물은 약학적으로 허용되는 염을 포함한다. 본 발명의 폴리펩타이드가 비교적 산성 작용기를 함유하는 경우, 염기 부가 염은 순수한 상태로 또는 적합한 불활성 용매에서 이러한 폴리펩타이드의 중성 형태를 충분한 양의 원하는 염기와 접촉시킴으로써 획득될 수 있다. 약학적으로 허용되는 염기 부가 염의 예는 나트륨, 칼륨, 칼슘, 암모늄, 유기 아미노 또는 마그네슘 염, 또는 유사한 염을 포함한다. 본 발명의 폴리펩타이드가 비교적 염기성 작용기를 함유하는 경우, 산 부가 염은 순수한 상태로 또는 적합한 불활성 용매에서 이러한 폴리펩타이드의 중성 형태를 충분한 양의 원하는 산과 접촉시킴으로써 획득될 수 있다. 약학적으로 허용되는 산 부가 염의 예는 무기산, 예컨대, 염산, 브롬화수소산, 질산, 탄산, 일수소탄산, 인산, 일수소인산, 이수소인산, 황산, 일수소황산, 요오드화수소산 또는 아인산 등으로부터 유도된 염뿐만 아니라, 비교적 무독성 유기산, 예컨대, 아세트산, 프로피온산, 이소부티르산, 말레산, 말론산, 벤조산, 석신산, 수베르산, 푸마르산, 젯산, 만델산, 프탈산, 벤젠설포산, p-톨릴설포산, 구연산, 주석산, 옥살산, 메탄설포산 등으로부터 유도된 염도 포함한다. 아르기네이트 등과 같은 아미노산의 염, 및 글루쿠론산 또는 갈락투노르산 등과 같은 유기산의 염도 포함된다(예를 들어, 문헌[Berge et al., "Pharmaceutical Salts", *Journal of Pharmaceutical Science*, 1977, 66, 1-19] 참조). 본 개시내용의 일부 특정 폴리펩타이드는 폴리펩타이드가 염기 또는 산 부가 염으로 전환될 수 있게 하는 염기성 작용기 및 산성 작용기 둘 다를 함유한다.

[0120] 따라서, 개시된 폴리펩타이드는 염, 예컨대, 약학적으로 허용되는 산을 사용한 염으로서 존재할 수 있다. 본 발명은 이러한 염을 포함한다. 이러한 염의 비제한적인 예는 염산염, 브롬화수소산염, 인산염, 황산염, 메탄설포산염, 질산염, 말레산염, 아세트산염, 구연산염, 푸마르산염, 프로피온산염, 주석산염(예를 들어, (+)-주석산염, (-)-주석산염, 또는 라세미체 혼합물을 포함하는 이들의 혼합물), 석신산염, 벤조산염, 및 글루탐산과 같은 아미노산을 사용한 염, 및 4차 암모늄 염(예를 들어, 요오드화메틸, 요오드화에틸 등)을 포함한다. 이러한 염은 당업자에게 알려진 방법에 의해 제조될 수 있다.

[0121] 폴리펩타이드의 중성 형태는 바람직하게는 염을 염기 또는 산과 접촉시키고 통상적인 방식으로 모 폴리펩타이드를 단리함으로써 재생된다. 폴리펩타이드의 모 형태는 그의 특정 물리적 특성, 예컨대, 극성 용매에서의 용해도가 다양한 염 형태와 상이할 수 있다.

[0122] 본 발명의 특정 폴리펩타이드는 수화된 형태를 포함하는 용매화된 형태뿐만 아니라 비용매화 형태로도 존재할 수 있다. 일반적으로, 용매화된 형태는 비용매화 형태와 동등하며 본 발명의 범위에 포함된다. 본 발명의 특정 폴리펩타이드는 다수의 결정질 또는 비결정질 형태로 존재할 수 있다. 일반적으로, 모든 물리적 형태는 본 발명에 의해 고려되는 용도에 있어서 동등하며 본 발명의 범위 내에 있다.

[0123] 일부 실시양태에서, 피하 제제는 주사 부위로부터의 항체의 분산을 용이하게 하기 위해 재조합 인간 PH20 히알루로니다제(rHuPH20)를 함유할 수 있다.

[0124] **투여 방법**

[0125] 본 발명의 조성물은 암 치료를 필요로 하는 대상체에게 투여될 수 있다. 용어 "투여" 또는 "투여하는"은 본 발명의 조성물, 예를 들어, 폴리펩타이드 또는 이의 약학적으로 허용되는 염을, 암 치료를 필요로 하는 대상체에게 제공하는 행위를 의미한다.

[0126] 본원에서 사용된 바와 같이, "간헐적 투여"는 일정 기간("제1 투여 기간"으로 간주될 수 있음) 동안 작용제를 투여한 후, 조성물을 복용하지 않거나 더 낮은 유지 용량으로 복용하는 시간("휴지기"로 간주될 수 있음)에 이어, 조성물을 다시 투여하는 기간("제2 투여 기간"으로 간주될 수 있음)이 뒤따른다. 일반적으로, 제2 투여 기간 동안 작용제의 용량 수준은 제1 투여 기간 동안 투여된 수준과 일치할 것이지만, 의학적으로 필요한 경우 증가되거나 감소될 수 있다.

[0127] 일부 실시양태에서, 본 발명의 조성물은 경구 투여, 좌약, 국소 접촉, 정맥내, 비경구, 복강내, 근육내,

병변내, 척추강내, 비강내 또는 피하 투여, 또는 서방출 장치, 예를 들어, 미니삼투 펌프의 이식에 의해 대상체에게 투여될 수 있다. 따라서, 투여는 비경구 및 경점막(예를 들어, 협측, 설하, 구개, 치은, 비강, 질, 직장 또는 경피)을 포함하는 임의의 경로에 의해 이루어질 수 있다. 비경구 투여는 예를 들어, 정맥내, 근육내, 동맥내, 피내, 피하, 복강내, 뇌실내 등을 포함한다. 다른 전달 방식은 리포솜 제제의 사용, 정맥내 주입, 또는 이식된 저장소를 통한 전달 등을 포함하나, 이들로 제한되지 않는다. 구체적으로, 조성물은 경구, 복강내 또는 정맥내로 투여된다.

[0128] 일부 실시양태에서, 조성물(예를 들어, 이중특이적 항체 조성물)은 위장암, 예컨대, 위암 또는 장암의 경우 전신 정맥내(IV) 또는 경구 경로에 의해 투여된다(Tashima et al., 2021). 전달될 제제는 당분야에 잘 알려진 관용적이고 통상적인 방법에 의해 최적화될 수 있다. 경구 투여용 액체 제형은 약학적으로 허용되는 에멀전, 마이크로에멀전, 용액, 현탁액, 시럽 및 엘릭시르를 포함하나, 이들로 제한되지 않는다. 액체 제형은 활성 폴리펩타이드 이외에 당분야에서 통상적으로 사용되는 불활성 희석제, 예를 들어, 물 또는 기타 용매, 가용화제 및 유화제, 예컨대, 에틸 알코올, 이소프로필 알코올, 에틸 카보네이트, 에틸 아세테이트, 벤질 알코올, 벤질 벤조에이트, 프로필렌 글리콜, 1,3-부틸렌 글리콜, 디메틸포름아마이드, 오일(특히, 면실유, 땅콩유, 옥수수유, 배아유, 올리브유, 피마자유 및 참깨유), 글리세롤, 테트라하이드로푸르푸릴 알코올, 폴리에틸렌 글리콜 및 소르비탄의 지방산 에스테르, 및 이들의 혼합물을 함유할 수 있다. 경구 조성물은 불활성 희석제 이외에 보조제, 예컨대, 습윤제, 유화제 및 현탁제, 감미제, 향미제 및 방향제를 포함할 수도 있다.

[0129] 일부 실시양태에서, 조성물(예를 들어, 이중특이적 항체 조성물)은 피하 주사에 의해 투여된다. 주사 가능한 이중특이적 항체 제제는 예를 들어, 박테리아 보유 필터를 통한 여과, 또는 사용 전에 멸균수 또는 기타 멸균 주사 가능한 매질에 분산된 멸균제의 혼입에 의해 멸균될 수 있다. 본원에 기재된 폴리펩타이드의 효과를 연장하기 위해, 종종 피하 또는 근육내 주사로부터 폴리펩타이드의 흡수를 늦추는 것이 바람직하다. 이것은 수용성이 좋지 않은 결정질 또는 비결정질 물질의 액체 현탁액의 사용에 의해 달성될 수 있다. 그 다음, 폴리펩타이드의 흡수 속도는 결정 크기와 결정질 형태에 의해 좌우될 수 있는 그의 용해 속도에 의해 좌우된다. 대안적으로, 비경구 투여된 폴리펩타이드 형태의 지연된 흡수는 폴리펩타이드를 오일 비히클에 용해시키거나 현탁함으로써 달성된다. 주사 가능한 데포(depot) 형태는 생분해성 중합체, 예컨대, 폴리락타이드-폴리글리콜라이드에서 폴리펩타이드의 마이크로캡슐 매트릭스를 형성함으로써 만들어진다. 폴리펩타이드 대 중합체의 비 및 사용된 구체적인 중합체의 성질에 따라, 폴리펩타이드 방출 속도를 조절할 수 있다. 다른 생분해성 중합체의 예는 폴리(오르토에스테르) 및 폴리(무수물)을 포함한다. 데포 주사 가능한 제제는 폴리펩타이드를 신체 조직에 적합한 리포솜 또는 마이크로에멀전에 포획함으로써 제조되기도 한다.

[0130] 본원에 기재된 조성물의 멸균 주사 가능한 형태는 수성 또는 유성 현탁액일 수 있다. 적합한 분산제 또는 습윤제 및 현탁제를 사용하여 당분야에 알려진 기법에 따라 이러한 현탁액을 제제화할 수 있다. 멸균 주사 가능한 제제는 무독성 비경구적으로 허용되는 희석제 또는 용매 중의 멸균 주사 가능한 용액 또는 현탁액, 예를 들어, 1,3-부탄디올 중의 용액일 수도 있다. 사용될 수 있는 허용되는 비히클 및 용매 중에는 물, 링거 용액 및 등장성 염화나트륨 용액이 있다. 또한, 멸균 고정유는 용매 또는 현탁 매질로서 통상적으로 사용된다. 이러한 목적을 위해, 합성 모노글리세라이드 또는 디글리세라이드를 포함하는 임의의 무자극 고정유를 사용할 수 있다. 올레산 및 이의 글리세라이드 유도체와 같은 지방산은 주사제의 제조에 유용하며, 특히 폴리옥시에틸화 버전의 올리브유 또는 피마자유와 같은 천연 약학적으로 허용되는 오일도 마찬가지이다. 이러한 오일 용액 또는 현탁액은 에멀전 및 현탁액을 포함하는 약학적으로 허용되는 제형의 제제화에 통상적으로 사용되는 카복시메틸 셀룰로스 또는 유사한 분산제와 같은 장쇄 알코올 희석제 또는 분산제도 함유할 수 있다. 다른 통상적으로 사용되는 계면활성제, 예컨대, 트윈(Tween), 스펠(Span), 및 약학적으로 허용되는 제형의 제조에 통상적으로 사용되는 다른 유화제 또는 생체이용률 향상제도 제제화의 목적으로 사용될 수 있다.

[0131] 일부 실시양태에서, 제제는 부형제, 완충제, 등장화제, 보존제, 계면활성제 및 바람직하게는 아연과 같은 작용제를 포함할 수 있다. 제제는 폴리펩타이드 안정화를 위한 부형제 또는 작용제, 예컨대, 완충제, 환원제, 벌크 단백질 또는 탄수화물도 포함할 수 있다. 적어도 하나의 폴리펩타이드 조성물을 제제화하는 데 유용한 벌크 단백질은 알부민, 프로타민 등을 포함한다. 적어도 하나의 폴리펩타이드를 제제화하는 데 유용한 전형적인 탄수화물은 수크로스, 만니톨, 락토스, 트레할로스, 글루코스 등을 포함한다. 이중특이적 항체 제제는 에어로졸의 형성에서 용액의 분사에 의해 야기된, 적어도 하나의 폴리펩타이드의 표면 유도된 응집을 감소시킬 수 있거나 방지할 수 있는 계면활성제도 포함할 수 있다. 다양한 통상적인 계면활성제, 예컨대, 폴리옥시에틸렌 지방산 에스테르 및 알코올, 및 폴리옥시에틸렌 소르비탈 지방산 에스테르를 사용할 수 있다. 양은 일반적으로 제제의 중량 기준으로 약 0.001% 내지 4%일 것이다. 본 발명의 목적을 위한 특히 바람직한 계면활성제는 폴리옥시에틸렌 소

르비탄 모노클레에이트, 폴리소르베이트 80, 폴리소르베이트 20 등이다. 항체 단백질과 같은 폴리펩타이드의 제제화용으로 당분야에 알려진 추가 작용제도 제제에 포함될 수 있다.

[0132] **세포 치료 방법**

[0133] 또 다른 측면에서, 본 개시내용은 예를 들어, 수용체 내재화 또는 수용체 분해 목적으로 세포를 본 개시내용의 이중특이적 항체로 처리하는 방법을 제공한다. 본원에서 입증된 바와 같이, 본 개시내용의 bsAb는 bsAb가 결합하는 수용체(예를 들어, NRP1, EGFR)의 내재화 및 분해를 매개할 수 있다.

[0134] 따라서, 한 실시양태에서, 본 개시내용은 세포로 하나 이상의 수용체를 내재화하는 방법으로서, 수용체(들)가 내재화되도록 세포를, 세포의 수용체(들)에 결합하는 본 개시내용의 이중특이적 항체와 접촉시키는 단계를 포함하는 방법을 제공한다. 한 실시양태에서, bsAb는 수용체 NRP1 및 EGFR의 내재화를 매개한다.

[0135] 또 다른 실시양태에서, 본 개시내용은 세포로 하나 이상의 수용체를 분해하는 방법으로서, 수용체(들)가 분해되도록 세포를, 세포의 수용체(들)에 결합하는 본 개시내용의 이중특이적 항체와 접촉시키는 단계를 포함하는 방법을 제공한다. 한 실시양태에서, bsAb는 수용체 NRP1 및 EGFR의 분해를 매개한다.

[0136] **종양 성장 억제**

[0137] 또 다른 측면에서, 본 개시내용은 본 개시내용의 이중특이적 항체를 사용하여 종양 세포의 성장을 억제하는 방법을 제공한다. 본원에서 입증된 바와 같이, 본 개시내용의 bsAb는 종양 성장 억제 능력을 나타낸다. 따라서, 본 개시내용의 bsAb는 예컨대, 암 치료에서 종양 세포의 성장을 억제하는 데 사용될 수 있다. 한 측면에서, 본원은 암성 종양의 성장이 억제되거나 감소되고/되거나 퇴행 및/또는 장기 생존이 달성되도록 유효량으로 본 개시내용의 bsAb를, 암 치료를 필요로 하는 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는 암 치료 방법을 제공한다. 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 bsAb는 본원에 기재된 바와 같이 추가 세포독성제(들) 또는 치료제(들)와의 조합으로 투여될 수 있다.

[0138] 본원에 기재된 bsAb를 사용하여 성장을 억제할 수 있는 암은 암종, 림프종, 모세포종, 육종 및 백혈병을 포함하나, 이들로 제한되지 않는다. 한 실시양태에서, 암은 비정상적인 EGFR 발현 및/또는 기능(예를 들어, EGFR의 과발현, 돌연변이체 EGFR의 발현)과 관련되어 있고, 이의 비제한적인 예는 폐암(예를 들어, 비-소세포 폐암), 신장암, 유방암(예를 들어, 침습성 관상 유방 암종), 교모세포종, 두경부암, 전립선암 및 난소암을 포함한다. 한 실시양태에서, 암은 비-소세포 폐암(NSCLC)이다. 한 실시양태에서, 암은 폐암(예를 들어, NSCLC), 결장암 및 두경부암으로 구성된 군으로부터 선택된다.

[0139] 또 다른 실시양태에서, 암은 비정상적인 NRP1 발현 및/또는 기능(예를 들어, NRP1의 과발현, 돌연변이체 NRP1의 발현)과 관련되어 있으며, 이의 비제한적인 예는 폐암, 유방암, 백혈병, 악성 흑색종, 신경교종, 골육종, 위암, 식도암 및 결장암을 포함한다.

[0140] 또 다른 실시양태에서, 암은 EGFR 및 NRP1 둘 다의 비정상적인 발현, 예를 들어, EGFR 및 NRP1 둘 다의 과발현과 관련되어 있다. EGFR 및 NRP1 둘 다의 과발현과 관련된 암의 비제한적인 예는 췌장암, 폐암, 두경부암, 자궁경부암, 신장암, 난소암 및 결장암을 포함한다. 환자 샘플의 암 게놈 아틀라스 데이터베이스의 유전자 발현 프로파일 분석은 췌장암, 폐암, 두경부암, 자궁경부암, 신장암, 난소암 및 결장암이 EGFR 및 NRP1 둘 다를 과발현하는 환자 종양 집단의 각각 75%, 70%, 65%, 65%, 60%, 55% 및 40%를 차지함을 보여주었다.

[0141] 한 실시양태에서, 본 개시내용의 bsAb는 임의로 젠시타빈 및/또는 시스플라틴과의 조합으로, 전이성 편평 비-소세포 폐암의 치료에 사용된다. 특정 실시양태에서, bsAb의 사용은 비편평 비-소세포 폐암의 치료용으로 표시되지 않는다.

[0142] 한 실시양태에서, 본 개시내용의 bsAb는 예를 들어, 1차 치료를 위해, 임의로 FOLFOX(폴린산, 플루오로우라실 및 옥살리플라틴) 또는 FOLFIRI(폴린산, 플루오로우라실 및 이리노테칸)와의 조합으로, 야생형 RAS 전이성 대장암(이 용도에 대한 FDA 승인된 시험에 의해 확인될 때 KRAS 및 NRAS 둘 다에서 야생형으로서 정의됨)의 치료에 사용된다. 한 실시양태에서, 본 개시내용의 bsAb는 예를 들어, 플루오로피리미딘, 옥살리플라틴 및/또는 이리노테칸 함유 화학요법을 사용한 사전화학요법 치료 후 질환 진행 후에 단일요법으로서 야생형 RAS 전이성 대장암(이 용도에 대한 FDA 승인된 시험에 의해 확인될 때 KRAS 및 NRAS 둘 다에서 야생형으로서 정의됨)의 치료에 사용된다. 특정 실시양태에서, bsAb의 사용은 RAS 돌연변이체 전이성 대장암을 가진 환자 또는 RAS 돌연변이 상태가 알려지지 않은 환자의 치료용으로 표시되지 않는다.

[0143] 한 실시양태에서, 본 개시내용의 bsAb는 임의로 방사선요법과의 조합으로, 두경부의 국소적 또는 지역적으로 진

행된 편평 세포 암종의 치료에 사용된다. 한 실시양태에서, 본 개시내용의 bsAb는 임의로 플루오로우라실을 사용한 백금 기반 요법과의 조합으로, 두경부의 재발성 국소영역 질환 또는 전이성 편평 세포 암종의 치료에 사용된다. 한 실시양태에서, 본 개시내용의 bsAb는 백금 기반 요법 후 진행되는 두경부의 재발성 또는 전이성 편평 세포 암종의 치료에 사용된다.

[0144] 적합한 암의 추가 비제한적인 예는 기저 세포 암종; 담관암; 방광암; 골암; 뇌 및 CNS 암; 유방암(예를 들어, 에스트로겐 수용체 양성 유방암, HER2 양성 유방암, 삼중 음성 유방암); 복막의 암; 자궁경부암; 담관암종; 용모막암종; 결장 및 직장암; 결합 조직암; 소화기계의 암; 자궁내막암; 식도암; 안암; 두경부의 암; 위암(위장암 포함); 교모세포종; 간암(예를 들어, 간세포 암종, 간세포종); 상피내 신생물; 신장암 또는 신암; 후두암; 백혈병; 폐암(예를 들어, 소세포 폐암, 폐의 선암종, 및 폐의 편평 암종); 호지킨 림프종 및 비호지킨 림프종을 포함하는 림프종; 흑색종; 골수종; 신경모세포종; 구강암(예를 들어, 입술, 혀, 입 및 인두); 난소암; 췌장암; 전립선암; 망막모세포종; 횡문근육종; 직장암; 호흡기계의 암; 타액선 암종; 육종; 피부암; 편평 세포 암; 기형암종; 고환암; 갑상선암; 자궁암 또는 자궁내막암; 비뇨기계의 암; 외음부암; 및 기타 암종 및 육종; 및 B 세포 림프종(저등급/여포성 비호지킨 림프종(NHL); 소림프구성(SL) NHL; 중간 등급/여포성 NHL; 중간 등급 미만성 NHL; 고등급 면역모세포성 NHL; 고등급 림프모세포성 NHL; 고등급 비-분할 소세포 NHL; 벌키 질환 NHL; 맨틀 세포 림프종; AIDS 관련 림프종; 및 발덴스트롬 마크로글로블린혈증 포함); 만성 림프구성 백혈병(CLL); 급성 림프모세포성 백혈병(ALL); 털세포 백혈병; 만성 골수모세포 백혈병; 및 이식 후 림프증식성 장애(PTLD)뿐만 아니라, 모반종, 부종(예컨대, 뇌 종양과 관련된 부종), 원시 기원의 종양 및 메이그스 증후군과 관련된 비정상적인 혈관 증식을 포함하나, 이들로 제한되지 않는다.

[0145] 본원에 기재된 bsAb를 사용하여 치료할 수 있는 추가 암은 전이성 췌장암, 췌장의 전이성 선암종, 위암, 섬유성 암, 신경교종, 악성 신경교종, 미만성 내재성 다리 신경교종, 재발성 소아 뇌 신생물 신세포 암종, 투명 세포 전이성 신세포 암종, 전이성 거세 내성 전립선암, IV기 전립선암, 전이성 흑색종, 악성 흑색종, 피부의 재발성 흑색종, 흑색종 뇌 전이, 두경부의 악성 흑색종, 편평 세포 비-소세포 폐암, 전이성 유방암, 여포성 림프종, 진행성 B 세포 NHL, 미만성 B 대세포 림프종(DLBCL)을 포함하는 HL, 다발성 골수종, 만성 골수성 백혈병, 퇴행기에 있는 성인 급성 골수성 백혈병, Inv(16)(p13.1q22)를 가진 성인 급성 골수성 백혈병, CBFβ-MYH11, t(16:16)(p13.1;q22)를 가진 성인 급성 골수성 백혈병, CBFβ-MYH11, t(8:21)(d22;q22)를 가진 성인 급성 골수성 백혈병, RUNX1-RUNX1T1, t(9:11)(p22;q23)을 가진 성인 급성 골수성 백혈병, MLLT3-MLL, t(015:17)(q22;q12)를 가진 성인 급성 전구골수성 백혈병, PML-RARA, 알킬화제 관련 급성 골수성 백혈병, 리히터 증후군, 성인 교모세포종, 성인 교육종, 재발성 교모세포종, 재발성 소아 횡문근육종, 재발성 유잉 육종/말초 원시 신경외배엽 종양, 재발성 신경모세포종, 재발성 골육종, 대장암, MSI 양성 대장암, MSI 음성 대장암, 비인두 비각질화암종, 재발성 비인두 미분화 암종, 자궁경부 선암종, 자궁경부 선편평 암종, 자궁경부 편평 세포 암종, 재발성 자궁경부 암종, 항문관 편평 세포 암종, 전이성 항문관 암종, 재발성 항문관 암종, 재발성 두경부암, 두경부의 편평 세포, 두경부 편평 세포 암종(HNSCC), 난소 암종, 결장암, 진행성 GI 암, 위 선암종, 위식도 연결부 선암종, 골 신생물, 연조직 육종, 골 육종, 흉선 암종, 요로상피 암종, 메르켈 세포 암종, 재발성 메르켈 세포 암종, 균상식육종, 세자리 증후군, 신경내분비암, 비인두암, 기저 세포 피부암, 편평 세포 피부암, 용기성 피부 섬유육종, 신경교종, 중피종, 골수이형성 증후군(MDS), 골수섬유증(MF), 골수증식성 신생물 및 급성 골수성 백혈병(AML)을 포함한다.

[0146] 암을 예를 들어, 전이성 또는 원발성 암; 섬유조직형성 또는 비-섬유조직형성 암; 또는 재발성 암일 수 있다.

[0147] 본원에 기재된 bsAb의 암 성장 억제 능력은 실시예에 설명된 바와 같이, 인간 종양에서의 효능을 예측하는 적합한 동물 모델 또는 인간 이종이식 모델에서 평가될 수 있다. 한 실시양태에서, 이종이식 모델은 실시예에 설명된 바와 같이, H1975 모델이다. 대안적으로, 조성물의 이러한 특성은 숙련된 실무자에게 알려진 시험관내 어세이를 이용하여 화합물의 억제 능력을 조사함으로써 평가될 수 있다. 하나 이상의 치료제의 치료 유효량은 종양 크기를 감소시킬 수 있거나, 그렇지 않으면 대상체의 증상을 호전시킬 수 있다. 당분야에서 통상의 기술을 가진 자는 대상체의 크기, 대상체의 증상의 중증도, 및 선택된 구체적인 조성물 또는 투여 경로와 같은 요인을 기반으로 이러한 양을 결정할 수 있을 것이다.

[0148] 한 실시양태에서, 본 개시내용의 bsAb로 치료할 암 환자는 bsAb 치료가 효과적인 가능성을 표시하는 하나 이상의 바이오마커의 발현을 기반으로 치료 전에 선별된다. 예를 들어, NRP1 x EGFR 이중특이적 항체의 경우, 치료할 암 환자는 환자의 종양 세포에서의 EGFR, NRP1 또는 이들 둘 다의 과발현을 기반으로 선별될 수 있다. bsAb 치료 전에 환자의 종양 세포에서 관심 있는 바이오마커(들)의 표면 발현(예를 들어, NRP1 및/또는 EGFR의 발

현)을 시험하는 방법은 당분야에 잘 확립되어 있다(예를 들어, 유세포분석에 의한 FACS 분석 등).

[0149] **조합 요법**

[0150] 일부 실시양태에서, 폴리펩타이드 또는 이의 약학적으로 허용되는 염 또는 용매화물(예를 들어, 수화물)을 단독으로 또는 추가 적합한 화학요법제, 예를 들어, 옥살리플라틴, 이리노테칸 또는 FOLFOX와의 조합으로 사용하는 본 발명의 방법 또는 약학 조성물에서 본 개시내용의 조성물(예를 들어, 이중특이적 항체)의 유효량을 달성할 수 있다. "조합 요법"이 사용되는 경우, 유효량은 제1양의 폴리펩타이드 또는 이의 약학적으로 허용되는 염 또는 용매화물(예를 들어, 수화물), 및 제2양의 추가 적합한 치료제, 예를 들어, 화학요법제를 사용함으로써 달성될 수 있다.

