



(19) 대한민국특허청(KR)  
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2023-0091914  
(43) 공개일자 2023년06월23일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)  
C07K 16/22 (2006.01) C07K 16/24 (2006.01)
- (52) CPC특허분류  
C07K 16/22 (2013.01)  
C07K 16/244 (2013.01)
- (21) 출원번호 10-2023-7014648
- (22) 출원일자(국제) 2021년09월29일  
심사청구일자 없음
- (85) 번역문제출일자 2022년04월28일
- (86) 국제출원번호 PCT/US2021/052579
- (87) 국제공개번호 WO 2022/072446  
국제공개일자 2022년04월07일
- (30) 우선권주장  
63/084,693 2020년09월29일 미국(US)

- (71) 출원인  
조에티스 서비스즈 엘엘씨  
미국 뉴저지 (우편번호 07054) 파시파니 실반 웨이 10
- (72) 발명자  
버게론 리사 마리  
미국 미시간주 49007 칼라마주 포티지 스트리트 333 조에티스 서비스즈 엘엘씨  
캄포스 헨리 루이스  
미국 미시간주 49007 칼라마주 포티지 스트리트 333 조에티스 서비스즈 엘엘씨
- (74) 대리인  
제일특허법인(유)

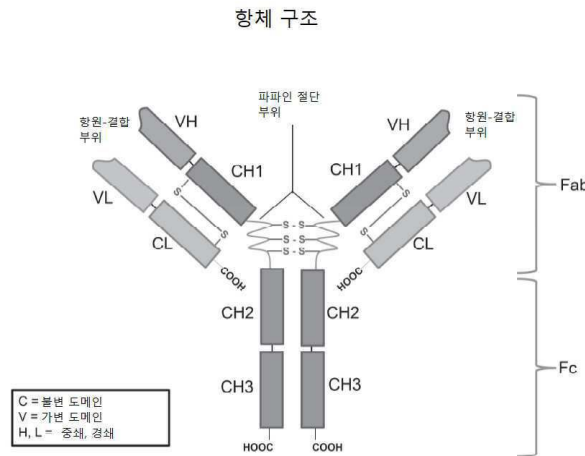
전체 청구항 수 : 총 154 항

(54) 발명의 명칭 **고양잇과 항체 변이체**

(57) 요약

발명은 일반적으로 고양잇과 항체 변이체 및 이의 용도에 관한 것이다. 구체적으로, 발명은 그 반감기 및 기타 특성을 개선하기 위한 고양잇과 항체의 불변 영역에서의 돌연변이에 관한 것이다.

대표도 - 도1



(52) CPC특허분류

*C07K 2317/526* (2013.01)

*C07K 2317/72* (2013.01)

*C07K 2317/90* (2013.01)

---

## 명세서

### 청구범위

#### 청구항 1

변형된 IgG로서, 야생형 고양이과 IgG 불변 도메인에 비해 적어도 하나의 아미노산 치환을 포함하는 고양이과 IgG 불변 도메인을 포함하되, 상기 치환은 카밧에서와 같이 EU 색인에 따라 넘버링된 아미노산 잔기 428에서 이루어지는, 변형된 IgG.

#### 청구항 2

제1항에 있어서, 상기 치환은 위치 428의 세린의 류신으로의 치환(S428L)인, 변형된 IgG.

#### 청구항 3

제1항에 있어서, 상기 고양이과 IgG 불변 도메인은 카밧에서와 같이 EU 색인에 따라 넘버링된 아미노산 잔기 434에서의 치환은 더 포함하는, 변형된 IgG.

#### 청구항 4

제3항에 있어서, 상기 치환은 위치 434의 세린의 히스티딘으로의 치환(S434H)인, 변형된 IgG.

#### 청구항 5

제1항에 있어서, 변형된 IgG는 야생형 고양이과 IgG 불변 도메인을 갖는 IgG의 반감기와 비교해 증가된 반감기를 갖는, 변형된 IgG.

#### 청구항 6

제1항에 있어서, 변형된 IgG는 야생형 고양이과 IgG 불변 도메인을 갖는 IgG보다 FcRn에 대해 더 높은 친화도를 갖는, 변형된 IgG.

#### 청구항 7

제1항에 있어서, 변형된 IgG는 고양이과 또는 고양이과화된 IgG인, 변형된 IgG.

#### 청구항 8

제1항에 있어서, IgG는 IgG1<sub>a</sub>, IgG1<sub>b</sub>, 또는 IgG2인, 변형된 IgG.

#### 청구항 9

제1항에 있어서, IgG 불변 도메인은 IgG1<sub>a</sub>, IgG1<sub>b</sub>, 또는 IgG2의 불변 도메인인, 변형된 IgG.

#### 청구항 10

제1항에 있어서, IgG 불변 도메인은 CH3 도메인을 갖는 Fc 불변 영역을 포함하는, 변형된 IgG.

#### 청구항 11

제1항에 있어서, IgG 불변 도메인은 CH2 또는 CH3 도메인을 갖는 Fc 불변 영역을 포함하는, 변형된 IgG.

#### 청구항 12

제1항에 있어서, IgG 불변 도메인은 서열번호 1에 제시된 아미노산 서열을 포함하는, 변형된 IgG.

#### 청구항 13

제1항의 변형된 IgG 및 약학적으로 허용가능한 담체를 포함하는 약학적 조성물.

**청구항 14**

용기에 제1항의 변형된 IgG, 및 사용 설명서를 포함하는 키트.

**청구항 15**

폴리펩티드로서, 야생형 고양이과 IgG 불변 도메인에 비해 적어도 하나의 아미노산 치환을 포함하는 고양이과 IgG 불변 도메인을 포함하되 상기 치환은 카바테서와 같이 EU 색인에 따라 넘버링된 아미노산 잔기 428에서 이루어지는, 폴리펩티드.

**청구항 16**

제15항에 있어서, 상기 치환은 위치 434의 세린의 류신으로 치환(S428L)인, 폴리펩티드.

**청구항 17**

제15항에 있어서, 상기 고양이과 IgG 불변 도메인은 카바테서와 같이 EU 색인에 따라 넘버링된 아미노산 잔기 434에서의 치환을 더 포함하는, 폴리펩티드.

**청구항 18**

제17항에 있어서, 상기 치환은 위치 434의 세린의 히스티딘으로의 치환(S434H)인, 폴리펩티드.

**청구항 19**

제15항에 있어서, 폴리펩티드는 야생형 고양이과 IgG 불변 도메인의 폴리펩티드의 반감기와 비교해 증가된 반감기를 갖는, 폴리펩티드.

**청구항 20**

제15항에 있어서, 폴리펩티드는 야생형 고양이과 IgG 불변 도메인을 갖는 IgG의 폴리펩티드보다 FcRn에 대해 더 높은 친화도를 갖는, 폴리펩티드.

**청구항 21**

제15항에 있어서, 폴리펩티드는 고양이과 또는 고양이과화된 IgG의 폴리펩티드인, 폴리펩티드.

**청구항 22**

제21항에 있어서, IgG는 IgG1a, IgG1b, 또는 IgG2인, 폴리펩티드.

**청구항 23**

제15항에 있어서, IgG 불변 도메인은 IgG1a, IgG1b, 또는 IgG2의 불변 도메인인, 폴리펩티드.

**청구항 24**

제15항에 있어서, IgG 불변 도메인은 CH3 도메인을 갖는 Fc 불변 영역을 포함하는, 폴리펩티드.

**청구항 25**

제15항에 있어서, IgG 불변 도메인은 CH2 또는CH3 도메인을 갖는 Fc 불변 영역을 포함하는, 폴리펩티드.

**청구항 26**

제15항에 있어서, IgG 불변 도메인은 서열번호 1에 제시된 아미노산 서열을 포함하는, 폴리펩티드.

**청구항 27**

제15항의 폴리펩티드 및 약학적으로 허용가능한 담체를 포함하는 약학적 조성물.

**청구항 28**

용기에 제15항의 폴리펩티드 및 사용 설명서를 포함하는 키트.

**청구항 29**

항체로서, 야생형 고양이과 IgG 불변 도메인에 비해 적어도 하나의 아미노산 치환을 포함하는 고양이과 IgG 불변 도메인을 포함하되, 상기 치환은 카바에서와 같이 EU 색인에 따라 넘버링된 아미노산 잔기 428에서 이루어지는, 항체.

**청구항 30**

제29항에 있어서, 상기 치환은 위치 428의 세린의 류신으로의 치환(S428L)인, 항체.

**청구항 31**

제29항에 있어서, 상기 고양이과 IgG 불변 도메인은 카바에서와 같이 EU 색인에 따라 넘버링된 아미노산 잔기 434에서의 치환을 더 포함하는, 항체.

**청구항 32**

제31항에 있어서, 상기 치환은 위치 434의 세린의 히스티딘으로의 치환(S434H)인, 항체.

**청구항 33**

제29항에 있어서, 항체는 야생형 고양이과 IgG 불변 도메인을 갖는 항체의 반감기와 비교해 증가된 반감기를 갖는, 항체.

**청구항 34**

제29항에 있어서, 항체는 야생형 고양이과 IgG 불변 도메인을 갖는 항체보다 FcRn에 대해 더 높은 친화도를 갖는, 항체.

**청구항 35**

제29항에 있어서, 항체는 고양이과 또는 고양이과화된 항체인, 항체.

**청구항 36**

제29항에 있어서, 항체는 IgG1a, IgG1b, 또는 IgG2인, 항체.

**청구항 37**

제29항에 있어서, IgG 불변 도메인은 IgG1a, IgG1b, 또는 IgG2의 불변 도메인인, 항체.

**청구항 38**

제29항에 있어서, IgG 불변 도메인은 CH3 도메인을 갖는 Fc 불변 영역을 포함하는, 항체.

**청구항 39**

제29항에 있어서, IgG 불변 도메인은 CH2 또는 CH3 도메인을 갖는 Fc 불변 영역을 포함하는, 항체.

**청구항 40**

제29항에 있어서, IgG 불변 도메인은 서열번호 1에 제시된 아미노산 서열을 포함하는, 항체.

**청구항 41**

제29항의 항체 및 약학적으로 허용가능한 담체를 포함하는 약학적 조성물.

**청구항 42**

용기에 제29항의 항체 및 사용 설명서를 포함하는 키트.

**청구항 43**

서열번호 1에 제시된 아미노산 서열을 인코딩하는 핵산 서열을 포함하는 벡터.

**청구항 44**

제43항의 벡터를 포함하는 단리된 세포.

**청구항 45**

항체 또는 분자를 제조하는 방법으로서, 상기 방법은 제44항의 세포를 제공하는 단계; 및 상기 세포를 배양하는 단계를 포함하는, 방법.

**청구항 46**

항체를 제조하는 방법으로서, 상기 방법은 제29항 내지 제40항 중 어느 한 항의 항체를 제공하는 단계를 포함하는, 방법.

**청구항 47**

고양이에서 항체 혈청 반감기를 증가시키는 방법으로서, 상기 방법은 고양이과 IgG 불변 도메인을 포함하는 항체의 치료학적 유효량을 상기 고양이에게 투여하는 단계를 포함하며, 상기 고양이과 IgG 불변 도메인은 야생형 고양이과 IgG 불변 도메인에 비해 적어도 하나의 아미노산 치환을 포함하되, 상기 치환은 카밧에서와 같이 EU 색인에 따라 넘버링된 아미노산 잔기 428에서 이루어지는, 방법.

**청구항 48**

제47항에 있어서, 상기 치환은 위치 428의 세린의 류신으로의 치환(S428L)인, 방법.

**청구항 49**

제47항에 있어서, 상기 고양이과 IgG 불변 도메인은 카밧에서와 같이 EU 색인에 따라 넘버링된 아미노산 잔기 434에서의 치환을 더 포함하는, 방법.

**청구항 50**

제49항에 있어서, 상기 치환은 위치 434의 세린의 히스티딘으로의 치환(S434H)인, 방법.

**청구항 51**

제47항에 있어서, 항체는 야생형 고양이과 IgG 불변 도메인을 갖는 항체의 반감기와 비교해 증가된 반감기를 갖는, 방법.

**청구항 52**

제47항에 있어서, 항체는 야생형 고양이과 IgG 불변 도메인을 갖는 항체보다 FcRn에 대해 더 높은 친화도를 갖는, 방법.

**청구항 53**

제47항에 있어서, 항체는 고양이과 또는 고양이과화된, 방법.

**청구항 54**

제47항에 있어서, 항체는 IgG1a, IgG1b, 또는 IgG2인, 방법.

**청구항 55**

제47항에 있어서, IgG 불변 도메인은 IgG1a, IgG1b, 또는 IgG2의 불변 도메인인, 방법.

**청구항 56**

제47항에 있어서, IgG 불변 도메인은 CH3 도메인을 갖는 Fc 불변 영역을 포함하는, 방법.

**청구항 57**

제47항에 있어서, IgG 불변 도메인은 CH2 및 CH3 도메인을 갖는 Fc 불변 영역을 포함하는, 방법.

**청구항 58**

제47항에 있어서, IgG 불변 도메인은 서열번호 1에 제시된 아미노산 서열을 포함하는, 방법.

**청구항 59**

융합 분자로서, 작용제에 융합된 고양잇과 IgG 불변 도메인을 포함하며, 상기 고양잇과 IgG 불변 도메인은 야생형 고양잇과 IgG 불변 도메인에 비해 적어도 하나의 아미노산 치환을 포함하되, 상기 치환은 카바테서와 같이 EU 색인에 따라 넘버링된 아미노산 잔기 428에서 이루어지는, 분자.

**청구항 60**

제59항에 있어서, 상기 치환은 위치 434의 세린의 류신으로의 치환(S428L)인, 분자.

**청구항 61**

제59항에 있어서, 상기 고양잇과 IgG 불변 도메인은 카바테서와 같이 EU 색인에 따라 넘버링된 아미노산 잔기 434에서의 치환을 더 포함하는, 분자.

**청구항 62**

제61항에 있어서, 상기 치환은 위치 434의 세린의 히스티딘으로의 치환(S434H)인, 분자.

**청구항 63**

제61항에 있어서, 분자는 야생형 고양잇과 IgG 불변 도메인을 갖는 분자의 반감기와 비교해 증가된 반감기를 갖는, 분자.

**청구항 64**

제61항에 있어서, 분자는 야생형 고양잇과 IgG 불변 도메인을 갖는 분자보다 FcRn에 대해 더 높은 친화도를 갖는, 분자.

**청구항 65**

제61항에 있어서, 분자는 고양잇과 또는 고양잇과화된 항체인, 분자.

**청구항 66**

제61항에 있어서, 항체는 IgG1a, IgG1b, 또는 IgG2를 포함하는, 분자.

**청구항 67**

제61항에 있어서, IgG 불변 도메인은 IgG1a, IgG1b, 또는 IgG2의 불변 도메인인, 분자.

**청구항 68**

제61항에 있어서, IgG 불변 도메인은 CH3 도메인을 갖는 Fc 불변 영역을 포함하는, 분자.

**청구항 69**

제61항에 있어서, IgG 불변 도메인은 CH2 및 CH3 도메인을 갖는 Fc 불변 영역을 포함하는, 분자.

**청구항 70**

제61항에 있어서, IgG 불변 도메인은 서열번호 1에 제시된 아미노산 서열을 포함하는, 분자.

**청구항 71**

제61항의 분자 및 약학적으로 허용가능한 담체를 포함하는 약학적 조성물.

**청구항 72**

용기에 제61항의 분자 및 사용 설명서를 포함하는 키트.

**청구항 73**

변형된 IgG로서, 야생형 고양이과 IgG 불변 도메인에 비해 적어도 하나의 아미노산 치환을 포함하는 고양이과 IgG 불변 도메인을 포함하되, 상기 치환은 카밧에서와 같이 EU 색인에 따라 넘버링된 아미노산 잔기 434에서 이루어지는, 변형된 IgG.

**청구항 74**

제73항에 있어서, 상기 치환은 위치 434의 세린의 히스티딘으로의 치환(S434H)인, 변형된 IgG.

**청구항 75**

제73항에 있어서, 상기 고양이과 IgG 불변 도메인은 카밧에서와 같이 EU 색인에 따라 넘버링된 아미노산 잔기 428에서의 치환을 더 포함하는, 변형된 IgG.

**청구항 76**

제75항에 있어서, 상기 치환은 위치 428의 세린의 류신으로의 치환(S428L)인, 변형된 IgG.

**청구항 77**

제73항에 있어서, 변형된 IgG는 야생형 고양이과 IgG 불변 도메인을 갖는 IgG의 반감기와 비교해 증가된 반감기를 갖는, 변형된 IgG.

**청구항 78**

제73항에 있어서, 변형된 IgG는 야생형 고양이과 IgG 불변 도메인을 갖는 IgG보다 FcRn에 대해 더 높은 친화도를 갖는, 변형된 IgG.

**청구항 79**

제73항에 있어서, 변형된 IgG는 고양이과 또는 고양이과화된 IgG인, 변형된 IgG.

**청구항 80**

제73항에 있어서, IgG는 IgG<sub>1a</sub>, IgG<sub>1b</sub>, 또는 IgG2인, 변형된 IgG.

**청구항 81**

제73항에 있어서, IgG 불변 도메인은 IgG<sub>1a</sub>, IgG<sub>1b</sub>, 또는 IgG2의 불변 도메인인, 변형된 IgG.

**청구항 82**

제73항에 있어서, IgG 불변 도메인은 CH3 도메인을 갖는 Fc 불변 영역을 포함하는, 변형된 IgG.

**청구항 83**

제73항에 있어서, IgG 불변 도메인은 CH2 및 CH3 도메인을 갖는 Fc 불변 영역을 포함하는, 변형된 IgG.

**청구항 84**

제73항에 있어서, IgG 불변 도메인은 서열번호 2에 제시된 아미노산 서열을 포함하는, 변형된 IgG.

**청구항 85**



제73항의 변형된 IgG 및 약학적으로 허용가능한 담체를 포함하는 약학적 조성물.

**청구항 86**

용기에 제73항의 변형된 IgG, 및 사용 설명서를 포함하는 키트.

**청구항 87**

폴리펩티드로서, 야생형 고양이과 IgG 불변 도메인에 비해 적어도 하나의 아미노산 치환을 포함하는 고양이과 IgG 불변 도메인을 포함하되, 상기 치환은 카바트에서와 같이 EU 색인에 따라 넘버링된 아미노산 잔기 434에서 이루어지는, 폴리펩티드.

**청구항 88**

제87항에 있어서, 상기 치환은 위치 434의 세린의 히스티딘으로의 치환(S434H)인, 폴리펩티드.

**청구항 89**

제87항에 있어서, 상기 고양이과 IgG 불변 도메인은 카바트에서와 같이 EU 색인에 따라 넘버링된 아미노산 잔기 428에서의 치환을 더 포함하는, 폴리펩티드.

**청구항 90**

제89항에 있어서, 상기 치환은 위치 428의 세린의 류신으로 치환(S428L)인, 폴리펩티드.

**청구항 91**

제87항에 있어서, 폴리펩티드는 야생형 고양이과 IgG 불변 도메인의 폴리펩티드의 반감기와 비교해 증가된 반감기를 갖는, 폴리펩티드.

**청구항 92**

제87항에 있어서, 폴리펩티드는 야생형 고양이과 IgG 불변 도메인을 갖는 IgG의 폴리펩티드보다 FcRn에 대해 더 높은 친화도를 갖는, 폴리펩티드.

**청구항 93**

제87항에 있어서, 폴리펩티드는 고양이과 또는 고양이과화된 IgG의 폴리펩티드인, 폴리펩티드.

**청구항 94**

제93항에 있어서, IgG는 IgG1a, IgG1b, 또는 IgG2인, 폴리펩티드.

**청구항 95**

제87항에 있어서, IgG 불변 도메인은 IgG1a, IgG1b, 또는 IgG2의 불변 도메인인, 폴리펩티드.

**청구항 96**

제87항에 있어서, IgG 불변 도메인은 CH3 도메인을 갖는 Fc 불변 영역을 포함하는, 폴리펩티드.

**청구항 97**

제87항에 있어서, IgG 불변 도메인은 CH2 및 CH3 도메인을 갖는 Fc 불변 영역을 포함하는, 폴리펩티드.

**청구항 98**

제87항에 있어서, IgG 불변 도메인은 서열번호 2에 제시된 아미노산 서열을 포함하는, 폴리펩티드.

**청구항 99**

제87항의 폴리펩티드 및 약학적으로 허용가능한 담체를 포함하는 약학적 조성물.

**청구항 100**

용기에 제87항의 폴리펩티드 및 사용 설명서를 포함하는 키트.

**청구항 101**

항체로서, 야생형 고양이과 IgG 불변 도메인에 비해 적어도 하나의 아미노산 치환을 포함하는 고양이과 IgG 불변 도메인을 포함하되, 상기 치환은 카밧에서와 같이 EU 색인에 따라 넘버링된 아미노산 잔기 434에서 이루어지는, 항체.

**청구항 102**

제101항에 있어서, 상기 치환은 위치 434의 세린의 히스티딘으로의 치환(S434H)인, 항체.

**청구항 103**

제101항에 있어서, 상기 고양이과 IgG 불변 도메인은 카밧에서와 같이 EU 색인에 따라 넘버링된 아미노산 잔기 428에서의 치환을 더 포함하는, 항체.

**청구항 104**

제103항에 있어서, 상기 치환은 위치 428의 세린의 류신으로의 치환(S428L)인, 항체.

**청구항 105**

제101항에 있어서, 항체는 야생형 고양이과 IgG 불변 도메인을 갖는 항체의 반감기와 비교해 증가된 반감기를 갖는, 항체.

**청구항 106**

제101항에 있어서, 항체는 야생형 고양이과 IgG 불변 도메인을 갖는 항체보다 FcRn에 대해 더 높은 친화도를 갖는, 항체.

**청구항 107**

제101항에 있어서, 항체는 고양이과 또는 고양이과화된 항체인, 항체.

**청구항 108**

제101항에 있어서, 항체는 IgG1a, IgG1b, 또는 IgG2인, 항체.

**청구항 109**

제101항에 있어서, IgG 불변 도메인은 IgG1a, IgG1b, 또는 IgG2의 불변 도메인인, 항체.

**청구항 110**

제101항에 있어서, IgG 불변 도메인은 CH3 도메인을 갖는 Fc 불변 영역을 포함하는, 항체.

**청구항 111**

제101항에 있어서, IgG 불변 도메인은 CH2 및 CH3 도메인을 갖는 Fc 불변 영역을 포함하는, 항체.

**청구항 112**

제101항에 있어서, IgG 불변 도메인은 서열번호 2에 제시된 아미노산 서열을 포함하는, 항체.

**청구항 113**

제101항의 항체 및 약학적으로 허용가능한 담체를 포함하는 약학적 조성물.

**청구항 114**

용기에 제101항의 항체 및 사용 설명서를 포함하는 키트.

**청구항 115**

서열번호 2에 제시된 아미노산 서열을 인코딩하는 핵산 서열을 포함하는 벡터.

**청구항 116**

제115항의 벡터를 포함하는 단리된 세포.

**청구항 117**

항체 또는 분자를 제조하는 방법으로서, 상기 방법은 제116항의 세포를 제공하는 단계; 및 상기 세포를 배양하는 단계를 포함하는, 방법.

**청구항 118**

항체를 제조하는 방법으로서, 상기 방법은 제101항 내지 제112항 중 어느 한 항의 항체를 제공하는 단계를 포함하는, 방법.

**청구항 119**

고양이에서 항체 혈청 반감기를 증가시키는 방법으로서, 상기 방법은 고양이과 IgG 불변 도메인을 포함하는 항체의 치료학적 유효량을 상기 고양이에게 투여하는 단계를 포함하며, 상기 고양이과 IgG 불변 도메인은 야생형 고양이과 IgG 불변 도메인에 비해 적어도 하나의 아미노산 치환을 포함하되, 상기 치환은 카밧에서와 같이 EU 색인에 따라 넘버링된 아미노산 잔기 434에서 이루어지는, 방법.

**청구항 120**

제119항에 있어서, 상기 치환은 위치 434의 세린의 히스티딘으로의 치환(S434H)인, 방법.

**청구항 121**

제119항에 있어서, 상기 고양이과 IgG 불변 도메인은 카밧에서와 같이 EU 색인에 따라 넘버링된 아미노산 잔기 428에서의 치환을 더 포함하는, 방법.

**청구항 122**

제121항에 있어서, 상기 치환은 위치 428의 세린의 류신으로의 치환(S428L)인, 방법.

**청구항 123**

제119항에 있어서, 항체는 야생형 고양이과 IgG 불변 도메인을 갖는 항체의 반감기와 비교해 증가된 반감기를 갖는, 방법.

**청구항 124**

제119항에 있어서, 항체는 야생형 고양이과 IgG 불변 도메인을 갖는 항체보다 FcRn에 대해 더 높은 친화도를 갖는, 방법.

**청구항 125**

제119항에 있어서, 항체는 고양이과 또는 고양이과화된 항체인, 방법.

**청구항 126**

제119항에 있어서, 항체는 IgG1a, IgG1b, 또는 IgG2인, 방법.

**청구항 127**

제119항에 있어서, IgG 불변 도메인은 IgG1a, IgG1b, 또는 IgG2의 불변 도메인인, 방법.

**청구항 128**

제119항에 있어서, IgG 불변 도메인은 CH3 도메인을 갖는 Fc 불변 영역을 포함하는, 방법.

**청구항 129**

제119항에 있어서, IgG 불변 도메인은 CH2 및 CH3 도메인을 갖는 Fc 불변 영역을 포함하는, 방법.

**청구항 130**

제119항에 있어서, IgG 불변 도메인은 서열번호 2에 제시된 아미노산 서열을 포함하는, 방법.

**청구항 131**

융합 분자로서, 작용제에 융합된 고양이과 IgG 불변 도메인을 포함하며, 상기 고양이과 IgG 불변 도메인은 야생형 고양이과 IgG 불변 도메인에 비해 적어도 하나의 아미노산 치환을 포함하되, 상기 치환은 카밧에서와 같이 EU 색인에 따라 넘버링된 아미노산 잔기 434에서 이루어지는, 분자.

**청구항 132**

제131항에 있어서, 상기 치환은 위치 434의 세린의 히스티딘으로의 치환(S434H)인, 분자.

**청구항 133**

제131항에 있어서, 상기 고양이과 IgG 불변 도메인은 카밧에서와 같이 EU 색인에 따라 넘버링된 아미노산 잔기 428에서의 치환을 더 포함하는, 분자.

**청구항 134**

제133항에 있어서, 상기 치환은 위치 428의 세린의 류신으로의 치환(S428L)인, 분자.

**청구항 135**

제131항에 있어서, 분자는 야생형 고양이과 IgG 불변 도메인을 갖는 분자의 반감기와 비교해 증가된 반감기를 갖는, 분자.

**청구항 136**

제131항에 있어서, 분자는 야생형 고양이과 IgG 불변 도메인을 갖는 분자보다 FcRn에 대해 더 높은 친화도를 갖는, 분자.

**청구항 137**

제131항에 있어서, 분자는 고양이과 또는 고양이과화된 항체를 포함하는, 분자.

**청구항 138**

제131항에 있어서, 분자는 IgG1a, IgG1b, 또는 IgG2를 포함하는, 분자.

**청구항 139**

제131항에 있어서, IgG 불변 도메인은 IgG1a, IgG1b, 또는 IgG2의 불변 도메인인, 분자.

**청구항 140**

제131항에 있어서, IgG 불변 도메인은 CH3 도메인을 갖는 Fc 불변 영역을 포함하는, 분자.

**청구항 141**

제131항에 있어서, IgG 불변 도메인은 CH2 및 CH3 도메인을 갖는 Fc 불변 영역을 포함하는, 분자.

**청구항 142**

제131항에 있어서, IgG 불변 도메인은 서열번호 2에 제시된 아미노산 서열을 포함하는, 분자.

**청구항 143**

제131항의 분자 및 약학적으로 허용가능한 담체를 포함하는 약학적 조성물.

**청구항 144**

용기에 제131항의 분자 및 사용 설명서를 포함하는 키트.

**청구항 145**

제29항 내지 제40항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항체는 항-TGF $\beta$  항체인, 항체.

**청구항 146**

제41항에 있어서, 상기 항체는 항-TGF $\beta$  항체인, 약학적 조성물.

**청구항 147**

제42항에 있어서, 상기 항체는 항-TGF $\beta$  항체인, 키트.

**청구항 148**

제45항 또는 제46항에 있어서, 상기 항체는 항-TGF $\beta$  항체인, 방법.

**청구항 149**

제47항 내지 제58항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항체는 항-TGF $\beta$  항체인, 방법.

**청구항 150**

제101항 내지 제112항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항체는 항-TGF $\beta$  항체인, 항체.

**청구항 151**

제113항에 있어서, 상기 항체는 항-TGF $\beta$  항체인, 약학적 조성물.

**청구항 152**

제114항에 있어서, 상기 항체는 항-TGF $\beta$  항체인, 키트.

**청구항 153**

제117항 또는 제118항에 있어서, 상기 항체는 항-TGF $\beta$  항체인, 방법.

**청구항 154**

제119항 내지 제130항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항체는 항-TGF $\beta$  항체인, 방법.

**발명의 설명**

**기술 분야**

[0001] **관련 출원에 대한 상호 참조**

[0002] 이 출원은 2020년 9월 29일 출원된 미국 특허 가출원 번호 제63/084,693호의 우선권 및 이익을 주장하며, 그 전 문은 본 명세서에 참조로 포함된다.

[0003] **발명의 분야**

[0004] 발명은 일반적으로 고양이과 항체 변이체 및 이의 용도에 관한 것이다. 구체적으로, 발명은 반감기 및 다른 특 성을 개선하기 위한 고양이과 항체의 Fc 불변 영역에서의 돌연변이에 관한 것이다.

**배경 기술**

- [0005] 고양이과 IgG 모노클로날 항체(mAb)는 수의학에서 효과적인 치료제로 개발되고 있다. 수년 전, 4개의 고양이과 IgG 서브클래스가 식별되어 규정되었다(Strietzel 등, 2014, *Vet Immunol Immunopathol.* 158(3-4)권, 페이지 214-223). 그러나, 고양이과 IgG의 반감기를 연장시키는 것에 대한 연구는 많이 이루어지지 않았다.
- [0006] 리사이클링 메커니즘을 통해, 신생아 Fc 수용체(FcRn)는 그 단편 결정화가능(Fc) 영역과의 pH-의존적 상호작용에서 IgG의 반감기를 연장시킨다. 구체적으로, CH2 및 CH3 도메인의 계면에 걸쳐 있는 Fc 영역은 세포의 표면상의 FcRn과 상호작용하여 IgG 항상성을 조절한다. 이 상호작용은 IgG 음세포작용 후 산성 상호작용에 의해 선호되며, 따라서 IgG가 분해로부터 보호된다. 그 뒤에, 세포 내 이입된 IgG는 세포 표면으로 다시 재순환되고 알칼리성 pH로 혈류 내로 방출되어 적절한 기능을 위한 충분한 혈청 IgG를 유지한다. 따라서, IgG의 약동학적 프로파일은 그의 Fc 영역의 구조적 및 기능적 특성에 달려있다.
- [0007] 3개의 고양이과 IgG 서브클래스가 고양이과 FcRn과 결합하고 인간 IgG 유사체와 비교되었다. 고양이과 IgG의 반감기는 임의의 실험적 뒷받침 없이는 그것이 인간 IgG와 밀접하게 관련이 있을지 여부를 예상하거나 예측할 수 없기 때문에 충분히 연구되어야 한다.
- [0008] IgG의 연장된 반감기는 항체 약물의 더 적은 빈도의 투여 및/또는 더 낮은 용량을 허용할 수 있으며, 이는 결과적으로 수의과 방문을 감소시키고, 환자의 순응도를 개선하고, 농도-의존적인 세포독성/부작용을 낮춘다.
- [0009] 따라서, 반감기를 개선하기 위해 Fc 불변 영역에서의 돌연변이를 식별할 필요가 존재한다.

**발명의 내용**

- [0010] 발명은 야생형 고양이과 IgG에 비해 더 높은 FcRn 친화도 및 더 긴 반감기를 제공하는 돌연변이체 고양이과 IgG에 관한 것이다. 구체적으로, 본 출원의 발명자들은 위치 428 또는 434의 아미노산 잔기 세린(Ser 또는 S)을 다른 아미노산으로 치환하는 것이 놀랍게도, 그리고 뜻밖에 FcRn에 대한 친화도를 향상시키고, 이로 인해 IgG의 반감기가 증가됨을 발견하였다.
- [0011] 일 양태에서, 발명은 야생형 고양이과 IgG 불변 도메인에 비해 적어도 하나의 아미노산 치환을 포함하는 고양이과 IgG 불변 도메인을 포함하는 변형된 IgG를 제공하되, 상기 치환은 카바트(Kabat)에서와 같이 EU 색인에 따라 넘버링된, 아미노산 잔기 428 또는 434에서 이루어진다. 예시적인 실시형태에서, 치환은 위치 428의 세린의 류신으로의 치환(S428L)이다. 다른 예시적인 실시형태에서, 상기 치환은 위치 434의 세린의 히스티딘으로의 치환(S434H)이다. 일부 실시형태에서, 고양이과 IgG 불변 도메인은 각각 428 및 434 위치 모두의 세린의 류신 및 히스티딘으로의 치환을 포함한다.
- [0012] 다른 양태에서, 발명은 야생형 고양이과 IgG 불변 도메인에 비해 하나 이상의 아미노산 치환을 포함하는 고양이과 IgG 불변 도메인을 포함하는 폴리펩티드를 제공하되, 상기 하나 이상의 치환은 아미노산 잔기 428, 434, 또는 이들의 조합에서 이루어진다.
- [0013] 또 다른 양태에서, 발명은 야생형 고양이과 IgG 불변 도메인에 비해 하나 이상의 아미노산 치환을 포함하는 고양이과 IgG 불변 도메인을 포함하는 항체 또는 분자를 제공하되, 상기 하나 이상의 치환은 아미노산 잔기 428, 434, 또는 이들의 조합에서 이루어진다.
- [0014] 추가 양태에서, 발명은 항체 또는 분자를 생산 또는 제조하는 방법을 제공하며, 상기 방법은 고양이과 IgG 불변 도메인을 포함하는 항체를 갖는 숙주 세포 또는 벡터를 제공하는 단계를 포함하며, 상기 고양이과 IgG 불변 도메인은 야생형 고양이과 IgG 불변 도메인에 비해 하나 이상의 아미노산 치환을 포함하되, 상기 하나 이상의 치환은 아미노산 잔기 428, 434, 또는 이들의 조합에서 이루어진다.
- [0015] 다른 양태에서, 발명은 고양이에서 항체 혈청 반감기를 증가시키는 방법을 제공하며, 상기 방법은, 고양이과 IgG 불변 도메인을 포함하는 항체의 치료학적 유효한 양을 상기 고양이에게 투여하는 단계를 포함하며, 상기 고양이과 IgG 불변 도메인은 야생형 고양이과 IgG 불변 도메인에 비해 하나 이상의 아미노산 치환을 포함하되, 상기 하나 이상의 치환은 아미노산 잔기 428, 434, 또는 이들의 조합에서 이루어진다.
- [0016] 본 발명의 다른 특징 및 이점은 다음의 상세한 설명 실시예 및 도면으로부터 명백해질 것이다. 그러나, 발명의 사상 및 범주 내에서 다양한 변경 및 변형이 이 상세한 설명으로부터 당업자에게 명백해질 것이기 때문에, 발명의 바람직한 실시형태를 나타내면서 상세한 설명 및 특정 실시예가 단지 예시의 방식으로 제공된 것으로 이해되

어야 한다.

**도면의 간단한 설명**

[0017]

본 특허 또는 출원 파일은 컬러로 작성된 적어도 하나의 도면을 포함한다. 컬러 도면(들)이 있는 본 특허 또는 특허 출원 공보의 사본은 요청 및 필요한 수수료의 지불 시 특허청에서 제공할 것이다.

도 1은 IgG의 도메인 구조를 예시한다. Fc 돌연변이 S428L 및/또는 N434H는 pH6에서 FcRn에 대한 친화도를 증가 시킴으로써, IgG 반감기를 증가시키기 위해 CH3 도메인에서 만들어졌다.

도 2a는 야생형(WT) 인간 IgG1, WT 고양이과 IgG1a, WT 고양이과 IgG1b, WT 고양이과 IgG2, 및 힌지 돌연변이를 갖는 돌연변이체 고양이과 IgG2의 아미노산 서열의 정렬을 나타낸다. 아미노산 잔기는 카밧에서와 같이 EU 색인에 따라 넘버링된다. CH1, 힌지, CH2 및 CH3 아미노산 잔기는 각각 적색, 보라색, 파란색 및 녹색이다. 도 2b는 고양이과 Fc IgG1a WT 뉴클레오티드 서열을 나타낸다. 도 2c는 고양이과 Fc IgG1a S434H 뉴클레오티드 서열을 나타낸다. 도 2d는 고양이과 Fc IgG1a S428L 뉴클레오티드 서열을 나타낸다.

도 3은 98일 기간에 걸쳐 측정된 2mg/kg의 3회 주사(SC/SC/IV) 후, 8마리 고양이, 4마리 수컷(G00397, G00398, G00399, G00400), 및 4마리 암컷(G00425, G00426, G00427, G00428)에서 WT mAb1 IgG에 대한 개별 혈청 농도를 나타낸다.

도 4는 98일 기간에 걸쳐 측정된 2mg/kg의 3회 주사(SC/SC/IV) 후, 8마리 고양이, 4마리 수컷(G00417, G00418, G00419, G00420), 및 4마리 암컷(G00445, G00446, G00447, G00448)에서 WT mAb1 IgG에 대한 개별 혈청 농도를 나타낸다.

도 5는 30일 기간에 걸쳐 측정된 2mg/kg의 단일 피하 주사 후, 3마리 고양이에서 WT mAb2에 대한 개별 혈청 농도를 나타낸다.

도 6은 30일 기간에 걸쳐 측정된 2mg/kg의 단일 피하 주사 후, 3마리 고양이에서 돌연변이체 S428L mAb2에 대한 개별 혈청 농도를 나타낸다.

도 7은 21일 기간에 걸쳐 측정된 2mg/kg의 단일 피하 주사 후, 고양이들에서 돌연변이체 S428L mAb3에 대한 개별 혈청 농도를 나타낸다.

도 8은 98일 기간에 걸쳐 측정된 2mg/kg의 3회 주사(SC/SC/IV) 후, 8마리 고양이, 4마리 수컷(G00453, G00454, G00455, G00456), 및 4마리 암컷(G00457, G00458, G00459, G00460)에서 WT mAb3 IgG에 대한 개별 혈청 농도를 나타낸다.

도 9는 98일 기간에 걸쳐 측정된 2mg/kg의 3회 주사(SC/SC/IV) 후, 8마리 고양이, 4마리 수컷(G00469, G00470, G00471, G00472), 및 4마리 암컷(G00473, G00474, G00475, G00476)에서 S434H mAb3 IgG에 대한 개별 혈청 농도를 나타낸다.

**서열 목록의 간단한 설명**

서열번호 1은 S428L 돌연변이를 갖는 돌연변이체 IgG1a 불변 도메인의 아미노산 서열이다.

서열번호 2은 S434H 돌연변이를 갖는 돌연변이체 IgG1a 불변 도메인의 아미노산 서열이다.

서열번호 3은 야생형 IgG1a 불변 도메인의 아미노산 서열이다.

서열번호 4는 야생형 IgG1a 불변 도메인의 핵산 서열이다.

서열번호 5는 IgG1a CH1 도메인의 아미노산 서열이다.