[0151] 본원에 기재된 bsAb를 사용한 조합 요법에 사용하기에 적합한 항암제는 수술, 화학요법제, 성장 억제제, 세포독성제, 방사선요법 및 방사선요법에 사용되는 작용제, 항-혈관신생제, 아포토시스제, 항-튜블린제, 및 암을 치료하는 다른 작용제, 예컨대, 항-HER-2 항체(예를 들어, HERCEPTIN®), 항-CD20 항체, 표피 성장 인자 수용체(EGFR) 길항제(예를 들어, 티로신 키나제 억제제), HER1/EGFR 억제제(예를 들어, 에를로티닙(TARCEVA®)), 혈소판 유래 성장 인자 억제제(예를 들어, GLEEVEC(이마티닙 메실산염)), COX-2 억제제(예를 들어, 셀레콕싯), 인터페론 및 사이토카인; 다음 표적들 중 하나 이상에 결합하고/하거나 이 표적의 활성을 중화하는 길항제(예를 들어, 중화 항체): PD 1, PDL1, PDL2(예를 들어, 펨브롤리주맵; 니볼루맵; MK-3475; AMP-224; MPDL3280A; MEDI0680; MSB0010718C; 및/또는 MEDI4736); CTLA4(예를 들어, 트레멜리주맵(PFIZER) 및 이필리주맵); LAG3(예를 들어, BMS-986016); CD 103; TIM-3 및/또는 다른 TIM 패밀리를 구성원; CEACAM1, CEACAM6 및/또는 다른 CEACAM 패밀리를 구성원; ErbB2, ErbB3, ErbB4, PDGFR-베타, BlyS, APRIL, BCMA 또는 VEGF 수용체(들), TRAIL/Apo2, PARP 억제제(예를 들어, AZD-2281, 린파르자(Lynparza) OCEACAM5arib, 루브라카 루카파립; (Zejula) 니라파립), DNA 손상 복구 억제제(예를 들어, ATMi, ATRi, DNAPKi), 및 VII 단원에 기재된 것들을 비롯한 기타 생물활성 및 유기 화학 작용제를 포함하나, 이들로 제한되지 않는다. 이들의 조합도 본원에 설명된 방법에 대해 구체적으로 고려된다.

[0152] 본원에 기재된 bsAb를 사용한 조합 요법에 사용하기에 적합한 화학요법제는 알킬화제, 예컨대, 티오테파 및 CYTOXAN® 사이클로스포스파마이드; 테모졸로마이드; 알킬 설포네이트, 예컨대, 부셀판, 임프로셀판 및 피포셀판; 아지리딘, 예컨대, 벤조도파, 카르보쿠온, 메투레도파 및 우레도파; 알트레타민, 트리에틸렌멜라민, 트리에틸렌포스포라미드, 트리에틸렌티오포스포라미드 및 트리에틸올로멜라민을 포함하는 에틸렌이민 및 메틸아멜라민; 아세토게닌(특히 불라타신 및 불라타시논); 캄프토테신(합성 유사체 토포테칸 포함); 이리노테칸(캄프토테칸, CPT-11)(5-FU 및 류코보린을 사용한 이리노테칸의 치료 요법 포함); 토포이소머라제 억제제 RFS 2000; 브리오스타틴; 칼리스타틴; CC-1065(이의 아도젤레신, 카르젤레신 및 비젤레신 합성 유사체 포함); 크립토파이신(특히 크립토파이신 1 및 크립토파이신 8); 돌라스타틴; 듀오카마이신(합성 유사체인 KW-2189 및 CB 1-TM1 포함); 엘류테로빈; 판크라티스타틴; 사르코덕티인; 스폰지스타틴; 질소 머스타드, 예컨대, 클로람부실, 클로르나파진, 콜로포스포마이드, 에스트라무스틴, 이포스포마이드, 메클로레타민, 메클로레타민 산화물 염산염, 멜팔란, 노벤펌친, 페네스테린, 프레드니무스틴, 트로포스포마이드, 우라실 머스타드; 니트로우레아, 예컨대, 카르무스틴, 클로로조토신, 포테무스틴, 로무스틴, 니무스틴 및 라남누스틴; 항생제, 예컨대, 에네다이인 항생제(예를 들어, 칼리케아미신, 특히 칼리케아미신 감마 II 및 칼리케아미신 오메가 II(예를 들어, 문헌[Agnew, Chem. Int'l. Ed. Engl., 33: 183-186 (1994)] 참조); 다이네마이신 A를 포함하는 다이네마이신; 비스포스포네이트, 예컨대, 클로드로네이트; 에스페라마이신; 네오카르지노스타틴 발색단 및 관련 발색단백질 에네다이인 항생제 발색단), 아클라시노마이신, 액티노마이신, 오프라마이신, 아자세린, 블레오마이신, 카크티노마이신, 카라비신, 카미노마이신, 카르지노필린, 크로모마이신, 닥티노마이신, 다우노루비신, 데토루비신, 6-디아조-5-옥소-L-노르류신, ADRIAMYCIN® 독소루비신(모르폴리노-독소루비신, 시아노모르폴리노-독소루비신, 2-피롤리노-독소루비신 및 테옥시독소루비신 포함), 에피루비신, 예소루비신, 이다루비신, 마르셀로마이신, 미토마이신, 예컨대, 미토마이신 C, 마이코페놀산, 노갈라마이신, 올리보마이신, 페플로마이신, 포트피로마이신, 퓨로마이신, 쿠엘라마이신, 로도루비신, 스트렙토니그린, 스트렙토조신, 튜베르시딘, 우베니멕스, 지노스타틴, 조루비신; 항-대사물질, 예컨대, 메토크세이트 및 5-플루오로우라실(5-FU); 염산 유사체, 예컨대, 데노프테린, 메토크세이트, 프테로프테린, 트리메트렉세이트; 퓨린 유사체, 예컨대 플루다라빈, 6-머캅토피린, 티아미프린, 티오구아닌; 피리미딘 유사체, 예컨대, 안시타빈, 아자시티딘, 6-아자우리딘, 카르모푸르, 시타라빈, 디데옥시우리딘, 독시플루리딘, 에노시타빈, 플록스우리딘; 안드로젠, 예컨대, 칼루스테론, 드로모스타놀론 프로피오네이트, 에피티오스타놀, 메피티오스타탄, 테스토라톤; 항-부신제, 예컨대, 아미노글루테티마이드, 미토탄, 트릴로스타탄; 염산 보충제, 예컨대, 폴린산; 아세글라톤; 알도포스포마이드 글리코사이드; 아미노레볼린산; 에닐우라실; 암사크린; 베스트

라부실; 비산트렌; 에다트락세이트; 데포파민; 데베콜신; 디아지쿠온; 엘포르미틴; 엘립티늄 아세트산염; 에포틸론; 에토글루시드; 질산갈륨; 하이드록시우레아; 렌티난; 로니다이닌; 메이탄시노이드, 예컨대, 메이탄신 및 안사미토신; 미토구아존; 미톡산트론; 모피단롤; 니트라에린; 펜토스타틴; 페나메트; 피라루비신; 로속산트론; 포도필린산; 2-에틸하이드라자이드; 프로카르바진; PSK® 다당류 복합체(JHS Natural Products, 오레곤주 유진); 라죽산; 리죽신; 시조푸란; 스피로게르마늄; 테누아존산; 트리아지쿠온; 2,2',2"-트리클로로트리에틸아민; 트리코테센(특히 T-2 독소, 베라쿠린 A, 로리딘 A 및 안귀딘); 우레탄; 빈데신; 다카르바진; 만노무스틴; 미토브로니톨; 미톨락톨; 피포브로만; 가사이토신; 아라비노사이드("Ara-C"); 사이클로포스파마이드; 티오테파; 탁소이드, 예를 들어, TAXOL® 파클리탁셀(Bristol-Myers Squibb Oncology, 뉴저지주 프린스턴), ABRAXANE® 크레모포르 무함유, 파클리탁셀의 알부민 조작된 나노입자 제제(American Pharmaceutical Partners, Schaumburg, 111.), TAXOTERE® 독세탁셀(Rhone-Poulenc Rorer, 프랑스 안토니); 클로란부실; GEMZAR® 젬시타빈; 6-티오구아닌; 머캅토피린; 백금 유사체, 예컨대, 시스플라틴, 옥살리플라틴 및 카르보플라틴, 빈블라스틴; 백금; 에토포사이드(VP-16); 이포스파마이드; 미톡산트론; 빈크리스틴; NAVELBINE, 비노렐빈; 노반트론; 테니포사이드; 에다트락세이트; 다우노마이신; 아미노프테린; 젤로다; 이반드로네이트; 디플루오로메틸오르니틴(DMFO); 레티노이드, 예컨대, 레티노산; 카페시타빈; 콰레타스타틴; 류코보린(LV); 옥살리플라틴 치료 요법(FOLFOX)을 포함하는 옥살리플라틴; CEACAM5atinib(TYKERB); 세포 증식을 감소시키는 PKC-알파, Raf, H-Ras, EGFR(예를 들어, 에를로티닙(TARCEVA®)) 및 VEGF-A의 억제제, 및 상기 물질들 중 임의의 물질의 약학적으로 허용되는 염, 산 또는 유도체를 포함하나, 이들로 제한되지 않는다.

[0153] 일부 실시양태에서, 추가 치료제는 면역 체크포인트 억제제이다. 일부 실시양태에서, 추가 치료제는 항-PD-1 항체 또는 이의 항원 결합 단편, 항-LAG3 항체 또는 이의 항원 결합 부분, 항-VISTA 항체 또는 이의 항원 결합 단편, 항-BTLA 항체 또는 이의 항원 결합 단편, 항-TIM3 항체 또는 이의 항원 결합 단편, 항-CTLA4 항체 또는 이의 항원 결합 단편, 항-HVEM 항체 또는 이의 항원 결합 단편, 항-CD27 항체 또는 이의 항원 결합 단편, 항-CD137 항체 또는 이의 항원 결합 단편, 항-OX40 항체 또는 이의 항원 결합 단편, 항-CD28 항체 또는 이의 항원 결합 단편, 항-PDL1 항체 또는 이의 항원 결합 단편, 항-PDL2 항체 또는 이의 항원 결합 단편, 항-GITR 항체 또는 이의 항원 결합 단편, 항-ICOS 항체 또는 이의 항원 결합 단편, 항-SIRP $\alpha$  항체 또는 이의 항원 결합 단편, 항-ILT2 항체 또는 이의 항원 결합 단편, 항-ILT3 항체 또는 이의 항원 결합 단편, 항-ILT4 항체 또는 이의 항원 결합 단편, 항-ILT5 항체 또는 이의 항원 결합 단편, 및 항-4-1BB 항체 또는 이의 항원 결합 단편으로 구성된 군으로부터 선택된다. 일부 실시양태에서, 항-PD1 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 펩트올리주맙 또는 이의 항원 결합 단편이다.

[0154] 공투여는 제1양의 폴리펩타이드와 화학요법제 및 제2양의 폴리펩타이드와 화학요법제를 본질적으로 동시적 방식으로, 예컨대, 단일 약학 조성물, 예를 들어, 제1양과 제2양의 고정된 비를 가진 캡슐, 또는 각각에 대한 다수의 별도 캡슐로 투여하는 것을 포괄한다. 추가로, 이러한 공투여는 각각의 폴리펩타이드를 어느 순서로든 순차적 방식으로 사용하는 것도 포괄한다.

[0155] 공투여가 제1양의 폴리펩타이드 및 제2양의 추가 치료제의 별도 투여를 수반하는 경우, 폴리펩타이드는 원하는 치료 효과를 갖기 위해 시간적으로 충분히 가깝게 투여된다. 예를 들어, 원하는 치료 효과를 제공할 수 있는 각각의 투여 사이의 시간은 몇 분 내지 몇 시간일 수 있으며 각각의 작용제의 특성, 예컨대, 효능, 용해도, 생체 이용률, 혈장 반감기 및 동역학 프로파일을 고려함으로써 결정될 수 있다. 예를 들어, 폴리펩타이드와 제2 치료제는 서로 약 24시간 이내, 서로 약 16시간 이내, 서로 약 8시간 이내, 서로 약 4시간 이내, 서로 약 1시간 이내 또는 서로 약 30분 이내에 임의의 순서로 투여될 수 있다.

[0156] 보다 구체적으로, 본 발명의 이중특이적 항체는 대상체에게 제2 항암제를 투여하기 전(예를 들어, 5분, 15분, 30분, 45분, 1시간, 2시간, 4시간, 6시간, 12시간, 24시간, 48시간, 72시간, 96시간, 1주, 2주, 3주, 4주, 5주, 6주, 8주 또는 12주 전)에, 제2 항암제와 동시에, 또는 제2 항암제를 투여 후(예를 들어, 5분, 15분, 30분, 45분, 1시간, 2시간, 4시간, 6시간, 12시간, 24시간, 48시간, 72시간, 96시간, 1주, 2주, 3주, 4주, 5주, 6주, 8주 또는 12주 후)에 투여될 수 있다.

[0157] 제1양의 이중특이적 항체와 제2양의 추가 치료제를 공투여하는 방법은 향상된 또는 상승작용적 치료 효과를 가져올 수 있는 것으로 이해되는데, 여기서 조합된 효과는 제1양의 폴리펩타이드와 제2양의 추가 치료제의 별도 투여로부터 비롯될 수 있는 상가적 효과보다 더 크다.

[0158] 요법의 조합(예를 들어, 예방제 또는 치료제의 조합)의 상승작용적 효과는 하나 이상의 요법을 더 낮은 용량으로 사용할 수 있게 하고/하거나 상기 요법을 대상체에게 덜 자주 투여할 수 있게 한다. 요법(예를 들어, 예방제

또는 치료제)의 더 낮은 용량을 사용하고/하거나 상기 요법을 덜 자주 투여하는 능력은 암의 치료에서 상기 요법의 효능을 감소시키지 않으면서 상기 요법을 대상체에게 투여하는 것과 관련된 독성을 감소시킬 수 있다. 또한, 상승작용적 효과는 장애의 예방, 관리 또는 치료에 있어서 작용제의 효능을 개선할 수 있다. 마지막으로, 요법의 조합(예를 들어, 예방제 또는 치료제의 조합)의 상승작용적 효과는 어느 한 요법만의 사용과 관련된 불리한 또는 원치 않는 부작용을 피할 수 있거나 감소시킬 수 있다.

[0159] 본 발명의 이중특이적 항체를 사용하는 조합 요법이 또 다른 항암제와 조합될 때, 두 치료제는 각각의 투여 사이의 시간이 더 길어질 수 있도록(예를 들어, 며칠, 몇 주 또는 몇 달) 투여될 수 있다.

[0160] 상승작용적 효과의 존재는 약물 상호작용을 평가하는 적합한 방법을 이용함으로써 확인될 수 있다. 적합한 방법은 예를 들어, 시그모이드-Emax 방정식(Holford, N.H.G. and Scheiner, L.B., Clin. Pharmacokinet. 6: 429-453 (1981)), 로에베(Loewe) 가산성 방정식(Loewe, S. and Muischnek, H., Arch. Exp. Pathol Pharmacol. 114: 313-326 (1926)) 및 중간 효과 방정식(Chou, T.C. and Talalay, P., Adv. Enzyme Regul. 22: 27-55 (1984))을 포함한다. 위에 언급된 방정식 각각을 실험 데이터와 함께 적용하여 약물 조합의 효과를 평가하는 데 도움이 되는 상응하는 그래프를 생성할 수 있다. 상기 언급된 방정식과 관련된 상응하는 그래프는 각각 농도-효과 곡선, 이소볼로그래프(isobologram) 곡선 및 조합 지수 곡선이다.

[0161] **예시적인 실시양태**

[0162] 본 명세서의 실시예는 본 발명을 제한하기 위한 것이 아니며, 제한하는 데 사용되어서는 안 되고; 오로지 본 발명을 예시하기 위해 제공된다.

[0163] **실시예 1: 이중특이적 항체의 생성**

[0164] 설계된 단백질을 코돈 최적화된 유전자 합성으로 생성하고 Not I 및 Hind III 제한 효소를 사용하여 발현 벡터인 pcDNA3.4에 삽입하였다. 서열번호 12로 제시된 경쇄 폴리펩타이드 서열과 조합되는 이중특이적 항체 중쇄 폴리펩타이드의 아미노산 서열의 예는 서열번호 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 및 39로 제시되어 있다. 서열번호 1(서열번호 14에 의해 인코딩됨)은 NRP1 결합 펩타이드를 포함하는 대조군 중쇄를 보여준다. 이중특이적 항체의 중쇄 폴리펩타이드를 인코딩하는 폴리뉴클레오타이드 서열의 예는 서열번호 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24 및 40(각각 서열번호 2 내지 11 및 39의 중쇄 폴리펩타이드를 인코딩함)으로 제시되어 있다. 이중특이적 항체의 중쇄와 조합되는 경쇄 폴리뉴클레오타이드를 인코딩하는 폴리뉴클레오타이드 서열은 서열번호 25(서열번호 12의 경쇄 폴리펩타이드를 인코딩함)로 제시되어 있다. 서열번호 26 내지 38로 제시된 서열은 GGGGS 펩타이드 링커 서브유닛(이의 아미노산 서열은 서열번호 13으로 제시됨)을 인코딩하는 데 사용된 폴리뉴클레오타이드 서열을 개시한다. 구축된 발현 벡터는 신호 펩타이드를 포함하고 최적화된 전사를 위해 코작(Kozak) 서열이 5' 비번역 영역에 포함될 수 있다.

[0165] 형질감염을 위한 플라스미드 구축물의 양을 얻기 위해, 플라스미드 구축물을 One Shot™ Top10 이. 콜라이 형질 전환능 세포에 형질전환시킨 후 밤새 배양하였다. 구축물 플라스미드를 PureLink™ HiPure Expi 플라스미드 메가프랩 키트로 얻었다.

[0166] 융합 단백질을 CHO-S 시스템(Thermo Fisher Scientific Inc.)에서 일시적으로 발현시켰다. 단백질을 제조업체의 설명서에 따라 개별적으로 발현시켰다. 요약하면, CHO-S 배양물  $mL$ 당 1:1의 경쇄 대 중쇄 비에서 총  $0.8 \mu g$ 의 플라스미드 DNA를 OPTIPRO™ SFM 및 ExpiFectamine™으로 준비하였다. 혼합물을  $6 \times 10^6$  개 세포/ $mL$ 의 생존 가능한 세포 밀도 및 98% 초과 생존율에서 CHO-S 세포에 첨가하였다. 세포 배양물을 19 mm 케도로 125 RPM에서 진탕하면서 Nalgene™ 일회용 PETG 삼각 플라스크에서 37°C, 80% 습도, 8% CO<sub>2</sub>에서 밤새 인큐베이션하였다. 다음 날, 배양물을 19 mm 케도로 125 RPM에서 진탕하면서 증강시키고(ExpiCHO™ 증강제; Thermo Fisher Scientific Inc.) 공급하고(ExpiCHO™ 공급; Thermo Fisher Scientific Inc.) 32°C, 80% 습도, 5% CO<sub>2</sub>로 옮겼다. 두 번째 공급을 5일째 날에 수행하였고 배양물을 12일째 날에 수거할 때까지 32°C로 돌려보냈다. 4000×g에서 20분 동안 원심분리하여 수거를 달성하였다. 비대칭적 폴리에테르설폰(PES) 0.22  $\mu m$  필터 조립체(Nalgene)를 사용하여 정화된 상청액을 멸균하였다. 여액을 다음 날 정제할 때까지 4°C에서 보관하였다.

[0167] AKTApure(GE Healthcare Life Sciences)에서 맵셀렉트(MabSelect) prismA™ 수지(GE Healthcare Life Sciences)를 사용하여 모든 항체 멸균 상청액을 정제하였다. 50 mM 인산나트륨, 150 mM NaCl, pH 7.0 완충제를 사용하여 수지를 평형화하였다. 그 다음, 항체 상청액을 컬럼에 로딩하였다. 크로마토그래피 기준이 컬럼 평형화 수준으로 돌아올 때까지 50 mM 인산나트륨, 150 mM NaCl, pH 7.0 완충제로 수지를 세척하였다. 이어서, 100

mM 아세트산나트륨, 20% 글리세롤, pH 3.0을 사용하여 용출을 수행하였고, 분획을 모았다. 상기 분획을 1 M 트리스(pH 9)로 즉시 중화하였다. 파장 280 nm에서 우세한 흡광도를 함유하는 분획을, 완충제 교체를 위한 아미콘(Amicon) 10 kDa 한외여과 장치에 폴딩하였다. 보관 완충제(인산염 완충 식염수)를 사용하여 아미콘 농축기에서 7회 절반 희석하면서 원심분리함으로써 용출 완충제를 제거하였다. 물질을 SEC에 제출한 다음 4°C에서 보관하였다.

[0168] 양이온 교환 크로마토그래피를 이용하여 항체를 정제하였다. 양이온 교환 크로마토그래피 컬럼(Capto S Impact)을 1 M NaOH로 살균하고 MQ로 세정하였다. 50 mM NaAc pH 5.5(시작 완충제) 및 50 mM NaAc pH 5.5, 1 M NaCl(용출 완충제)을 사용하여 평형화를 수행하였다. 단백질 A 정제된 항체를 1 내지 2 g 항체/ml 수지의 농도로 로딩하였다. 그 다음, 컬럼을 50 mM NaAc pH 5.5로 세척하였다. 이어서, 25 컬럼 부피에서 5% 내지 60% 용출 완충제의 구배를 사용하여 항체 생성물을 용출하였다. CEX 정제에서 각각의 피크를 별도로 모으고 Amicon® Ultra-15 원심분리 필터 유닛을 이용하여 4000xg에서 원심분리를 통해 농축한 다음, 완충제를 PBS로 교체하였다.

[0169] 다이오드 어레이 UV 검출기 WR을 갖춘 아질런트 인피니티(Agilent Infinity) 1260 II 사원 펌프 고성능 액체 크로마토그래피(HPLC) 시스템에서 크기 배제 크로마토그래피(SEC) 분석을 수행하였다. 이십(20) µg의 항체 물질을 XBridge 단백질 BEH SEC 컬럼, 200 Å, 2.5 µm, 4.6 mm X 150 mm 컬럼에 주입하였다. 이동상은 50°C에서 100 mM 인산염, 300 mM 염화나트륨 pH 7.0이었고, 유속은 0.3 ml/분이었다. 항체 물질을 10분 획득 동안 1 Hz 샘플링 속도로 파장 220, 280 및 330 nm에서 검출하였다.

[0170] **실시예 2: EGFR 및 NRP1에 대한 이중특이적 항체 결합 친화성**

[0171] 옥테트 레드 96 시스템을 사용한 BLI 결합 연구를 수행하여 이중특이적 항체와 재조합 huEGFR 및 huNRP1의 결합을 평가하였다. 요약하면, 상업적으로 공급되는 바이오틴화 huEGFR 및 huNRP1을 스트렙타비딘(Sa) 바이오센서에 고정하고 결합 및 특징구명을 위해 생성된 구축물로 조사하였다. BLI 기술을 이용하여 구축물의 결합을 동역학과 결합 친화성(평형 결합 상수, KD) 둘 다에 대해 평가하였고 2가 형식으로 평가하였다. 이러한 연구를 수행하여, 종양 관련 필수 수용체 표적화 항체(TARE-TAB)가 암 표적(EGFR 및 NRP1)에 결합하는지를 확인하고 표적에 대한 그의 친화성을 평가하였다. huEGFR 및 huNRP1에 결합하는 구축물뿐만 아니라 KD 측정도 옥테트 레드 96 시스템을 사용하여 수행하였다.

[0172] huEGFR 및 huNRP1(이들 각각의 고정 컬럼에서)을 2X 동역학 완충제 중의 0.2 µg/ml(0.2 내지 0.4 나노미터의 로드 신호 범위)의 농도로 Sa 바이오센서에 고정하였고, 이때 각각에 대한 로딩 시간은 180초이었다. 로딩 후 기준을 60초 동안 수행하였다. 100 nM(높은 친화성 결합의 경우 10 nM)에서 시작하여 구축물을 결합시킨 후, 2회 1:1 연속 희석한 다음, 네 번째 웰은 완충제만을 가졌다(블랭크). 구축물의 해리는 기준 웰에서 일어났다. 구축물을 블랭크 AMC 바이오센서 또는 스트렙타비딘 바이오센서 표면 위에 적용하여 기준 센서를 생성하였다. 결합 단계와 해리 단계는 각각 600초였다. 해리 상수  $K_D(M)$ 를 보고하는 1:1 및 2:1 모델 피트가 적용된 옥테트 분석 소프트웨어를 사용하여 데이터를 분석하였다.

[0173] 서열번호 1(대조군) 및 서열번호 11을 포함하는 모든 구축물은 두 자릿수 피코몰 친화성으로 EGFR에 결합한다(표 1 참조). NRP-1 결합의 경우, 서열번호 7의 중쇄를 가진 bsAb는 나노몰 미만의 친화성을 나타낸 반면, 서열번호 1은 두 자릿수 나노몰 친화성으로 NRP-1에 결합한다. 도 1a 내지 1k는 이중특이적 항체에 대해 고정된 huEGFR에 대한 결합 친화성 곡선을 보여준다. 도 2a 내지 2k는 이중특이적 항체에 대해 고정된 huNRP1에 대한 결합 친화성 곡선을 보여준다.