서열번호 6은 IgG1a 힌지 도메인의 핵산 서열이다.

서열번호 7은 IgG1a CH2 도메인의 아미노산 서열이다.

서열번호 8은 IgG1a WT CH3 도메인의 아미노산 서열이다.

서열번호 9는 IgG1a CH1 도메인의 핵산 서열이다.

서열번호 10은 IgG1a 힌지 도메인의 핵산 서열이다.

- 서열번호 11은 IgG1a CH2 도메인의 핵산 서열이다.
- 서열번호 12는 IgG1a WT CH3 도메인의 핵산 서열이다.
- 서열번호 13은 항-IL31 항체(ZTS-5864) 중쇄 가변 영역의 핵산 서열이다.
- 서열번호 14는 항-IL31 항체(ZTS-5864) 중쇄 가변 영역의 아미노산 서열이다.
- 서열번호 15는 항-IL31 항체(ZTS-5864) 중쇄 가변 영역 CDR1의 아미노산 서열이다.
- 서열번호 16는 항-IL31 항체(ZTS-5864) 중쇄 가변 영역 CDR2의 아미노산 서열이다.
- 서열번호 17은 항-IL31 항체(ZTS-5864) 중쇄 가변 영역 CDR3의 아미노산 서열이다.
- 서열번호 18은 항-IL31 항체(ZTS-5864) 중쇄 가변 영역의 핵산 서열이다.
- 서열번호 19는 항-IL31 항체(ZTS-5864) 경쇄 가변 영역의 아미노산 서열이다.
- 서열번호 20은 항-IL31 항체(ZTS-5864) 경쇄 가변 영역 CDR1의 아미노산 서열이다.
- 서열번호 21은 항-IL31 항체(ZTS-5864) 경쇄 가변 영역 CDR2의 아미노산 서열이다.
- 서열번호 22는 항-IL31 항체(ZTS-5864) 경쇄 가변 영역 CDR3의 아미노산 서열이다.
- 서열번호 23은 항-NGF 항체(ZTS768) 중쇄의 아미노산 서열이다.
- 서열번호 24는 항-NGF 항체(ZTS768) 중쇄 CDR1의 아미노산 서열이다.
- 서열번호 25는 항-NGF 항체(ZTS768) 중쇄 CDR2의 아미노산 서열이다.
- 서열번호 26은 항-NGF 항체(ZTS768) 중쇄 CDR3의 아미노산 서열이다.
- 서열번호 27은 항-NGF 항체(ZTS768) 경쇄의 아미노산 서열이다.
- 서열번호 28은 항-NGF 항체(ZTS768) 경쇄 CDR1의 아미노산 서열이다.
- 서열번호 29는 항-NGF 항체(ZTS768) 경쇄 CDR2의 아미노산 서열이다.
- 서열번호 30은 항-NGF 항체(ZTS768) 경쇄 CDR3의 아미노산 서열이다.
- 서열번호 31은 항-NGF 항체(NV02) 중쇄의 아미노산 서열이다.
- 서열번호 32는 항-NGF 항체(NV02) 중쇄 CDR1의 아미노산 서열이다.
- 서열번호 33은 항-NGF 항체(NV02) 중쇄 CDR2의 아미노산 서열이다.
- 서열번호 34는 항-NGF 항체(NV02) 중쇄 CDR3의 아미노산 서열이다.
- 서열번호 35는 항-NGF 항체(NV02) 카파 쇄의 아미노산 서열이다.
- 서열번호 36은 항-NGF 항체(NV02) 카파 쇄 CDR1의 아미노산 서열이다.
- 서열번호 37은 항-NGF 항체(NV02) 카파 쇄 CDR2의 아미노산 서열이다.
- 서열번호 38은 항-NGF 항체(NV02) 카파 쇄 CDR3의 아미노산 서열이다.
- 서열번호 39는 본 명세서에서 ZTS-310으로 지칭되는 항-TGF  $\beta$  1,3 항체의 가변 중쇄 CDR1이다.
- 서열번호 40는 본 명세서에서 ZTS-310으로 지칭되는 항-TGF  $\beta$  1,3 항체의 가변 중쇄 CDR2이다.
- 서열번호 41은 본 명세서에서 ZTS-310으로 지칭되는 항-TGF  $\beta$  1,3 항체의 가변 중쇄 CDR3이다.
- 서열번호 42는 본 명세서에서 ZTS-310으로 지칭되는 항-TGF  $\beta$  1,3 항체의 가변 경쇄 CDR1이다.
- 서열번호 43은 본 명세서에서 ZTS-310으로 지칭되는 항-TGF  $\beta$  1,3 항체의 가변 경쇄 CDR2이다.
- 서열번호 44는 본 명세서에서 ZTS-310으로 지칭되는 항-TGF  $\beta$  1,3 항체의 가변 경쇄 CDR3이다.
- 서열번호 45는 본 명세서에서 ZTS-310으로 지칭되는 항-TGF  $\beta$  1,3 항체의 중쇄의 아미노산 서열이다.
- 서열번호 46은 본 명세서에서 ZTS-310으로 지칭되는 항-TGF  $\beta$  1,3 항체의 중쇄의 핵산 서열이다.



서열번호 47은 본 명세서에서 ZTS-310으로 지칭되는 항-TGF  $\beta$  1,3 항체의 경쇄의 아미노산 서열이다.

서열번호 48은 본 명세서에서 ZTS-310으로 지칭되는 항-TGF  $\beta$  1,3 항체의 경쇄의 핵산 서열이다.

서열번호 49는 본 명세서에서 ZTS-120-1로 지칭되는 항-TGF  $\beta$  1,2,3 항체의 가변 중쇄 CDR1이다.

서열번호 50은 본 명세서에서 ZTS-120-1로 지칭되는 항-TGF  $\beta$  1,2,3 항체의 가변 중쇄 CDR2이다.

서열번호 51은 본 명세서에서 ZTS-120-1로 지칭되는 항-TGF  $\beta$  1,2,3 항체의 가변 중쇄 CDR3이다.

서열번호 52는 본 명세서에서 ZTS-120-1로 지칭되는 항-TGF  $\beta$  1,2,3 항체의 가변 경쇄 CDR1이다.

서열번호 53은 본 명세서에서 ZTS-120-1로 지칭되는 항-TGF  $\beta$  1,2,3 항체의 가변 경쇄 CDR2이다.

서열번호 54는 본 명세서에서 ZTS-120-1로 지칭되는 항-TGF  $\beta$  1,2,3 항체의 가변 경쇄 CDR3이다.

서열번호 55는 본 명세서에서 ZTS-120-1로 지칭되는 항-TGF  $\beta$  1,2,3 항체의 중쇄의 아미노산 서열이다.

서열번호 56은 본 명세서에서 ZTS-120-1로 지칭되는 항-TGF  $\beta$  1,2,3 항체의 중쇄의 핵산 서열이다.

서열번호 57은 본 명세서에서 ZTS-120-1로 지칭되는 항-TGF  $\beta$  1,2,3 항체의 경쇄의 아미노산 서열이다.

서열번호 58은 본 명세서에서 ZTS-120-1로 지칭되는 항-TGF  $\beta$  1,2,3 항체의 경쇄의 핵산 서열이다.

서열번호 59는 본 명세서에서 ZTS-120-2로 지칭되는 항-TGF  $\beta$  1,2,3 항체의 가변 중쇄 CDR1이다.

서열번호 60은 본 명세서에서 ZTS-120-2로 지칭되는 항-TGF  $\beta$  1,2,3 항체의 가변 중쇄 CDR2이다.

서열번호 61은 본 명세서에서 ZTS-120-2로 지칭되는 항-TGF  $\beta$  1,2,3 항체의 가변 중쇄 CDR3이다.

서열번호 62는 본 명세서에서 ZTS-120-2로 지칭되는 항-TGF  $\beta$  1,2,3 항체의 가변 경쇄 CDR1이다.

서열번호 63은 본 명세서에서 ZTS-120-2로 지칭되는 항-TGF  $\beta$  1,2,3 항체의 가변 경쇄 CDR2이다.

서열번호 64는 본 명세서에서 ZTS-120-2로 지칭되는 항-TGF  $\beta$  1,2,3 항체의 가변 경쇄 CDR3이다.

서열번호 65는 본 명세서에서 ZTS-120-2으로 지칭되는 항-TGF  $\beta$  1,2,3 항체의 중쇄의 아미노산 서열이다.

서열번호 66은 본 명세서에서 ZTS-120-2로 지칭되는 항-TGF  $\beta$  1,2,3 항체의 중쇄의 핵산 서열이다.

서열번호 67은 본 명세서에서 ZTS-120-2로 지칭되는 항-TGF  $\beta$  1,2,3 항체의 경쇄의 아미노산 서열이다.

서열번호 68은 본 명세서에서 ZTS-120-2로 지칭되는 항-TGF  $\beta$  1,2,3 항체의 경쇄의 핵산 서열이다.

서열번호 69는 본 명세서에서 ZTS-120-3으로 지칭되는 항-TGF  $\beta$  1,2,3 항체의 가변 중쇄 CDR1이다.

서열번호 70은 본 명세서에서 ZTS-120-3으로 지칭되는 항-TGF  $\beta$  1,2,3 항체의 가변 중쇄 CDR2이다.

서열번호 71은 본 명세서에서 ZTS-120-3으로 지칭되는 항-TGF  $\beta$  1,2,3 항체의 가변 중쇄 CDR3이다.

서열번호 72는 본 명세서에서 ZTS-120-3으로 지칭되는 항-TGF  $\beta$  1,2,3 항체의 가변 경쇄 CDR1이다.

서열번호 73은 본 명세서에서 ZTS-120-3으로 지칭되는 항-TGF  $\beta$  1,2,3 항체의 가변 경쇄 CDR2이다.

서열번호 74는 본 명세서에서 ZTS-120-3으로 지칭되는 항-TGF  $\beta$  1,2,3 항체의 가변 경쇄 CDR3이다.

서열번호 75는 본 명세서에서 ZTS-120-3으로 지칭되는 항-TGF  $\beta$  1,2,3 항체의 중쇄의 아미노산 서열이다.

서열번호 76은 본 명세서에서 ZTS-120-3으로 지칭되는 항-TGF  $\beta$  1,2,3 항체의 중쇄의 핵산 서열이다.

서열번호 77은 본 명세서에서 ZTS-120-3으로 지칭되는 항-TGF  $\beta$  1,2,3 항체의 경쇄의 아미노산 서열이다.

서열번호 78은 본 명세서에서 ZTS-120-3으로 지칭되는 항-TGF  $\beta$  1,2,3 항체의 경쇄의 핵산 서열이다.

서열번호 79는 본 명세서에서 ZTS-120-4로 지칭되는 항-TGF  $\beta$  1,2,3 항체의 가변 중쇄 CDR1이다.

서열번호 80은 본 명세서에서 ZTS-120-4으로 지칭되는 항-TGF  $\beta$  1,2,3 항체의 가변 중쇄 CDR2이다.

서열번호 81은 본 명세서에서 ZTS-120-4으로 지칭되는 항-TGF  $\beta$  1,2,3 항체의 가변 중쇄 CDR3이다.

서열번호 82는 본 명세서에서 ZTS-120-4로 지칭되는 항-TGF  $\beta$  1,2,3 항체의 가변 경쇄 CDR1이다.

서열번호 83은 본 명세서에서 ZTS-120-4로 지칭되는 항-TGF  $\beta$  1,2,3 항체의 가변 경쇄 CDR2이다.

서열번호 84는 본 명세서에서 ZTS-120-4로 지칭되는 항-TGF  $\beta$  1,2,3 항체의 가변 경쇄 CDR3이다.

서열번호 85는 본 명세서에서 ZTS-120-4로 지칭되는 항-TGF  $\beta$  1,2,3 항체의 중쇄의 아미노산 서열이다.

서열번호 86은 본 명세서에서 ZTS-120-4로 지칭되는 항-TGF  $\beta$  1,2,3 항체의 중쇄의 핵산 서열이다.

서열번호 87은 본 명세서에서 ZTS-120-4로 지칭되는 항-TGF  $\beta$  1,2,3 항체의 경쇄의 아미노산 서열이다.

서열번호 88은 본 명세서에서 ZTS-120-4로 지칭되는 항-TGF  $\beta$  1,2,3 항체의 경쇄의 핵산 서열이다.

서열번호 89는 본 명세서에서 ZTS-120-5로 지칭되는 항-TGF  $\beta$  1,2,3 항체의 가변 중쇄 CDR1이다.

서열번호 90은 본 명세서에서 ZTS-120-5로 지칭되는 항-TGF  $\beta$  1,2,3 항체의 가변 중쇄 CDR2이다.

서열번호 91은 본 명세서에서 ZTS-120-5로 지칭되는 항-TGF  $\beta$  1,2,3 항체의 가변 중쇄 CDR3이다.

서열번호 92는 본 명세서에서 ZTS-120-5로 지칭되는 항-TGF  $\beta$  1,2,3 항체의 가변 경쇄 CDR1이다.

서열번호 93은 본 명세서에서 ZTS-120-5로 지칭되는 항-TGF  $\beta$  1,2,3 항체의 가변 경쇄 CDR2이다.

서열번호 94는 본 명세서에서 ZTS-120-5로 지칭되는 항-TGF  $\beta$  1,2,3 항체의 가변 경쇄 CDR3이다.

서열번호 95는 본 명세서에서 ZTS-120-5로 지칭되는 항-TGF  $\beta$  1,2,3 항체의 중쇄의 아미노산 서열이다.

서열번호 96은 본 명세서에서 ZTS-120-5로 지칭되는 항-TGF  $\beta$  1,2,3 항체의 중쇄의 핵산 서열이다.

서열번호 97은 본 명세서에서 ZTS-120-5로 지칭되는 항-TGF  $\beta$  1,2,3 항체의 경쇄의 아미노산 서열이다.

서열번호 98은 본 명세서에서 ZTS-120-5로 지칭되는 항-TGF  $\beta$  1,2,3 항체의 경쇄의 핵산 서열이다.

서열번호 99는 본 명세서에서 ZTS-120-6으로 지칭되는 항-TGF  $\beta$  1,2,3 항체의 가변 중쇄 CDR1이다.

서열번호 100은 본 명세서에서 ZTS-120-6로 지칭되는 항-TGF  $\beta$  1,2,3 항체의 가변 중쇄 CDR2이다.

서열번호 101은 본 명세서에서 ZTS-120-6으로 지칭되는 항-TGF  $\beta$  1,2,3 항체의 가변 중쇄 CDR3이다.

서열번호 102는 본 명세서에서 ZTS-120-6로 지칭되는 항-TGF  $\beta$  1,2,3 항체의 가변 경쇄 CDR1이다.

서열번호 103은 본 명세서에서 ZTS-120-6으로 지칭되는 항-TGF  $\beta$  1,2,3 항체의 가변 경쇄 CDR2이다.

서열번호 104는 본 명세서에서 ZTS-120-6으로 지칭되는 항-TGF  $\beta$  1,2,3 항체의 가변 경쇄 CDR3이다.

서열번호 105는 본 명세서에서 ZTS-120-6으로 지칭되는 항-TGF  $\beta$  1,2,3 항체의 중쇄의 아미노산 서열이다.

서열번호 106은 본 명세서에서 ZTS-120-6로 지칭되는 항-TGF  $\beta$  1,2,3 항체의 중쇄의 핵산 서열이다.

서열번호 107은 본 명세서에서 ZTS-120-6으로 지칭되는 항-TGF  $\beta$  1,2,3 항체의 경쇄의 아미노산 서열이다.

서열번호 108은 본 명세서에서 ZTS-120-6으로 지칭되는 항-TGF  $\beta$  1,2,3 항체의 경쇄의 핵산 서열이다.

서열번호 109는 본 명세서에서 ZTS-120-7로 지칭되는 항-TGF  $\beta$  1,2,3 항체의 가변 중쇄 CDR1이다.

서열번호 110은 본 명세서에서 ZTS-120-7로 지칭되는 항-TGF  $\beta$  1,2,3 항체의 가변 중쇄 CDR2이다.

서열번호 111은 본 명세서에서 ZTS-120-7로 지칭되는 항-TGF  $\beta$  1,2,3 항체의 가변 중쇄 CDR3이다.

서열번호 112는 본 명세서에서 ZTS-120-7로 지칭되는 항-TGF  $\beta$  1,2,3 항체의 가변 경쇄 CDR1이다.

서열번호 113은 본 명세서에서 ZTS-120-7로 지칭되는 항-TGF  $\beta$  1,2,3 항체의 가변 경쇄 CDR2이다.

서열번호 114는 본 명세서에서 ZTS-120-7로 지칭되는 항-TGF  $\beta$  1,2,3 항체의 가변 경쇄 CDR3이다.

서열번호 115는 본 명세서에서 ZTS-120-7로 지칭되는 항-TGF  $\beta$  1,2,3 항체의 중쇄의 아미노산 서열이다.

서열번호 116은 본 명세서에서 ZTS-120-7로 지칭되는 항-TGF  $\beta$  1,2,3 항체의 중쇄의 핵산 서열이다.

서열번호 117은 본 명세서에서 ZTS-120-7로 지칭되는 항-TGF  $\beta$  1,2,3 항체의 경쇄의 아미노산 서열이다.

서열번호 118은 본 명세서에서 ZTS-120-7로 지칭되는 항-TGF  $\beta$  1,2,3 항체의 경쇄의 핵산 서열이다.

서열번호 119는 본 명세서에서 ZTS-120-8로 지칭되는 항-TGFβ 1,2,3 항체의 가변 중쇄 CDR1이다.  
 서열번호 120은 본 명세서에서 ZTS-120-8로 지칭되는 항-TGFβ 1,2,3 항체의 가변 중쇄 CDR2이다.  
 서열번호 121은 본 명세서에서 ZTS-120-8로 지칭되는 항-TGFβ 1,2,3 항체의 가변 중쇄 CDR3이다.  
 서열번호 122는 본 명세서에서 ZTS-120-8로 지칭되는 항-TGFβ 1,2,3 항체의 가변 경쇄 CDR1이다.  
 서열번호 123은 본 명세서에서 ZTS-120-8로 지칭되는 항-TGFβ 1,2,3 항체의 가변 경쇄 CDR2이다.  
 서열번호 124는 본 명세서에서 ZTS-120-8로 지칭되는 항-TGFβ 1,2,3 항체의 가변 경쇄 CDR3이다.  
 서열번호 125는 본 명세서에서 ZTS-120-8로 지칭되는 항-TGFβ 1,2,3 항체의 중쇄의 아미노산 서열이다.  
 서열번호 126은 본 명세서에서 ZTS-120-8로 지칭되는 항-TGFβ 1,2,3 항체의 중쇄의 핵산 서열이다.  
 서열번호 127은 본 명세서에서 ZTS-120-8로 지칭되는 항-TGFβ 1,2,3 항체의 경쇄의 아미노산 서열이다.  
 서열번호 128은 본 명세서에서 ZTS-120-8로 지칭되는 항-TGFβ 1,2,3 항체의 경쇄의 핵산 서열이다.  
 서열번호 129는 본 명세서에서 ZTS-120-9로 지칭되는 항-TGFβ 1,2,3 항체의 가변 중쇄 CDR1이다.  
 서열번호 130은 본 명세서에서 ZTS-120-9로 지칭되는 항-TGFβ 1,2,3 항체의 가변 중쇄 CDR2이다.  
 서열번호 131은 본 명세서에서 ZTS-120-9로 지칭되는 항-TGFβ 1,2,3 항체의 가변 중쇄 CDR3이다.  
 서열번호 132는 본 명세서에서 ZTS-120-9로 지칭되는 항-TGFβ 1,2,3 항체의 가변 경쇄 CDR1이다.  
 서열번호 133은 본 명세서에서 ZTS-120-9로 지칭되는 항-TGFβ 1,2,3 항체의 가변 경쇄 CDR2이다.  
 서열번호 134는 본 명세서에서 ZTS-120-9로 지칭되는 항-TGFβ 1,2,3 항체의 가변 경쇄 CDR3이다.  
 서열번호 135는 본 명세서에서 ZTS-120-9로 지칭되는 항-TGFβ 1,2,3 항체의 중쇄의 아미노산 서열이다.  
 서열번호 136은 본 명세서에서 ZTS-120-9로 지칭되는 항-TGFβ 1,2,3 항체의 중쇄의 핵산 서열이다.  
 서열번호 137은 본 명세서에서 ZTS-120-9로 지칭되는 항-TGFβ 1,2,3 항체의 경쇄의 아미노산 서열이다.  
 서열번호 138은 본 명세서에서 ZTS-120-9로 지칭되는 항-TGFβ 1,2,3 항체의 경쇄의 핵산 서열이다.

**발명을 실시하기 위한 구체적인 내용**

- [0018] 본 주제는 본 개시내용의 일부를 형성하는 다음의 상세한 설명을 참조하여 보다 용이하게 이해될 수 있다. 본 발명은 본 명세서에 기재 및/또는 도시된 특정 생성물, 방법, 조건 또는 파라미터로 제한되지 않고, 본 명세서에 사용된 용어는 단지 예로서 특정 실시형태를 설명하기 위한 목적을 위한 것이고 청구된 발명을 제한하는 것으로 의도되지 않음을 이해할 것이다.
- [0019] 본 명세서에서 달리 정의되지 않는 한, 본 출원과 관련하여 사용되는 과학 및 기술 용어는 당업자에 의해 일반적으로 이해되는 의미를 가질 것이다. 또한, 문맥상 달리 요구되지 않는 한, 단수 용어는 복수를 포함하고 복수 용어는 단수를 포함할 것이다.
- [0020] 위에서 그리고 개시내용 전반에 걸쳐 사용된 것과 같이, 다음 용어 및 약어는 달리 지시되지 않는 한, 다음 의미를 갖는 것으로 이해되어야 한다.
- [0021] 정의
- [0022] 본 개시내용에서, 단수 형태("a", "an" 및 "the")는 복수 참조를 포함하고, 특정 수치에 대한 언급은 문맥이 명백하게 달리 나타내지 않는 한, 적어도 그 특정 값을 포함한다. 따라서, 예를 들어, "분자" 또는 "화합물"에 대한 언급은 당업자에게 공지된 이러한 분자 또는 화합물 및 그의 등가물 중 하나 이상에 대한 언급 등이다. 본 명세서에 사용된 것과 같이, 용어 "복수"는 하나 초과를 의미한다. 값의 범위가 표현될 때, 다른 실시형태는 하나의 특정 값으로부터 및/또는 다른 특정 값까지를 포함한다. 유사하게, 값이 근사치로서 표현될 때, 선행사 "약"을 사용함으로써, 특정 값이 다른 실시형태를 형성하는 것으로 이해된다. 모든 범위는 포괄적이고 결합가능하다.
- [0023] 명세서 및 청구범위에서, 번역글로 불린 중쇄의 아미노산 잔기의 넘버링은 Kabat 등의 문헌[Sequences of

Proteins of Immunological Interest, 5판. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md. (1991)]에서와 같은 Eu 색인의 것이다. "카밧에서와 같은 Eu 색인"은 IgG 항체의 잔기 넘버링을 지칭하고 본 명세서에서 도 2a에 반영된다.

[0024] 핵산과 관련하여 사용될 때, 용어 "단리된(isolated)"은 그 천연 공급원에서 통상적으로 연관된 적어도 하나의 오염 핵산으로부터 식별 및 분리된 핵산이다. 단리된 핵산은 자연에서 발견되는 것과 다른 형태 또는 환경에 있다. 따라서 단리된 핵산 분자는 천연 세포에 존재할 때의 핵산 분자와 구별된다. 단리된 핵산 분자는 통상적으로 그 안에 인코딩된 폴리펩티드를 발현하는 세포에 함유된 핵산 분자를 포함하고, 여기서, 예를 들어, 핵산 분자는 천연 세포의 것과 상이한 플라스미드 또는 염색체 위치에 있다. 단리된 핵산은 단일-가닥 또는 이중-가닥 형태로 존재할 수 있다. 단리된 핵산 분자가 단백질을 발현시키기 위해 사용될 때, 올리고뉴클레오티드 또는 폴리뉴클레오티드는 최소한 센스 또는 코딩 가닥을 함유할 것이지만, 센스 및 안티-센스 가닥 모두를 함유할 수 있다(즉, 이중-가닥일 수 있음).

[0025] 핵산 분자는 다른 핵산 분자와 기능적 관계에 놓일 때, "작동가능하게 연결(operably linked)"되거나 "작동가능하게 부착(operably attached)"된다. 예를 들어, 프로모터 또는 인핸서는 서열의 전사에 영향을 미치는 경우, 핵산의 코딩 서열에 작동가능하게 연결되거나; 리보솜 결합 부위가 번역을 용이하게 하도록 위치되는 경우 핵산의 코딩 서열에 작동가능하게 연결된다. 변이체 Fc 영역을 인코딩하는 핵산 분자는 발현된 융합 단백질이 변이체 Fc 영역 폴리펩티드에 상류 또는 하류에 인접한 이중 단백질 또는 이의 기능적 단편을 포함하고; 이중 단백질은 변이체 Fc 영역 폴리펩티드에 바로 인접할 수 있거나 임의의 길이 및 조성의 링커 서열에 의해 이로부터 분리될 수 있도록 위치되는 경우, 이중 단백질(즉, 자연에 존재하는 것처럼, Fc 영역을 포함하지 않는 단백질 또는 이의 기능적 단편)을 인코딩하는 핵산 분자에 작동가능하게 연결된다. 유사하게, 폴리펩티드(본 명세서에서 "단백질"과 동의어로 사용됨) 분자는 다른 폴리펩티드와 기능적 관계에 놓일 때, "작동가능하게 연결"되거나 "작동가능하게 부착"된다.

[0026] 본 명세서에서 사용된 것과 같이, "기능적 단편(functional fragment)"은 폴리펩티드 또는 단백질(예를 들어, 변이체 Fc 영역, 또는 모노클로날 항체)과 관련하여 사용될 때, 전장 폴리펩티드의 적어도 하나의 기능을 보유하는 그 단백질의 단편을 지칭한다. 단편은 크기가 6개 아미노산에서 전장 폴리펩티드의 전체 아미노산 서열에서 1개 아미노산을 뺀 범위일 수 있다. 본 발명의 변이체 Fc 영역 폴리펩티드의 기능적 단편은 본 명세서에 정의된 것과 같은 적어도 하나의 "아미노산 치환"을 보유한다. 변이체 Fc 영역 폴리펩티드의 기능적 단편은 Fc 영역과 연관된 것으로 당업계에 공지된 적어도 하나의 기능을 보유한다(예를 들어, ADCC, CDC, Fc 수용체 결합, C1q 결합, 세포 표면 수용체의 하향 조절 또는, 예를 들어, 작동가능하게 부착된 폴리펩티드의 생체내 또는 시험관내 반감기를 증가시킬 수 있다).

[0027] 용어 "정제된" 또는 "정제하다"는 샘플에서 적어도 하나의 오염물질의 실질적인 제거를 지칭한다. 예를 들어, 항원-특이 항체는 적어도 하나의 오염 비-면역글로불린 단백질의 완전한 또는 실질적인 제거(적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 또는 보다 바람직하게는 적어도 96%, 97%, 98% 또는 99%)에 의해 정제될 수 있고; 이는 또한 동일한 항원에 결합하지 않는 면역글로불린 단백질의 제거에 의해 정제될 수 있다. 비-면역글로불린 단백질의 제거 및/또는 특정 항원에 결합하지 않는 면역글로불린의 제거는 샘플에서 항원-특이 면역글로불린의 백분율에서의 증가를 초래한다. 다른 예에서, 박테리아 숙주 세포에서 발현된 폴리펩티드(예를 들어, 면역글로불린)는 숙주 세포 단백질의 완전한 또는 실질적인 제거에 의해 정제되고; 이에 의해 샘플에서 폴리펩티드의 백분율이 증가된다.

[0028] 폴리펩티드(예를 들어, Fc 영역)를 지칭할 때의 용어 "천연"은 폴리펩티드가 자연에서 일반적으로 발생하는 폴리펩티드 또는 이의 자연적으로 발생하는 다형성의 아미노산 서열로 구성된 아미노산 서열을 갖는 것을 나타내기 위해 본 명세서에서 사용된다. 천연 폴리펩티드(예를 들어, 천연 Fc 영역)는 재조합 수단에 의해 생성될 수 있거나 자연적으로 발생하는 공급원으로부터 단리될 수 있다.

[0029] 본 명세서에 사용된 용어 "발현 벡터"는 특정 숙주 유기체에서 작동가능하게 연결된 코딩 서열의 발현에 필요한 바람직한 코딩 서열 및 적절한 핵산 서열을 함유하는 재조합 DNA 분자를 지칭한다.

[0030] 본 명세서에서 사용된 것과 같이, 용어 "숙주 세포"는, 시험관내 또는 제자리, 또는 생체내에 위치 여부와 관계없이, 임의의 진핵 또는 원핵 세포(예를 들어, 박테리아 세포, 예컨대, 대장균, CHO 세포, 효모 세포, 포유동물 세포, 조류 세포, 양서류 세포, 식물 세포, 어류 세포 및 곤충 세포)를 지칭한다.

[0031] 본 명세서에 사용된 것과 같이, 용어 "Fc 영역"은 면역글로불린 중쇄의 C-말단 영역을 지칭한다. "Fc 영역"은

천연 서열 Fc 영역 또는 변이체 Fc 영역일 수 있다. 면역글로불린 중쇄의 Fc 영역의 일반적으로 허용되는 경계는 다양할 수 있지만, 고양잇과 IgG 중쇄 Fc 영역은 일반적으로, 예를 들어, 위치 231의 아미노산 잔기로부터 그의 카르복실-말단까지 연장되어 정의된다. 일부 실시형태에서, 변이체는 Fc 영역의 일부만을 포함하고 카르복시-말단을 포함하거나 포함하지 않을 수 있다. 면역글로불린의 Fc 영역은 일반적으로 2개의 불변 도메인, CH2 및 CH3을 포함한다. 일부 실시형태에서, 불변 도메인 중 하나 이상을 갖는 변이체가 고려된다. 다른 실시형태에서, 이러한 불변 도메인이 없는 (또는 이러한 불변 도메인의 일부만 있는) 변이체가 고려된다.

[0032] 고양잇과 IgG Fc 영역의 "CH2 도메인"은 일반적으로, 예를 들어, 약 아미노산 231에서 약 아미노산 340으로 신장된다(도 2a 참조). CH2 도메인은 다른 도메인과 밀접하게 쌍을 이루지 않는다는 점에서 고유하다. 2개의 N-연결된 분지형 탄수화물 사슬은 온전한 천연 IgG 분자의 2개의 CH2 도메인 사이에 개재된다.

[0033] 고양잇과 IgG Fc 영역의 "CH3 도메인"은 일반적으로, 예를 들어, 약 아미노산 잔기 341에서 약 아미노산 잔기 447까지 신장하는 Fc 영역에서 CH2 도메인에 대한 잔기 C-말단의 스트레치이다 (도 2a 참조).

[0034] "기능적 Fc 영역"은 천연 서열 Fc 영역의 "이펙터 기능"을 보유한다. 본 발명의 변이체 Fc 영역을 포함하는 폴리펩티드의 적어도 하나의 이펙터 기능은 천연 Fc 영역 또는 변이체의 모 Fc 영역을 포함하는 폴리펩티드와 관련하여 증진되거나 감소될 수 있다. 이펙터 기능의 예는 다음을 포함하지만 이에 제한되지는 않는다: Clq 결합; 보체 의존성 세포독성(CDC: complement dependent cytotoxicity); Fc 수용체 결합; 항체-의존성 세포-매개된 세포독성(ADCC: antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity); 식균 작용; 세포 표면 수용체(예를 들어, B 세포 수용체, BCR) 등의 하향 조절. 이러한 이펙터 기능은 Fc 영역이 결합 도메인(예를 들어, 항체 가변 도메인)에 작동가능하게 연결되는 것을 요할 수 있고 다양한 검정(예를 들어, Fc 결합 검정, ADCC 검정, CDC 검정, 전체 또는 분획화된 혈액 샘플로부터의 표적 세포 고갈 등)을 사용하여 평가될 수 있다.

[0035] "천연 서열 Fc 영역" 또는 "야생형 Fc 영역"은 자연에서 일반적으로 발견되는 Fc 영역의 아미노산 서열과 동일한 아미노산 서열을 지칭한다. 예시적인 천연 서열 고양잇과 Fc 영역이 도 2a에 도시되어 있고, 예를 들어, 고양잇과 IgG1a Fc 영역의 천연 서열을 포함한다.

[0036] "변이체 Fc 영역"은 본 명세서에 정의된 것과 같은 적어도 하나의 "아미노산 치환"으로 인해 천연 서열 Fc 영역 (또는 이의 단편)의 것과 상이한 아미노산 서열을 포함한다. 바람직한 실시형태에서, 변이체 Fc 영역은 천연 서열 Fc 영역 또는 모 폴리펩티드의 Fc 영역과 비교하여 적어도 하나의 아미노산 치환, 바람직하게는 천연 서열 Fc 영역 또는 모 폴리펩티드의 Fc 영역에서 1, 2, 3, 4 또는 5개 아미노산 치환을 갖는다. 대안적 실시형태에서, 변이체 Fc 영역은 본 명세서에 개시된 방법에 따라 생성될 수 있고 이 변이체 Fc 영역은 항체 가변 도메인 또는 비-항체 폴리펩티드, 예를 들어, 수용체 또는 리간드의 결합 도메인과 같은 선택된 이종 폴리펩티드에 융합될 수 있다.

[0037] 본 명세서에서 사용된 것과 같이, 폴리펩티드의 맥락에서 용어 "유도체"는 아미노산 잔기 치환의 도입에 의해 변경된 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드를 지칭한다. 본 명세서에서 사용되는 용어 "유도체"는 또한 임의의 유형의 분자의 폴리펩티드에 대한 공유 부착에 의해 변형된 폴리펩티드를 지칭한다. 예를 들어, 그러나 비제한적으로, 항체는 예를 들어 글리코실화, 아세틸화, 폐길화, 인산화, 아미드화, 공지된 보호/차단기에 의한 유도체화, 단백질분해 절단, 세포 리간드 또는 다른 단백질에 대한 연결 등에 의해 변형될 수 있다. 유도체 폴리펩티드는 특정 화학적 절단, 아세틸화, 포르밀화, 투니카마이신의 대사적 합성 등을 포함하나 이에 제한되지 않는, 당업자에게 공지된 기술을 사용하여 화학적 변형에 의해 생성될 수 있다. 또한, 유도체 폴리펩티드는 그것이 유래된 폴리펩티드와 유사하거나 동일한 기능을 보유한다. 본 발명의 변이체 Fc 영역을 포함하는 폴리펩티드는 본 명세서에 정의된 유도체일 수 있으며, 바람직하게는 유도체화가 Fc 영역 내에서 일어나는 것으로 이해된다.

[0038] 폴리펩티드(예를 들어, Fc 영역 또는 모노클로날 항체)와 관련하여 본 명세서에 사용된 "실질적으로 고양잇과 유래"는 폴리펩티드가 천연 고양잇과 아미노 폴리펩티드의 것과 적어도 80%, 적어도 85%, 보다 바람직하게는 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94% 또는 보다 더 바람직하게는 적어도 95%, 95%, 97%, 98% 또는 99% 상동성인 아미노산 서열을 갖는다는 것을 나타낸다.

[0039] 용어 "Fc 수용체" 또는 "FcR"은 Fc 영역(예를 들어, 항체의 Fc 영역)에 결합하는 수용체를 기술하기 위해 사용된다. 바람직한 FcR은 천연 서열 FcR이다. 더욱이, 바람직한 FcR은 IgG 항체(감마 수용체)에 결합하는 것이고, 이들 수용체의 대립형질 변이체 및 대안적으로 스플라이싱된 형태를 포함하는 Fc 감마 RI, Fc 감마 RII, Fc 감마 RIII 서브클래스의 수용체를 포함한다. 다른 바람직한 FcR은 태아로의 모체 IgG의 전달을 담당하는 신생아



수용체인 FcRn을 포함한다(Guyer 등의 문헌[J. Immunol. 117:587(1976)] 및 Kim 등의 문헌[J. Immunol. 24:249(1994)]) 미래에 확인될 것을 포함하는 다른 FcR이 본 명세서에서 용어 "FcR"에 포괄된다.

[0040] 문구 "항체-의존적 세포-매개된 세포독성" 및 "ADCC"는 FcR을 발현하는 비특이적 세포독성 세포(예를 들어, 비 특이적)(예를 들어, 자연 살해("NK") 세포, 호중구 및 대식세포)가 표적 세포에 결합된 항체를 인식하고 후속적으로 표적 세포의 용리를 야기하는 세포-매개된 반응을 지칭한다. ADCC를 매개하기 위한 일차 세포인 NK 세포는 Fc 감마 RIII만을 발현하는 반면, 단핵구는 Fc 감마 RI, Fc 감마 RII 및 Fc 감마 RIII를 발현한다.

[0041] 본 명세서에서 사용된 것과 같이, 문구 "이펙터 세포"는 하나 이상의 FcR을 발현하고 이펙터 기능을 수행하는 백혈구(바람직하게는 고양잇과)를 지칭한다. 바람직하게는, 세포는 적어도 Fc 감마 RIII를 발현하고 ADCC 이펙터 기능을 수행한다. ADCC를 매개하는 백혈구의 예는 PBMC, NK 세포, 단핵구, 세포독성 T 세포 및 호중구를 포함한다. 이펙터 세포는 천연 공급원으로부터 (예를 들어, 혈액 또는 PBMC로부터) 분리될 수 있다.

[0042] "변경된" FcRn 결합 친화도를 갖는 변이체 폴리펩티드는 변이체의 모 폴리펩티드 또는 pH 6.0에서 측정시 천연 Fc 영역을 포함하는 폴리펩티드에 비하여 증강되거나(즉, 증가되거나, 더 크거나 더 높은) 또는 약화된(즉, 감소된, 줄은 또는 더 작은) FcRn 결합 친화도를 갖는 것이다. FcRn에 대한 증가된 결합 또는 증가된 결합 친화도를 나타내는 변이체 폴리펩티드는 모 폴리펩티드보다 더 큰 친화도로 FcRn에 결합한다. FcRn에 대한 감소된 결합 또는 감소된 결합 친화도를 나타내는 변이체 폴리펩티드는 그의 모 폴리펩티드보다 낮은 친화도로 FcRn에 결합한다. FcRn에 대한 감소된 결합을 나타내는 이러한 변이체는 FcRn에 대한 적거나 전혀 인식할 수 없는 결합, 예를 들어 모 폴리펩티드와 비교하여 FcRn에 대한 0~20% 결합을 보유할 수 있다. 그의 모 폴리펩티드와 비교하여 "증강된 친화도"로 FcRn에 결합하는 변이체 폴리펩티드는 결합 검정에서 변이체 폴리펩티드와 모 폴리펩티드의 양이 본질적으로 동일하고, 다른 모든 조건이 동일한 경우, 모 폴리펩티드보다 더 높은 결합 친화도로 FcRn에 결합하는 것이다. 예를 들어, 증강된 FcRn 결합 친화도를 갖는 변이체 폴리펩티드는 모 폴리펩티드와 비교하여 FcRn 결합 친화도에서 약 1.10배 내지 약 100배(더 통상적으로는 약 1.2배 내지 약 50배) 증가를 나타낼 수 있고, 여기서 FcRn 결합 친화도는, 예를 들어, ELISA 검정 또는 당업자가 이용할 수 있는 다른 방법에서 결정된다.