**표 1**

이중특이적 항체의 EGFR 및 NRP1 결합 친화성

이중특이적 결합 항체 (중쇄 및 경쇄)	결합 친화성(K <sub>d</sub> )	
	EGFR(nM)	NRP1(nM)
서열번호 1, 12	<0.1	69.7
서열번호 2, 12	<0.1	0.19
서열번호 3, 12	<0.1	0.53
서열번호 4, 12	<0.1	8.8
서열번호 5, 12	<0.1	0.72
서열번호 6, 12	<0.1	3.76
서열번호 7, 12	<0.1	0.28
서열번호 8, 12	<0.1	2
서열번호 9, 12	<0.1	0.88
서열번호 10, 12	<0.1	0.25
서열번호 11, 12	<0.1	0.25

[0174]

[0175]

**실시예 3 HUVEC 세포에서의 VEGFR2 신호전달 억제**

[0176]

웨스턴 블롯에서 전기영동된 세포 용해물을 항-인-VEGFR2로 프로빙함으로써 HUVEC 세포에서 VEGFR2 신호전달의 이중특이적 항체 억제를 시험하였다. EGM-2 싱글쿼츠(SingleQuots)로 보충된 EBM-2 배지에서 6웰 플레이트에서 HUVEC 세포를 밤새 성장시켰다. 다음 날, 세포를 0.1 mg/ml 헤파린, 내피 세포 성장 보충제 및 10% FBS가 함유된 2 ml의 F-12K 배지와 함께 4시간 동안 인큐베이션하였다. 항체에 대한 용량 의존적 반응을 알아보기 위해, 세포를 무혈청 배지로 최고 농도 1 μM부터 최저 농도 0.005 μM까지 6배 연속 희석한 bsAb로 30분 동안 처리한 다음, 2.2 ng/ml의 VEGF165 또는 대조군으로 10분 동안 처리하였다. 세포 스크레이퍼로 세포를 모으고 프로테아제/포스파타제 억제제가 함유된 100 μl의 NP-40 용해 완충제와 함께 얼음 위에서 20분 동안 인큐베이션함으로써 세포 용해물을 준비하였다. 상청액 용해물을 13,000 rpm에서 10분 동안 원심분리한 후 새로운 튜브에 모았고, BCA 단백질 어세이를 이용하여 단백질 정량을 위해 측정하였고, NuPAGE LDS 샘플 완충제 및 LDS 샘플 환원 완충제와 혼합한 후 70°C에서 10분 동안 변성시켰다.

[0177]

10 μg에 해당하는 세포 용해물을 4 μl의 페이지룰러 플러스(PageRuler Plus) 사전염색된 단백질 래더와 함께 4% 내지 12% 비스-트리스 겔(Bis-Tris Gel)에 로딩하고 200 V에서 45분 동안 실행시켰다. 겔을 증류수로 세척하고 IBlot2 건조 블롯팅 시스템을 사용하여 막으로 옮겼다. 막을 실온에서 1시간 동안 1x TBST 중의 5% 밀크로 차단하고 4°C에서 1x TBST 중의 5% 밀크 중의 항-인-VEGFR2(Y1175)와 함께 밤새 인큐베이션하였다. 다음 날, 막을 TBST로 10분 동안 3회 세척하고 실온에서 5% 밀크 중의 2차 항체와 함께 1시간 동안 인큐베이션하였다. 막을 1x TBST로 10분 동안 3회 세척하였다. 그 다음, 막을 수퍼시그널 웹토 화학발광(SuperSignal Femto Chemiluminescent) 기질과 함께 1분 내지 2분 동안 인큐베이션하고 아머샴 이미지퀀트(Amersham ImageQuant) 800으로 영상화하였다. 그 다음, 블롯을 실온에서 로커 상에서 15분 동안 레스토어 플러스(Restore Plus) 웨스턴 블롯 스트리핑 완충제로 스트리핑한 다음, 1x TBST로 3회 세척하였고, 밀크 차단부터 절차를 반복한 후, 1차 항-VEGFR2 항체의 인큐베이션을 수행하였다.

[0178]

ImageJ 소프트웨어를 사용하여 인산화된 VEGFR2(Y1175) 및 VEGFR2의 웨스턴 블롯 밴드의 강도를 분석하였다. 인산화된 VEGFR2(Y1175)의 수득된 밴드 밀도를 VEGFR2로 정규화하였고 bsAb에 의한 VEGFR2 인산화의 억제를 VEGF165 대조군 세포 용해물(양성 대조군)에 대한 비로 계산하였다. Prism9 소프트웨어를 사용하여 bsAb에 의한 VEGFR2 인산화의 IC50을 측정하였다. 도 3의 웨스턴 블롯은 HUVEC 세포와 함께 서열번호 1의 이중특이적 항체를 인큐베이션하는 것이 VEGF165 매개 VEGFR 인산화를 억제하지 않았음을 보여준다. 도 4 내지 10은 이중특이적 항체와 함께 인큐베이션한 후 VEGFR2 인산화 억제제의 웨스턴 블롯과 IC50 플롯을 보여준다. 이중특이적 항체의 IC50은 표 2에 제시되어 있다.

**표 2**

VEGFR 신호전달 억제에 대한 이중특이적 항체 IC50

이중특이적 항체 (중쇄 및 경쇄)	도	VEGF 억제(nM)
서열번호 1, 12	3	n/a(1 μM 에서 5% 미만의 억제 )
서열번호 2, 12	4	12.9
서열번호 3, 12	5	3.3
서열번호 4, 12	6	410
서열번호 5, 12	7	61
서열번호 6, 12	8	10130
서열번호 7, 12	9	1.74
서열번호 11, 12	10	20

[0179]

**[0180] 실시예 4: 세포 생존율에 대한 이중특이적 항체 효과**

[0181] 이중특이적 항체에 의한 세포 생존율의 억제를 H1975 폐암 세포주에서 시험하였다. 요약하면, H1975 폐암 세포를 1% 페니실린/스트렙토마이신과 10% FBS로 보충된 RPMI1640에서 성장시켰다. 세포를 트립신처리하고 둥근 바닥을 가진 96웰 3D 배양 플레이트에 플레이팅하고(3,000개 세포/120 μl/웰), 응집되어 3D 구형체를 형성할 때까지 3시간 내지 4시간 동안 인큐베이션하였다. 6배 연속 희석된 bsAb의 스톡 마스터 플레이트를 5 μM부터 0.6 pM까지 준비하였다. H1975 세포를 30 μl의 bsAb로 처리하고 72시간 동안 인큐베이션하였다(이중). 이어서, CellTiter-Glo 3D 시약과 25 μl의 무혈청 배지를 각각의 웰에 첨가하고 호일로 감싸고 로커 상에서 7분 동안 인큐베이션하였다. 바리오스칸 룩스(Varioskan Lux) 다중모드 플레이트 판독기로 플레이트를 판독하고 Prism9 소프트웨어로 분석하였다.

[0182] 표 3은 이중특이적 항체에 대한 IC50을 보여준다. 서열번호 1의 중쇄(대조군)를 가진 이중특이적 항체는 도 11a에 나타낸 바와 같이 도 11b의 다른 이중특이적 항체에 비해 높은 IC50(1.96 μM)을 가진다. 세포 성장 억제에 대한 IC50은 NRP1 단쇄 가변 단편(scFv) 결합 도메인을 가진 이중특이적 항체에서 훨씬 더 낮아, 세포 성장 억제를 개선한다.

**표 3**

세포 성장 억제의 IC50(μM)

세포주	IC50(μM)					
	서열번호 1	서열번호 11	서열번호 9	서열번호 10	서열번호 7	서열번호 3
H1975	1.96	0.001362	0.005693	0.002074	0.001652	0.001727

[0183]

**[0184] 실시예 5: H1975 이중이식 마우스 모델 세포주에서의 종양 성장 억제**

[0185] bsAb가 종양 성장을 억제하는 능력을 H1975 세포주 이중이식 마우스 모델에서 시험하였다. 모든 세포주를 어메리칸 타입 컬처 콜렉션(American Type Culture Collection)(미국 버지니아주 마나사스)로부터 입수하였다. 10% 태아 소 혈청(HyClone, 미국 유타주 로간) 및 2 mmol/L 글루타민(HyClone, 미국 유타주 로간)을 함유하는 RPMI 1640(Gibco, 미국 캘리포니아주 칼스바드)에서 5% CO<sub>2</sub> 인큐베이터 내에서 세포를 37°C로 유지하였다.

**[0186] 이중이식 모델**

[0187] 마우스를 사용하는 실험과 절차를 실험 동물의 인도적 관리 및 사용에 관한 미국 농무부, 보건복지부 및 NIH 정

책에 따라 수행하였다. 찰스 리버 연구소(Charles River Laboratories)(미국 매사추세츠주 윌밍턴)의 6주령 내지 8주령 암컷 무흉선(nu/nu) 마우스를 병원균 부재 조건 하에서 실험실 사료와 물을 마음껏 먹이며 사육하였다. 종양 세포주 이식 전에 모든 세포주를 감염원(마이코플라스마 등)에 대해 스크리닝하였다. 매트릭 젤(Corning, 미국 뉴욕주 코닝)에 1:1로 혼합된, 마우스당  $1 \times 10^7$ 개의 (NCI-H1975) 세포를 함유하는 100  $\mu$ l를 오른쪽 옆구리에 피하 주사하여 이종이식편을 확립하였다. 효능 연구를 위해, 무작위배정 및 치료 시작 전에 종양이 150 내지 300 mm<sup>3</sup>(군당 7마리 내지 10마리 마우스)에 도달하도록 하였다.

[0188] 치료 및 종양 측정

[0189] 항체를 멸균 인산염 완충 식염수(Corning, 미국 뉴욕주 코닝)로 희석하고, 무작위배정 당일에 표시된 용량 수준에서 치료당 마우스당 100  $\mu$ l의 총 부피로 복강내(i.p.) 주사를 통해 투여한 다음, 매주 2회 투여하였다.

[0190] 디지털 캘리퍼 측정을 이용하여 종양 크기를 측정하였고, 식  $V = (W^2 \times L)/2$ 를 사용하여 종양 부피를 계산하였는데, 여기서 W는 종양 폭이고, L은 종양 길이이다.

[0191] 통계적 분석

[0192] 통계적 분석을 위해 그래프패드 프리즘(GraphPad Prism) 7 소프트웨어(미국 캘리포니아주 라호야)를 이용하였다. 결과는 평균으로서 제시되어 있다. 스튜던트 t 검정을 이용하여 개별 시점 또는 종점에서 대조군과 실험군 사이에 데이터를 비교하였다. 반복된 측정치를 가진 종단 데이터를 사용하는 성장 곡선 분석을 위해, II형 ANOVA를 이용하였다.  $p < 0.05$ 의 통계적 차이는 유의미한 것으로 간주되었다. TGI%를 식  $TGI(\%) = (V_{c1} - V_{t1}) / (V_{c0} - V_{t0}) \times 100$ 에 따라 계산하였는데, 여기서  $V_{c1}$  및  $V_{t1}$ 은 연구 종점에서 대조군 및 치료군의 평균 종양 부피이고  $V_{c0}$  및  $V_{t0}$ 은 각각 실험 시작 시점에서 대조군 및 치료군의 평균 종양 부피이다.

[0193] 표 4는 이종이식 마우스 모델에서 bsAb 종양 성장 억제 및 치료 대 대조군 퍼센트 종양 부피를 보여준다. 도 12a 내지 12f의 곡선은 bsAb로 치료한 마우스에서 이식 후 며칠 동안의 평균 종양 부피를 보여준다. scFv NRP1 결합 도메인을 가진 bsAb는 가장 높은 종양 성장 억제를 가졌다, 예를 들어, 서열번호 11의 중쇄를 가진 bsAb를 사용한 치료는 100% 종양 성장 억제를 일으켰다.

**표 4**

종양 성장 억제 및 치료 대 대조군 퍼센트 종양 부피

이중특이적 항체 폴리펩타이드	TGI% 평균 $\pm$ SEM	T/C%
서열번호 1; 12	39.94	74.58%
서열번호 2; 12	23.94	81.91%
서열번호 3; 12	71.13	37.15%
서열번호 7; 12	81.09%	28.08%
서열번호 9; 12	94.96%	18.86%
서열번호 11; 12	102.56%	12.54%

[0194]

[0195] 실시예 6: 추가 이중특이적 항체의 기능적 활성

[0196] 서열번호 39로 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열번호 12의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄로 구성된 추가 이중특이적 항체를 제조하였다. 이 이중특이적 항체는 본원에서 구축물 12로서 지칭된다. NRP1 및 EGFR에의 결합에 대한 구축물 12의 결합 동역학은 각각 도 13a 및 도 13b에 제시되어 있다. 구축물 12는 NRP1에의 결합에 대해 24.5 nM의  $K_D$ 를 갖고 EGFR에의 결합에 대해  $< 0.1$  nM의  $K_D$ 를 가진다.

[0197] 구축물 11 및 동형 대조군과 비교된 구축물 12의 항-종양 활성을 H1975 이종이식 마우스 모델(실시예 5에 설명됨)에서 시험하였다. 마우스를 bsAb(15 mg/kg, i.p., QW) 또는 동형 대조군(10.97 mg/kg, i.p., QW)으로 치료하였고, 평균 종양 부피를 시간 경과에 따라 측정하였다. 결과는 도 14에 제시되어 있으며, 이는 구축물 12가 이종이식 모델에서 종양 성장을 감소시키는 데 있어서 구축물 11만큼 효과적임을 입증한다.

**[0198] 실시예 7: 구축물 11의 수용체 내재화 및 분해 활성**

[0199] 이 실시예에서, 구축물 11 bsAb가 NRP1 또는 EGFR을 내재화하고 수용체 분해를 매개하는 능력을 항-NRP1 또는 항-EGFR 단독 또는 조합된 두 mAb와 비교하면서 시험하였다.

[0200] 수용체 내재화 연구를 위해, H1975 또는 H1975-NRP1 OE 세포(NRP1을 과발현함)를 구축물 11, 항-NRP1 mAb 단독, 항-EGFR mAb 단독, 또는 항-NRP1 + 항-EGFR 조합으로 처리하였다. 각각의 샘플에 대해, 200,000개의 세포를 150 nM bsAb 또는 mAb로 처리하였다. NRP1 또는 EGFR의 세포 표면 수준(대조군의 %)을 처리 후 5분, 1시간, 5시간 및 24시간에서 측정하였다. NRP1 발현에 대한 결과는 도 16a 및 도 16b에 제시되어 있다. EGFR 발현에 대한 결과는 도 16c 및 도 16d에 제시되어 있다. H1975 세포에 대한 결과는 도 16a 및 도 16c에 제시되어 있다. H1975-NRP1 OE 세포에 대한 결과는 도 16b 및 도 16d에 제시되어 있다. EGFR의 경우, 결과는 항-NRP1 항체 단독이 (예상된 바와 같이) EGFR을 내재화하지 못한 반면, 항-EGFR mAb(단독 또는 항-NRP1과 조합됨) 및 구축물 11 둘 다 치료 후 5분 이내에 EGFR을 완전히 내재화할 수 있었음을 보여주었다. NRP1의 경우, 결과는 항-EGFR 항체 단독이 (예상된 바와 같이) NRP1을 내재화하지 못하였고, NRP1 mAb(단독 또는 항-EGFR mAb와 조합됨)가 NRP1을 부분적으로 내재화할 수 있었던 반면, 구축물 11이 항-NRP1 mAb(단독 또는 항-EGFR과 조합됨)보다 시간 경과에 따라 NRP1을 더 효과적으로 내재화할 수 있었음을 보여주었다.

[0201] 수용체 분해 연구를 위해, 세포를 구축물 11, 항-NRP1 mAb 단독, 항-EGFR mAb 단독, 또는 항-NRP1 + 항-EGFR 조합으로 처리하였고, NRP1 및 EGFR의 분해를 어세이하였다. 요약하면, H1975 세포(300,000개 세포/샘플)를 6웰 플레이트에서 밤새 배양한 다음, bsAb 또는 mAb(150 nM)로 처리한 후, 6시간 동안 인큐베이션하였다. 세포 용해물을 준비하고 표준 웨스턴 블롯팅으로 분석하여 EGFR, NRP1 및 베타-액틴(로딩 대조군으로서 사용됨)의 단백질 수준을 검출하였다. 결과는 도 17에 제시되어 있다. 결과는 구축물 11이 NRP1 및 EGFR 둘 다를 분해하는 데 있어서 단일 mAb 처리, 또는 조합으로 항-EGFR + 항-NRP1을 사용한 조합 처리보다 더 효과적이었음을 보여주었다.

**[0202] 실시예 8: 항-NRP1 단일클론 항체의 생성**

[0203] 설계된 항-NRP1 단백질을 코돈 최적화된 유전자 합성으로 생성하고 Not I 및 Hind III 제한 효소를 사용하여 발현 벡터인 pcDNA3.4에 삽입하였다. 서열번호 48, 49, 50, 51, 52, 53 및 54로 제시된 경쇄 폴리펩타이드 서열과 조합되는 단일클론 항체 중쇄 폴리펩타이드 아미노산 서열의 예는 각각 서열번호 41, 42, 43, 44, 45, 46 및 47로 제시되어 있다.

[0204] 단일클론 항체의 중쇄 폴리펩타이드를 인코딩하는 폴리뉴클레오타이드 서열은 (각각 서열번호 41 내지 47을 인코딩하는) 서열번호 55, 56, 57, 58, 59, 60 및 61로 제시되어 있다. 단일클론 항체의 중쇄와 조합하는 경쇄 폴리펩타이드를 인코딩하는 폴리뉴클레오타이드 서열은 (각각 서열번호 48 내지 54를 인코딩하는) 각각 서열번호 62, 63, 64, 65, 66, 67 및 68로 제시되어 있다. 구축된 발현 벡터는 신호 펩타이드를 포함하고 최적화된 전사를 위해 코작 서열이 5' 비번역 영역에 포함될 수 있다.

[0205] 형질감염을 위한 플라스미드 구축물의 양을 얻기 위해, 플라스미드 구축물을 One Shot™ Top10 이. 콜라이 형질 전환능 세포에 형질전환시킨 후 밤새 배양하였다. 구축물 플라스미드를 PureLink™ HiPure Expi 플라스미드 메가프랩 키트로 얻었다.

[0206] 융합 단백질을 CHO-S 시스템(Thermo Fisher Scientific Inc.)에서 일시적으로 발현시켰다. 단백질을 제조업체의 설명서에 따라 개별적으로 발현시켰다. 요약하면, CHO-S 배양물 mL당 1:1의 경쇄 대 중쇄 비에서 총 0.8 µg의 플라스미드 DNA를 OPTIPRO™ SFM 및 ExpiFectamine™으로 준비하였다. 혼합물을 6×10<sup>6</sup> 개 세포/mL의 세포 밀도 및 98% 초과 생존율에서 CHO-S 세포에 첨가하였다. 세포 배양물을 19 mm 궤도로 125 RPM에서 진탕하면서 Nalgene™ 일회용 PETG 삼각 플라스크에서 37°C, 80% 습도, 8% CO<sub>2</sub>에서 밤새 인큐베이션하였다. 다음 날, 배양물을 19 mm 궤도로 125 RPM에서 진탕하면서 증강시키고(ExpiCHO™ 증강제; Thermo Fisher Scientific Inc.) 공급하고(ExpiCHO™ 공급; Thermo Fisher Scientific Inc.) 32°C, 80% 습도, 5% CO<sub>2</sub>로 옮겼다. 두 번째 공급을 5 일째 날에 수행하였고, 배양물을 12일째 날에 수거할 때까지 32°C로 돌려보냈다. 4000×g에서 20분 동안 원심분리하여 수거를 달성하였다. 비대칭적 폴리에테르설폰(PES) 0.22 µm 필터 조립체(Nalgene)를 사용하여 정화된 상청액을 멸균하였다. 여액을 다음 날 정제할 때까지 4°C에서 보관하였다.

[0207] AKTApure(GE Healthcare Life Sciences)에서 맵셀렉트 prisma™ 수지(GE Healthcare Life Sciences)를 사용하여 모든 항체 멸균 상청액을 정제하였다. 50 mM 인산나트륨, 150 mM NaCl, pH 7.0 완충제를 사용하여 수지를 평형화하였다. 그 다음, 항체 상청액을 컬럼에 로딩하였다. 크로마토그래피 기준이 컬럼 평형화 수준으로 돌아올

때까지 50 mM 인산나트륨, 150 mM NaCl, pH 7.0 완충제로 수지를 세척하였다. 이어서, 100 mM 아세트산나트륨, 20% 글리세롤, pH 3.0을 사용하여 용출을 수행하였고, 분획을 모았다. 상기 분획을 1 M 트리스(pH 9)로 즉시 중화하였다. 파장 280 nm에서 우세한 흡광도를 함유하는 분획을, 완충제 교환을 위한 아미콘 10 kDa 한외여과 장치에 폴딩하였다. 보관 완충제(인산염 완충 식염수)를 사용하여 아미콘 농축기에서 7회 절반 희석하면서 원심분리함으로써 용출 완충제를 제거하였다. 물질을 SEC에 제출한 다음 4°C에서 보관하였다.

[0208] 양이온 교환 크로마토그래피를 이용하여 항체를 정제하였다. 양이온 교환 크로마토그래피 컬럼(Capto S Impact)을 1 M NaOH으로 살균하고 MQ로 세정하였다. 50 mM NaAc pH 5.5(시작 완충제) 및 50 mM NaAc pH 5.5, 1 M NaCl(용출 완충제)을 사용하여 평형화를 수행하였다. 단백질 A 정제된 항체를 1 내지 2 g 항체/ml 수지의 농도로 로딩하였다. 그 다음, 컬럼을 50 mM NaAc pH 5.5로 세척하였다. 이어서, 25 컬럼 부피에서 5% 내지 60% 용출 완충제의 구배를 사용하여 항체 생성물을 용출하였다. CEX 정제에서 각각의 피크를 별도로 모으고 Amicon® Ultra-15 원심분리 필터 유닛을 이용하여 4000xg에서 원심분리를 통해 농축하고, PBS에 재현탁하였다.

[0209] 다이오드 어레이 UV 검출기 WR을 갖춘 아질런트 인피니티 1260 II 사원 펌프 고성능 액체 크로마토그래피(HPLC) 시스템에서 크기 배제 크로마토그래피(SEC) 분석을 수행하였다. 이십(20) µg의 항체 물질을 XBridge 단백질 BEH SEC 컬럼, 200 Å, 2.5 µm, 4.6 mm X 150 mm 컬럼에 주입하였다. 이동상은 50°C에서 100 mM 인산염, 300 mM 염화나트륨 pH 7.0이었고, 유속은 0.3 ml/분이었다. 항체 물질을 10분 획득 동안 1 Hz 샘플링 속도로 파장 220, 280 및 330 nm에서 검출하였다.

[0210] 항-NRP1 단일클론 항체의 활성을 당분야에 확립된 방법으로 평가할 수 있다. 예를 들어, 결합 친화성, VEGFR2 신호전달 억제 및/또는 시험관내 세포 생존을 또는 생체내 종양 성장에 대한 효과를 미국 가출원 제63/325,317호의 실시예에 설명된 바와 같이 평가할 수 있으며, 이 가출원의 전체 내용은 구체적으로 본원에 참고로 포함된다.



	SDIQMTQSPSSLSASVGDVRTITCRASQYFSSYLAWYQQKPGKAPKLLIYGASARASGVPSRFSGSGS GTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQLASPATFGQGTKVEIK
5	QVQLQESGPGLVKPKSETLSLTCTVSGGSVSSGDYYWTWIRQSPGKGLEWIGHIYSGNTNYPNLSLKS RLTISIDTSKTKQFSLKLSVTAADTAIYCVDRDRTGAFDIWGGQTMVTVSSASTKGPSVFLAPCSRS TSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSNFGTQTYTCNV DHPKSNTKVDKTKVERKCCVECPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPVETCVVVDVSHEDPEV QFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISK KGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPMLDSDGSFLL YSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGGGGGGGGGGGGGGGSEVQLVESG GGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSQISPAGGYTNYADSVKGRFTISADT SKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARGELPFFRMSQVMDVWGQGTLLTVSSGGGGGGGGGGGGGGGG SDIQMTQSPSSLSASVGDVRTITCRASQFLSSYLAWYQQKPGKAPKLLIYGASARASGVPSRFSGSGS GTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQLASPATFGQGTKVEIK
6	QVQLQESGPGLVKPKSETLSLTCTVSGGSVSSGDYYWTWIRQSPGKGLEWIGHIYSGNTNYPNLSLKS RLTISIDTSKTKQFSLKLSVTAADTAIYCVDRDRTGAFDIWGGQTMVTVSSASTKGPSVFLAPCSRS TSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSNFGTQTYTCNV DHPKSNTKVDKTKVERKCCVECPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPVETCVVVDVSHEDPEV QFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISK KGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPMLDSDGSFLL YSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGGGGGGGGGGGGGGGSEVQLVESG GGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSQISPAGGYTNYADSVKGRFTISADT SKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARGELPYFRMSKVMDVWGQGTLLTVSSGGGGGGGGGGGGGGGG SDIQMTQSPSSLSASVGDVRTITCRASQFLSSYLAWYQQKPGKAPKLLIYGASARASGVPSRFSGSGS GTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQLASPATFGQGTKVEIK
7	QVQLQESGPGLVKPKSETLSLTCTVSGGSVSSGDYYWTWIRQSPGKGLEWIGHIYSGNTNYPNLSLKS RLTISIDTSKTKQFSLKLSVTAADTAIYCVDRDRTGAFDIWGGQTMVTVSSASTKGPSVFLAPSSKST SGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVN HKPSNTKVDKKEPKSCDKTHTCPPCPAPELGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPVETCVVVDVSHEDP EVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFLL YSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGGGGGGGGGGGGGGGSEVQLVESG GGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSQISPAGGYTNYADSVKGRFTISADT SKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARGELPYFRMSKVMDVWGQGTLLTVSSGGGGGGGGGGGGGGGG SDIQMTQSPSSLSASVGDVRTITCRASQFLSSYLAWYQQKPGKAPKLLIYGASARASGVPSRFSGSGS GTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQLASPATFGQGTKVEIK
8	QVQLQESGPGLVKPKSETLSLTCTVSGGSVSSGDYYWTWIRQSPGKGLEWIGHIYSGNTNYPNLSLKS RLTISIDTSKTKQFSLKLSVTAADTAIYCVDRDRTGAFDIWGGQTMVTVSSASTKGPSVFLAPSSKST SGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVN HKPSNTKVDKKEPKSCDKTHTCPPCPAPELGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPVETCVVVDVSHEDP EVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFLL YSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGGGGGGGGGGGGGGGSEVQLVESG GGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSQISPAGGYTNYADSVKGRFTISADT SKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARGELPYFRMSKVMDVWGQGTLLTVSSGGGGGGGGGGGGGGGG SDIQMTQSPSSLSASVGDVRTITCRASQFLSSYLAWYQQKPGKAPKLLIYGASARASGVPSRFSGSGS GTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQLASPATFGQGTKVEIK

[0212]

	TQSPSSLSASVGDVRTITCRASQFLSSYLAWYQQKPGKAPKLLIYGASARASGVPSRFSGSGSGDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYLASPATFGQGTKVEIK
9	QVQLQESGPGLVKPKSETLSLTCTVSGGSVSSGDYYWTWIRQSPGKLEWIGHIYSGNTNYPNLSKSLRTISIDTSKTKQFSLKSSVTAADTAIYYCVRDRVTGAFDIWGQGTMTVTVSSASTKGPSVFLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVN HKPSNTKVDKKEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDP EVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFLL YSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGGGSEVQLVESG GGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKLEWVVSQISPAGGYTNYADSVKGRFTISADT SKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARGELPYFRMSKVMMDVWGQGLTVTVSSGGGGSGGGGGSGGGG SGGGGSDIQTQSPSSLSASVGDVRTITCRASQFLSSYLAWYQQKPGKAPKLLIYGASARASGVPSRFS GSGSGDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYLASPATFGQGTKVEIK
10	QVQLQESGPGLVKPKSETLSLTCTVSGGSVSSGDYYWTWIRQSPGKLEWIGHIYSGNTNYPNLSKSLRTISIDTSKTKQFSLKSSVTAADTAIYYCVRDRVTGAFDIWGQGTMTVTVSSASTKGPSVFLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVN HKPSNTKVDKKEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDP EVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFLL YSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGGGSGGGGGSDIQTQSP SLSASVGDVRTITCRASQFLSSYLAWYQQKPGKAPKLLIYGASARASGVPSRFSGSGSGDFTLTISSL QPEDFATYYCQQYLASPATFGQGTKVEIKGGGGSGGGGGSGGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLS CAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKLEWVVSQISPAGGYTNYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRA EDTAVYYCARGELPYFRMSKVMMDVWGQGLTVTVSS
11	QVQLQESGPGLVKPKSETLSLTCTVSGGSVSSGDYYWTWIRQSPGKLEWIGHIYSGNTNYPNLSKSLRTISIDTSKTKQFSLKSSVTAADTAIYYCVRDRVTGAFDIWGQGTMTVTVSSASTKGPSVFLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVN HKPSNTKVDKKEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDP EVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFLL YSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGGGSGGGGGSDIQTQSP SLSASVGDVRTITCRASQFLSSYLAWYQQKPGKAPKLLIYGASARASGVPSRFSGSGSGDFTLTISSL QPEDFATYYCQQYLASPATFGQGTKVEIKGGGGSGGGGGSGGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLS CAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKLEWVVSQISPAGGYTNYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRA EDTAVYYCARGELPYFRMSKVMMDVWGQGLTVTVSS
12	DIQMTQSPSSLSASVGDVRTITCQASQDISNYLNWYQQKPGKAPKLLIYDASNLETGVPSRFSGSGSG TDFTFTISSLQPEDIATYFCQHFHDLPLAFGGGTKEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNN FYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLTKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPV TKSFNREGC
13	GGGG
14	CAAGTGCAGCTGCAGGAATCCGGCCCCGGGCTTGTAAGCCTAGCGAAACACTCTCGCTCACCT GTACTGTACGGGTGGATCAGTGTCTCCGGCGATTACTACTGGACCTGGATTCGGCAGAGCCC TGAAAGGGGACTGGAGTGGATCGGACACATCTACTACTCCGGGAACACTAACTACAACCCGTCG TTGAAGTCCAGACTGACGATCAGTATCGATACCTCAAGACCCAGTTCAGCCTGAAGCTGAGCTC

[0213]

	<p>AGTGACAGCCGCCGACTGCAATCTACTACTGCGTGCGGGACAGAGTGACCGGAGCCTTCGAC                  ATCTGGGGCCAGGGAACCATGGTCACTGTGTCGTCTGCGTCAACCAAGGGTCCGTCCGTGTTTC                  CCCTGGCCCCGTGCTCGCGGAGCACCTCCGAGTCCACTGCCCTTGGGCTGCCTGGTCAAAGA                  CTACTTCCCTGAACCCGTGACTGTCAGCTGGAACCTCCGGAGCTTGACCTCGGGAGTGACACCT                  TCCCGGCCGTGCTGCAATCGAGCGGCCTCTACTCCCTGTCTCCGTGTCGACCGTGCATCATCA                  AACTTCGGAACCCAACTTATACGTGCAACGTGACCACAAGCCCTCAATACCAAAGTCGACAA                  GACCGTGGAGAGGAAATGCTGCGTGGAGTGTCCGCCTTGCCCCGCGCCGGTGGCCGGACC                  TAGCGTGTCTGTTCCCGCCGAAGCCAAAGGACTCTCATGATCTCCCGCACCCCTGAAGTCA                  CTTGCGTGTGGTGGACGTTTCCACGAGGATCCCGAAGTGCAGTTCAATTGGTACGTGGACGG                  GGTGGAAGTACATAACGCCAAGACCAAGCCAGGGAAGAAGTAACTCCACCTTCCGGGTG                  GTGTCGGTGTCTACTGTGGTGCATCAGGATTGGCTCAATGGAAAGGAGTACAAGTGCAAAGTG                  TCGAACAAAGGGTGTGCCCGCTCCTATTGAAAAGACCATTTCCAAAACCAAGGGACAGCCAGAG                  AGCCTCAGGTCTACACCCTGCCTCCGAGCCGCGAGGAAATGACCAAGAACCAAGTGTCTGAC                  TTGCCTCGTGAAGGGATTCTACCCTCCGATATCGCGTGGAGTGGGAGAGCAACGGGCAGCC                  AGAGAACAAGTATAAGACACCCCGCTATGCTGGACTCCGATGGCTCCTTCTTGTACTCGA                  AGCTGACCGTGGACAAGTCCCGCTGGCAACAGGGAACGTGTTAGCTGTAGCGTGTGACG                  AAGCCCTGCACAACCACTACACCCAGAAGTCCCTGTCGCTTCCCGGGAAGGGCGGTGGCGG                  ATCCGGCGGGGGGCGAGCGGGGCGGCGTTCCCATACCCGGGAACTCAAAGCCACCC                  GGACTCCACGGCGC</p>
<p>15</p>	<p>CAGGTTGAGCTGCAAGAGTCTGGCCCTGGCCTGGTCAAGCCTTCCGAAACTGTCTGACCTG                  CACCGTGTCTGGCGGTCTGTGTCTCTGGCGATTACTACTGACCTGGATCCGGCAGTCTCCTG                  GCAAAGCCTGGAATGGATCGGCCACATCTACTACTCCGGCAACCAACTACAACCCAGCCT                  GAAGTCCCGGTGACCATCTCCATCGACACCAGCAAGACCCAGTTCTCCCTGAAGTGTCTCTG                  TGACCGCCGTGATACCGCATCTACTATTGCGTGCGGGACAGAGTGACCGGCGCCTTTGATATT                  TGGGGCCAGGGCACCATGGTCACCGTGTCCAGTGTCTTACCAAGGGACCCAGCGTGTCCCTC                  TGGCTCCTGTCTCAGATCCACCTCCGAGTCTACAGTGTCTGGGCTGTCTGGTCAAGGACTAC                  TTCCCTGAGCCTGTGACCGTGTCTGGAATTCTGGCGCTGACATCTGGCGTGCACACCTTCC                  AGCTGTGTGAGTCTAGCGGCTGTACTCTGTCTCCGTGACCGTGCCTTCTCTAACTT                  TGGCACCCAGACCTACACCTGTAATGTGGACCACAAGCCATCCAACCAAGGTGGACAAGACC                  GTGGAACGGAAGTGTGCGTGGAAATGCCCTCCTTGTCTGCTCCTGTTGGCTGGCCCTTCCGT                  GTTCTGTTCCTCAAAGCCTAAGGACACCCTGATGATCTCTCGGACCCCTGAAGTACCTGCG                  TGGTGGTGGATGTGTCTCACGAGGATCCCGAGGTGCAGTTCAATTGGTACGTGGACGGCGTGG                  AAGTGCACAACGCCAAGACCAAGCCTAGAGAGGAACAGTTCAACTCCACCTTCAAGTGGTGTG                  CGTGTGACCGTGGTGCATCAGGATTGGCTAACGGCAAGAGTACAAGTGAAGGTGTCCAA                  CAAGGGCTGCTGCTCTATCGAAAAGACCATCTTAAGACCAAGGGGAGCCCGGGAACCT                  CAGGTTTACACTGCCTCCAAGCCGGGAAGAGATGACCAAGAACCAGGTGTCCCTGACCTGTC                  TCGTGAAGGGCTTCTACCCTCCGATATCGCCGTGGAATGGGAGTCAATGGCCAGCCTGAGAA                  CAACTACAAGACCACCTCCTATGCTGGACTCCGACGGCTCATTCTTCTGACTCCAAGCTGAC                  AGTGGACAAGTCCAGATGGCAGCAGGGCAACGTGTTCTCCTGCTCCGTGATGCACGAGGCCCTG                  CACAATCACTACCCAGAAGTCCCTGTCTGTCCCCTGGAAAAGGCGGCGGAGGATCTGGCG                  GAGGCGGTAGCGGTGGTGGCGGATCTGAAGTTCAAGTGGTTGAATCTGGCGGCGGACTGGTTC                  AACCGGCGGATCTCTGAGACTGTCTGTGCCGCTCCGGCTTACCTTCTCTTACGCTATGT                  CCTGGTCCGACAGGCCCCAGGCAAAGGATTGGAGTGGGTGTCCAGATCTCTCCGCTGGCG</p>

[0214]

	<p>GCTACACCAATTACGCCGACTCTGTGAAGGGCAGATTACCATCTCTGCCGACACCTCCAAGAAC                  ACCGCTACCTGCAGATGAACTCCCTGAGAGCCGAGGACACCGCCGTGTACTATTGTGCTAGAG                  GCGAGCTGCCCTACTACCGGATGTCCAAAGTGATGGACGTGTGGGGACAGGGAACCCCTCGTGA                  CAGTTTCTAGCGGTGGCGGAGGTAGCGGAGGCGGTGGAAGCGGCGGAGGCGGAAGTGATATT                  CAGATGACCCAGTCTCCTTCCAGCCTGTCCGTTCTGTGGGCGATAGAGTGACCATCACCTGTCC                  GGCCTCTCAGTACTTCTCCTACCTGGCTTGGTATCAGCAGAAGCCTGGCAAGGCCCTAAGC                  TGCTGATCTACGGCGCTCCTTAGAGCTAGCGGCGTCCCTTAGATTCTCCGGATCTGGCTCT                  GGCACCGACTTTACCCTGACAATCTCCAGCCTGCAGCCTGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCA                  CGAGTACCTGGGCTCTCCTCAACCTTTGGCCAGGGAACAAAGTTCGAGATCAAGCGCTGA</p>
<p>16</p>	<p>CAGTTTCTAGCGGTGGCGGAGGTAGCGGAGGCGGTGGAAGCGGCGGAGGCGGAAGTGATATT                  CAGATGACCCAGTCTCCTTCCAGCCTGTCCGTTCTGTGGGCGATAGAGTGACCATCACCTGTCC                  GGCCTCTCAGTACTTCTCCTACCTGGCTTGGTATCAGCAGAAGCCTGGCAAGGCCCTAAGC                  TGCTGATCTACGGCGCTCCTTAGAGCTAGCGGCGTCCCTTAGATTCTCCGGATCTGGCTCT                  GGCACCGACTTTACCCTGACAATCTCCAGCCTGCAGCCTGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCA                  CGAGTACCTGGGCTCTCCTCAACCTTTGGCCAGGGAACAAAGTTCGAGATCAAGCGCTGA</p> <p>CAGTTTCTAGCGGTGGCGGAGGTAGCGGAGGCGGTGGAAGCGGCGGAGGCGGAAGTGATATT                  CAGATGACCCAGTCTCCTTCCAGCCTGTCCGTTCTGTGGGCGATAGAGTGACCATCACCTGTCC                  GGCCTCTCAGTACTTCTCCTACCTGGCTTGGTATCAGCAGAAGCCTGGCAAGGCCCTAAGC                  TGCTGATCTACGGCGCTTCTGCTAGAGCTAGCGGCGTCCCTTAGATTCTCCGGATCTGGCTCT                  GGCACCGACTTTACCCTGACAATCTCCAGCCTGCAGCCTGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCA                  CGAGTACCTGGGCTCTCCTCAACCTTTGGCCAGGGAACAAAGTTCGAGATCAAGCGCTGA</p> <p>CAGTTTCTAGCGGTGGCGGAGGTAGCGGAGGCGGTGGAAGCGGCGGAGGCGGAAGTGATATT                  CAGATGACCCAGTCTCCTTCCAGCCTGTCCGTTCTGTGGGCGATAGAGTGACCATCACCTGTCC                  GGCCTCTCAGTACTTCTCCTACCTGGCTTGGTATCAGCAGAAGCCTGGCAAGGCCCTAAGC                  TGCTGATCTACGGCGCTTCTGCTAGAGCTAGCGGCGTCCCTTAGATTCTCCGGATCTGGCTCT                  GGCACCGACTTTACCCTGACAATCTCCAGCCTGCAGCCTGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCA                  CGAGTACCTGGGCTCTCCTCAACCTTTGGCCAGGGAACAAAGTTCGAGATCAAGCGCTGA</p> <p>CAGTTTCTAGCGGTGGCGGAGGTAGCGGAGGCGGTGGAAGCGGCGGAGGCGGAAGTGATATT                  CAGATGACCCAGTCTCCTTCCAGCCTGTCCGTTCTGTGGGCGATAGAGTGACCATCACCTGTCC                  GGCCTCTCAGTACTTCTCCTACCTGGCTTGGTATCAGCAGAAGCCTGGCAAGGCCCTAAGC                  TGCTGATCTACGGCGCTTCTGCTAGAGCTAGCGGCGTCCCTTAGATTCTCCGGATCTGGCTCT                  GGCACCGACTTTACCCTGACAATCTCCAGCCTGCAGCCTGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCA                  CGAGTACCTGGGCTCTCCTCAACCTTTGGCCAGGGAACAAAGTTCGAGATCAAGCGCTGA</p> <p>CAGTTTCTAGCGGTGGCGGAGGTAGCGGAGGCGGTGGAAGCGGCGGAGGCGGAAGTGATATT                  CAGATGACCCAGTCTCCTTCCAGCCTGTCCGTTCTGTGGGCGATAGAGTGACCATCACCTGTCC                  GGCCTCTCAGTACTTCTCCTACCTGGCTTGGTATCAGCAGAAGCCTGGCAAGGCCCTAAGC                  TGCTGATCTACGGCGCTTCTGCTAGAGCTAGCGGCGTCCCTTAGATTCTCCGGATCTGGCTCT                  GGCACCGACTTTACCCTGACAATCTCCAGCCTGCAGCCTGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCA                  CGAGTACCTGGGCTCTCCTCAACCTTTGGCCAGGGAACAAAGTTCGAGATCAAGCGCTGA</p> <p>CAGTTTCTAGCGGTGGCGGAGGTAGCGGAGGCGGTGGAAGCGGCGGAGGCGGAAGTGATATT                  CAGATGACCCAGTCTCCTTCCAGCCTGTCCGTTCTGTGGGCGATAGAGTGACCATCACCTGTCC                  GGCCTCTCAGTACTTCTCCTACCTGGCTTGGTATCAGCAGAAGCCTGGCAAGGCCCTAAGC                  TGCTGATCTACGGCGCTTCTGCTAGAGCTAGCGGCGTCCCTTAGATTCTCCGGATCTGGCTCT                  GGCACCGACTTTACCCTGACAATCTCCAGCCTGCAGCCTGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCA                  CGAGTACCTGGGCTCTCCTCAACCTTTGGCCAGGGAACAAAGTTCGAGATCAAGCGCTGA</p> <p>CAGTTTCTAGCGGTGGCGGAGGTAGCGGAGGCGGTGGAAGCGGCGGAGGCGGAAGTGATATT                  CAGATGACCCAGTCTCCTTCCAGCCTGTCCGTTCTGTGGGCGATAGAGTGACCATCACCTGTCC                  GGCCTCTCAGTACTTCTCCTACCTGGCTTGGTATCAGCAGAAGCCTGGCAAGGCCCTAAGC                  TGCTGATCTACGGCGCTTCTGCTAGAGCTAGCGGCGTCCCTTAGATTCTCCGGATCTGGCTCT                  GGCACCGACTTTACCCTGACAATCTCCAGCCTGCAGCCTGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCA                  CGAGTACCTGGGCTCTCCTCAACCTTTGGCCAGGGAACAAAGTTCGAGATCAAGCGCTGA</p>

[0215]

<p>17</p>	<p>CAGGTTACAGTGC AAGAGTCTGGCCCTGGCCTGGTCAAGCCTTCCGAAACACTGTCTTGACCTG  CACCGTGTCTGGCGGCTGTGTCTCTGGCGATTACTACTGGACCTGGATCCGGCAGTCTCCTG  GCAAAGGCCTGGAATGGATCGGCCACATCTACTACTCCGGCAACACCAACTACAACCCAGCCT  GAAGTCCCGGCTGACCATCTCCATCGACACCAGCAAGACCCAGTTCTCCCTGAAGCTGTCTCTG  TGACCGCCGCTGATACCGCCATCTACTATTGCGTGCGGGACAGAGTGACCGGCGCCTTTGATATT  TGGGGCCAGGGCACCATGGTCACCGTGTCCAGTGTCTTACCAAGGGACCCAGCGTGTCCCTC  TGGCTCCTGTCCAGATCCACCTCCGAGTCTACAGTGTCTGGGCTGTCTGGTCAAGGACTAC  TTCCCTGAGCCTGTGACCGTGTCTGGAATTCTGGCGCTGTGACATCTGGCGTGCACACCTTCC  AGCTGTGTGACAGTCTAGCGGCCTGACTCTGTCTCCGTGCTGACCGTGCCTTCTCTAACTT  TGGCACCCAGACTACACCTGTAATGTGGACCACAAGCCATCCAACACCAAGGTGGACAAGACC  GTGGAACGGAAAGTGTGCGTGGAATGCCCTCCTGTCTGCTCCTCTGTGGTGGCCCTCCGT  GTTTCTGTTCCCTCAAAGCCTAAGGACACCCTGATGATCTCTCGGACCCCTGAAGTACCTGCG  TGGTGGTGGATGTGTCTCACGAGGATCCCGAGGTGCAGTTCAATTGGTACGTGGACGGCGTGG  AAGTGCAACAACGCAAGACCAAGCCTAGAGAGGAACAGTTCAACTCCACCTTACAGAGTGGTGC  CGTGTGACCCCTGGTGCATCAGGATTGGCTGAACGGCAAGAGTACAAGTCAAGGTGCAAGGTGCAA  CAAGGGCCTGCCTGTCTATCGAAAAGACCATCTTAAGACCAAGGGGACGCCCGGGAACCT  CAGGTTTACACACTGCCTCAAAGCCGGGAAGAGATGACCAAGAACCAGGTGTCCCTGACCTGTC  TCGTGAAGGGCTTCTACCCCTCCGATATCGCCGTGGAATGGGAGTCTAATGGCCAGCCTGAGAA  CAACTACAAGACCACACCTCTATGCTGGACTCCGACGGCTCATTCTCTGTACTCCAAGCTGAC  AGTGGACAAGTCCAGATGGCAGCAGGGCAACGTGTCTCTGCTCCGTGATGCACGAGGCCCTG  CACAATCACTACACCCAGAAGTCCCTGTCTGTCCCCTGGAAAAGGCGGCGGAGGATCTGGCG  GAGGCGGTAGCGGTGGTGGCGGATCTGAAGTTCAGCTGGTTGAATCTGGCGGCGGACTGGTTC  AACCAGGCGGATCTCTGAGACTGTCTTGTCGCCCTCCGGCTTACCTTCTCCTTACGCTATGT  CCTGGGTCCGACAGGCCCCAGGCAAAGGATTGGAGTGGGTGTCCCAGATCTCTCCGCTGGCG  GCTACACCAATTACGCCGACTCTGTGAAGGGCAGATTACCATCTCTGCCGACCTCCAAGAAC  ACCGCTACCTGCAGATGAACTCCCTGAGAGCCGAGGACACCCCGGTACTATTGTGCTAGAG  GCGAGTCCCTACTACCAGATGTCAAAGTGTGGACGTGTGGGGACAGGGAACCCCTCGTGA  CAGTTTCTAGCGGTGGCGGAGGTAGCGGAGCGGTGGAAGCGGCGGAGGCGGAAGTGATATT  CAGATGACCCAGTCTCCTTCCAGCCTGTCCGCTTCTGTGGGCGATAGAGTGACCATCACCTGTG  GGCCTCTAGTACTTCTCTCTATCTGGCATGGTATCAGCAGAAGCCTGGCAAGGCCCTAAGC  TGCTGATCTACGGCGTCTGTAGAGCTCCGGCGTGCCTCCAGATTTCTGGCTCTGGATCT  GGCACCGACTTACCCTGACAATCTCCAGCCTGCAGCCTGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCA  GCAGTACTGGCCTCTCTGCCACATTTGGCCAGGGAACAAAGGTCGAGATCAAGCGCTGA</p>
<p>18</p>	<p>CAGGTTACAGTGC AAGAGTCTGGCCCTGGCCTGGTCAAGCCTTCCGAAACACTGTCTTGACCTG  CACCGTGTCTGGCGGCTGTGTCTCTGGCGATTACTACTGGACCTGGATCCGGCAGTCTCCTG  GCAAAGGCCTGGAATGGATCGGCCACATCTACTACTCCGGCAACACCAACTACAACCCAGCCT  GAAGTCCCGGCTGACCATCTCCATCGACACCAGCAAGACCCAGTTCTCCCTGAAGCTGTCTCTG  TGACCGCCGCTGATACCGCCATCTACTATTGCGTGCGGGACAGAGTGACCGGCGCCTTTGATATT  TGGGGCCAGGGCACCATGGTCACCGTGTCCAGTGTCTTACCAAGGGACCCAGCGTGTCCCTC  TGGCTCCTGTCCAGATCCACCTCCGAGTCTACAGTGTCTGGGCTGTCTGGTCAAGGACTAC  TTCCCTGAGCCTGTGACCGTGTCTGGAATTCTGGCGCTGTGACATCTGGCGTGCACACCTTCC  AGCTGTGTGACAGTCTAGCGGCCTGACTCTGTCTCCGTGCTGACCGTGCCTTCTCTAACTT  TGGCACCCAGACTACACCTGTAATGTGGACCACAAGCCATCCAACACCAAGGTGGACAAGACC</p>

[0216]

	<p>GTGGAACGGAAGTGTGCGTGGAAATGCCCTCCTGTCTGCTCCTCTGTGGCTGGCCCTCCGT                  GTTCTGTCCCTCAAAGCCTAAGGACACCTGATGATCTCTGGACCCTGAAGTGACCTGCG                  TGGTGGTGGATGTGTCTCACGAGGATCCCGAGGTGCAGTTCAATTGGTACGTGGACGGCGTGG                  AAGTGCACAACGCCAAGACCAAGCCTAGAGAGGAACAGTTCAACTCCACCTTCAGAGTGGTGT                  CGTGTGACCGTGGTGCATCAGGATTGGCTGAACGGCAAAGAGTACAAGTGCAAGGTGTCAA                  CAAGGGCCTGCCTGCTCTATCGAAAAGACCATCTAAGACCAAGGGGAGCCCCGGGAACCT                  CAGGTTTACACACTGCCTCAAAGCCGGGAAGAGATGACCAAGAACCAGGTGTCCCTGACCTGTC                  TCGTGAAGGGCTTCTACCCTCCGATATCGCCGTGGAATGGGAGTCTAATGGCCAGCCTGAGAA                  CAACTACAAGACCACCTCCTATGCTGGACTCCGACGGCTATTCTTCTGTACTCCAAGCTGAC                  AGTGGACAAGTCCAGATGGCAGCAGGGCAACGTGTTCTCTGCTCCGTGATGCACGAGGCCCTG                  CACAATCACTACACCCAGAAGTCCCTGTCTGTGCCCTGGAAAAGCGGGGAGGATCTGGCG                  GAGGCGGTAGCGGTGGTGGCGGATCTGAAGTTCAGCTGGTTGAATCTGGCGGGGACTGGTTC                  AACCAGGCGGATCTCTGAGACTGTCTGTGCCCTCCGGCTTACCTTCTCTTACGCTATGT                  CCTGGTCCGACAGGCCCAAGGATTGGAGTGGGTGCCAGATCTCTCCGCTGGCG                  GCTACACCAATTACGCCGACTCTGTGAAGGGCAGATTACCATCTCTGCCGACACCTCAAGAAC                  ACCGCTACCTGCAGATGAACTCCCTGAGAGCCGAGGACACCGCGTGTACTATTGTGCTAGAG                  GCGAGTGCATTCTCCGGATGTCCAAGTGTGACGTGTGGGGACAGGGAACCCTCGTGC                  AGTTTCTAGCGGTGGCGGAGGTAGCGGAGGCGGTGGAAGCGGGGAGGCGGAAGTGATTC                  AGATGACCCAGTCTCCTCCAGCCTGTCCGCTTCTGTGGCGATAGAGTGACCATCACCTGTCCG                  GCCTCAGTTCCTGTCTAGTTATCTGGCATGGTATCAGCAGAAGCCGGCAAGGCTCCCAAGCT                  GTTGATCTACGGCGCTCTGCTAGAGCTTCCGGCGTGCATCTAGATTCTCCGGCTCTGGCTCTG                  GCACCGACTTACCTGACAATCTCCAGCCTGCAGCCTGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAG                  CAGTACCTGGCCTCTCTGCCACATTTGGCCAGGGAACAAAGGTCGAGATCAAGCGCTGA</p>
<p>19</p>	<p>CAGTTTCAGCTGCAAGAGTCTGGCCCTGGCTGGTCAAGCCTCCGAAACACTGTCTGACCTG                  CACCGTGTCTGGCGGCTGTGTCTCTGGCGATTACTACTGGACCTGGATCCGGCAGTCTCCTG                  GCAAAGGCTGGAATGGATCGCCACATCTACTACTCGGCAACCAACTACAACCCAGCCT                  GAAGTCCCGGCTGACCATCTCCATCGACACCAGCAAGACCCAGTTCTCCCTGAAGTGTCTCTG                  TGACCGCGCTGATACCGCATCTACTATTGCGTGGCGGACAGAGTGACCGCGCCTTTGATATT                  TGGGGCCAGGGCACCATGGTACCCTGTCCAGTGTCTACCAAGGGACCCAGCGTGTCCCTC                  TGGCTCCTGTCTCCAGATCCACCTCCGAGTCTACAGCTGCTCTGGGCTGTCTGGTCAAGGACTAC                  TTCCCTGAGCCTGTGACCGTGTCTGGAATTCTGGCGCTCTGACATCTGGCGTGCACACCTTCC                  AGCTGTGCTGCAGTCTAGCGGCTGTACTCTGTCTCCTCCGTCTGACCGTGCCTTCTCTAACTT                  TGGCACCCAGACCTACACCTGTAATGTGGACCACAAGCCATCCAACCAAGGTGGACAAGACC                  GTGGAACGGAAGTGTGCGTGGAAATGCCCTCCTGTCTGCTCCTCTGTGGCTGGCCCTCCGT                  GTTCTGTCCCTCAAAGCCTAAGGACACCTGATGATCTCTCGGACCCTGAAGTGACCTGCG                  TGGTGGTGGATGTGTCTCACGAGGATCCCGAGGTGCAGTTCAATTGGTACGTGGACGGCGTGG                  AAGTGCACAACGCCAAGACCAAGCCTAGAGAGGAACAGTTCAACTCCACCTTCAGAGTGGTGT                  CGTGTGACCGTGGTGCATCAGGATTGGCTGAACGGCAAAGAGTACAAGTGCAAGGTGTCAA                  CAAGGGCCTGCCTGCTCTATCGAAAAGACCATCTAAGACCAAGGGGAGCCCCGGGAACCT                  CAGGTTTACACACTGCCTCAAAGCCGGGAAGAGATGACCAAGAACCAGGTGTCCCTGACCTGTC                  TCGTGAAGGGCTTCTACCCTCCGATATCGCCGTGGAATGGGAGTCTAATGGCCAGCCTGAGAA                  CAACTACAAGACCACCTCCTATGCTGGACTCCGACGGCTATTCTTCTGTACTCCAAGCTGAC                  AGTGGACAAGTCCAGATGGCAGCAGGGCAACGTGTTCTCTGCTCCGTGATGCACGAGGCCCTG</p>