[0043] 본 명세서에 사용된 것과 같이, "아미노산 치환"은 주어진 아미노산 서열에서 적어도 하나의 기존 아미노산 잔기를 다른 상이한 "대체" 아미노산 잔기로의 대체를 지칭한다. 대체 잔기 또는 잔기들은 "자연적으로 발생하는 아미노산 잔기"(즉, 유전자 코드에 의해 인코딩됨)일 수 있고 알라닌(Ala); 아르기닌(Arg); 아스파라긴(Asn); 아스파르트산(Asp); 시스테인(Cys); 글루타민(Gln); 글루탐산(Glu); 글리신(Gly); 히스티딘(His); 이소류신(Ile); 류신(Leu); 라이신(Lys); 메티오닌(Met); 페닐알라닌(Phe); 프롤린(Pro); 세린(Ser); 트레오닌(Thr); 트립토판(Trp); 티로신(Tyr); 및 발린(Val)으로부터 선택된다. 하나 이상의 비-자연적으로 발생하는 아미노산 잔기로의 치환은 또한 본 명세서에서 아미노산 치환의 정의에 의해 포괄된다. "비-자연적으로 발생하는 아미노산 잔기"는 폴리펩티드 사슬에서 인접한 아미노산 잔기(들)에 공유적으로 결합할 수 있는, 위에서 열거된 이들 자연적으로 발생하는 아미노산 잔기 이외의 잔기를 지칭한다. 비-자연적으로 발생하는 아미노산 잔기의 예는 노르류신, 오르니틴, 노르발린, 호모세린 및 기타 아미노산 잔기 유사체, 예컨대 Ellman 등의 문헌[Meth. Enzym. 202: 301-336(1991)]에 기술된 것들을 포함한다.

[0044] 용어 "검정 신호"는 비색 검정, 형광 강도 또는 분당 붕해(disintegration)로부터의 흡광도 측정을 포함하나 이에 제한되지 않는 단백질-단백질 상호작용을 검출하는 임의의 방법으로부터의 출력을 지칭한다. 검정 형식에는 ELISA, facs, 또는 기타 방법이 포함될 수 있다. "검정 신호"에서의 변화는 세포 생존율에서의 변화 및/또는 키네틱 오프-레이트(kinetic off-rate), 키네틱 온-레이트(kinetic on-rate) 또는 둘 모두에서의 변화를 반영할 수 있다. "더 높은 검정 신호"는 측정된 출력 숫자가 다른 숫자보다 큰 것을 지칭한다(예를 들어, 변이체는 모 폴리펩티드와 비교하여 ELISA 검정에서 더 높은(더 큰) 측정된 숫자를 가질 수 있음). "더 낮은" 검정 신호는 측정된 출력 숫자가 다른 숫자보다 작은 것을 지칭한다(예를 들어, 변이체는 모 폴리펩티드와 비교하여 ELISA 검정에서 더 낮은(더 작은) 측정된 숫자를 가질 수 있음).

[0045] 용어 "결합 친화도"는 각각의 Fc 수용체-Fc 결합 상호작용과 연관된 평형 해리 상수(농도의 단위로 표현됨)를 지칭한다. 결합 친화도는 키네틱 온-레이트(일반적으로 단위 시간당 농도의 단위로 보고됨, 예를 들어, 몰/초)에 의해 나누어진 키네틱 오프-레이트(일반적으로 역 시간의 단위로 보고됨, 예를 들어, 초<sup>-1</sup>)의 비에 직접적으로 관련된다. 일반적으로, 평형 해리 상수에서의 변화가 온-레이트, 오프-레이트 또는 둘 모두에서의 차이로 인한 것인지 여부는 이들 파라미터 각각이 (예를 들어, BIACORE 또는 SAPIDYNE 측정에 의해) 실험적으로 결정되지 않는 한 명확하게 기술하는 것이 가능하지 않다.

- [0046] 본 명세서에서 사용된 것과 같이, 용어 "힌지 영역"은, 예를 들어, (예를 들어, 고양잇과 IgG1a의 위치 216에서 위치 230까지 스트레칭하는) 고양잇과 IgG1a에서 아미노산의 스트레치를 지칭한다. 다른 IgG 이소타입(isotype)의 힌지 영역은 중쇄-간 이황화(S-S) 결합을 형성하는 첫 번째 및 마지막 시스테인 잔기를 동일한 위치에 배치함으로써 IgG 서열과 정렬될 수 있다.
- [0047] "Clq"는 면역글로불린의 Fc 영역에 대한 결합 부위를 포함하는 폴리펩티드다. Clq는 2개의 세린 프로테아제인 Clr 및 Cls와 함께 CDC 경로의 제1 성분인 복합체 C1을 형성한다.
- [0048] 본 명세서에서 사용된 것과 같이, 용어 "항체"는 "면역글로불린" 또는 "Ig"와 상호교환적으로 사용되고, 가장 넓은 의미로 사용되어 구체적으로 모노클로날 항체(전장 모노클로날 항체 포함), 폴리클로날 항체, 다중특이적 항체(예를 들어, 이중특이적 항체) 및 원하는 생물학적 활성 또는 기능적 활성을 나타내는 한 항체 단편을 포함한다. 상이한 종으로부터 유래된 부분을 포함하는 단일 사슬 항체 및 키메라, 고양잇과 또는 고양잇과화된 항체 뿐만 아니라 키메라 또는 CDR-그래프팅된 단일 사슬 항체 등 또한 본 발명 및 용어 "항체"에 포괄된다. 이들 항체의 다양한 부분은 통상적인 기술에 의해 화학적으로, 합성적으로 함께 연결될 수 있거나, 유전 공학 기술을 사용하여 인접 단백질로서 제조될 수 있다. 예를 들어, 키메라 또는 고양잇과화된 사슬을 인코딩하는 핵산은 인접 단백질을 생산하기 위해 발현될 수 있다. 예를 들어, 미국 특허 번호 제4,816,567호; 미국 특허 번호 제4,816,397호; 국제 공개 번호 제86/01533호; 미국 특허 번호 제5,225,539호; 및 미국 특허 번호 제5,585,089호 및 제5,698,762호를 참조한다. 또한, 영양류화된 항체에 관하여, Newman, R 등의 문헌[BioTechnology, 10:1455-1460, 1993] 및 단일 사슬 항체에 관하여, Ladner 등의 미국 특허 번호 제4,946,778호 및 Bird, R. E. 등의 문헌[Science, 242:423-426, 1988]를 참조한다. Fc 영역(또는 이의 일부)을 포함하는 항체의 모든 형태는 본 명세서에서 "항체"라는 용어 내에 포괄되는 것으로 이해된다. 또한, 항체는 당업계에 공지된 방법에 따라 검출 가능한 표지로 표지되고, 고체 상에 고정되고/되거나 이중 화합물(예를 들어, 효소 또는 독소)과 접합될 수 있다.
- [0049] 본 명세서에 사용된 것과 같이, 용어 "항체 단편"은 온전한 항체의 일부를 지칭한다. 항체 단편의 예는 선형 항체; 단일-사슬 항체 분자; Fc 또는 Fc' 펩티드, Fab 및 Fab 단편, 및 항체 단편으로부터 형성된 다중특이적 항체를 포함하지만, 이에 제한되지 않는다. 항체 단편은 바람직하게는 힌지의 적어도 일부 및 선택적으로 IgG 중쇄의 CH1 영역을 보유한다. 다른 바람직한 실시형태에서, 항체 단편은 CH2 영역의 적어도 일부 또는 전체 CH2 영역을 포함한다.
- [0050] 본 명세서에서 사용된 것과 같이, 용어 "기능적 단편"은 모노클로날 항체와 관련하여 사용될 때, 여전히 기능적 활성을 유지하는 모노클로날 항체의 일부를 지칭하도록 의도된다. 기능적 활성은, 예를 들어, 항원 결합 활성 또는 특이성, 수용체 결합 활성 또는 특이성, 이펙터 기능 활성 등일 수 있다. 모노클로날 항체 기능적 단편은, 예를 들어, VL, VH 및 Fd와 같은 개별 중쇄 또는 경쇄 및 이의 단편; Fv, Fab, 및 Fab'와 같은 1가 단편; F(ab')<sub>2</sub>와 같은 2가 단편; 단일 사슬 Fv(scFv); 및 Fc 단편을 포함한다. 이러한 용어는, 예를 들어, Harlow와 Lane의 문헌[Antibodies: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory, New York(1989)]; [Molec. Biology and Biotechnology: A Comprehensive Desk Reference(Myers, R. A. (편집), New York: VCH Publisher, Inc.)]; Huston 등의 문헌[Cell Biophysics, 22:189-224(1993); Pluckthun 및 Skerra, Meth. Enzymol., 178:497-515 (1989)] 및 Day, E. D의 문헌[Advanced Immunocytochemistry, 2판, Wiley-Liss, Inc., New York, N.Y. (1990)]에 기술되어 있다. 용어 기능적 단편은, 예를 들어, 프로테아제 소화 또는 모노클로날 항체의 환원에 의해 그리고 당업자에게 공지된 재조합 DNA 방법에 의해 생성된 단편을 포함하는 것으로 의도된다.
- [0051] 본 명세서에서 사용된 것과 같이, 용어 "단편"은 다른 폴리펩티드의 아미노산 서열의 적어도 5, 15, 20, 25, 40, 50, 70, 90, 100개 이상의 연속 아미노산 잔기의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드를 지칭한다. 바람직한 실시형태에서, 폴리펩티드의 단편은 전장 폴리펩티드의 적어도 하나의 기능을 보유한다.
- [0052] 본 명세서에서 사용된 것과 같이, 용어 "키메라 항체"는 1가, 2가 또는 다가 면역글로불린을 포함한다. 1가 키메라 항체는 키메라 경쇄와 이황화 다리를 통해 연관된 키메라 중쇄에 의해 형성된 이량체이다. 2가 키메라 항체는 적어도 하나의 이황화 다리를 통해 연관된 2개 중쇄-경쇄 이량체에 의해 형성된 사량체이다. 고양잇과에서 사용하기 위한 항체의 키메라 중쇄는 CH1 또는 CH2와 같은 고양잇과 중쇄 불변 영역의 적어도 일부에 연결된 비-고양잇과 항체의 중쇄로부터 유래된 항원-결합 영역을 포함한다. 고양잇과에서 사용하기 위한 항체의 키메라 경쇄는 고양잇과 경쇄 불변 영역(CL)의 적어도 일부에 연결된 비-고양잇과 항체의 경쇄로부터 유래된 항원 결합 영역을 포함한다. 동일하거나 상이한 가변 영역 결합 특이성의 키메라 중쇄 및 경쇄를 갖는 항체, 단편 또는 유도체는 또한 공지된 방법 단계에 따라 개별 폴리펩티드 사슬의 적절한 회합에 의해 제조될 수 있다. 이 접근법

으로, 키메라 중쇄를 발현하는 숙주를 키메라 경쇄를 발현하는 숙주와 별도로 배양하고, 면역글로불린 사슬을 별도로 회수한 다음 회합시킨다. 대안적으로, 숙주는 공동-배양될 수 있고 사슬이 배양 배지에서 자발적으로 회합되도록 허용된 후, 어셈블링된 면역글로불린 또는 단편 또는 둘 모두의 회수에 의해 중쇄 및 경쇄가 동일한 숙주 세포에서 발현될 수 있다. 키메라 항체를 생산하는 방법은 당업계에 잘 알려져 있다(예를 들어, 미국 특허 번호 제6,284,471호; 제5,807,715호; 제4,816,567호; 및 제4,816,397호 참조).

[0053] 본 명세서에서 사용된 것과 같이, "고양잇과화된" 형태의 비-고양잇과(예를 들어, 뮤어라인(murine)) 항체(즉, 고양잇과화된 항체)는 비-고양잇과 면역글로불린으로부터 유래된 최소 서열을 함유하거나 서열이 없는 항체이다. 대부분의 경우, 고양잇과화된 항체는 수용체의 추가 변 영역으로부터의 잔기가 원하는 특이성, 친화도 및 능력을 갖는 생쥐, 쥐, 토끼, 인간 또는 인간 외의 영장류와 같은 비-고양잇과 종의 추가 변 영역(공여자 항체)으로부터의 잔기로 대체된 고양잇과 면역글로불린(수용체 항체)이다. 일부 경우에, 고양잇과 면역글로불린의 프레임워크 영역(FR) 잔기는 상응하는 비-고양잇과 잔기로 대체된다. 또한, 고양잇과화된 항체는 수용체 항체 또는 공여자 항체에서 발견되지 않는 잔기를 포함할 수 있다. 이들 변형은 일반적으로 항체 성능을 추가로 개선하기 위해 이루어진다. 일반적으로, 고양잇과화된 항체는 적어도 하나, 및 통상적으로 2개의 가변 도메인을 실질적으로 모두 포함할 것이며, 여기서 모든 또는 실질적으로 모든 추가 변 루프(CDR)는 비-고양잇과 면역글로불린의 것에 상응하고 모든 또는 실질적으로 모든 FR 잔기는 고양잇과 면역글로불린 서열의 것이다. 고양잇과화된 항체는 또한 면역글로불린 불변 영역(Fc)의 적어도 일부, 통상적으로 고양잇과 면역글로불린의 것을 포함할 수 있다.

[0054] 본 명세서에서 사용된 것과 같이, 용어 "이뮤노아드헤신(immunoadhesin)"은 이종 "아드헤신" 단백질(예를 들어, 수용체, 리간드 또는 효소)의 결합 도메인을 면역글로불린 불변 도메인과 조합시키는 항체-유사 분자를 지칭한다. 구조적으로, 이뮤노아드헤신은 면역글로불린 불변 도메인 서열을 갖는 항체(즉, "이종"임)의 항원 인식 및 결합 부위(항원 조합 부위) 이외의 원하는 결합 특이성을 갖는 아드헤신 아미노산 서열의 융합을 포함한다.

[0055] 본 명세서에서 사용된 것과 같이, 용어 "리간드 결합 도메인"은 상응하는 천연 수용체의 적어도 정성적 리간드 결합 능력을 보유하는 임의의 천연 수용체 또는 임의의 영역 또는 이의 유도체를 지칭한다. 특정 실시형태에서, 수용체는 면역글로불린 슈퍼유전자패밀리의 구성원에 상동인 세포의 도메인을 갖는 세포-표면 폴리펩티드로부터의 것이다. 면역글로불린 슈퍼유전자패밀리의 구성원은 아니지만 그럼에도 불구하고 이 정의에 의해 구체적으로 포괄되는 다른 수용체는 사이토카인에 대한 수용체, 그리고 특히 티로신 키나제 활성을 갖는 수용체(수용체 티로신 키나제), 헤마토포이에틴(hematopoietin) 및 신경 성장 인자 수용체 슈퍼패밀리의 구성원, 및 세포 부착 분자(예를 들어, E-, L- 및 P-셀렉틴)이다.

[0056] 본 명세서에서 사용된 것과 같이, 용어 "수용체 결합 도메인"은, 예를 들어, 세포 부착 분자, 또는 상응하는 천연 리간드의 적어도 질적 수용체 결합 능력을 보유하는 이러한 천연 리간드의 임의의 영역 또는 유도체를 포함하는 수용체에 대한 임의의 천연 리간드를 지칭한다.

[0057] 본 명세서에서 사용된 것과 같이, "단리된" 폴리펩티드는 그의 자연 환경의 성분으로부터 식별 및 분리 및/또는 회수된 것이다. 그 자연 환경의 오염 성분은 폴리펩티드에 대한 진단 또는 치료 용도를 방해하는 물질이고, 효소, 호르몬 및 기타 단백질성 또는 비-단백질성 용질을 포함할 수 있다. 특정 실시형태에서, 단리된 폴리펩티드는 (1) Lowry 방법에 의해 결정된 폴리펩티드의 95 중량% 초과, 그리고 바람직하게는 99 중량% 초과로, (2) 스피닝 컵 시퀀네이터의 사용에 의한 N-말단 또는 내부 아미노산 서열의 적어도 15개 잔기를 획득하기에 충분한 정도로, 또는 (3) 쿠마시 블루(Coomassie blue) 또는 은 염색을 사용한 환원 또는 비환원 조건 하에서 SDS-page에 의한 균질성으로 정제된다. 단리된 폴리펩티드는 폴리펩티드의 자연 환경의 적어도 하나의 성분이 존재하지 않을 것이기 때문에 재조합 세포 내의 제자리에서 폴리펩티드를 포함한다. 그러나, 통상적으로 단리된 폴리펩티드는 적어도 하나의 정제 단계에 의해 제조될 것이다.

[0058] 본 명세서에서 사용된 것과 같이, 용어 "장애" 및 "질환"은 만성 및 급성 장애 또는 질환(예를 들어, 환자가 특정 장애에 걸리기 쉬운 병리학적 상태)을 포함하는, 변이체 폴리펩티드(발명의 변이체 Fc 영역을 포함하는 폴리펩티드)로 치료함으로써 이익을 얻을 수 있는 임의의 상태를 지칭하기 위해 상호교환적으로 사용된다.

[0059] 본 명세서에서 사용된 것과 같이, 용어 "수용체"는 적어도 하나의 리간드에 결합할 수 있는 폴리펩티드를 지칭한다. 바람직한 수용체는 세포의 리간드-결합 도메인 및 선택적으로 다른 도메인(예를 들어, 막횡단 도메인, 세포내 도메인 및/또는 막 앵커)을 갖는 세포-표면 또는 가용성 수용체이다. 본 명세서에 기재된 검정에서 평가될 수용체는 온전한 수용체 또는 이의 단편 또는 유도체(예를 들어, 하나 이상의 이종 폴리펩티드에 융합된 수용체의 결합 도메인을 포함하는 융합 단백질)일 수 있다. 또한, 그의 결합 특성에 대해 평가될 수용체는 세포에 존



재하거나 단리되고 선택적으로 검정 플레이트 또는 일부 다른 고체 상에 코팅되거나 직접 표지되고 프로브로 사용될 수 있다.

[0060] 고양잇과 야생형 IgG

[0061] 고양잇과 IgG는 당업계에 잘 알려져 있고, 예를 들어 Strietzel 등의 문헌(2014)[*Vet Immunol Immunopathol*, 158(3-4)권, 페이지 214-223]에 자세히 기술되어 있다. 일 실시형태에서, 고양잇과 IgG는 IgG<sub>1a</sub>이다. 다른 실시형태에서, 고양잇과 IgG는 IgG<sub>1b</sub>이다. 또 다른 실시형태에서, 고양잇과 IgG는 IgG<sub>2</sub>이다. 특정 실시형태에서, 고양잇과 IgG는 IgG<sub>1a</sub>이다.

[0062] IgG<sub>1a</sub>, IgG<sub>1b</sub>, 및 IgG<sub>2</sub>의 아미노산 및 핵산 서열은 당업계에 잘 알려져 있다.

[0063] 일 예에서, 발명의 IgG는 불변 도메인, 예를 들어, CH1, CH2, 또는 CH3 도메인, 또는 이들의 조합을 포함한다. 다른 예에서, 발명의 불변 도메인은, 예를 들어 CH2 또는 CH3 도메인 또는 이들의 조합을 포함하는 Fc 영역을 포함한다.

[0064] 특정 예에서, 야생형 불변 도메인은 서열번호 3에 제시된 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, 야생형 IgG 불변 도메인은 서열번호 3의 상동체, 변이체, 이성질체, 또는 기능적 단편이지만, 위치 428 또는 434에서 돌연변이는 없다. 각각의 가능성은 본 발명의 별개의 실시형태를 나타낸다.

[0065] IgG 불변 도메인은 또한 중쇄 및/또는 경쇄의 아미노산 서열과 실질적으로 유사한 아미노산 서열을 갖는 폴리펩티드를 포함한다. 실질적으로 동일한 아미노산 서열은 Pearson 및 Lipman, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85:2444-2448(1988)에 따른 FASTA 검색 방법에 의해 결정된 것과 같이, 비교된 아미노산 서열에 대해 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% 또는 99% 동일성을 갖는 서열로서 본 명세서에서 정의된다.