[0217]

	<p>CACAATCACTACACCCAGAAGTCCTGTCTGTCCCTGGAAAAGCGCGGAGGATCTGGCG                  GAGGCGGTAGCGGTGGTGGCGGATCTGAAGTTCAGCTGGTTGAATCTGGCGGCGGACTGGTTC                  AACCAAGCGGATCTCTGAGACTGTCTGTGCCGCTCCGGCTTACCTTCTCCTTACGCTATGT                  CCTGGGTCCGACAGGCCCCAGGCAAAGGATTGGAGTGGGTGTCCAGATCTCTCCGCTGGCG                  GCTACACCAATTACGCCGACTCTGTGAAGGGCAGATTACCATCTCTGCCGACACCTCCAAGAAC                  ACCGCTACCTGCAGATGAACTCCCTGAGAGCCGAGGACACCGCGTGTACTATTGTGCTAGAG                  GCGAGCTGCCCTACTTCCAGATGTCAAAGTGATGGACGTGTGGGGACAGGGAACCCCTCGTGA                  CAGTTTCTAGCGGTGGCGGAGGTAGCGGAGCGGTTGGAAGCGCGGAGCGGAAGTGATATT                  CAGATGACCCAGTCTCTTCCAGCCTGTCCGCTTCTGTGGGCGATAGAGTGACCATCACCTGTG                  GGCCTCTAGTACTTCTACTCTATCTGGCTTGGTATCAGCAGAAGCCTGGCAAGGCCCTAAGC                  TGCTGATCTACGGCGCTTCTGCTAGAGCTTCCGGCGTGCCTCCAGATTTCTGGCTCTGGATCT                  GGCACCGACTTTACCCTGACAATCTCCAGCCTGCAGCCTGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCA                  GCAGTACCTGGCCTCTCCTGCCACATTTGGCCAGGGAACAAAGGTCGAGATCAAGCGCTGA</p>
<p>20</p>	<p>CAGTTTCAGCTGCAAGAGTCTGGCCCTGGCCTGGTCAAGCCTTCCGAAACTGTCTCTGACCTG                  CACCGTGTCTGGCGGCTCTGTGTCTCTGGCGATTACTACTGGACCTGGATCCGGCAGTCTCCTG                  GCAAAGCCTGGAATGGATCGGCCACATCTACTACTCCGGCAACACCAACTACAACCCAGCCT                  GAAGTCCCAGCTGACCATCTCATCGACACCAGCAAGACCCAGTTCTCCCTGAAGCTGTCTCTG                  TGACCGCCGCTGATACCGCATCTACTATTGCGTGCGGGACAGAGTGACCGGCGCCTTTGATATT                  TGGGGCCAGGGCACCATGGTCAACGTGTCCAGTGTCTTACCAAGGGACCCAGCGTGTCCCTC                  TGGCTCCTCCAGCAAGTCTACCTCTGGCGGAACAGCTGCTCTGGGCTGTCTGGTCAAGGACTAC                  TTCCCTGAGCCTGTGACCGTGTCTGGAATTCTGGCGCTCTGACATCTGGCCTGCACACCTTCC                  AGCTGTGCTGCAAGTCTAGCGGCTGTACTCTGTCTCCGTCTGACCGTGCCTTCTAGCTCTCT                  GGGCACCCAGACTACATCTGCAATGTGAACCACAAGCCATCCAACACCAAGGTGGACAAGAAG                  GTGGAACCCAAGTCTGCGACAAGACCCACACCTGTCTCCATGTCTGCTCCAGAAGTGTCTCGG                  CGGACCTTCCGTGTTCTGTTTCTCCAAAGCCTAAGGACACCCTGATGATCTCTCGGACCCCTGA                  AGTGACCTGCGTGGTGGTGGATGTGTCTCAGGAGGATCCCGAAGTGAAGTTCAATTGGTACGTG                  GACGGCGTGGAAGTGACAACGCAAGCAAGCCTAGAGAGGAACAGTACAACCTCCACCTAC                  AGAGTGGTGTCCGTGCTGACCGTGTGCACCAAGATTGGCTGAACGGCAAAGAGTACAAGTGC                  AAGGTGTCCAACAAGGCCCTGCCTGTCTATCGAAAAGACCATCAGCAAGGCTAAGGGCCAGC                  CTCGGGAACCCAGGTTTACACATTGCCTCCATCTCGGGACGAGCTGACCAAGAACCAGGTGTC                  CCTGACCTGTCTGTAAGGGCTTCTACCCCTCCGATATCGCCGTGGAATGGGAGTCCAATGGCC                  AGCCTGAGAACAACTACAAGACAACCCCTCTGTGCTGGACTCCGACGGCTATTCTTCTGTAC                  TCCAAGCTGACAGTGACAAGTCCAGATGGCAGCAGGGCAACGTGTTCTCCTGCTCCGTGATGC                  ACGAGGCCCTGCACAATCACTACACCCAGAAGTCCCTGTCTGTCCCTGGAAAAGCGCGCGG                  AGGATCTGGCGGAGGTGGAAGCGGAGGCGGTGGATCTGAAGTGCAGCTGGTTGAAAGTGGCG                  GCGGATTGGTTCAGCCTGGCGGATCTCTGAGACTGTCTTGTGCCGCTCCGGCTTTACCTTCTCC                  TCCTACGCTATGTCTGGGTCCGACAGGCTCCCGGAAAAGGACTTGAATGGGTGTCCAGATCT                  CCCCTGTGGCGGCTACACCAATTACGCCGACTCTGTGAAGGGCAGATTACCATCTCTGCCGAC                  ACCTCCAAGAACACCGCCTACCTGCAGATGAACTCCCTGAGAGCCGAGGACACCGCCGTGACT                  ATTTGTCTAGAGGCGAGTCCCTACTTCCGGATGTCAAAGTGATGGACGTGTGGGGACAGG                  GAACCTCGTGACAGTTTCTAGTGGTGGCGGAGGAAGCGCGGAGGCGGTTCTGGCGGTGGTG                  GATCTGATATCCAGATGACCCAGTCTCTAGCAGCCTGTCTGCCTGTGGGCGATAGAGTGACC                  ATCACCTGTGGGCTCTCAGTTCCTGTCCAGCTACCTGGCTTGGTATCAGCAGAAGCCTGGCAA</p>

[0218]

	<p>GGCCCCAAGCTGCTGATCTACGGCGCTTCTGCTAGAGCTTCGGCGTGCCCTCCAGATTTTCTG GCTCTGGATCTGGCACCGACTTTACCTGACAATCTCCAGCCTGCAGCCTGAGGACTTCGCCACC TACTACTGCCAGCAGTACCTGGCCTCTCTGCCACATTTGGCCAGGGAACAAAGGTCGAGATCA AGCGCTGA</p>
<p>21</p>	<p>CAGGTTCAAGCTGCAAGAGTCTGGCCCTGGCCTGGTCAAGCCTTCGAAACACTGTCTCTGACCTG CACCGTGTCTGGCGGCTCTGTCTCTGCGGATTACTACTGGACCTGGATCCGGCAGTCTCCTG GCAAAGCCTGGAATGGATCGGCCACATCTACTACTCGGCAACACCAACTACAACCCAGCCT GAAGTCCCGGCTGACCATCTCCATCGACACCAGCAAGACCAGTTCTCCCTGAAGCTGTCTCTG TGACCGCCGCTGATACCGCATCTACTATTGCGTGCGGGACAGAGTGACCGGCGCCTTTGATATT TGGGGCCAGGGCACCATGGTCAACGTGTCCAGTGCTTCTACCAAGGGACCCAGCGTGTCCCTC TGGCTCCTCCAGCAAGTCTACCTCTGGCGAACAGCTGCTCTGGGCTGTCTGGTCAAGGACTAC TTCCCTGAGCCTGTGACCGTGTCTGGAATTCTGGCGCTGTGACATCTGGCGTGCACACCTTTC AGCTGTGTGACAGTCTAGCGGCTGTACTCTGTCTCCGTCTGACCGTGCCTTCTAGCTCTCT GGGCACCCAGACTACATCTGCAATGTGAACCACAAGCCATCCAACACCAAGGTGGACAAGAAG GTGGAACCCAAAGTCTGCGACAAGACCACACTGTCTCCATGTCTGCTCCAGAACTGCTCGG CGGACCTTCGCTGTTCTGTTTCTCAAAGCCTAAGGACACCCTGATGATCTCTCGGACCCCTGA AGTGACCTGCGTGGTGGTGGATGTGTCTCACGAGGATCCCGAAGTGAAGTTCAATTGGTACGTG GACGGCGTGGAAGTGACAACGCAAGACCAAGCCTAGAGAGGAACAGTACAACCTCCACCTAC AGAGTGGTGTCCGTGTGACCGTGTGACCCAGGATTGGCTGAACGGCAAAGAGTACAAGTGC AAGGTGTCAAACAAGGCCCTGCTGCTCTATCGAAAAGACCATCAGCAAGGCTAAGGGCCAGC CTCGGGAACCCAGGTTACACATTGCCTCCATCTCGGGACGAGCTGACCAAGAACCAGGTGTC CCTGACCTGTCTGTGAAGGCTTCTACCCCTCCGATATCGCCGTGGAATGGGAGTCCAATGGCC AGCCTGAGAACAACTACAAGACAACCCCTCTGTGCTGGACTCCGACGGCTCATTCTTCTGTAC TCAAAGCTGACAGTGGACAAGTCCAGATGGCAGCAGGGCAACGTGTTCTCTGCTCCGTGATGC ACGAGGCCCTGCACAATCACTACACCCAGAAGTCCCTGTCTGTCCCTGGAAAAGGCGGCGG AGGATCTGGCGGAGGTGGAAGCGGAGGCGGTGGATCTGAAGTGCAGCTGGTTGAAAGTGGCG GCGGATTGGTTCAGCCTGGCGGATCTGTGAGACTGTCTTGTGCCGCTCCGGCTTACCTTCTCC TCTACGCTATGTCTGGTCCGACAGGCTCCCGAAAAGGACTTGAATGGGTGTCCAGATCT CCCCGTGTCGGCTACACCAATTACGCCGACTCTGTGAAGGGCAGATTACCATCTCTGCCGAC ACCTCAAGAACACCGCTACCTGCAGATGAACTCCCTGAGAGCCGAGGACACCGCGTGTACT ATTGTGCTAGAGGCGAGCTGCCCTACTTCCGGATGTCAAAGTGTGGACGTGTGGGGACAGG GAACCTCGTGACAGTGTCTAGCGGAGATGGATCTAGTGGTGGCGGAGGCGCTTCCGACATCC AGATGACACAGTCTCCCTCCAGCCTGTCTGCTCTGTGGCGATAGAGTGACCATCACCTGTCCG GCCTCTCAGTTCCTGTCCAGCTACCTGGCTTGGTATCAGCAGAAGCCTGGCAAGGCCCTAAGCT GCTGATCTACGGCGCTTCTGCTAGAGCTTCCGGCGTGCCCTCCAGATTTTCTGGCTTGGATCTG GCACCGACTTTACCTGACAATCAGCAGCCTGCAGCCTGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAG CAGTACCTGGCCTCTCTGCCACATTTGGCCAGGGAACAAAGGTCGAGATCAAGTGA</p>
<p>22</p>	<p>CAGGTTCAAGCTGCAAGAGTCTGGCCCTGGCCTGGTCAAGCCTTCGAAACACTGTCTCTGACCTG CACCGTGTCTGGCGGCTCTGTCTCTGCGGATTACTACTGGACCTGGATCCGGCAGTCTCCTG GCAAAGCCTGGAATGGATCGGCCACATCTACTACTCGGCAACACCAACTACAACCCAGCCT GAAGTCCCGGCTGACCATCTCCATCGACACCAGCAAGACCAGTTCTCCCTGAAGCTGTCTCTG TGACCGCCGCTGATACCGCATCTACTATTGCGTGCGGGACAGAGTGACCGGCGCCTTTGATATT</p>

[0219]

	<p>TGGGGCCAGGGCACCATGGTCACCGTGTCCAGTGCTTCTACCAAGGGACCCAGCGTGTCCCTC  TGGCTCCTTCCAGCAAGTCTACCTCTGGCGGAACAGCTGCTCTGGGCTGTCTGGTCAAGGACTAC  TTCCCTGAGCCTGTGACCGTGTCTGGAATTCTGGCGCTCTGACATCTGGCGTGCACACCTTTCC  AGCTGTGCTGCAGTCTAGCGGCCTGACTCTGTCTCCTCCGTCTGACCGTGCCTTCTAGCTCTCT  GGGCACCCAGACCTACATCTGCAATGTGAACCACAAGCCATCCAACACCAAGGTGGACAAGAAG  GTGGAACCCAAGTCTGCGACAAGACCCACACCTGTCTCCATGTCTGCTCCAGAAGTGTCTCGG  CGGACCTTCCGTGTTCTGTTTCTCCAAGCCTAAGGACACCCTGATGATCTCTCGGACCCCTGA  AGTGACCTGCGTGGTGGTGGATGTGTCTCACGAGGATCCCGAAGTGAAGTTCAATTGGTACGTG  GACGGCGTGGAAAGTGCACAACGCCAAGACCAAGCCTAGAGAGGAACAGTACAACCTCCACCTAC  AGAGTGGTGTCCGTGTGACCGTGTGCACCCAGGATTGGCTGAACGGCAAAGAGTACAAGTGC  AAGGTGTCAAACAAGGCCCTGCTCTCTATCGAAAAGACCATCAGCAAGGCTAAGGGCCAGC  CTCGGGAACCCAGGTTTACACATTGCCTCCATCTCGGGACGAGCTGACCAAGAACCAGGTGTC  CCTGACCTGTCTCGTGAAGGGCTTCTACCCCTCCGATATCGCCGTGGAATGGGAGTCCAATGGCC  AGCCTGAGAACAATAAGACAACCCCTCTGTGCTGGACTCCGACGGCTCATTTCTCTGTATC  TCCAAGCTGACAGTGGACAAGTCCAGATGGCAGCAGGGCAACGTGTTCTCCTGCTCCGTGATGC  ACGAGGCCCTGCACAATCACTACACCCAGAAAGTCCCTGTCTGTCCCTGGAAAAGCGGCGG  AGGATCTGGCGGAGGTGGAAAGCGGAGGCGGTGGATCTGAAGTGCAGCTGGTTGAAAGTGGCG  GCGGATTGGTTCAGCTGGCGGATCTGTGAGACTGTCTGTGCCGCTCCGGCTTTACCTTCTCC  TCCTACGCTATGCTCTGGTCCGACAGGCTCCCGAAAAGGACTTGAATGGGTGTCCAGATCT  CCCCTGCTGGCGGCTACACCAATTACGCCGACTCTGTGAAGGGCAGATTCACCATCTCTGCCGAC  ACCTCCAAGAACCCGCTACCTGCAGATGAACTCCCTGAGAGCCGAGGACACCCCGGTACT  ATTGTGCTAGAGGCGAGCTGCCCTACTTCCGGATGTCCAAAGTATGGACGTGTGGGGACAGG  GAACCTCTGTGACAGTTTCTAGTGGTGGCGGAGGAAGCGGCGGAGGCGGTTCTGGCGGTGGTG  GCTCTGGCGGTGGCGGATCTGATATCCAGATGACCCAGTCTCTAGCAGCCTGTCTGCCTCTGTG  GGCGATAGAGTGACCATCACCTGTGGGCTCTCAGTTCCTGTCCAGTACCTGGCTGGTATCA  GCAGAAAGCCTGGCAAGGCCCTAAGCTGTGATCTACGGCGCTTCTGCTAGAGCTTCCGGCGTG  CCCTCCAGATTCTGGCTCTGGATCTGGCACCGACTTACCCTGACAATCTCCAGCTGCAGCCT  GAGGACTTCGCCACCTACTGCCAGCAGTACCTGGCTCTCTGCCACATTTGCCAGGGAAC  AAAGGTCGAGATCAAGTGA</p>
23	<p>CAGGTTGAGCTGCAAGAGTCTGGCCCTGGCCTGGTCAAGCCTCCGAAACACTGTCTGACCTG  CACCGTGTCTGGCGGCTCTGTGTCTCTGGCGATTACTACTGGACCTGGATCCGGCAGTCTCTG  GCAAAGGCCTGGAATGGATCGGCCACATCTACTACTCCGGCAACACCAACTACAACCCAGCCT  GAAGTCCCGGCTGACCATCTCCATCGACACCAGCAAGACCCAGTTCTCCCTGAAGCTGTCTCTG  TGACCGCCGCTGATACCGCATCTACTATTGCGTGGCGGACAGAGTGACCGGCGCCTTTGATATT  TGGGGCCAGGGCACCATGGTCACCGTGTCCAGTGCTTCTACCAAGGGACCCAGCGTGTCCCTC  TGGCTCCTTCCAGCAAGTCTACCTCTGGCGGAACAGCTGCTCTGGGCTGTCTGGTCAAGGACTAC  TTCCCTGAGCCTGTGACCGTGTCTGGAATTCTGGCGCTCTGACATCTGGCGTGCACACCTTTCC  AGCTGTGCTGCAGTCTAGCGGCCTGACTCTGTCTCCTCCGTCTGACCGTGCCTTCTAGCTCTCT  GGGCACCCAGACCTACATCTGCAATGTGAACCACAAGCCATCCAACACCAAGGTGGACAAGAAG  GTGGAACCCAAGTCTGCGACAAGACCCACACCTGTCTCCATGTCTGCTCCAGAAGTGTCTCGG  CGGACCTTCCGTGTTCTGTTTCTCCAAGCCTAAGGACACCCTGATGATCTCTCGGACCCCTGA  AGTGACCTGCGTGGTGGTGGATGTGTCTCACGAGGATCCCGAAGTGAAGTTCAATTGGTACGTG  GACGGCGTGGAAAGTGCACAACGCCAAGACCAAGCCTAGAGAGGAACAGTACAACCTCCACCTAC</p>

[0220]

	<p>AGAGTGGTGTCCGTGCTGACCGTGCTGCACCAGGATTGGCTGAACGGCAAAGAGTACAAGTGC  AAGGTGTCCAACAAGGCCCTGCTCTCTATCGAAAAGACCATCAGCAAGGCTAAGGGCCAGC  CTCGGGAACCCAGGTTTACACATTGCCTCCATCTCGGGACGAGCTGACCAAGAACCAGGTGTC  CCTGACCTGTCTCGTGAAGGGCTTCTACCCCTCCGATATCGCCGTGGAATGGGAGTCCAATGGCC  AGCCTGAGAACAACACTACAAGACAACCCCTCTGTGCTGGACTCCGACGGCTCATTCTCCTGTAC  TCCAAGCTGACAGTGGACAAGTCCAGATGGCAGCAGGGCAACGTGTTCTCCTGCTCCGTGATGC  ACGAGGCCCTGCACAATCACTACACCCAGAAGTCCCTGTCTGTCCCTGAAAAGGCGGCGG  AGGATCTGGCGGAGGTGGAAGCGGAGGCGGTGGATCTGATATCCAGATGACCCAGTCTCCTAG  CAGCCTGTCTGCCTGTGGGCGATAGAGTGACCATCACCTGTGCGGCCTCTCAGTTCCTGTCCA  GCTACCTGGCTTGGTATCAGCAGAAGCCTGGCAAGGCCCTAAGCTGTGATCTACGGCGCTTC  TGCTAGAGCTTCCGGCGTGCCCTCCAGATTTTCTGGCTCTGGATCTGGCACCGACTTTACCCTGA  CAATCTCCAGCTGCAGCCTGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGTACCTGGCCTCTCCT  GCCACATTTGGCCAGGGAACAAGGTGAAAATCAAAGTGGCGGCGGTAGTGGTGGCGGAGG  AAGCGGCGGAGGCGGCTCTGAAGTTCAGCTTGTGAATCTGGCGGCGGACTGGTTCAGCCTGG  CGGATCTGAGACTGTCTTGTGCCCGCAGCGGCTCACCTTCTCCTTACGCTATGCTCTGGGT  CCGACAGGCCCCAGGCAAAGGATTGGAGTGGGTGTCCAGATCTCTCTGTGGCGGTACACC  AATTACGCCGACTGTGAAGGGCAGATTACCATCTCTGCCGACACCTCCAAGAACACCGCCTA  CCTGAGATGAACTCCCTGAGAGCCGAGGACACCGCGTACTATTGTGCTAGAGGCGAGCTG  CCCTACTCCGGATGTCCAAGTATGGACGTGTGGGACAGGGAACCCTCGTACAGTGTCTCT  CTTGA</p>
<p>24</p>	<p>CAGGTTGAGCTGCAAGAGTCTGGCCCTGGCCTGGTCAAGCCTTCCGAAACTGTCTCTGACCTG  CACCGTGTCTGGCGGCTGTGTCTCTGCGGATTACTACTGGACCTGGATCCGGCAGTCTCCTG  GCAAAGGCCTGGAATGGATCGGCCACATCTACTACTCCGGCAACACCAACTACAACCCAGCCT  GAAGTCCCAGCTGACCATCTCATCGACACCAGCAAGACCCAGTTCCTCCTGAAGCTGTCTCTG  TGACCGCGCTGATACCGCATCTACTATTGCGTGCGGGACAGAGTGACCGGCGCCTTTGATATT  TGGGGCCAGGGACCATGGTCAACCGTGTCCAGTGTCTTACCAAGGGACCCAGCGTGTCCCTC  TGGCTCCTTCCAGCAAGTCTACCTCTGGCGGAACAGCTGCTCTGGGCTGTCTGGTCAAGGACTAC  TTCCCTGAGCCTGTGACCGTGTCTGGAATTCTGGCGCTCTGACATCTGGCGTGCACACCTTTCC  AGCTGTGCTGCAGTCTAGCGGCCTGTACTCTGTCTCCTCCGTGACCGTGCCTTCTAGCTCTCT  GGGCACCCAGACCTACATCTGCAATGTGAACCACAAGCCATCCAACACCAAGGTGGACAAGAAG  GTGGAACCCAAAGTCTGCGACAAGACCCACACCTGTCTCCATGTCTGCTCCAGAAGTGTCTCGG  CGGACCTTCCGTGTTCTGTTTCTCCAAAGCCTAAGGACACCTGATGATCTCTCGGACCCCTGA  AGTACCTGCGTGGTGGTGGATGTGTCTCACGAGGATCCCAGAGTGAAGTTCAATTGGTACGTG  GACGGCGTGGAAAGTGCACAACGCCAAGCAAGCCTAGAGAGGAACAGTACAACCTCCACCTAC  AGAGTGGTGTCCGTGCTGACCGTGTGCACCAGGATTGGCTGAACGGCAAAGAGTACAAGTGC  AAGGTGTCCAACAAGGCCCTGCTGCTCTATCGAAAAGACCATCAGCAAGGCTAAGGGCCAGC  CTCGGGAACCCAGGTTTACACATTGCCTCCATCTCGGGACGAGCTGACCAAGAACCAGGTGTC  CCTGACCTGTCTCGTGAAGGGCTTCTACCCCTCCGATATCGCCGTGGAATGGGAGTCCAATGGCC  AGCCTGAGAACAACACTACAAGACAACCCCTCTGTGCTGGACTCCGACGGCTCATTCTCCTGTAC  TCCAAGCTGACAGTGGACAAGTCCAGATGGCAGCAGGGCAACGTGTTCTCCTGCTCCGTGATGC  ACGAGGCCCTGCACAATCACTACACCCAGAAGTCCCTGTCTGTCCCTGAAAAGGCGGCGG  AGGATCTGGCGGAGGTGGAAGCGGAGGCGGTGGATCTGAAGTGCAGCTGTTGAAAAGTGGCG  GCGGATTGGTTCAGCCTGGCGGATCTCTGAGACTGTCTTGTGCCGCTCCGGCTTTACCTTCTCC  TCTACGCTATGCTCTGGTCCGACAGGCTCCCGAAAAGGACTTGAATGGGTGTCCAGATCT</p>

[0221]

	CCCCTGCTGGCGGCTACACCAATTACGCCGACTCTGTGAAGGGCAGATTACCATCTCTCGGGAC AACTCCAAGAACACCCCTGTACCTGCAGATGAACTCCCTGAGAGCCGAGGACACCGCCGTACT ATTGTGCTAGAGGCGAGCTGCCCTACTTCCGGATGTCCAAAGTGATGGAGTGTGGGGACAGG GAACCTCTGTGACAGTTTCTAGTGGTGGCGGAGGAAGCGGCGGAGGCGGTTCTGGCGGTGGC GGATCTGAAATTGTGCTGACCCAGTCTCCAGGCACACTCAGTTTGGCCCTGGCGAGAGAGCTA CCCTGAGCTGTAGAGCCTCTCAGTTCTGTCCAGCTACCTGGCTTGGTATCAGCAGAAGCCAGGA CAGGCCCTCGGCTGTTGATCTATGGCGTTCTGCTAGAGCCAGCGGCATCCCTGATAGATTCTC CGGCTCTGGCTCTGGCACCAGCTTACCCTGACAATCTCCCGCTGGAACCTGAGGACTTCGCTG TGACTACTGCCAGCAGTACCTGGCTCTCTGCCACATTTGCCAGGGAACAAAGGTCGAGAT CAAGTGA
25	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCATCCCTGTCCGCTCAGTGGGCGACAGAGTGACCATCA CTTGTCAGCCTCCAAGACATTAGCAACTACCTGAACTGGTACCAGCAGAAGCCCGAAAGGC CCCGAAGCTGCTCATCTATGACGCTTCAACCTTGAGACTGGAGTGCCTTCGCGCTTCTCCGGCT CCGGGAGCGGTACCGATTTACCTTACCCTCTCCCTGCAACCCGAGGACATTGCGACTTAC TTCTGCCAACATTTGATCACCTCCCTCTCGCTTCGGCGGCGGAACTAAGGTCGAGATTAAGCG GACCGTGGCTGCCCGTCCGTGTTTCATCTTCCCGCCGTCCGATGAACAGCTGAAGTCCGGTACCG CATCAGTCGTGTGCTGTGAACAACCTTACCCCCGGGAAGCCAAGGTCAGTGGAAGTGGA CAATGCGCTGCAGTCGGGAAACTCGCAGGAATCCGTGACCGAACAGGATTGAAGGACAGCAC ATACAGCCTGCATCCACCCTCAGCTGTGGAAGCCGACTACGAGAAGCACAAGTGTACGCC TGCGAAGTGACCCACCAAGGGCTTAGCAGCCCTGTGACCAAGTCCCTCAACCGCGGAGAGTGC
26	GGCGGTGGCGGATCC
27	GGCGGCGGGGCAGC
28	GGCGGCGGAGGATCT
29	GGCGGAGGCGGTAGC
30	GGTGGTGGCGGATCT
31	GGCGGCGGAGGATCT
32	GGCGGAGGTGGAAGC
33	GGAGGCGGTGGATCT
34	GGTGGCGGAGGAAGC
35	GGCGGAGGCGGTTCT
36	GGCGGTGGCGGATCT
37	GGCGGTGGCGGATCC
38	GGCGGCGGGGCAGC
39	QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSVSSGDYYWTWIRQSPGKLEWIGHIYYSNTNYPNPKS RLTISIDTSKTQFSLKLSVTAADTAIYCVDRDVTGAFDIWGQGTMTVSSASTKGPSVFLPAPSSKST SGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVN HKPSNTKVDKKEPKSCDKHTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDP EVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFLL YSKLTVDKSRWQQGNVFSQSMHEALHNHYTQKLSLSLSPGKGGGGGGGGGGGGGGGGGGSEVQLLESG GGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSYAMSWVRQAPGKLEWVSQISPAGGYTNYADSVKGRFTISRDN

[0222]

	SKNTLYLQMNLSRAEDTAVYYCARGELPYHRMSKVM DVWGQGLVTVSSGGGGSGGGGSGGGG SEIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQFLSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASARASGIPDRFSGSGG TDFLTISRLEPEDFAVYYCQQLASPATFGQGTKVEIK
40	CAGGTTCAAGCTGCAAGAGTCTGGCCCTGGCTGGTCAAGCCTCCGAAACTGTCTGACCTG CACCCTGTCTGGCGGCTCTGTGTCTCTGGCGATTACTACTGGACCTGGATCCGGCAGTCTCCTG GCAAAGCCTGGAATGGATCGGCCACATCTACTACTCCGGCAACACCACTACAACCCAGCCT GAAGTCCCGGCTGACCATCTCCATCGACACCAGCAAGACCCAGTTCTCCCTGAAGCTGTCTCTG TGACCGCCGCTGATACCGCATCTACTATTGCGTGCGGGACAGAGTGACCGGCGCCTTTGATATT TGGGGCCAGGGCACCATGGTCCAGTGTCCAGTGTCTTACCAAGGGACCCAGCGTGTCCCTC TGGCTCCTCCAGCAAGTCTACCTCTGGCGGAACAGCTGCTCTGGGCTGTCTGGTCAAGGACTAC TTCCTGAGCCTGTGACCGTGTCTGGAATTCTGGCGCTCTGACATCTGGCGTGCACACCTTTCC AGCTGTGCTGACGTCTAGCGGCTGTACTCTGTCTCCGTCTGACCGTGCCTCTTAGCTCTCT GGGACCCAGACCTACATCTGCAATGTGAACCACAAGCCATCCAACACCAAGGTGGACAAGAAG GTGGAACCAAGTCTGCGACAAGACCCACACCTGTCTCCATGTCTGCTCCAGAAGTGTCTCGG CGGACCTCCGTGTTCTGTTCTCCAAAGCCTAAGGACACCCTGATGATCTCTCGGACCCCTGA AGTGACCTGCGTGGTGGTGGATGTCTCACGAGGATCCCGAAGTGAAGTTCAATTGGTACGTG GACGGCGTGGAAGTGACAACGCCAAGACCAAGCCTAGAGAGGAACAGTACAACCTCACCTAC AGAGTGGTGTCCGTGTGACCGTGTGACCCAGGATTGGCTGAACGGCAAAGAGTACAAGTGC AAGGTGTCAAACAAGGCCCTGCTGCTCTATCGAAAAGACCATCAGCAAGGCTAAGGGCCAGC CTCGGGAACCCAGGTTTACACATTGCCTCCATCTCGGGACGAGCTGACCAAGAACCAGGTGTC CCTGACCTGTCTGTGAAGGGCTTACCCCTCCGATATCGCCGTGGAATGGGAGTCCAATGGCC AGCCTGAGAACAACTACAAGACAACCCCTCTGTGCTGGACTCCGACGGCTCATTCTTCTGTAC TCCAAGCTGACAGTGGACAAGTCCAGATGGCAGCAGGGCAACGTGTTCTCTGCTCCGTGATGC ACGAGGCCCTGCACAATCACTACACCCAGAAGTCCCTGTCTGTGCCCTGGAAAAGCGGCGG AGGATCTGGCGGAGGTGGAAGCGGAGGGCGGTGGATCTGAAGTGCAGCTGTTGAAAGTGGCG GCGGATTGGTTCAGCTGGCGGATCTCTGAGACTGTCTGTGCCGCTCCGGCTTTACCTTCTCC TCTACGCTATGTCTGGTCCGACAGGCTCCCGAAAAGGACTTGAATGGGTGTCCAGATCT CCCTGCTGGCGGCTACACCAATTACGCCACTCTGTGAAGGGCAGATTACCATCTCTCGGGAC AACTCCAAGAACACCTGTACTCTGAGATGAACTCCCTGAGAGCCGAGGACACCGCCGTGACT ATTGTGCTAGAGGCGAGCTGCCCTACCACCGGATGTCAAAGTGTGATGGATGTGTTGGGACAGG GAACCTCTGACAGTCTTAGTGGTGGCGGAGGAAGCGGCGGAGGCGGTTCTGGCGGTGGC GGATCTGAAATTGTGCTGACCCAGTCTCCAGGCACACTCAGTTTGAGCCCTGGCGAGAGAGCTA CCCTGAGCTGTAGAGCCTCTCAGTTCCTGTCCAGCTACCTGGCTTGGTATCAGCAGAAGCCAGGA CAGGCCCTCGGCTGTTGATCTATGGCGCTTCTGCTAGAGCCAGCGGCATCCCTGATAGATTCTC CGGCTCTGGCTCTGGCACCAGCTTACCCCTGACAATCTCCCGGCTGGAACCTGAGGACTTCGCTG TGACTACTGCCAGCAGTACCTGGCCTCTCTGCCACATTTGGCCAGGGAACAAAGGTGAGAT CAAG
41	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKLEWVSIQSPAGGYTNYADSVK GRFTISADTSKNTAYLQMNLSRAEDTAVYYCARGELPYFRMSKVM DVWGQGLVTVSSASTKGPSV FPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPS TQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKHTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHN30AKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNK ALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT PPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

[0223]

42	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSQISPAGGYTNYADSVK GRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARGELPYQMSKVMDEVWGQGLTVTVSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSL GTQTYICNVNHKPSNTKVDKKEPKSCDKHTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTC VVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNK ALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT PPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
43	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSQISPAGGYTNYADSVK GRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARGELPFFRMSQVMDEVWGQGLTVTVSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSL GTQTYICNVNHKPSNTKVDKKEPKSCDKHTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTC VVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNK ALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT PPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
44	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSQISPAGGYTNYADSVK GRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARGELPYFRMSKVMDEVWGQGLTVTVSSASTKGPSV FPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLG TQTYICNVNHKPSNTKVDKKEPKSCDKHTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKAL PAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT PPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
45	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSQISPAGGYTNYADSVKG RFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGELPYFRMSKVMDEVWGQGLTVTVSSASTKGPSV FPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLG TQTYICNVNHKPSNTKVDKKEPKSCDKHTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKAL PAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT PPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
46	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSQISPAGGYTNYADSVKG RFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGELPYQMSKVMDEVWGQGLTVTVSSASTKGPSV FPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLG TQTYICNVNHKPSNTKVDKKEPKSCDKHTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKAL PAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT PPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
47	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSQISPAGGYTNYADSVKG RFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGELPFFRMSQVMDEVWGQGLTVTVSSASTKGPSV FPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLG

[0224]

	QTYICNVNHHKPSNTKVKDKVEPKSCDKTHTCPPCPAPPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKAL PAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPP VLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
48	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQFLSSYLAWYQQKPGKAPKLLIYGASARASGVPSRFSGSGSG TDFTLTISLQPEDFATYYCQQYLASPATFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNN FYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPV TKSFNRGEC
49	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQYFSSYLAWYQQKPGKAPKLLIYGASARASGVPSRFSGSGSG TDFTLTISLQPEDFATYYCQQYLASPATFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNN FYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPV TKSFNRGEC
50	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQFLSSYLAWYQQKPGKAPKLLIYGASARASGVPSRFSGSGSG TDFTLTISLQPEDFATYYCQQYLASPATFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNN FYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPV TKSFNRGEC
51	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQFLSSYLAWYQQKPGKAPKLLIYGASARASGVPSRFSGSGSG TDFTLTISLQPEDFATYYCQQYLASPATFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNN FYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPV TKSFNRGEC
52	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQFLSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASARASGIPDRFSGSGSGT DFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYLASPATFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNNF YPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVT KSFNRGEC
53	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQFLSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASARASGIPDRFSGSGSGT DFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYLASPATFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNNF YPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVT KSFNRGEC
54	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQFLSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASARASGIPDRFSGSGSGT DFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYLASPATFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNNF YPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVT KSFNRGEC
55	GAGGTGCAGCTGGTGGAGAGCGGCGGCGCTGGTGCAGCCCGGCGCAGCCTGAGGCTGAG CTGCGCGCCAGCGGCTTACCTTCAGCAGCTACGCCATGAGCTGGGTGAGGCAGGCCCGCGC AAGGGCCTGGAGTGGGTGAGCCAGATCAGCCCCGCGGCGCTACACCAACTACGCCGACAGC GTGAAGGGCAGGTTACCATCAGCGCCGACACCAGCAAGAACACCGCCTACCTGCAGATGAAC

[0225]

	<p>AGCCTGAGGGCCGAGGACACCGCCGTGTAAGTACTGCGCCAGGGGCGAGCTGCCCTACTTCAGG                  ATGAGCAAGGTGATGGACGTGTGGGGCCAGGGCACCTGTGACCGTGAGCAGCGCCAGCAC                  CAAGGGCCCCAGCGTGTTCCTCCCTGGCCCCAGCAGCAAGAGCACAGCGGCGGCACCGCCGC                  CCTGGGCTGCCTGGTGAAGGACTACTTCCCCGAGCCCGTACCCTGAGCTGGAACAGCGGCGC                  CCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCCGCCGTGCTGCAGAGCAGCGGCCTGTACAGCCTGAGC                  AGCGTGGTGACCGTGCCAGCAGCAGCTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAACCACA                  AGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAAGGTGGAGCCCAAGAGCTGCGACAAGACCCACACCT                  GCCCCCCCTGCCCGCCCCGAGCTGTGGGCGGCCCCAGCGTGTTCCTGTTCCCCCAAGCCC                  AAGGACACCCGTGATGATCAGCAGGACCCCGAGGTGACCTGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCAC                  GAGGACCCCGAGGTGAAGTTCAACTGGTACGTGGACGCGGTGGAGGTGCACAACGCCAAGACC                  AAGCCAGGGAGGAGCAGTACAACAGCACCTACAGGGTGGTGGAGCGTGTGACCGTGTGAC                  CAGGACTGGCTGAACGGCAAGGAGTACAAGTGAAGGTGAGCAACAAGGCCCTGCCCGCCCC                  ATCGAGAAGACCATCAGCAAGGCCAAGGGCCAGCCAGGGAGCCCGAGGTGTACACCTGCC                  CCCAGCAGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTGAGCCTGACCTGCCTGGTGAAGGGCTTCTAC                  CCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAACGGCCAGCCCGAGAACAACTACAAGACCACC                  CCCCCGTGCTGGACAGCGACGGCAGCTTCTTCTGTACAGCAAGCTGACCGTGGACAAGAGCA                  GGTGGCAGCAGGGCAACGTGTTCAAGTGCAGCGTGTGACGAGGCCCTGCACAACCACTACA                  CCCAGAAGAGCCTGAGCCTGAGCCCCGGAAG</p>
<p>56</p>	<p>GAGGTGCAGCTGGTGGAGAGCGGCGGCGCCTGGTGCAGCCGGCGGCAGCCTGAGGCTGAG                  CTGCGCCGCCAGCGGCTTACCTTCAGCAGCTACGCCATGAGCTGGGTGAGGCAGGCCCGGC                  AAGGGCTGGAGTGGGTGAGCCAGATCAGCCCCGCCGGCGGTACACCAACTACGCCGACAGC                  GTGAAGGGCAGGTTACCATCAGCGCCGACACCAGCAAGAACACCGCTACCTGCAGATGAAC                  AGCCTGAGGGCCGAGGACACCGCCGTGTAAGTACTGCGCCAGGGGCGAGCTGCCCTACTACCAG                  ATGAGCAAGGTGATGGACGTGTGGGGCCAGGGCACCTGTGACCGTGAGCAGCGCCAGCAC                  CAAGGGCCCCAGCGTGTTCCTCCCTGGCCCCAGCAGCAAGAGCACAGCGGCGGCACCGCCGC                  CCTGGGCTGCCTGGTGAAGGACTACTTCCCCGAGCCCGTACCCTGAGCTGGAACAGCGGCGC                  CCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCCGCCGTGCTGCAGAGCAGCGGCCTGTACAGCCTGAGC                  AGCGTGGTGACCGTGCCAGCAGCAGCTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAACCACA                  AGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAAGGTGGAGCCCAAGAGCTGCGACAAGACCCACACCT                  GCCCCCCCTGCCCGCCCCGAGCTGTGGGCGGCCCCAGCGTGTTCCTGTTCCCCCAAGCCC                  AAGGACACCCGTGATGATCAGCAGGACCCCGAGGTGACCTGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCAC                  GAGGACCCCGAGGTGAAGTTCAACTGGTACGTGGACGCGGTGGAGGTGCACAACGCCAAGACC                  AAGCCAGGGAGGAGCAGTACAACAGCACCTACAGGGTGGTGGAGCGTGTGACCGTGTGAC                  CAGGACTGGCTGAACGGCAAGGAGTACAAGTGAAGGTGAGCAACAAGGCCCTGCCCGCCCC                  ATCGAGAAGACCATCAGCAAGGCCAAGGGCCAGCCAGGGAGCCCGAGGTGTACACCTGCC                  CCCAGCAGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTGAGCCTGACCTGCCTGGTGAAGGGCTTCTAC                  CCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAACGGCCAGCCCGAGAACAACTACAAGACCACC                  CCCCCGTGCTGGACAGCGACGGCAGCTTCTTCTGTACAGCAAGCTGACCGTGGACAAGAGCA                  GGTGGCAGCAGGGCAACGTGTTCAAGTGCAGCGTGTGACGAGGCCCTGCACAACCACTACA                  CCCAGAAGAGCCTGAGCCTGAGCCCCGGAAG</p>
<p>57</p>	<p>GAGGTGCAGCTGGTGGAGAGCGGCGGCGCCTGGTGCAGCCGGCGGCAGCCTGAGGCTGAG                  CTGCGCCGCCAGCGGCTTACCTTCAGCAGCTACGCCATGAGCTGGGTGAGGCAGGCCCGGC                  AAGGGCTGGAGTGGGTGAGCCAGATCAGCCCCGCCGGCGGTACACCAACTACGCCGACAGC                  GTGAAGGGCAGGTTACCATCAGCGCCGACACCAGCAAGAACACCGCTACCTGCAGATGAAC                  AGCCTGAGGGCCGAGGACACCGCCGTGTAAGTACTGCGCCAGGGGCGAGCTGCCCTTCTCAGG</p>

[0226]

	<p>ATGAGCCAGGTGATGGACGTGTGGGGCCAGGGCACCTGGTGACCGTGAGCAGCGCCAGCACCAAGGGCCCCAGCGTGTCCCTGGCCCCAGCAGCAAGAGCACAGCGGGCGCACCGCCGCTGGGGTGCCTGGTGAAGGACTACTTCCCCGAGCCCGTGACCGTGAGCTGGAACAGCGGGCGCCCTGACCAGCGGCTGCACACCTTCCCCGCCGTGCTGCAGAGCAGCGGCCTGTACAGCCTGAGCAGCGTGTTGACCGTGCCCAGCAGCCTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAACCACAAAGCCCCAGCAACCAAGGTGGACAAGAAGGTGGAGCCCAAGAGCTGCGACAAGACCCACACCTGCCCCCTGCCCCGCCCGAGCTGCTGGGGCGCCCCAGCGTGTTCCTGTTCCCCCCCCAAGCCCCAGGACACCCCTGATGATCAGCAGGACCCCGAGGTGACCTGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAGGACCCGAGGTGAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCACAACGCCAAGACCAAGCCCCAGGGAGGAGCAGTACAACAGCACCTACAGGGTGGTGAAGCGTGCTGACCGTGCTGCACAGGACTGGCTGAACGGCAAGGAGTACAAGTGAAGGTGAGCAACAAGGCCCTGCCCGCCCCCATCGAGAAGACCATCAGCAAGGCCAAGGGCCAGCCAGGGAGCCCCAGGTGTACACCTGCCCCCAGCAGGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTGAGCCTGACCTGCCTGGTGAAGGGCTTCTACCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAACGGCCAGCCGAGAACAACAAGACCACCCCCCCGTGCTGGACAGCGACGGCAGCTTCTTCTGTACAGCAAGCTGACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGCAACGTGTTCACTGACGTGCAGCGTATGCACGAGGCCCTGCACAACCACTACACCAGAAGAGCCTGAGCCTGAGCCCCGGCAAG</p>
<p>58</p>	<p>GAGGTGCAGCTGGTGGAGAGCGGGCGGCCTGGTGCAGCCCCGGCGGCAGCCTGAGGCTGAGCTGCGCCGCCAGCGGCTTACCTTACAGCAGCTACGCCATGAGCTGGGTGAGGCAGGCCCCCGCAAGGGCCTGGAGTGGGTGAGCCAGATCAGCCCCGCGGGCTACACCAACTACGCCGACAGCGTGAAGGGCAGGTTACCATCAGCGCCGACACCAGCAAGAACCACCGCCTACCTGCAGATGAACAGCCTGAGGGCCGAGGACACCCCGTGTACTACTGCGCCAGGGGCGAGCTGCCCTACTTCAGGATGAGCAAGGTGATGGACGTGTGGGGCCAGGGCACCTGGTGACCGTGAGCAGCGCCAGCACCAAGGGCCCCAGCGTGTCCCTGGCCCCAGCAGCAAGAGCACAGCGGGCACCCGCGCCTGGGCTGCCTGGTGAAGGACTACTTCCCCGAGCCCGTGACCGTGAGCTGGAACAGCGGGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCCGCCGTGCTGCAGAGCAGCGGCCTGTACAGCCTGAGCAGCGTGGTACCGTGCCAGCAGCAGCCTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAACCACAAGCCCCAGCAACCAAGGTGGACAAGAAGGTGGAGCCCAAGAGCTGCGACAAGACCCACACCTGCCCCCTGCCCGCCCCGAGCTGCTGGGGCGCCCCAGCGTGTTCCTGTTCCCCCCCCAAGCCCCAAGGACACCCCTGATGATCAGCAGGACCCCGAGGTGACCTGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAGGACCCCGAGGTGAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCACAACGCCAAGACCAAGCCCCAGGGAGGAGCAGTACAACAGCACCTACAGGGTGGTGAAGCGTGCTGACCGTGCTGCACAGGACTGGCTGAACGGCAAGGAGTACAAGTGAAGGTGAGCAACAAGGCCCTGCCCGCCCCATCGAGAAGACCATCAGCAAGGCCAAGGGCCAGCCAGGGAGCCCCAGGTGTACACCTGCCCCCAGCAGGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTGAGCCTGACCTGCCTGGTGAAGGGCTTCTACCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAACGGCCAGCCGAGAACAACAAGACCACCCCCCCGTGCTGGACAGCGACGGCAGCTTCTTCTGTACAGCAAGCTGACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGCAACGTGTTCACTGACGTGCAGCGTATGCACGAGGCCCTGCACAACCACTACACCAGAAGAGCCTGAGCCTGAGCCCCGGCAAG</p>
<p>59</p>	<p>GAGGTGCAGCTGCTGGAGAGCGGGCGGCCTGGTGCAGCCCCGGCGGCAGCCTGAGGCTGAGCTGCGCCGCCAGCGGCTTACCTTACAGCAGCTACGCCATGAGCTGGGTGAGGCAGGCCCCCGCAAGGGCCTGGAGTGGGTGAGCCAGATCAGCCCCGCGGGCTACACCAACTACGCCGACAGCGTGAAGGGCAGGTTACCATCAGCAGGGACAACAGCAAGAACCCTGTACTCTGCAGATGAACAGCCTGAGGGCCGAGGACACCCCGTGTACTACTGCGCCAGGGGCGAGCTGCCCTACTTCAGGATGAGCAAGGTGATGGACGTGTGGGGCCAGGGCACCTGGTGACCGTGAGCAGCGCCAGCAC</p>

[0227]

	<p>CAAGGGCCCCAGCGTGTCCCCCTGGCCCCAGCAGCAAGAGCACCAGCGGGCGCACCGCCG                  CCTGGGCTGCTGGTGAAGGACTACTTCCCGAGCCCGTGACCGTGAGCTGGAACAGCGGCGC                  CCTGACCAGCGGCGTGACACCTTCCCGCCGTGCTGCAGAGCAGCGGCTGTACAGCCTGAGC                  AGCGTGGTGACCGTGCCAGCAGCAGCCTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAACCACA                  AGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAAGGTGGAGCCCAAGAGCTGCGACAAGACCCACACCT                  GCCCCCCTGCCCCGCCCCGAGCTGCTGGGCGGCCAGCGTGTTCCTGTTCCCCCAAGCCC                  AAGGACACCCTGATGATCAGCAGGACCCCCGAGGTGACCTGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCAC                  GAGGACCCCGAGGTGAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCACAACGCCAAGACC                  AAGCCAGGGAGGAGCAGTACAACAGCACCTACAGGGTGGTGGAGCTGCTGACCGTGCTGCAC                  CAGGACTGGCTGAACGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTGAGCAACAAGGCCCTGCCGCCCC                  ATCGAGAAGACCATCAGCAAGGCCAAGGGCCAGCCAGGGAGCCCCAGGTGTACACCCTGCCC                  CCCAGCAGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTGAGCCTGACCTGCCTGGTGAAGGGTTCTAC                  CCCAGCGACATCGCGTGGAGTGGGAGAGCAACGCCAGCCGAGAACAACTACAAGACCACC                  CCCCCGTGCTGGACAGCGACGGCAGCTTCTCCTGTACAGCAAGCTGACCGTGGACAAGAGCA                  GGTGGCAGCAGGGCAACGTGTTCACTGTCAGCTGAGCGTGATGCACGAGGCCCTGCACAACCACTACA                  CCCAGAAGAGCCTGAGCCTGAGCCCCGCAAG</p>
<p>60</p>	<p>GAGGTGCAGCTGCTGGAGAGCGGCGGCGCCTGGTGCAGCCCGCGGCAGCCTGAGGCTGAG                  CTGCGCCGCCAGCGGCTTACCTTCACTCAGCAGCTACGCCATGAGCTGGGTGAGGCAGGCCCCGGC                  AAGGGCCTGGAGTGGGTGAGCCAGATCAGCCCCGCGGCGGTACACCAACTACGCCGACAGC                  GTGAAGGGCAGGTTACCATCAGCAGGGACAACAGCAAGAACACCTGTACCTGCAGATGAAC                  AGCCTGAGGGCCGAGGACACCGCGTGTACTACTGCGCCAGGGGGCGAGCTGCCCTACTACAG                  ATGAGCAAGGTGATGGACGTGTGGGGCCAGGGCACCTGGTGACCGTGAGCAGCGCCAGCAC                  CAAGGGCCCCAGCGTGTCCCCCTGGCCCCAGCAGCAAGAGCACCAGCGGGCGCACCGCCG                  CCTGGGCTGCCTGGTGAAGGACTACTTCCCGAGCCCGTGACCGTGAGCTGGAACAGCGGCGC                  CCTGACCAGCGGCGTGACACCTTCCCGCCGTGCTGCAGAGCAGCGGCTGTACAGCCTGAGC                  AGCGTGGTGACCGTGCCAGCAGCAGCCTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAACCACA                  AGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAAGGTGGAGCCCAAGAGCTGCGACAAGACCCACACCT                  GCCCCCCTGCCCCGCCCCGAGCTGCTGGGCGGCCAGCGTGTTCCTGTTCCCCCAAGCCC                  AAGGACACCCTGATGATCAGCAGGACCCCCGAGGTGACCTGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCAC                  GAGGACCCCGAGGTGAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCACAACGCCAAGACC                  AAGCCAGGGAGGAGCAGTACAACAGCACCTACAGGGTGGTGGAGCTGCTGACCGTGCTGCAC                  CAGGACTGGCTGAACGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTGAGCAACAAGGCCCTGCCGCCCC                  ATCGAGAAGACCATCAGCAAGGCCAAGGGCCAGCCAGGGAGCCCCAGGTGTACACCCTGCCC                  CCCAGCAGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTGAGCCTGACCTGCCTGGTGAAGGGTTCTAC                  CCCAGCGACATCGCGTGGAGTGGGAGAGCAACGCCAGCCGAGAACAACTACAAGACCACC                  CCCCCGTGCTGGACAGCGACGGCAGCTTCTCCTGTACAGCAAGCTGACCGTGGACAAGAGCA                  GGTGGCAGCAGGGCAACGTGTTCACTGTCAGCTGAGCGTGATGCACGAGGCCCTGCACAACCACTACA                  CCCAGAAGAGCCTGAGCCTGAGCCCCGCAAG</p>
<p>61</p>	<p>GAGGTGCAGCTGCTGGAGAGCGGCGGCGCCTGGTGCAGCCCGCGGCAGCCTGAGGCTGAG                  CTGCGCCGCCAGCGGCTTACCTTCACTCAGCAGCTACGCCATGAGCTGGGTGAGGCAGGCCCCGGC                  AAGGGCCTGGAGTGGGTGAGCCAGATCAGCCCCGCGGCGGTACACCAACTACGCCGACAGC                  GTGAAGGGCAGGTTACCATCAGCAGGGACAACAGCAAGAACACCTGTACCTGCAGATGAAC                  AGCCTGAGGGCCGAGGACACCGCGTGTACTACTGCGCCAGGGGGCGAGCTGCCCTTCTCAGG                  ATGAGCCAGGTGATGGACGTGTGGGGCCAGGGCACCTGGTGACCGTGAGCAGCGCCAGCAC                  AAGGGCCCCAGCGTGTCCCCCTGGCCCCAGCAGCAAGAGCACCAGCGGGCGCACCGCCG</p>