[0066] 본 발명은 또한 본 명세서에 기재된, IgG 또는 이의 일부를 인코딩하는 핵산 분자를 포함한다. 일 실시형태에서, 핵산은, 예를 들어, CH1, CH2, CH3 영역, 또는 이들의 조합을 포함하는 항체 중쇄를 인코딩할 수 있다. 다른 실시형태에서, 핵산은, 예를 들어, VH 영역 중 임의의 하나 또는 이의 일부, 또는 이의 임의의 변이체를 포함하는 VH CDR 중 임의의 하나를 포함하는 항체 중쇄를 인코딩할 수 있다. 본 발명은 또한, 예를 들어, CL 영역 중 임의의 하나 또는 이의 일부, VL 영역 중 임의의 하나 또는 이의 일부 또는 이의 임의의 변이체를 포함하는 VL CDR 중 임의의 하나를 포함하는 항체 경쇄를 인코딩하는 핵산 분자를 포함한다. 특정 실시형태에서, 핵산은 중쇄 및 경쇄 둘 모두, 또는 이의 일부를 인코딩한다.

[0067] 서열번호 3에 제시된 야생형 불변 도메인의 아미노산 서열은 서열번호 4에 제시된 핵산 서열에 의해 인코딩된다.

[0068] 변형된 고양잇과 IgG

[0069] 본 출원의 발명자들은 위치 428 또는 434의 아미노산 잔기 세린(Ser 또는 S)을 다른 아미노산으로 치환하는 것이 놀랍게도, 그리고 뜻밖에도 FcRn에 대한 친화도를 증가시키고 IgG의 반감기를 증가시킨다는 것을 발견하였다. 본 명세서에 사용된 것과 같이, 용어, 위치 428 또는 위치 434는 카밧에서와 같은 EU 색인에 따라 넘버링된 위치를 지칭한다(Kabat 등의 문헌[*Sequences of Proteins of Immunological Interest*, 5판, Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md. (1991)]).

[0070] 따라서, 일 실시형태에서, 본 발명은 야생형 고양잇과 IgG 불변 도메인에 비해 적어도 하나의 아미노산 치환을 포함하는 고양잇과 IgG 불변 도메인을 포함하는 변형된 IgG를 제공하되, 상기 치환은 카밧에서와 같이 EU 색인에 따라 넘버링된, 아미노산 잔기 428에서 이루어진다. 위치 428의 세린은 임의의 다른 아미노산으로 치환될 수 있다. 예를 들어, 위치 428의 세린은 류신(즉, S428L), 아스파라긴(즉, S428N), 알라닌(즉, S428A), 페닐알라닌(즉, S428F), 글리신(즉, S428G), 이소류신(즉, S428I), 라이신(즉, S428K), 히스티딘(즉, S428H), 메티오닌(즉, S428M), 글루타민(즉, S428Q), 아르기닌(즉, S428R), 트레오닌(즉, S428T), 발린(즉, S428V), 트립토판(즉, S428W), 티로신(즉, S428Y), 시스테인(즉, S428C), 아스파르트산(즉, S428D), 글루탐산(즉, S428E), 또는 프롤린(즉, S428P)으로 치환될 수 있다. 특정 실시형태에서, 치환은 류신으로의 치환(즉, S428L)이다.

[0071] 특정 예에서, 발명의 돌연변이체 불변 도메인은 서열번호 1에 제시된 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, 돌연변이체 IgG 불변 도메인은 서열번호 1의 상동체, 변이체, 이성질체, 또는 기능적 단편이지만, 위치 428에 돌연변이가 있다. 각각의 가능성은 본 발명의 별개의 실시형태를 나타낸다.

- [0072] 서열번호 1에 제시된 돌연변이체 불변 도메인의 아미노산 서열은 그 상응하는 돌연변이체 핵산 서열, 예를 들어, 서열번호 4에 제시된 핵산 서열의 돌연변이체 형태에 의해 인코딩된다.
- [0073] 다른 실시형태에서, 발명은 변형된 IgG로서, 야생형 고양잇과 IgG 불변 도메인에 비해 적어도 하나의 아미노산 치환을 포함하는 고양잇과 IgG 불변 도메인을 포함하되, 상기 치환은 카뱃에서와 같이 EU 색인에 따라 넘버링된, 아미노산 잔기 434에서 이루어진다. 위치 434의 세린은 임의의 다른 아미노산으로 치환될 수 있다. 예를 들어, 위치 434의 세린은 히스티딘(즉, S434H), 아스파라긴(즉, S434N), 알라닌(즉, S434A), 페닐알라닌(즉, S434F), 글리신(즉, S434G), 이소류신(즉, S434I), 라이신(즉, S434K), 류신(즉, S434L), 메티오닌(즉, S434M), 글루타민(즉, S434Q), 아르기닌(즉, S434R), 트레오닌(즉, S434T), 발린(즉, S434V), 트립토판(즉, S434W), 티로신(즉, S434Y), 시스테인(즉, S434C), 아스파르트산(즉, S434D), 글루탐산(즉, S434E), 또는 프롤린(즉, S434P)으로 치환될 수 있다. 특정 실시형태에서, 치환은 히스티딘으로의 치환(즉, S434H)이다.
- [0074] 특정 예에서, 발명의 돌연변이체 불변 도메인은 서열번호 2에 제시된 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, 돌연변이체 IgG 불변 도메인은 서열번호 2의 상동체, 변이체, 이성질체, 또는 기능적 단편이지만, 위치 434에 돌연변이가 있다. 각각의 가능성은 본 발명의 별개의 실시형태를 나타낸다.
- [0075] 서열번호 2에 제시된 돌연변이체 불변 도메인의 아미노산 서열은 그 상응하는 돌연변이체 핵산 서열, 예를 들어, 서열번호 4에 제시된 핵산 서열의 돌연변이체 형태에 의해 인코딩된다.
- [0076] 일부 실시형태에서, 고양잇과 IgG 불변 도메인은 각각 428 및 434 위치 모두의 세린의 류신 및 히스티딘으로의 치환을 포함한다.
- [0077] 발명의 변형된 IgG는 약 8일 내지 약 26일 범위의 기간에 대한 반감기를 제공한다. 일 실시형태에서, 발명의 변형된 IgG는 약 10, 12, 15, 17, 20, 23, 또는 26일에 대한 반감기를 제공한다. 특정 실시형태에서, 발명의 변형된 IgG는 약 10일 초과에 대한 반감기를 제공한다.
- [0078] 발명의 항체 분자를 제조하는 방법
- [0079] 항체 분자를 제조하는 방법은 당업계에 잘 알려져 있고 미국 특허 번호 제8,394,925호; 제8,088,376호; 제8,546,543호; 제10,336,818호; 및 제9,803,023호 및 미국 특허 출원 공개 번호 제20060067930에 자세히 기술되어 있으며, 이는 그 전체가 본 명세서에 참고로 포함된다. 당업자에게 공지된 임의의 적합한 방법, 프로세스 또는 기술이 사용될 수 있다. 발명의 변이체 Fc 영역을 갖는 항체 분자는 당업계에 잘 알려진 방법에 따라 생성될 수 있다. 일부 실시형태에서, 변이체 Fc 영역은 수용체 또는 리간드의 항체 가변 도메인 또는 결합 도메인과 같은 선택된 이중 폴리펩티드에 융합될 수 있다.
- [0080] 분자 생물학 및 재조합 기술의 방법의 출현으로, 당업자는 재조합 수단에 의해 항체 및 항체-유사 분자를 생성할 수 있으며, 이에 의해 항체의 폴리펩티드 구조에서 발견되는 특정 아미노산 서열을 코딩하는 유전자 서열을 생성할 수 있다. 이러한 항체는 상기 항체의 폴리펩티드 사슬을 인코딩하는 유전자 서열을 클로닝하거나, 합성된 사슬의 어셈블리로 특정 에피토프 및 항원 결정기에 친화도를 갖는 활성 사량체(H2L2) 구조를 형성하는 상기 폴리펩티드 사슬의 직접 합성에 의해 생성될 수 있다. 이것은 상이한 종 및 공급원으로부터 항체를 중화시키는 것을 특징으로 하는 서열을 갖는 항체의 용이한 생산을 가능하게 하였다.
- [0081] 항체의 공급원, 또는 항체가 재조합적으로 구성되는 방식, 또는 시험관내 또는 생체내에서, 형질전환 동물, 실험실 또는 상업적 크기의 큰 세포 배양물을 사용하거나, 형질전환 식물을 사용하거나 또는 프로세스의 임의의 단계에서 살아있는 유기체를 이용하지 않는 직접적인 화학적 합성에 의해 합성되는 방식에 관계없이, 모든 항체는 유사한 전체 3차원 구조를 갖는다. 이 구조는 종종 H2L2로 주어지고 항체가 일반적으로 2개의 경쇄(L) 아미노산 사슬과 2개의 중쇄(H) 아미노산 사슬을 포함한다는 사실을 지칭한다. 두 사슬 모두 구조적으로 상보적인 항원 표적과 상호작용할 수 있는 영역을 갖는다. 표적과 상호작용하는 영역은 "가변" 또는 "V" 영역으로 지칭되고 상이한 항원 특이성의 항체와 아미노산 서열에서의 차이를 특징으로 한다. H 또는 L 사슬의 가변 영역은 항원 표적에 특이적으로 결합할 수 있는 아미노산 서열을 함유한다.
- [0082] 본 명세서에서 사용된 것과 같이, 용어 "항원 결합 영역"은 항원과 상호작용하고 항체에 항원에 대한 그 특이성 및 친화성을 부여하는 아미노산 잔기를 함유하는 항체 분자의 그 부분을 지칭한다. 항체 결합 영역은 항원-결합 잔기의 적절한 형태를 유지하는 데 필요한 "프레임워크" 아미노산 잔기를 포함한다. 항원 결합 영역을 제공하는 H 또는 L 사슬의 가변 영역 내에는, 상이한 특이성의 항체 사이에서 이의 극도의 가변성 때문에 "초가변성"이라고 불리는 더 작은 서열이 있다. 이러한 초가변성 영역은 "상보성 결정 영역" 또는 "CDR" 영역으로도 지칭된다.

이들 CDR 영역은 특정 항원 결정기 구조에 대한 항체의 기본적 특이성을 설명한다.

- [0083] CDR은 가변 영역 내의 아미노산의 비-연속적인 스트레치를 나타내지만, 중에 관계없이 가변 중쇄 및 경쇄 영역 내의 이들 중요한 아미노산 서열의 위치적 위치는 가변 사슬의 아미노산 서열 내에 유사한 위치를 갖는 것으로 밝혀졌다. 모든 항체의 가변 중쇄 및 경쇄는 각각 3개의 CDR 영역을 가지며, 각각은 다른 영역과 비-인접성이다. 모든 포유동물 중에서, 항체 펩티드는 불변(즉, 고도로 보존된) 영역과 가변 영역을 함유하고, 후자 내에는 CDR 및 CDR 외부가 아닌 중쇄 또는 경쇄의 가변 영역 내에 아미노산 서열로 구성된 소위 "프레임워크 영역"이 있다.
- [0084] 본 발명은 위에서 기재된 핵산 중 적어도 하나를 포함하는 벡터를 추가로 제공한다. 유전자 코드는 퇴화성이기 때문에 특정 아미노산을 인코딩하는 데 하나 초과 코돈이 사용될 수 있다. 유전자 코드를 사용하여 하나 이상의 상이한 뉴클레오타이드 서열이 식별될 수 있으며, 이들 각각은 아미노산을 인코딩할 수 있다. 특정 올리고뉴클레오타이드가 실제로 실제 인코딩 서열을 구성할 확률은 비정상적인 염기 페어링 상관관계 및 특정 코돈이 항체 또는 일부를 발현하는 진핵 또는 원핵 세포에서 (특정 아미노산을 인코딩하기 위해) 실제로 사용되는 빈도를 고려하여 추정될 수 있다. 이러한 "코돈 사용 규칙"은 Lathe 등의 문헌[183 J. Molec. Biol. 1-12(1985)]에 기술된 것들을 포함한다. Lathe의 "코돈 사용 규칙"을 사용하여, 고양잇과 IgG 서열을 인코딩할 수 있는 이론적인 "가장 가능성 있는" 뉴클레오타이드 서열을 함유하는 단일 뉴클레오타이드 서열 또는 뉴클레오타이드 서열의 세트가 식별될 수 있다. 또한 본 발명에 사용하기 위한 항체 코딩 영역은 본 명세서에 기재된 항체 및 펩티드의 변이체를 생성하는 표준 분자 생물학적 기술을 사용하여 기존 항체 유전자를 변경함에 의해 제공될 수 있음이 또한 의도된다. 이러한 변이체는 항체 또는 펩티드의 아미노산 서열에서 결실, 첨가 및 치환을 포함하지만, 이에 제한되지 않는다.
- [0085] 예를 들어, 치환의 한 부류는 보존적 아미노산 치환이다. 이러한 치환은 고양잇과 항체 펩티드에서의 주어진 아미노산을 유사한 특성의 다른 아미노산으로 치환하는 것이다. 통상적으로 보존적 치환으로 간주되는 것은 지방족 아미노산 Ala, Val, Leu 및 Ile 중에서 서로에 대한 대체; 하이드록실 잔기 Ser 및 Thr의 상호교환, 산성 잔기 Asp 및 Glu의 교환, 아미드 잔기 Asn 및 Gln 간의 치환, 염기성 잔기 Lys 및 Arg의 교환, 방향족 잔기 Phe, Tyr 중에서 대체 등이다. 어떤 아미노산 변화가 표현형으로 침묵할 가능성이 있는지에 관한 지침은 Bowie 등의 문헌[247 Science 1306-10(1990)]에서 찾을 수 있다.
- [0086] 변이체 고양잇과 항체 또는 펩티드는 완전히 기능적일 수 있거나 하나 이상의 활성에서 기능을 결할 수 있다. 완전 기능적 변이체는 통상적으로 보존적 변이 또는 비임계 잔기 또는 비임계 영역에서의 변이만을 함유한다. 또한, 기능적 변이체는 기능에 변화가 없거나 미미한 변화를 초래하는 유사한 아미노산의 치환을 함유할 수 있다. 대안적으로, 이러한 치환은 어느 정도 기능에 긍정적 또는 부정적인 영향을 미칠 수 있다. 비기능적 변이체는 통상적으로 하나 이상의 비-보존적 아미노산 치환, 결실, 삽입, 역위, 또는 절삭 또는 임계 잔기 또는 임계 영역에서 치환, 삽입, 역위 또는 결실을 포함한다.
- [0087] 기능에 필수적인 아미노산은 부위-지향된 돌연변이 유발 또는 알라닌-스캐닝 돌연변이 유발과 같은 당업계에 공지된 방법에 의해 식별될 수 있다. Cunningham 등의 문헌[244 Science 1081-85(1989)]. 후자의 절차는 분자의 모든 잔기에 단일 알라닌 돌연변이를 도입한다. 생성된 돌연변이 분자는 그 다음 에피토프 결합 또는 시험관내 ADCC 활성과 같은 생물학적 활성에 대해 시험된다. 리간드-수용체 결합에 중요한 부위는 결정학, 핵 자기 공명, 또는 광친화성 표지와 같은 구조 분석에 의해 결정될 수도 있다. Smith 등의 문헌[224 J. Mol. Biol. 899-904 (1992)]; de Vos 등의 문헌[255 Science 306-12(1992)]
- [0088] 또한, 폴리펩티드는 종종 20개의 "자연적으로 발생하는" 아미노산 이외의 아미노산을 함유한다. 또한, 말단 아미노산을 포함하는 많은 아미노산은 처리 및 기타 번역 후 변형(post-translational modifications)과 같은 자연적 프로세스에 의해서, 또는 당업계에 잘 알려진 화학적 변형 기술에 의해서 변형될 수 있다. 공지된 변형에는 아세틸화, 아실화, ADP-리보실화, 아미드화, 플라빈의 공유 부착, 헴 모이어티의 공유 부착, 뉴클레오타이드 또는 뉴클레오타이드 유도체의 공유 부착, 지질 또는 지질 유도체의 공유 부착, 포스포티달이노시톨의 공유 부착, 가교, 고리화, 이황화 결합 형성, 탈메틸화, 공유 가교의 형성, 시스틴의 형성, 피로글루타메이트의 형성, 포르밀화, 감마 카르복실화, 글리코실화, GPI 앵커 형성, 하이드록실화, 요오드화, 메틸화, 미리스토일화, 산화, 단백질분해 처리, 인산화, 프레닐화, 라세미화, 셀레노일화, 황산화, 단백질에 아미노산의 전이-RNA 매개된 첨가 예컨대 아르기닐화, 및 유비퀴틴화가 포함되지만, 이에 제한되지 않는다. 이러한 변형은 당업자에게 잘 알려져 있으며 과학 문헌에 매우 상세하게 기술되어 있다. 몇 가지 특히 일반적인 변형, 글리코실화, 지질 부착, 황산화, 글루탐산 잔기의 감마-카르복실화, 하이드록실화 및 ADP 리보실화는 예로써 [Proteins-Structure and

Molecular Properties (2판, T. E. Creighton, W. H. Freeman & Co., N.Y., 1993]와 같은 가장 기본적인 텍스트에 기술되어 있다. WoId의 문헌[Posttranslational Covalent Modification of proteins, 1-12 (Johnson, 편집, Academic Press, N.Y., 1983)]; Seifter 등의 문헌[ 182 *Meth. Enzymol* 626-46(1990)]; 및 Rattan 등의 문헌[ 663 *Ann. NY Acad. Sci.* 48-62(1992)]에 의한 것과 같이, 이 주제에 대한 많은 자세한 리뷰가 이용가능하다.

[0089] 다른 양태에서, 발명은 항체 유도체를 제공한다. 항체의 "유도체"는 일반적으로 단백질의 일부가 아닌 부가적인 화학적 모이어티를 함유한다. 단백질의 공유 변형이 본 발명의 범위 내에 포함된다. 이러한 변형은 항체의 표적화된 아미노산 잔기를 선택된 측쇄 또는 말단 잔기와 반응할 수 있는 유기 유도체화 제제와 반응시킴으로써 분자 내로 도입될 수 있다. 예를 들어, 당업계에 잘 알려진, 이작용성 제제를 사용한 유도체화는 항체 또는 단편을 수-불용성 지지체 매트릭스 또는 다른 거대분자 담체에 가교결합하는 데 유용하다.

[0090] 또한 유도체는 표지된, 방사성으로 표지된 모노클로날 항체를 포함한다. 예를 들어, 방사성 요오드(251,1311), 탄소(14C), 황(35S), 인듐, 삼중수소(H<sup>3</sup>) 등; 비오틴 또는 아비딘과 모노클로날 항체의 접합체, 양고추냉이 퍼옥시다제, 알칼리성 포스파타제, 베타-D-갈락토시다제, 글루코스 옥시다제, 글루코아밀라제, 카복실산 탈수효소, 아세틸콜린 에스테라제, 리소자임, 말산 탈수소효소 또는 글루코스 6-인산 탈수소효소와 같은 효소; 및 또한 생물발광제(예컨대 루시페라제), 화학발광제(예컨대 아크리딘 에스테르) 또는 형광제(예컨대 피코빌리 단백질)와 모노클로날 항체의 접합체.

[0091] 발명의 다른 유도체 이작용성 항체는 2개의 상이한 항원성 기를 인식하는 2개의 별도 항체의 부분을 조합함으로써 생성된 이중특이적 항체이다. 이것은 가교 또는 재조합 기술에 의해 달성될 수 있다. 또한, 모이어티는 항체 또는 이의 일부에 첨가되어 (예를 들어, 혈류로부터 제거되는 시간을 연장함으로써) 생체내 반감기를 증가시킬 수 있다. 이러한 기술은, 예를 들어, PEG 모이어티 추가하는 단계(폐길화라고도 함)를 포함하고, 당업계에 잘 알려져 있다. 미국 특허 출원 공개 번호 제20030031671호를 참조한다.

[0092] 일부 실시형태에서, 대상 항체를 인코딩하는 핵산은 숙주 세포 내로 직접적으로 도입되고, 세포는 인코딩된 항체의 발현을 유도하기에 충분한 조건 하에 인큐베이션된다. 대상 핵산이 세포 내로 도입된 후, 세포는 통상적으로 항체의 발현을 허용하기 위해 약 1-24시간의 기간 동안 일반적으로 37° C에서, 때로는 선택하에 인큐베이션된다. 일 실시형태에서, 항체는 세포가 성장하는 배지의 상등액 안으로 분비된다. 전통적으로, 모노클로날 항체는 뮤어라인 하이브리도마 계통에서 천연 분자로 생산되었다. 그 기술에 더하여, 본 발명은 항체의 재조합 DNA 발현을 제공한다. 이것은 선택한 숙주 중에서 항체뿐만 아니라 다양한 항체 유도체 및 융합 단백질의 생산을 허용한다.

[0093] 발명의 적어도 하나의 항체, 일부 또는 폴리펩티드를 인코딩하는 핵산 서열은 결찰을 위한 평활-말단 또는 지그재그-말단 말단, 적절한 말단을 제공하기 위한 제한 효소 분해, 접합성 말단의 것에 적절하게 충진하는 것, 바람직하지 않은 연결을 피하기 위한 알칼리성 포스파타제 처리, 및 적절한 리가제로 결찰을 포함하는 통상적인 기술에 따라 벡터 DNA로 재조합될 수 있다. 이러한 조작을 위한 기술이, 예를 들어, Maniatis 등의 문헌 [MOLECULAR CLONING, LAB. MANUAL, (Cold Spring Harbor Lab. Press, NY, 1982 및 1989), 및 상술한 Ausubel 등의 문헌(1993)에 의해 개시되었으며, 항체 분자 또는 이의 항원 결합 영역을 인코딩하는 핵산 서열을 구축하는데 사용될 수 있다.

[0094] DNA와 같은 핵산 분자는 전사 및 번역 조절 정보를 함유하는 뉴클레오티드 서열을 함유하고 이러한 서열이 폴리펩티드를 인코딩하는 뉴클레오티드 서열에 "작동가능하게 연결"되어 있는 경우, 폴리펩티드를 "발현할 수 있는" 것으로 언급된다. 작동가능한 연결은 조절 DNA 서열 및 발현하고자 하는 DNA 서열이 회복가능한 양의 펩티드 또는 항체 부분으로서 유전자 발현을 허용하는 방식으로 연결되는 연결이다. 유전자 발현에 필요한 조절 영역의 정확한 특성은 유사한 기술 분야에 잘 알려진 것과 같이 유기체마다 다를 수 있다. 예를 들어, 상술한 Sambrook 등(2001); 상술한 Ausubel 등(1993)을 참조한다.

[0095] 이에 따라 본 발명은 원핵 또는 진핵 세포에서 항체 또는 펩티드의 발현을 포괄한다. 적합한 숙주는 생체내 또는 현장에서 박테리아, 효모, 곤충, 진균, 조류 및 포유동물 세포를 포함한 박테리아 또는 진핵 숙주, 또는 포유동물, 곤충, 조류 또는 효모 기원의 숙주 세포를 포함한다. 포유동물 세포 또는 조직은 인간, 영장류, 햄스터, 토끼, 설치류, 소, 돼지, 양, 말, 염소, 개 또는 고양이 기원일 수 있다. 또한 당업계에 알려진 임의의 다른 적합한 포유동물 세포가 사용될 수 있다.

[0096] 일 실시형태에서, 발명의 뉴클레오티드 서열은 수용체 숙주에서 자가 복제가 가능한 플라스미드 또는 바이러스 벡터 안으로 혼입될 것이다. 이 목적을 위해 다양한 벡터 중 임의의 것이 이용될 수 있다. 예를 들어, 상술한



Ausubel 등(1993)을 참조한다. 특정 플라스미드 또는 바이러스 벡터를 선택하는 데 중요한 요소는: 벡터를 함유하는 수용체 세포가 벡터를 함유하지 않는 이들 수용체 세포로부터 인식되고 선택될 수 있는 용이성; 특정 숙주에서 원하는 벡터의 카피의 수; 및 다른 종의 숙주 세포 사이에서 벡터를 "서플링"할 수 있는 것이 바람직한지 여부를 포함한다.

- [0097] 당업계에 공지된 예시적인 원핵생물 벡터는 *대장균*에서 복제할 수 있는 것과 같은 플라스미드(예컨대, 예를 들어, pBR322, CoIE1, pSC101, pACYC 184, .pi.vX)를 포함한다. 이러한 플라스미드는, 예를 들어, 상술한 Maniatis 등(1989); 상술한 Ausubel 등(1993)에 의해 개시되었다. 바실러스 플라스미드는 pC194, pC221, pT127 등을 포함한다. 이러한 플라스미드는 Gryczan에 의해 문헌[THE MOLEC. BIO. OF THE BACILLI 307-329 (Academic Press, NY, 1982)]에서 개시되었다. 적합한 스트렙토마이세스 플라스미드는 p1J101 (Kendall 등의 문헌[169 J. Bacteriol. 4177-83(1987)]), 및 스트렙토마이세스 박테리오파지, 예컨대 pHLC31(Chater 등의 문헌[SIXTH INT'L SYMPOSIUM ON ACTINOMYCETALES BIO. 45-54 (Akademiai Kaido, Budapest, Hungary, 1986)에 나옴])을 포함한다. 슈도모나스 플라스미드는 John 등의 문헌[8 Rev. Infect. Dis. 693-704(1986)]; Izaki의 문헌[33 Jpn. J. Bacteriol. 729-42(1978)]; 및 상술한 Ausubel 등의 문헌(1993)에서 검토되어 있다.
- [0098] 대안적으로, 항체 또는 펩티드를 인코딩하는 cDNA의 발현에 유용한 유전자 발현 요소는 (a) 바이러스 전사 프로모터 및 그의 인핸서 요소, 예컨대 SV40 초기 프로모터(Okayama 등의 문헌[3 Mol. Cell. Biol. 280(1983)]), 라우스 육종 바이러스 LTR(Gorman 등의 문헌[79 Proc. Natl. Acad. Sci., USA 6777(1982)]) 및 몰로니 (Moloney) 뮤어라인 백혈병 바이러스 LTR(Grosschedl 등의 문헌[41 Cell 885(1985)]); (b) SV40 후기 영역에서 유래된 것과 같은 스플라이스 영역 및 폴리아데닐화 부위(Okayama 등(1983)), 및 (c) SV40에서와 같은 폴리아데닐화 부위(Okayama 등(1983))를 포함하지만, 이에 제한되지 않는다.
- [0099] 면역글로불린 cDNA 유전자는, Weidle 등의 문헌[51 Gene 21(1987)]에 의해 기술된 것과 같이 발현 요소로서 SV40 초기 프로모터 및 그의 인핸서, 생쥐 면역글로불린 H 사슬 프로모터 인핸서, SV40 후기 영역 mRNA 스플라이싱, 토끼 S-글로빈 개재 서열, 면역글로불린 및 토끼 S-글로빈 폴리아데닐화 부위, 및 SV40 폴리아데닐화 요소를 사용하여 발현될 수 있다. 부분 cDNA, 부분 게놈 DNA로 구성된 면역글로불린 유전자의 경우(Whittle 등의 문헌[1 Protein Engin. 499(1987)]), 전사 프로모터는 인간 사이토메갈로바이러스일 수 있고, 프로모터 인핸서는 사이토메갈로바이러스 및 생쥐/인간 면역글로불린, 및 mRNA 스플라이싱일 수 있고 폴리아데닐화 영역은 천연 염색체 면역글로불린 서열일 수 있다.
- [0100] 일 실시형태에서, 설치류 세포에서 cDNA 유전자의 발현을 위해, 전사 프로모터는 바이러스 LTR 서열이고, 전사 프로모터 인핸서는 생쥐 면역글로불린 중쇄 인핸서 및 바이러스 LTR 인핸서 중 하나 또는 둘 모두이고, 스플라이스 영역은 31bp 초과인 인트론을 함유하고, 폴리아데닐화 및 전사 종결 영역은 합성되는 면역글로불린 사슬에 상응하는 천연 염색체 서열로부터 유래된다. 다른 실시형태에서, 다른 단백질을 인코딩하는 cDNA 서열은 포유동물 세포에서 단백질의 발현을 달성하기 위해 위에서 인용된 발현 요소와 조합된다.
- [0101] 각각의 융합된 유전자는 발현 벡터에 어셈블링되거나 삽입될 수 있다. 면역글로불린 사슬 유전자 생성물을 발현할 수 있는 수용체 세포는 그 다음 펩티드 또는 H 또는 L 사슬-인코딩 유전자로 단독으로 형질감염되거나 H 및 L 사슬 유전자로 공동-형질감염된다. 형질감염된 수용체 세포는 혼입된 유전자의 발현을 허용하는 조건 하에 배양되고 발현된 면역글로불린 사슬 또는 온전한 항체 또는 단편은 배양물로부터 회수된다.
- [0102] 일 실시형태에서, 펩티드 또는 H 및 L 사슬, 또는 그의 일부를 인코딩하는 융합된 유전자는 그 다음 수용체 세포를 공동형질감염시키기 위해 사용되는 별도의 발현 벡터에서 어셈블링된다. 대안적으로, H 및 L 사슬을 인코딩하는 융합된 유전자는 동일한 발현 벡터 상에서 어셈블링될 수 있다. 발현 벡터의 형질감염 및 항체의 생산을 위해, 수용체 세포주는 골수종 세포일 수 있다. 골수종 세포는 형질감염된 면역글로불린 유전자에 의해 인코딩된 면역글로불린을 합성, 어셈블링 및 분비할 수 있고 면역글로불린의 글리코실화를 위한 메커니즘을 보유한다. 골수종 세포는 배양액 또는 생쥐의 복강에서 성장할 수 있으며, 여기서 분비된 면역글로불린은 복수액에서 수득될 수 있다. 다른 적합한 수용체 세포는 고양잇과 또는 비-고양잇과 기원의 B 림프구, 고양잇과 또는 비-고양잇과 기원의 하이브리도마 세포, 또는 중간 이중하이브리도마 세포와 같은 림프 세포를 포함한다.
- [0103] 발명의 항체 구조물 또는 폴리펩티드를 담지하는 발현 벡터는 형질전환, 형질감염, 접합, 원형질체 융합, 인산 칼슘-침전, 및 디에틸아미노에틸(DEAE) 텍스트란과 같은 폴리양이온을 사용한 적용과 같은 생화학적 수단, 및 전기천공, 직접 미세주입 및 미세발사체 충격과 같은 기계적 수단을 포함하는 다양한 적절한 수단 중 임의의 것에 의해 적절한 숙주 세포 안으로 도입될 수 있다. Johnston 등의 문헌[240 Science 1538(1988)].

- [0104] 효모는 면역글로불린 H 및 L 사슬의 생산에 대해 박테리아에 비해 실질적인 이점을 제공할 수 있다. 효모는 글리코실화를 포함한 번역-후 펩티드 변형을 수행한다. 현재 효모에서 원하는 단백질을 생산하는 데 사용할 수 있는 강력한 프로모터 서열 및 높은 카피 수 플라스미드를 활용하는 다수의 재조합 DNA 전략이 존재한다. 효모는 클로닝된 포유동물 유전자 생성물의 리더 서열을 인식하고 리더 서열을 담지하는 펩티드(즉, 프리(pre)-펩티드)를 분비한다. Hitzman 등의 문헌[11th Int'l Conference on Yeast, Genetics & Molec. Biol. (Montpellier, France, 1982)].
- [0105] 효모 유전자 발현 시스템은 펩티드, 항체, 이의 단편 및 영역의 생산, 분비 및 안정성의 수준에 대해 정기적으로 평가될 수 있다. 효모가 글루코스가 풍부한 배지에서 성장할 때 대량으로 생산되는 해당 효소를 코딩하는 활성적으로 발현된 유전자로부터 프로모터 및 종결 요소를 합체하는 일련의 효모 유전자 발현 시스템 중 임의의 것이 이용될 수 있다. 또한 알려진 해당 유전자는 매우 효율적인 전사 제어 신호를 제공할 수 있다. 예를 들어, 포스포글리세레이트 키나제(PGK) 유전자의 프로모터 및 터미네이터 신호가 이용될 수 있다. 다수의 접근방식이 효모에서 클로닝된 면역글로불린 cDNA의 발현을 위한 최적의 발현 플라스미드를 평가하기 위해 취해질 수 있다. 문헌[II권 DNA Cloning, 45-66, (Glover, 편집,) IRL Press, Oxford, UK 1985)]을 참조한다.
- [0106] 또한 박테리아 균주는 본 발명에 의해 기재된 항체 분자 또는 펩티드의 생산을 위한 숙주로서 이용될 수 있다. 숙주 세포와 호환되는 종에서 유래된 레플리콘 및 제어 서열을 함유하는 플라스미드 벡터는 이들 박테리아 숙주와 관련하여 사용된다. 벡터는 복제 부위뿐만 아니라 형질전환된 세포에서 표현형 선택을 제공할 수 있는 특정 유전자를 담지한다. 다수의 접근방식이 박테리아에서 클로닝된 면역글로불린 cDNA에 의해 인코딩된 항체, 단편 및 영역 또는 항체 사슬의 생산을 위한 발현 플라스미드를 평가하기 위해 취해질 수 있다(상술한 Glover의 문헌(1985); 상술한 Ausubel의 문헌(1993); 상술한 Sambrook의 문헌(2001); Colligan 등이 편집한 문헌 [Current Protocols in Immunology, John Wiley & Sons, NY, N.Y. (1994-2001)]; Colligan 등이 편집한 문헌 [Current Protocols in Protein Science, John Wiley & Sons, NY, N.Y. (1997-2001)]을 참조함).
- [0107] 숙주 포유동물 세포는 시험관내 또는 생체내에서 성장할 수 있다. 포유동물 세포는 리더 펩티드 제거, Hand L 사슬의 접힘 및 어셈블리, 항체 분자의 글리코실화 및 기능적 항체 단백질의 분비를 포함하는 면역글로불린 단백질 분자에 대한 번역 후 변형을 제공한다. 항체 단백질의 생산을 위한 숙주로서 유용할 수 있는 포유동물 세포는, 상술한 림프성 기원의 세포에 더하여, Vero(ATCC CRL 81) 또는 CHO-K1(ATCC CRL 61) 세포와 같은 섬유아 세포 기원의 세포를 포함한다. 포유동물 세포에서 클로닝된 펩티드 Hand L 사슬 유전자의 발현을 위해 많은 벡터 시스템이 이용가능하다(상술한 Glover(1985) 참조함). 완전한 H2L2 항체를 수득하기 위해 상이한 접근방식을 따를 수 있다. 동일한 세포에서 Hand L 사슬을 공동-발현하여 완전한 사량체 H2L2 항체 및/또는 펩티드 안으로 Hand L 사슬의 세포내 연합 및 연결을 달성하는 것이 가능하다. 공동-발현은 동일한 숙주에서 동일하거나 상이한 플라스미드를 사용함으로써 발생할 수 있다. Hand L 사슬 및/또는 펩티드 둘 모두에 대한 유전자를 동일한 플라스미드 안으로 배치할 수 있어, 그 다음 세포 안으로 형질감염되며, 이에 의해 두 사슬 모두를 발현하는 세포에 대해 직접적으로 선택할 수 있다. 대안적으로, 세포는 하나의 사슬, 예를 들어, L 사슬을 인코딩하는 플라스미드로 먼저 형질감염된 후, 생성된 세포주를 제2 선택가능 마커를 함유하는 H 사슬 플라스미드로 형질감염시킬 수 있다. 두 경로 중 하나를 통해 펩티드 및/또는 H2L2 분자를 생산하는 세포주는 어셈블링된 H2L2 항체 분자의 더 높은 생산 또는 형질감염된 세포주의 증강된 안정성과 같은 증강된 특성을 가진 세포주를 생성하기 위해 추가 선택가능한 마커와 연계하여 펩티드, H, L 또는 H 플러스 L 사슬의 추가 카피를 인코딩하는 플라스미드로 형질감염될 수 있다.
- [0108] 재조합 항체의 장기간의 고수율 생산을 위해, 안정적인 발현이 사용될 수 있다. 예를 들어, 항체 분자를 안정적으로 발현하는 세포주가 조작될 수 있다. 바이러스 복제 기원을 함유하는 발현 벡터를 사용하는 대신, 숙주 세포가 면역글로불린 발현 카세트 및 선택가능한 마커로 형질전환될 수 있다. 외래 DNA의 도입에 이어서, 조작된 세포를 농후화된 배지에서 1~2일 동안 성장시킨 다음 선택 배지로 전환할 수 있다. 재조합 플라스미드에서 선택가능한 마커는 선택에 대한 내성을 부여하고 세포가 플라스미드를 염색체 안으로 안정적으로 합체되고 성장하여 초점을 형성하도록 허용하며 이는 차례로 클로닝되고 세포주 안으로 확장될 수 있다. 이러한 조작된 세포주는 항체 분자와 직접 또는 간접적으로 상호작용하는 화합물/성분의 스크리닝 및 평가에 특히 유용할 수 있다.
- [0109] 발명의 항체가 생성되면, 그것은 면역글로불린 분자의 정제를 위해 당업계에 공지된 임의의 방법, 예를 들어, 크로마토그래피(예를 들어, 이온 교환, 친화도, 특히 단백질 A 후 특정 항원에 대한 친화도, 및 사이징 컬럼 크로마토그래피), 원심분리, 차등 용해도에 의해서, 또는 단백질의 정제를 위한 기타 표준 기술에 의해서 정제될 수 있다. 많은 실시형태에서, 항체는 세포로부터 배양 배지 안으로 분비되고 배양 배지로부터 수확된다.