[0228]

	<p>CTGGGGCTGCCTGGTGAAGGACTACTTCCCCGAGCCCGTGACCGTGAGCTGGAACAGCGGCGCC                  CTGACCAGCGGCGTGACACACCTTCCCCGCGTGCTGCAGAGCAGCGCCTGTACAGCCTGAGCA                  GCGTGGTGACCGTGCCAGCAGCAGCCTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAACCACAA                  GCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAAGGTGGAGCCCAAGAGCTGCGACAAGACCCACACCTG                  CCCCCCTGCCCGCCCCGAGCTGCTGGGCGGCCCCAGCGTGTTCCTGTTCCCCCCAAGCCCA                  AGGACACCTGATGATCAGCAGGACCCCGAGGTGACCTGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACG                  AGGACCCCGAGGTGAAGTTAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCACAACGCCAAGACCA                  AGCCAGGGGAGGAGCAGTACAACAGCACCTACAGGGTGGTGGAGCGTGTGACCGTGTGCACC                  AGGACTGGCTGAACGGCAAGGAGTACAAGTGAAGGTGAGCAACAAGGCCCTGCCCGCCCCA                  TCGAGAAGACCATCAGCAAGGCCAAGGGCCAGCCAGGGAGCCCAAGGTGTACCCCTGCCCC                  CCAGCAGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTGAGCCTGACCTGCCTGGTGAAGGGCTTCTACC                  CCAGCGACATCGCGTGGAGTGGAGAGCAACGGCCAGCCCGAGAACAATAACAAGACCACCC                  CCCCCGTGCTGGACAGCGACGGCAGCTTCTTCTGTACAGCAAGCTGACCGTGGACAAGAGCAG                  GTGGCAGCAGGGCAACGTGTTACGTGCAGCGTGATGCACGAGGCCCTGCACAACCACTACAC                  CCAGAAGAGCCTGAGCCTGAGCCCCGGCAAG</p>
<p>62</p>	<p>GACATCCAGATGACCCAGAGCCCCAGCAGCCTGAGCGCCAGCGTGGGCGACAGGGTGACCATC                  ACCTGCAGGGCCAGCCAGTTCTGAGCAGTACCTGGCCTGGTACCAGCAGAAGCCCGGCAAG                  GCCCCAAGCTGCTGATCTACGGCGCCAGCGCCAGGGCCAGCGGCGTGCCAGCAGGTTACAGC                  GGCAGCGGCAGCGGCACCGACTTACCCTGACCATCAGCAGCCTGCAGCCCGAGGACTTCGCCA                  CCTACTACTGCCAGCAGTACCTGGCCAGCCCCGCCACCTTCGCCAGGGCACCAAGGTGGAGAT                  CAAGAGGACCGTGGCCGCCCCAGCGTGTTCATCTTCCCCCAGCGACGAGCAGCTGAAGAGC                  GGCACCGCCAGCGTGGTGTGCCTGCTGAACAACCTTACCCAGGGAGGCCAAGGTGCAGTGG                  AAGGTGGACAACGCCCTGCAGAGCGGCAACAGCCAGGAGAGCGTGACCGAGCAGGACAGCAA                  GGACAGCACCTACAGCCTGAGCAGCACCTGACCCCTGAGCAAGGCCGACTACGAGAAGCACAA                  GGTGTACGCCTGCGAGGTGACCCACCAGGGCCTGAGCAGCCCCGTGACCAAGAGCTTCAACAG                  GGGCGAGTGC</p>
<p>63</p>	<p>GACATCCAGATGACCCAGAGCCCCAGCAGCCTGAGCGCCAGCGTGGGCGACAGGGTGACCATC                  ACCTGCAGGGCCAGCCAGTACTTACGAGTACCTGGCCTGGTACCAGCAGAAGCCCGGCAAG                  GCCCCAAGCTGCTGATCTACGGCGCCAGCGCCAGGGCCAGCGGCGTGCCAGCAGGTTACAGC                  GGCAGCGGCAGCGGCACCGACTTACCCTGACCATCAGCAGCCTGCAGCCCGAGGACTTCGCCA                  CCTACTACTGCCAGCAGTACCTGGCCAGCCCCGCCACCTTCGCCAGGGCACCAAGGTGGAGAT                  CAAGAGGACCGTGGCCGCCCCAGCGTGTTCATCTTCCCCCAGCGACGAGCAGCTGAAGAGC                  GGCACCGCCAGCGTGGTGTGCCTGCTGAACAACCTTACCCAGGGAGGCCAAGGTGCAGTGG                  AAGGTGGACAACGCCCTGCAGAGCGGCAACAGCCAGGAGAGCGTGACCGAGCAGGACAGCAA                  GGACAGCACCTACAGCCTGAGCAGCACCTGACCCCTGAGCAAGGCCGACTACGAGAAGCACAA                  GGTGTACGCCTGCGAGGTGACCCACCAGGGCCTGAGCAGCCCCGTGACCAAGAGCTTCAACAG                  GGGCGAGTGC</p>
<p>64</p>	<p>GACATCCAGATGACCCAGAGCCCCAGCAGCCTGAGCGCCAGCGTGGGCGACAGGGTGACCATC                  ACCTGCAGGGCCAGCCAGTTCTGAGCAGTACCTGGCCTGGTACCAGCAGAAGCCCGGCAAG                  GCCCCAAGCTGCTGATCTACGGCGCCAGCGCCAGGGCCAGCGGCGTGCCAGCAGGTTACAGC                  GGCAGCGGCAGCGGCACCGACTTACCCTGACCATCAGCAGCCTGCAGCCCGAGGACTTCGCCA                  CCTACTACTGCCAGCAGTACCTGGCCAGCCCCGCCACCTTCGCCAGGGCACCAAGGTGGAGAT                  CAAGAGGACCGTGGCCGCCCCAGCGTGTTCATCTTCCCCCAGCGACGAGCAGCTGAAGAGC                  GGCACCGCCAGCGTGGTGTGCCTGCTGAACAACCTTACCCAGGGAGGCCAAGGTGCAGTGG</p>

[0229]

	AAGGTGGACAACGCCCTGCAGAGCGGCAACAGCCAGGAGAGCGTGACCGAGCAGGACAGCAA GGACAGCACCTACAGCCTGAGCAGCACCCCTGACCCTGAGCAAGGCCGACTACGAGAAGCACAA GGTGTACGCTGCGAGGTGACCCACCAGGGCCTGAGCAGCCCCGTGACCAAGAGCTTCAACAG GGGCGAGTGC
65	GACATCCAGATGACCCAGAGCCCCAGCAGCCTGAGCGCCAGCGTGGGCGACAGGGTGACCATC ACCTGCAGGGCCAGCCAGTTCTGAGCAGCTTCTTGGCCTGGTACCAGCAGAAGCCCCGGCAAG GCCCCAAGCTGCTGATCTACGGCGCCAGCGCCAGGGCCAGCGGCGTGCCAGCAGGTTTACG GGCAGCGGCAGCGGCACCGACTTCACCCTGACCATCAGCAGCCTGCAGCCCCGAGGACTTCGCCA CCTACTACTGCCAGCAGTACCTGGCCAGCCCCGCCACCTTCGGCCAGGGCACCAGGTGGAGAT CAAGAGGACCGTGGCCGCCCCAGCGTGTTCATCTTCCCCCAGCGACGAGCAGCTGAAGAGC GGCACCGCCAGCGTGGTGTGCTGCTGAACAACTTCTACCCCAGGGAGGCCAAGGTGCAGTGG AAGGTGGACAACGCCCTGCAGAGCGGCAACAGCCAGGAGAGCGTGACCGAGCAGGACAGCAA GGACAGCACCTACAGCCTGAGCAGCACCCCTGACCCTGAGCAAGGCCGACTACGAGAAGCACAA GGTGTACGCTGCGAGGTGACCCACCAGGGCCTGAGCAGCCCCGTGACCAAGAGCTTCAACAG GGGCGAGTGC
66	GAGATCGTGCTGACCCAGAGCCCCGGCACCCCTGAGCCTGAGCCCCGGCGAGAGGGCCACCCTG AGCTGCAGGGCCAGCCAGTTCTGAGCAGCTACCTGGCCTGGTACCAGCAGAAGCCCCGGCCAG GCCCCAGGCTGCTGATCTACGGCGCCAGCGCCAGGGCCAGCGGCATCCCCGACAGGTTTACG GGCAGCGGCAGCGGCACCGACTTCACCCTGACCATCAGCAGGCTGGAGCCCCGAGGACTTCGCC GTGTACTACTGCCAGCAGTACCTGGCCAGCCCCGCCACCTTCGGCCAGGGCACCAGGTGGAGA TCAAGAGGACCGTGGCCGCCCCAGCGTGTTCATCTTCCCCCAGCGACGAGCAGCTGAAGAG CGGCACCGCCAGCGTGGTGTGCTGCTGAACAACTTCTACCCCAGGGAGGCCAAGGTGCAGTG GAAGGTGGACAACGCCCTGCAGAGCGGCAACAGCCAGGAGAGCGTGACCGAGCAGGACAGCA AGGACAGCACCTACAGCCTGAGCAGCACCCCTGACCCTGAGCAAGGCCGACTACGAGAAGCACA AGGTGTACGCTGCGAGGTGACCCACCAGGGCCTGAGCAGCCCCGTGACCAAGAGCTTCAACA GGGCGAGTGC
67	GAGATCGTGCTGACCCAGAGCCCCGGCACCCCTGAGCCTGAGCCCCGGCGAGAGGGCCACCCTG AGCTGCAGGGCCAGCCAGTTCTGAGCAGCTACCTGGCCTGGTACCAGCAGAAGCCCCGGCCAG GCCCCAGGCTGCTGATCTACGGCGCCAGCGCCAGGGCCAGCGGCATCCCCGACAGGTTTACG GGCAGCGGCAGCGGCACCGACTTCACCCTGACCATCAGCAGGCTGGAGCCCCGAGGACTTCGCC GTGTACTACTGCCAGCAGTACCTGGCCAGCCCCGCCACCTTCGGCCAGGGCACCAGGTGGAGA TCAAGAGGACCGTGGCCGCCCCAGCGTGTTCATCTTCCCCCAGCGACGAGCAGCTGAAGAG CGGCACCGCCAGCGTGGTGTGCTGCTGAACAACTTCTACCCCAGGGAGGCCAAGGTGCAGTG GAAGGTGGACAACGCCCTGCAGAGCGGCAACAGCCAGGAGAGCGTGACCGAGCAGGACAGCA AGGACAGCACCTACAGCCTGAGCAGCACCCCTGACCCTGAGCAAGGCCGACTACGAGAAGCACA AGGTGTACGCTGCGAGGTGACCCACCAGGGCCTGAGCAGCCCCGTGACCAAGAGCTTCAACA GGGCGAGTGC
68	GAGATCGTGCTGACCCAGAGCCCCGGCACCCCTGAGCCTGAGCCCCGGCGAGAGGGCCACCCTG AGCTGCAGGGCCAGCCAGTTCTGAGCAGCTACCTGGCCTGGTACCAGCAGAAGCCCCGGCCAG GCCCCAGGCTGCTGATCTACGGCGCCAGCGCCAGGGCCAGCGGCATCCCCGACAGGTTTACG GGCAGCGGCAGCGGCACCGACTTCACCCTGACCATCAGCAGGCTGGAGCCCCGAGGACTTCGCC GTGTACTACTGCCAGCAGTACCTGGCCAGCCCCGCCACCTTCGGCCAGGGCACCAGGTGGAGA TCAAGAGGACCGTGGCCGCCCCAGCGTGTTCATCTTCCCCCAGCGACGAGCAGCTGAAGAG

[0230]

	CGGCACCGCCAGCGTGGTGTGCCTGCTGAACAACCTCTACCCCAGGGAGGCCAAGGTGCAGTG GAAGGTGGACAACGCCCTGCAGAGCGGCAACAGCCAGGAGAGCGTGACCGAGCAGGACAGCA AGGACAGCACCTACAGCCTGAGCAGCACCTGACCCTGAGCAAGGCCGACTACGAGAAGCACA AGGTGTACGCCTGCGAGGTGACCCACCAGGGCCTGAGCAGCCCCGTGACCAAGAGCTTCAACA GGGGCGAGTGC
69	QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSVSSGDYYWTWIRQSPGKGLEWIGHIYYSGN TNYNPSLKSRLTISIDTSKTQFSLKLSVTAADTAIYYCVRDRVTGAFDIWGGQTMVTVSS (항-EGFR VH AA 서열)
70	DIQMTQSPSSLSASVGDRTVITCQASQDISNYLNWYQQKPGKAPKLLIYDASNLETGVP SRFSGSGSGTDFTFTISLQPEDATYFCQHFHDLPLAFGGGKVEIK (항-EGFR VL AA 서열)
71	SGDYYWT (항-EGFR VH CDR1 AA 서열)
72	HIYYSGNTNYNPSLK (항-EGFR VH CDR2 AA 서열)
73	RVTGAFDI (항-EGFR VH CDR3 AA 서열)
74	QASQDISNYL (항-EGFR VL CDR1 AA 서열)
75	ASNLET (항-EGFR VL CDR2 AA 서열)
76	QHFHDLPLA (항-EGFR VL CDR3 AA 서열)
77	EVQLLESGGGLVQPGGSLRSLCAASGFTFSYAMSWVRQAPGKGLEWVVSQISPAGGYTN YADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGELPYFRMSKVMMDVWGQGT LTVSS (항-NRP1 VH AA 서열)
78	EIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQFLSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASARASG IPDRFSGSdGGSTDFLTISRLEPEDFAVYYCQQLASPATFGQGKVEIK (항-NRP1 VL AA 서열)
79	FTFSYAM (항-NRP1 VH CDR1 AA 서열)
80	QISPAGGYTNYADSVK (항-NRP1 VH CDR2 AA 서열)
81	GELPYFRMSKVMMDV (항-NRP1 VH CDR3 AA 서열)
82	GELPYHRMSKVMMDV (항-NRP1 VH CDR3 AA 서열)
83	GELPYQMSKVMMDV (항-NRP1 VH CDR3 AA 서열)
84	GELPFFRMSQVMMDV (항-NRP1 VH CDR3 AA 서열)

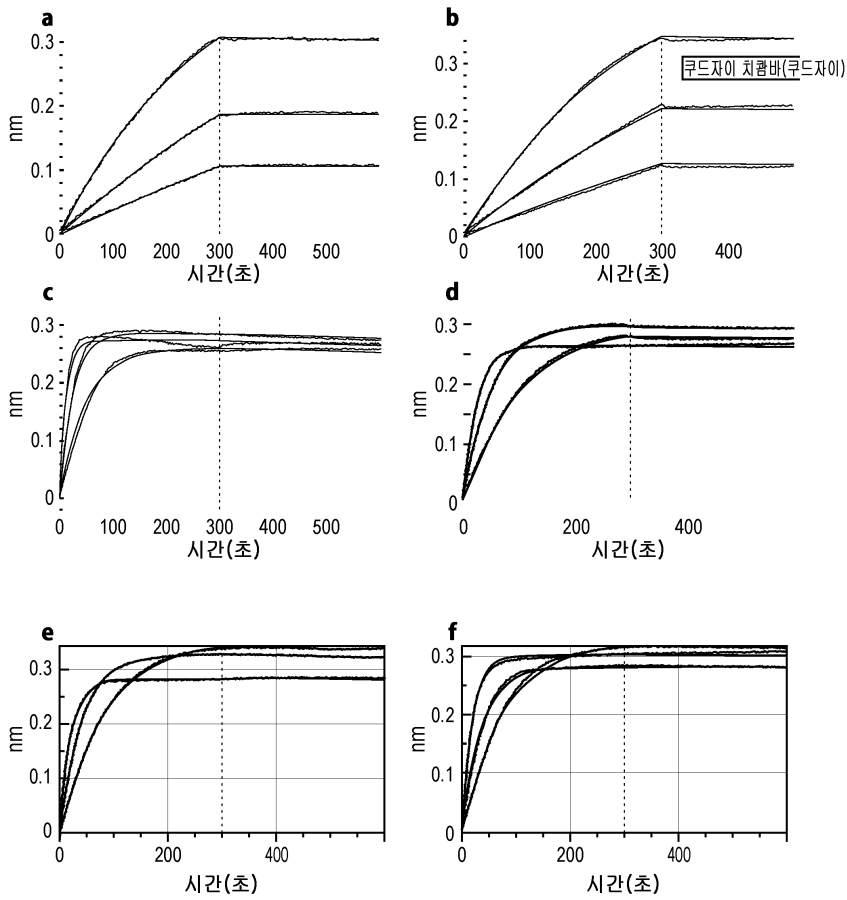
[0231]

85	RASQFLSSYLA (항-NRP1 VL CDR1 AA 서열)
86	RASQYFSSYLA (항-NRP1 VL CDR1 AA 서열)
87	RASQFLSSFLA (항-NRP1 VL CDR1 AA 서열)
88	GASARAS (항-NRP1 VL CDR2 AA 서열)
89	QQLASPAT (항-NRP1 VL CDR3 AA 서열)

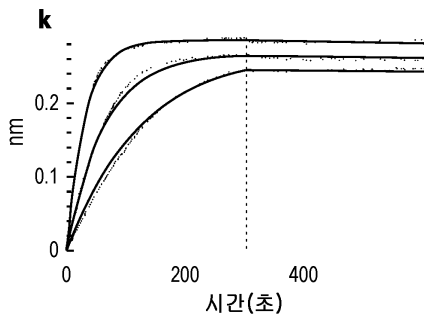
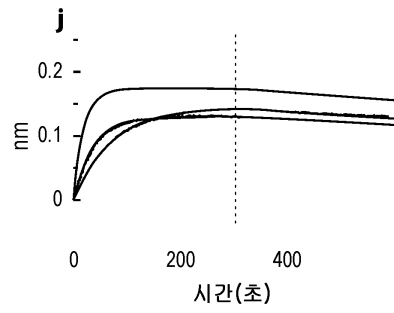
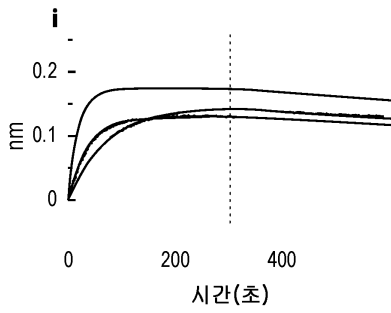
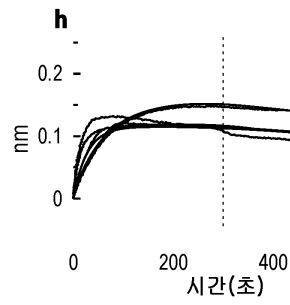
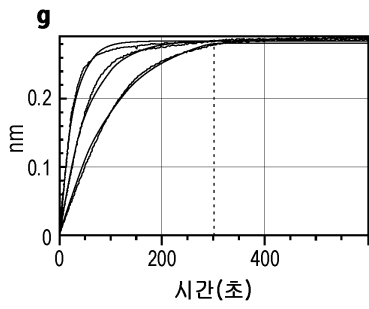
[0232]

도면

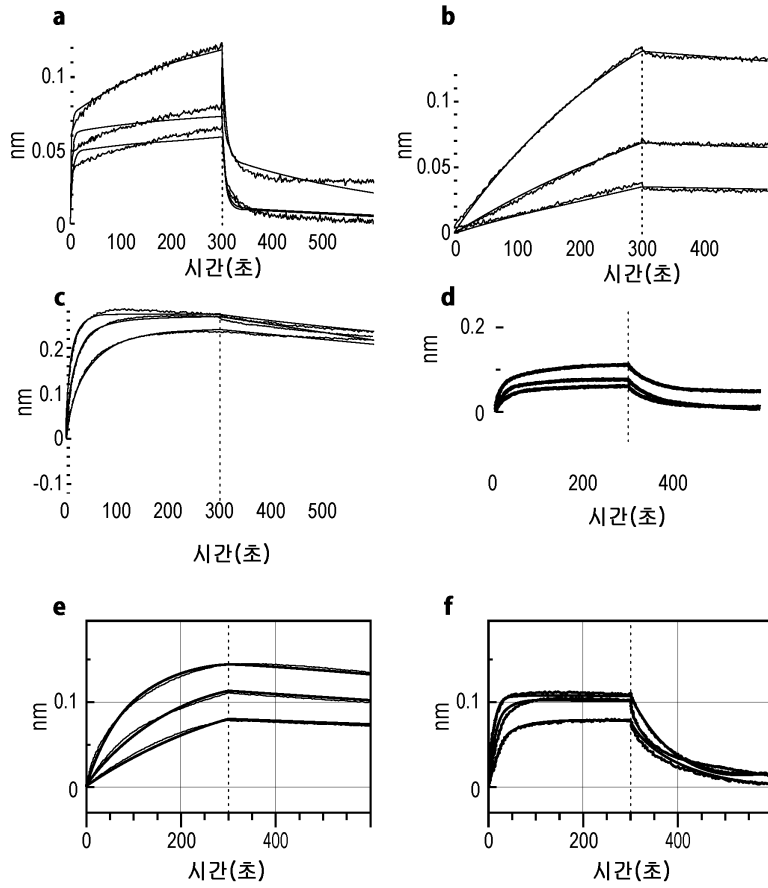
도면1af



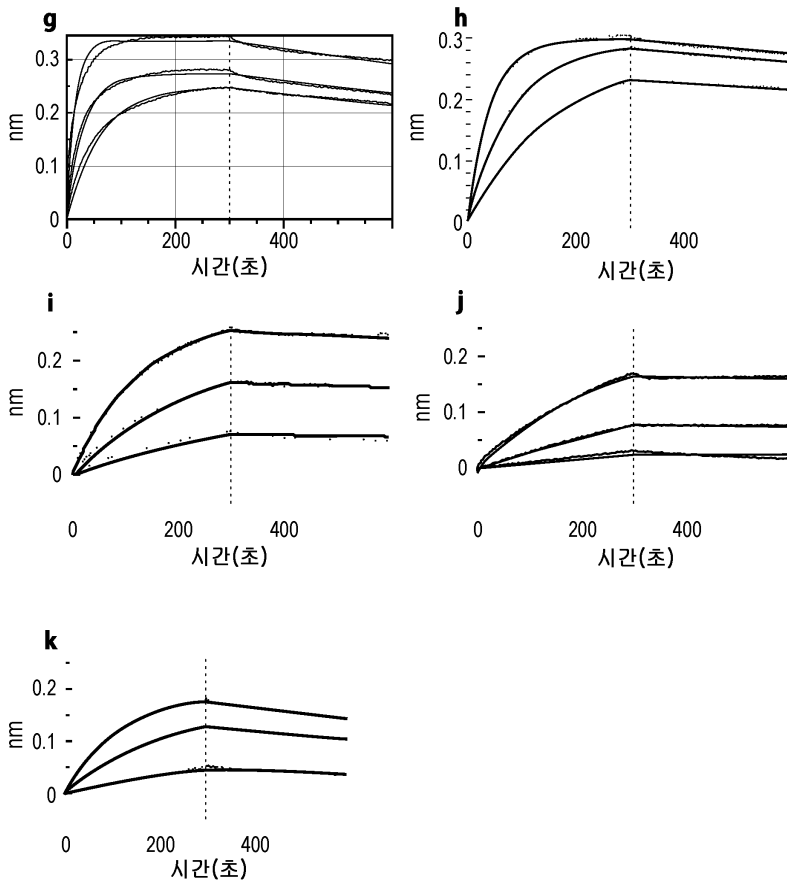
도면 1gk



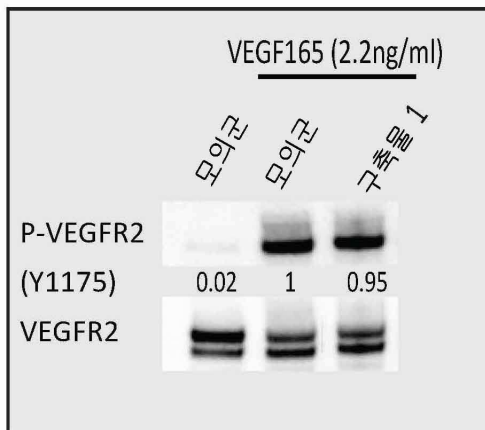
도면2af



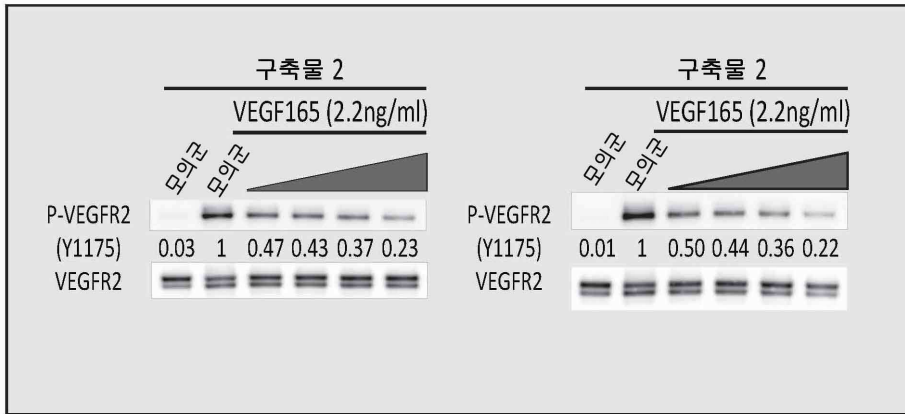
도면2gk



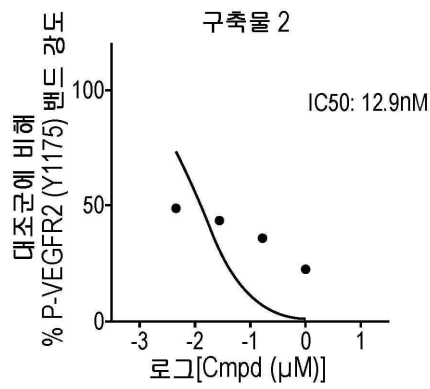
도면3



도면4

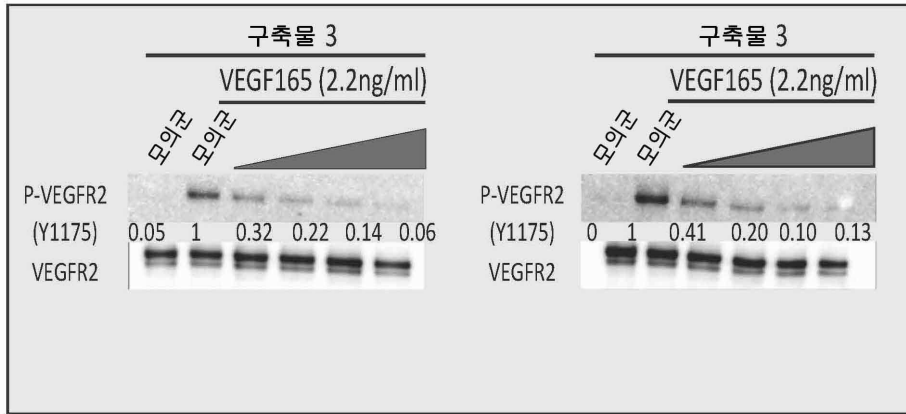


도 4a

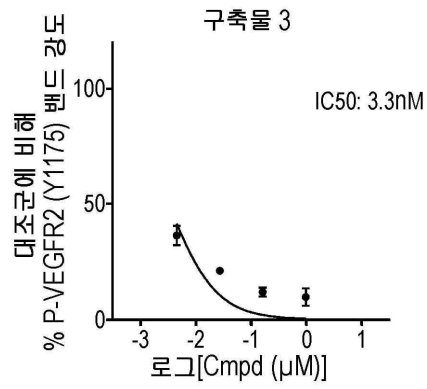


도 4b

도면5

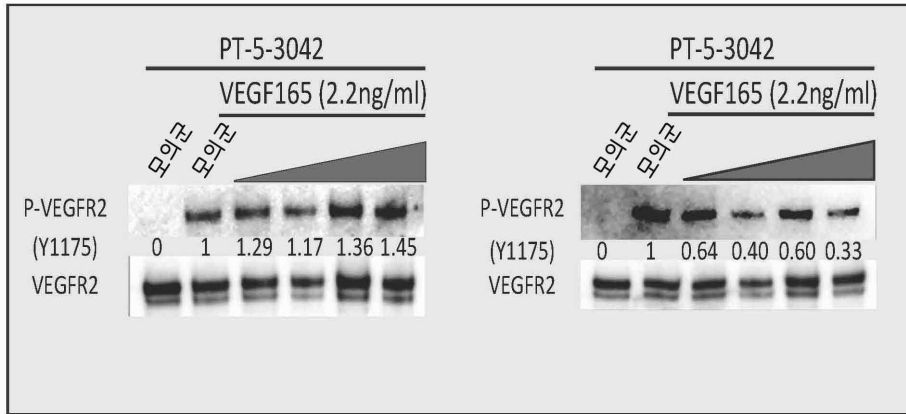


도 5a

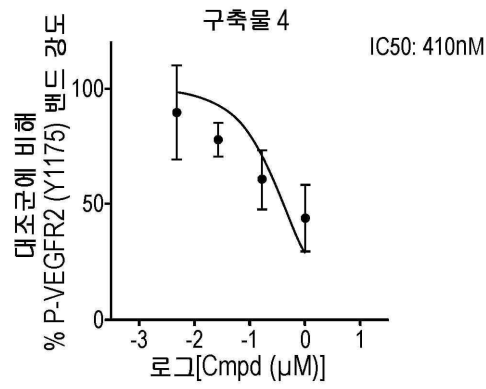


도 5b

도면6

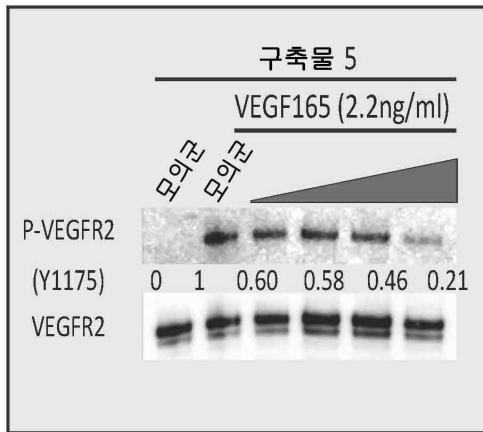


도 6a

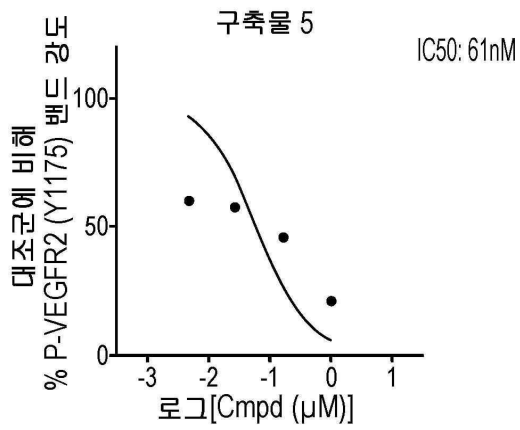


도 6b

도면7

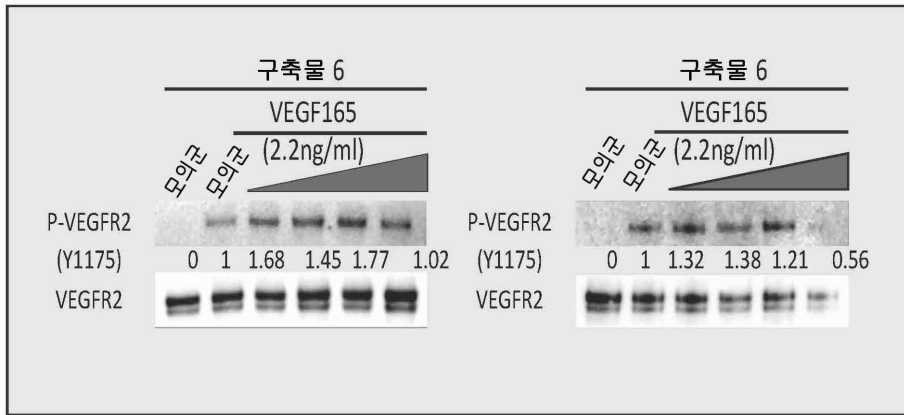


도 7a

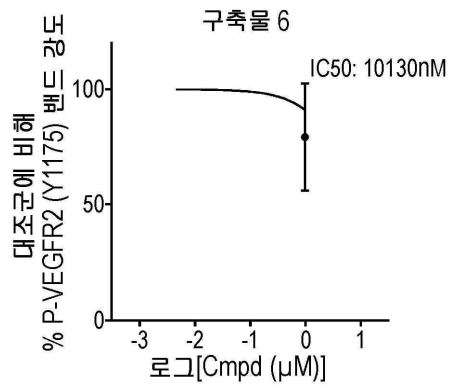


도 7b

도면8

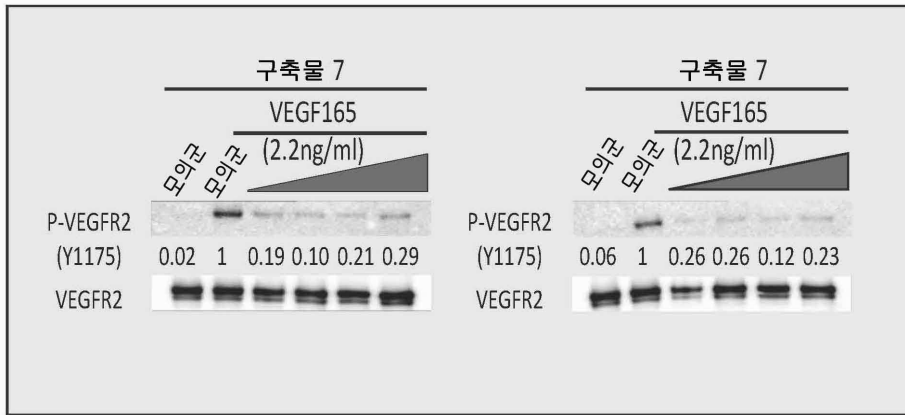


도 8a

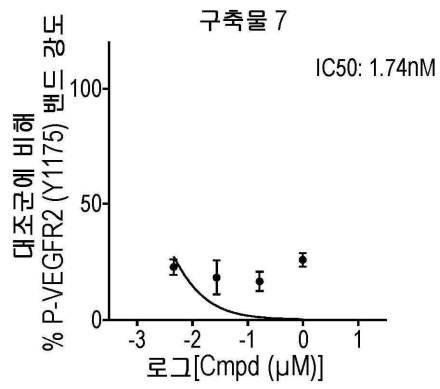


도 8b

도면9

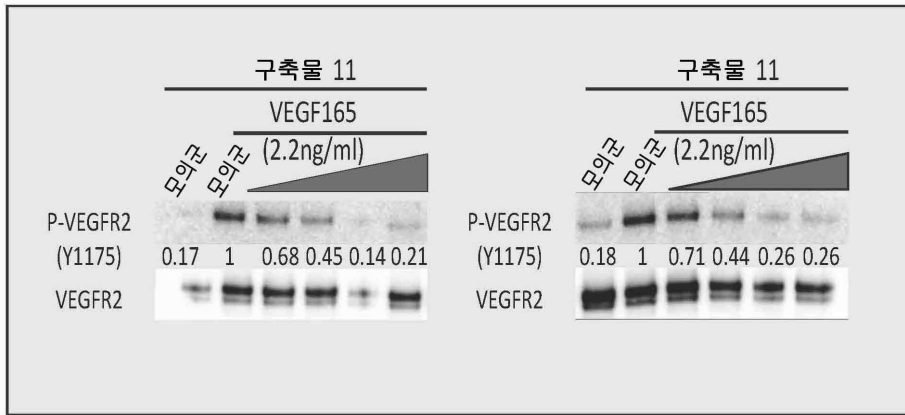


도 9a

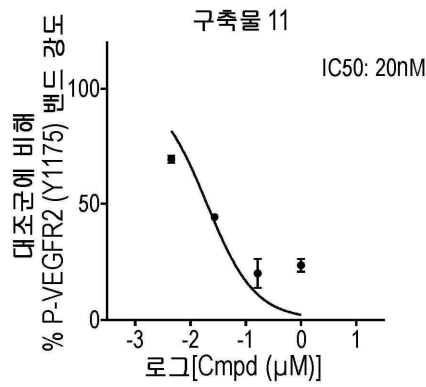


도 9b

도면10

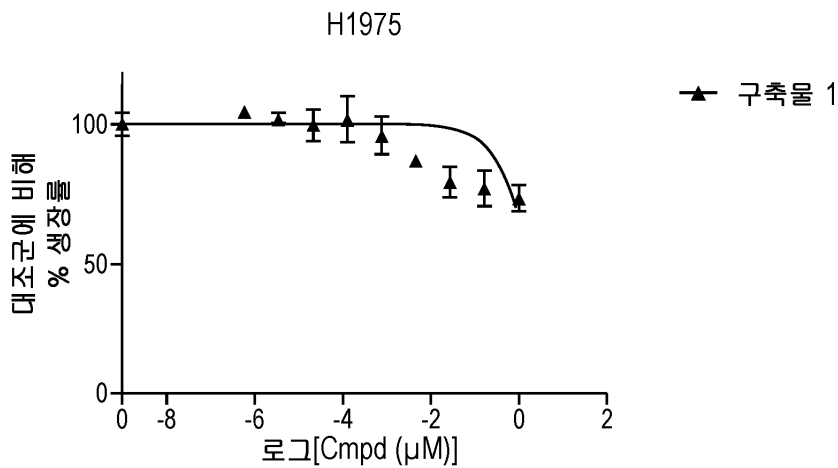


도 10a

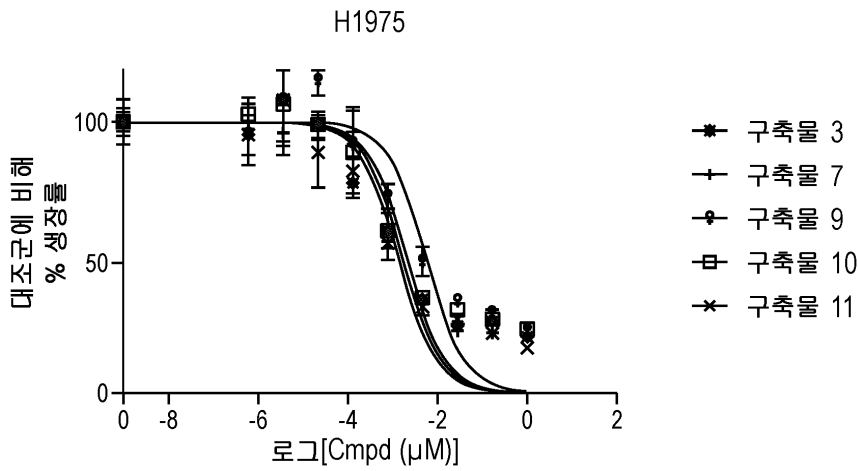


도 10b

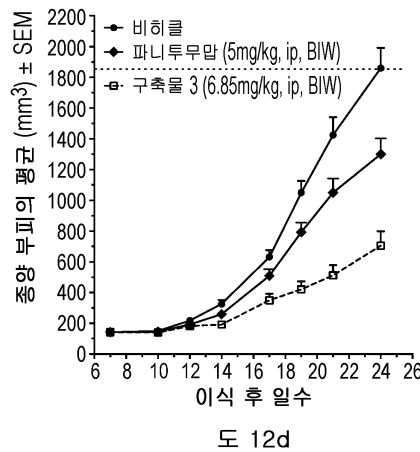
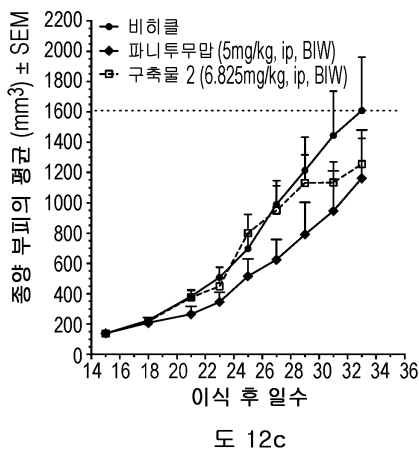
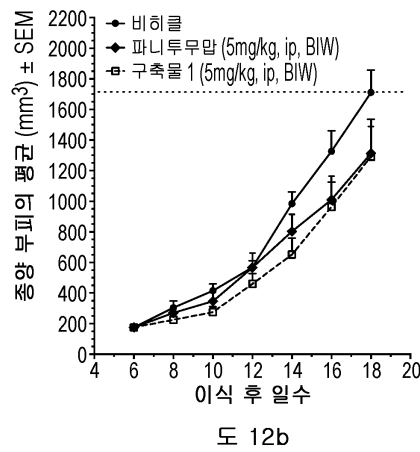
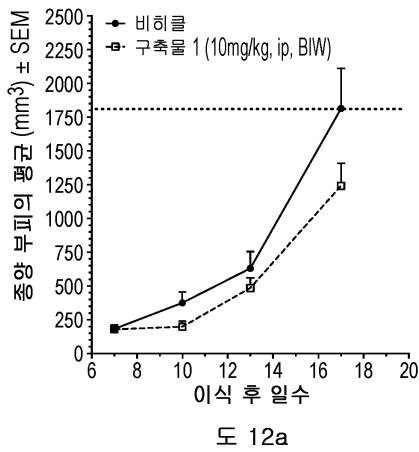
도면11a



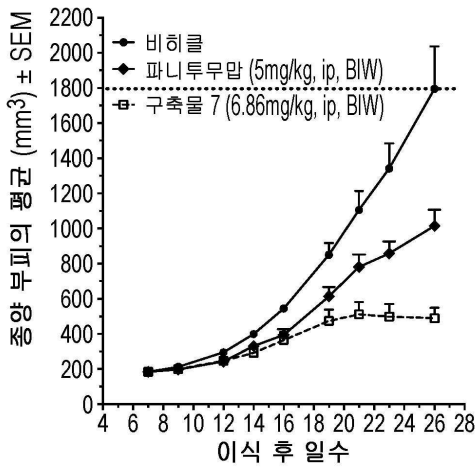
도면11b



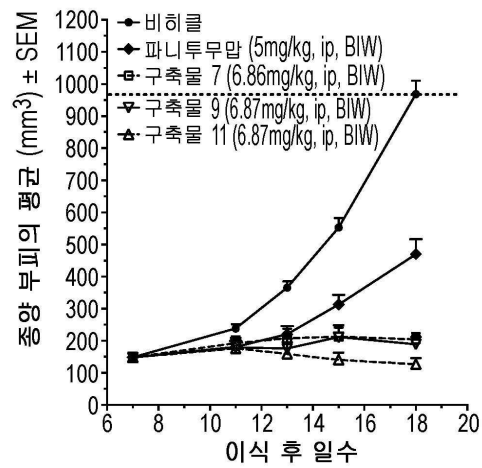
도면12ad



도면12ef

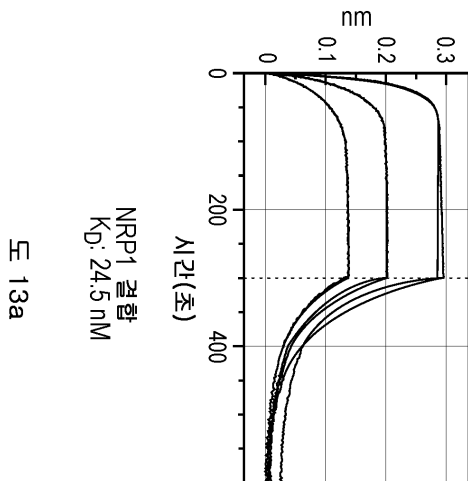


도 12e

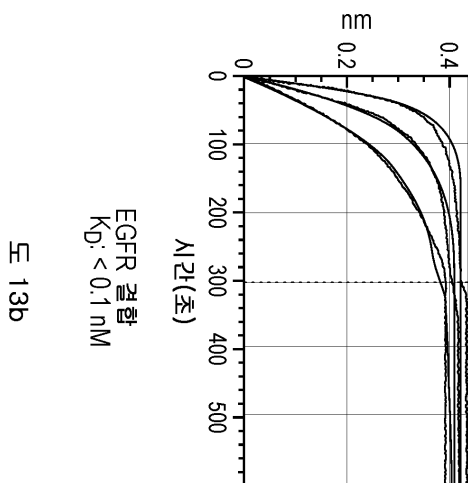


도 12f

도면13

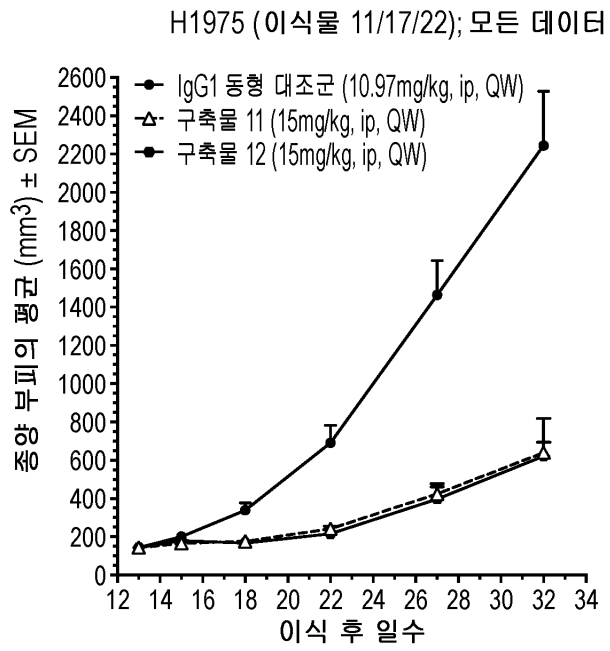


도 13a

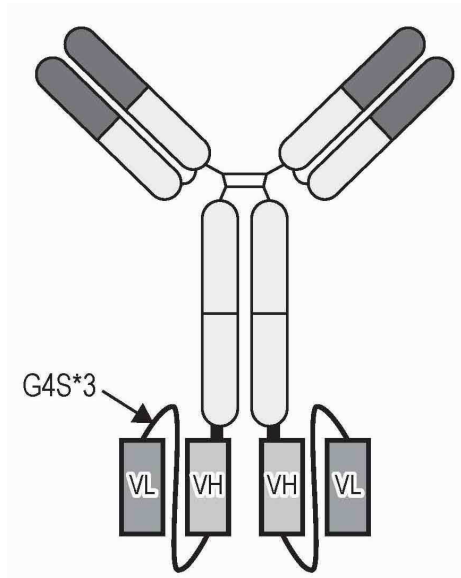


도 13b

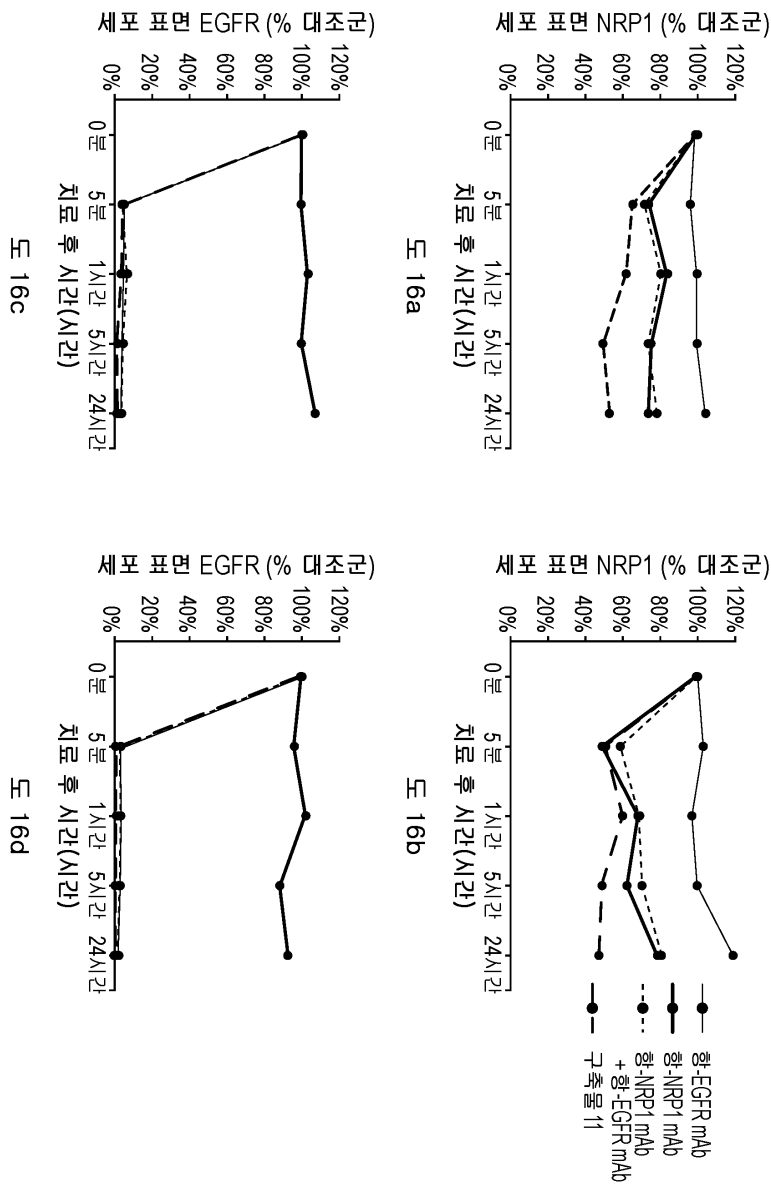
도면14



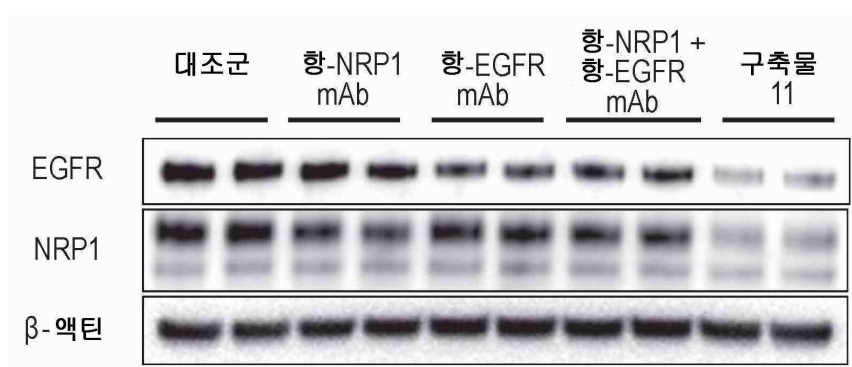
도면15



도면16



도면17



서 열 목 록 (첨부)



아이콘을 클릭하시면 서열목록 파일이 열립니다.

본 공보 PDF는 첨부파일을 가지고 있습니다. Acrobat Reader PDF뷰어를 제공하지 않는 브라우저(크롬, 파이어폭스, 사파리 등)의 경우 첨부파일 열기가 제한되어 있으므로 Acrobat Reader PDF뷰어 설치 후 공보 PDF를 다운로드 받아 해당 뷰어에서 조회해주시기 바랍니다.