- [0110] 다른 양태에서, 본 발명은 야생형 고양잇과 IgG 불변 도메인에 비해 적어도 하나의 아미노산 치환을 포함하는 고양잇과 IgG 불변 도메인을 포함하되, 상기 치환은 아미노산 잔기 428, 434에서 일어나는 항체를 제공한다. 일 실시형태에서, 치환은 위치 428의 세린의 류신으로의 치환(S428L)이다. 다른 실시형태에서, 치환은 위치 434의 세린의 히스티딘으로의 치환(S434H)이다.
- [0111] 치환을 갖는 항체는 당업자에게 공지된 임의의 적합한 항체일 수 있다. 일 예에서, 항체는 항-IL31 항체이다. 다른 예에서, 항체는 항-NGF 항체이다. 또 다른 예에서, 항체는 항-TGF $\beta$  항체이다.
- [0112] 본 명세서에 기재된 치환이 없는 항-IL31 항체는 당업계에 잘 알려져 있고, 예를 들어, 미국 특허 번호 제 10,526,405호; 제10,421,807호; 제9,206,253호; 및 제8,790,651호에 자세히 기술되어 있다. 또한, 본 명세서에 기재된 치환이 없는 항-NGF 항체도 당업계에 잘 알려져 있고, 예를 들어, 미국 특허 번호 제10,125,192호; 제 10,093,725호; 제9,951,128호; 제9,617,334호; 및 제9,505,829호에 자세히 기술되어 있다. 또한, 본 명세서에 기재된 치환이 없는 항-TGF $\beta$  항체도 당업계에 잘 알려져 있고, 예를 들어, 미국 특허 출원 번호 제63/248,679호; 제63/036,092호; 및 PCT 국제 특허 출원 PCT/US2021/036347에도 자세히 기술되어 있다.
- [0113] 일 실시형태에서, 발명의 항-IL31 항체(즉, 치환을 갖는 항체)는 IL-31-매개된 소양증 또는 알레르기 상태를 감소, 억제 또는 중성화시킨다. 다른 실시형태에서, 발명의 항-IL31 항체는 고양이에서 IL-31 활성을 감소, 억제 또는 중성화시킨다.
- [0114] 항-IL31 항체의 VL, VH, 및 CDR 서열은 당업계에 잘 알려져 있고, 예를 들어, 미국 특허 번호 제10,526,405호; 제10,421,807호; 제9,206,253호; 및 제8,790,651호에 자세히 기술되어 있다. 일 예에서, 발명의 항-IL31 항체는 다음의 상보적 결정 영역(CDR) 서열 중 적어도 하나를 포함할 수 있다: 서열번호 15의 가변 중쇄(VH)-CDR1, 서열번호 16의 VH-CDR2, 서열번호 17의 VH-CDR3, 서열번호 20의 가변 경쇄(VL)-CDR1, 서열번호 21의 VL-CDR2, 및 서열번호 22의 VL-CDR3. 일부 실시형태에서, 본 발명의 항-IL31 항체는 본 명세서에 기재된 적어도 하나의 CDR을 포함할 수 있다.
- [0115] 일 실시형태에서, 발명의 항-IL31 항체는 서열번호 19에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 가변 경쇄를 포함할 수 있다. 다른 실시형태에서, 발명의 항-IL31 항체는 서열번호 14에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 가변 중쇄를 포함할 수 있다.
- [0116] 일 실시형태에서, 발명의 돌연변이체 항-NGF 항체(즉, 치환을 갖는 항체)는 NGF-매개된 통증이나 상태를 치료하기 위해, 동물에서 NGF 활성 및/또는 Trk A 및 p75에 대한 NGF 결합을 억제하는 증강된 능력을 감소, 억제 또는 중성화한다.
- [0117] 또한 항-NGF 항체의 VL, VH, 및 CDR 서열은 당업계에 잘 알려져 있고, 예를 들어, 미국 특허 번호 제10,125,192호; 제10,093,725호; 제9,951,128호; 제9,617,334호; 및 제9,505,829호에 자세히 기술되어 있다. 일 예에서, 발명의 항-NGF 항체는 다음의 상보적 결정 영역(CDR) 서열 중 적어도 하나를 포함할 수 있다: 서열번호 24의 가변 중쇄(VH)-CDR1, 서열번호 25의 VH-CDR2, 서열번호 26의 VH-CDR3, 서열번호 28의 가변 경쇄(VL)-CDR1, 서열번호 29의 VL-CDR2, 서열번호 30의 VL-CDR3.
- [0118] 다른 예에서, 발명의 항-NGF 항체는 다음의 상보적 결정 영역(CDR) 서열 중 적어도 하나를 포함할 수 있다: 서열번호 32의 가변 중쇄(VH)-CDR1, 서열번호 33의 VH-CDR2, 서열번호 34의 VH-CDR3, 서열번호 36의 가변 경쇄(VL)-CDR1, 서열번호 37의 VL-CDR2, 및 서열번호 38의 VL-CDR3.
- [0119] 일 실시형태에서, 발명의 항-NGF 항체는 서열번호 27 또는 35에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 가변 경쇄를 포함할 수 있다.
- [0120] 다른 실시형태에서, 발명의 항-NGF 항체는 서열번호 23 또는 31에 제시된 아미노산 서열의 가변 서열을 포함하는 가변 중쇄를 포함할 수 있다.
- [0121] 일 실시형태에서, 발명의 항-TGF $\beta$  항체(즉, 치환을 갖는 항체)는 TGF $\beta$ -매개된 질환 또는 상태, 예를 들어, 만성 신장 질환을 감소, 억제, 또는 중성화한다. 다른 실시형태에서, 발명의 항-TGF $\beta$  항체는 고양이에서 TGF $\beta$  활성을 감소, 억제 또는 중성화한다. 발명의 항-TGF $\beta$  항체는 TGF $\beta$  1, 2, 3, 또는 이들의 조합에 결합할 수 있다. 예를 들어, 일 실시형태에서, 발명의 항-TGF $\beta$  항체는 TGF $\beta$  1에 결합한다. 다른 실시형태에서, 발명의 항-TGF $\beta$  항체는 TGF $\beta$  2에 결합한다. 다른 실시형태에서, 발명의 항-TGF $\beta$  항체는 TGF $\beta$  3에 결합한다. 또 다른 실시형태에서, 발명의 항-TGF $\beta$  항체는 TGF $\beta$  1, TGF $\beta$  2, TGF $\beta$  3, 또는 이들의 조합에 결합한다.
- [0122] 항-TGF $\beta$  항체의 VL, VH, 및 CDR 서열은 당업계에 잘 알려져 있고, 예를 들어, 미국 특허 출원 번호 제

63/036,092호 및 제63/248,679호, 및 PCT 국제 특허 출원 PCT/US2021/036347에 자세히 기술되어 있다. 일 예에서, 발명의 항-TGFβ 항체는 상보성 결정 영역(CDR) 서열의 다음 조합 중 적어도 하나를 포함할 수 있다:

- [0123] (1) ZTS-310: 서열번호 39의 가변 중쇄(VH)-CDR1, 서열번호 40의 VH-CDR2, 서열번호 41의 VH-CDR3, 서열번호 42의 가변 경쇄(VL)-CDR1, 서열번호 43의 VL-CDR2, 및 서열번호 44의 VL-CDR3; 또는
- [0124] (2) ZTS-120-1: 서열번호 49의 가변 중쇄(VH)-CDR1, 서열번호 50의 VH-CDR2, 서열번호 51의 VH-CDR3, 서열번호 52의 가변 경쇄(VL)-CDR1, 서열번호 53의 VL-CDR2, 및 서열번호 54의 VL-CDR3; 또는
- [0125] (3) ZTS-120-2: 서열번호 59의 VH-CDR1, 서열번호 60의 VH-CDR2, 서열번호 61의 VH-CDR3, 서열번호 62의 VL-CDR1, 서열번호 63의 VL-CDR2, 및 서열번호 64의 VL-CDR3; 또는
- [0126] (4) ZTS-120-3: 서열번호 69의 VH-CDR1, 서열번호 70의 VH-CDR2, 서열번호 71의 VH-CDR3, 서열번호 72의 VL-CDR1, 서열번호 73의 VL-CDR2, 및 서열번호 74의 VL-CDR3; 또는
- [0127] (5) ZTS-120-4: 서열번호 79의 VH-CDR1, 서열번호 80의 VH-CDR2, 서열번호 81의 VH-CDR3, 서열번호 82의 VL-CDR1, 서열번호 83의 VL-CDR2, 및 서열번호 84의 VL-CDR3; 또는
- [0128] (6) ZTS-120-5: 서열번호 89의 VH-CDR1, 서열번호 90의 VH-CDR2, 서열번호 91의 VH-CDR3, 서열번호 92의 VL-CDR1, 서열번호 93의 VL-CDR2, 및 서열번호 94의 VL-CDR3; 또는
- [0129] (7) ZTS-120-6: 서열번호 99의 VH-CDR1, 서열번호 100의 VH-CDR2, 서열번호 101의 VH-CDR3, 서열번호 102의 VL-CDR1, 서열번호 103의 VL-CDR2, 및 서열번호 104의 VL-CDR3; 또는
- [0130] (8) ZTS-120-7: 서열번호 109의 VH-CDR1, 서열번호 110의 VH-CDR2, 서열번호 111의 VH-CDR3, 서열번호 112의 VL-CDR1, 서열번호 113의 VL-CDR2, 및 서열번호 114의 VL-CDR3; 또는
- [0131] (9) ZTS-120-8: 서열번호 119의 VH-CDR1, 서열번호 120의 VH-CDR2, 서열번호 121의 VH-CDR3, 서열번호 122의 VL-CDR1, 서열번호 123의 VL-CDR2, 및 서열번호 124의 VL-CDR3; 또는
- [0132] (10) ZTS-120-9: 서열번호 129의 VH-CDR1, 서열번호 130의 VH-CDR2, 서열번호 131의 VH-CDR3, 서열번호 132의 VL-CDR1, 서열번호 133의 VL-CDR2, 및 서열번호 134의 VL-CDR3.

[0133] 일부 실시형태에서, 발명의 항-TGFβ 항체는 본 명세서에 기재된 적어도 하나의 CDR을 포함할 수 있다.

[0134] 일 실시형태에서, 발명의 항-TGFβ 항체는 서열번호 45(ZTS-310), 서열번호 55(ZTS-120-1), 서열번호 65(ZTS-120-2), 서열번호 75(ZTS-120-3), 서열번호 85(ZTS-120-4), 서열번호 95(ZTS-120-5), 서열번호 105 (ZTS-120-6), 서열번호 115 (ZTS-120-7), 서열번호 125(ZTS-120-8), 또는 서열번호 135(ZTS-120-9)에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 가변 중쇄를 포함할 수 있다.

[0135] 다른 실시형태에서, 발명의 항-TGFβ 항체는 서열번호 47(ZTS-310), 서열번호 57(ZTS-120-1), 서열번호 67(ZTS-120-2), 서열번호 77(ZTS-120-3), 서열번호 87(ZTS-120-4), 서열번호 97(ZTS-120-5), 서열번호 107(ZTS-120-6), 서열번호 117(ZTS-120-7), 서열번호 127(ZTS-120-8), 또는 서열번호 137(ZTS-120-9)에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 가변 경쇄를 포함할 수 있다.

[0136] 약학적 및 수의학적 적용

[0137] 또한 발명은 발명의 분자 및 하나 이상의 약학적으로 허용가능한 담체를 포함하는 약학적 조성물을 제공한다. 보다 구체적으로, 발명은 약학적으로 허용가능한 담체 또는 희석제, 및 활성 성분으로서 발명에 따른 항체 또는 펩티드를 포함하는 약학적 조성물을 제공한다.

[0138] "약학적으로 허용가능한 담체"는 이용되는 투여량 및 농도에서, 노출되는 세포 또는 동물에 무독성인 임의의 부형제를 포함한다. 약학적 조성물은 하나 이상의 추가 치료제를 포함할 수 있다.

[0139] "약학적으로 허용가능한"은 건전한 의학적 판단의 범위 내에서 과도한 독성, 자극, 알레르기 반응 또는 합리적인 이익/위험 비율에 상응하는 기타 문제 합병증 없이 동물의 조직과의 접촉에 적합한 이들 화합물, 물질, 조성물 및/또는 투여 형태를 지칭한다.

[0140] 약학적으로 허용가능한 담체는 용매, 분산 매질, 완충액, 코팅제, 항균제 및 항진균제, 습윤제, 방부제, 버거, 킬레이트제, 항산화제, 등장제 및 흡수 지연제를 포함한다.

[0141] 약학적으로 허용가능한 담체는 물; 식염수; 인산염 완충 식염수; 텍스트로스; 글리세린; 에탄올 및 이소프로판



올과 같은 알코올류; 인산염, 구연산염 및 기타 유기산; 아스코르브 산; 저분자량(약 10개 미만의 잔기) 폴리펩티드; 혈청 알부민, 젤라틴 또는 면역글로불린과 같은 단백질; 폴리비닐피롤리돈과 같은 친수성 중합체; 글리신, 글루타민, 아스파라긴, 아르기닌 또는 라이신과 같은 아미노산; 단당류, 이당류, 및 글루코스, 만노오스 또는 텍스트린을 포함하는 기타 탄수화물; EDTA; 나트륨과 같은 염 형성 반대이온; 및/또는 TWEEN, 폴리에틸렌 글리콜(PEG) 및 PLURONICS와 같은 비이온성 계면활성제; 당류, 만니톨 및 소르비톨과 같은 다가알코올류, 및 염화나트륨과 같은 등장제; 뿐만 아니라 이들의 조합을 포함한다.

[0142] 발명의 약학적 조성물은, 예를 들어 액체, 반-고체, 또는 고체 투여 형태, 예컨대 액체 용액(예를 들어, 주사가 가능한 및 주입가능한 용액), 분산액 또는 현탁액, 리포솜, 좌약, 정제, 알약 또는 분말을 포함하는 다양한 방식으로 제형화될 수 있다. 일부 실시형태에서, 조성물은 주사가 가능한 또는 주입가능한 용액의 형태이다. 조성물은 정맥내, 동맥내, 근육내, 피하, 비경구, 경점막, 경구, 국소 또는 경피 투여에 적합한 형태일 수 있다. 조성물은 즉시, 제어, 연장 또는 지연 방출 조성물로 제형화될 수 있다.

[0143] 발명의 조성물은 개별 치료제로서 또는 다른 치료제와 조합하여 투여될 수 있다. 이들은 단독으로 투여될 수 있지만, 일반적으로 선택된 투여 경로 및 표준 약학적 관행에 기초하여 선택된 약학적 담체와 함께 투여된다. 본 명세서에 개시된 항체의 투여는 비경구 주사(예컨대 복강내, 피하 또는 근육내 주사), 경구로, 또는 기도 표면으로의 항체의 국소 투여(통상적으로는 약학적 제형으로 수행됨)에 의한 것을 포함한 임의의 적합한 수단에 의해 수행될 수 있다. 기도 표면에 대한 국소 투여는 비강내 투여(예를 들어, 점적기, 면봉 또는 흡입기의 사용)에 의해 수행될 수 있다. 또한 기도 표면에 대한 항체의 국소 투여는 에어로졸 현탁액으로서 항체를 함유하는 약학적 제형의 호흡가능한 입자(고체 및 액체 입자 둘 모두 포함)를 생성한 다음 대상체가 호흡가능한 입자를 흡입하게 함에 의한 것과 같이, 흡입 투여에 의해 수행될 수 있다. 약학적 제형의 호흡가능한 입자를 투여하기 위한 방법 및 장치는 잘 알려져 있고, 임의의 통상적인 기술이 이용될 수 있다.

[0144] 일부 원하는 실시형태에서, 항체는 비경구 주사에 의해 투여된다. 비경구 투여를 위해, 항체 또는 분자는 약학적으로 허용가능한 비경구 비히클과 연계하여 용액, 현탁액, 에멀전 또는 동결건조된 분말로서 제형화될 수 있다. 예를 들어, 비히클은 물, 식염수, 링거 용액, 텍스트로스 용액, 트레할로스 또는 수크로스 용액, 또는 5% 혈청 알부민, 0.4% 식염수, 0.3% 글리신 등과 같은 수성 담체와 같은 허용가능한 담체에 용해된 항체 또는 이의 각테일의 용액일 수 있다. 리포솜 및 비수성 비히클 예컨대 고정유가 또한 사용될 수 있다. 이들 용액은 무균이고 일반적으로 미립자 물질이 없다. 이들 조성물은 통상적이고 잘 알려진 멸균 기술에 의해 멸균될 수 있다. 조성물은 pH 조절제 및 완충제, 독성 조절제 등과 같은 생리학적 조건을 근사화하는 데 필요한 약학적으로 허용가능한 보조 물질, 예를 들어 아세트산나트륨, 염화나트륨, 염화칼륨, 염화칼슘, 젯산나트륨 등을 함유할 수 있다. 이들 제형에서 항체의 농도는, 예를 들어 중량으로 약 0.5% 미만, 일반적으로 약 1% 이상 내지 15% 또는 20% 정도로 광범위하게 변할 수 있고 주로 선택된 특정 투여 양식에 따른, 유체 부피, 점도 등에 기초하여 선택될 것이다. 비히클 또는 동결건조된 분말은 등장성(isotonicity)(예를 들어, 염화나트륨, 만니톨) 및 화학적 안정성(예를 들어, 완충제 및 방부제)을 유지하는 첨가제를 함유할 수 있다. 제형은 일반적으로 사용되는 기술로 멸균된다. 비경구로 투여가능한 조성물을 제조하는 실제 방법은 당업자에게 알려져 있거나 자명할 것이고, 예를 들어, 문헌[REMINGTON'S PHARMA. SCI. (15판, Mack Pub. Co., Easton, Pa., 1980)]에 더 상세히 기재되어 있다.

[0145] 발명의 항체 또는 분자는 저장을 위해 동결건조될 수 있고 사용 이전에 적합한 담체에서 재구성될 수 있다. 이 기술은 종래의 면역 글로불린에서 효과적인 것으로 나타났다. 임의의 적합한 동결건조 및 재구성 기술이 이용될 수 있다. 동결건조 및 재구성은 다양한 정도의 항체 활성 손실을 초래할 수 있고 사용 수준은 이를 보상하기 위해 조정되어야 할 수 있음을 당업자는 이해할 것이다. 본 항체 또는 이의 각테일을 함유하는 조성물은 재발의 예방 및/또는 기존 질환에 대한 치료적 처리를 위해 투여될 수 있다. 적절한 약학적 담체는 이 기술 분야에서 표준 참조 텍스트인 [REMINGTON'S PHARMACEUTICAL SCIENCES]의 최신판에 기술되어 있다. 치료적 적용에서, 조성물은 질환 및 이의 합병증을 치료하거나 적어도 부분적으로 정지 또는 완화시키기에 충분한 양으로 이미 질환을 앓고 있는 대상체에게 투여된다.

[0146] 본 명세서에 기재된 것과 같은 상태 또는 질환의 치료를 위한 본 발명의 조성물의 유효 용량은, 예를 들어, 특정 제제의 약력학적 특성, 및 그의 투여 방식과 경로; 대상 부위; 동물의 생리적 상태; 투여된 다른 약물; 치료가 예방적인지 치료적인지 여부; 수령체의 나이, 건강 및 체중; 동시치료의 증상 종류의 성질과 정도, 치료의 빈도, 및 원하는 효과를 포함하나 이에 제한되지 않는 많은 상이한 인자에 따라 달라진다.

[0147] 조성물의 단일 또는 다중 투여는 치료 의사에 의해 선택되는 용량 수준 및 패턴으로 수행될 수 있다. 여하튼,

약학적 제형은 대상체를 효과적으로 치료하기에 충분한 양의 본 발명의 항체(들)를 제공해야 한다. 일부 실시형태에서, 조성물은 격일로, 3개월에 1회, 4개월에 1회, 5개월에 1회, 6개월에 1회, 또는 7개월에 1회 투여된다.

[0148] 치료 투여량은 안전성 및 효능을 최적화하기 위해 당업자에게 공지된 일상적인 방법을 사용하여 적정될 수 있다.

[0149] 발명의 약학적 조성물은 "치료학적 유효량"을 포함할 수 있다. "치료학적 유효량"은 원하는 치료 결과를 달성하기 위해 필요한 투여량 및 기간 동안 효과적인 양을 지칭한다. 분자의 치료학적 유효량은 질환 상태, 연령, 성별, 및 개체의 체중, 및 개체에서 원하는 반응을 이끌어내는 분자의 능력과 같은 인자에 따라 달라질 수 있다. 또한 치료적 유효량은 분자의 임의의 독성 또는 유해한 효과가 치료학적으로 유의한 효과에 의해 압도당하는 양이다.

[0150] 다른 양태에서, 본 발명의 조성물은, 예를 들어 고양이에서 다양한 질환 및 장애의 치료에 사용될 수 있다. 본 명세서에서 사용된 것과 같이, 용어 "치료하다" 및 "치료"는 예방적 또는 방지적 조치를 포함하는 치료적 치료를 지칭하되, 목적은 질환 또는 상태와 연관된 바람직하지 않은 생리학적 변화를 예방하거나 늦추는(경감하는) 것이다. 유의하거나 원하는 임상 결과는 증상의 완화, 질환 또는 상태의 정도 감소, 질환 또는 상태의 안정화(즉, 질환 또는 상태가 악화되지 않는 경우), 질환 또는 상태의 진행의 지연 또는 늦춤, 질환 또는 상태의 개선 또는 완화, 검출 가능 여부에 관계없이 질환 또는 상태의 (부분적이든 전체적이든) 완화를 포함하지만, 이에 제한되지는 않는다. 치료를 필요로 하는 이들은 질환 또는 상태를 이미 갖고 있는 이들 뿐만 아니라 질환 또는 상태에 걸리기 쉬운 이들 또는 질환 또는 병태가 예방되어야 하는 이들을 포함한다.

[0151] 발명의 돌연변이체 분자를 갖는 조성물은 임의의 적합한 질환 또는 장애를 치료하는데 사용될 수 있다. 예를 들어, 본 발명의 돌연변이체 항-IL31 항체는 IL-31-매개된 소양증 또는 알레르기 상태를 치료하는데 사용될 수 있다. IL-31-매개된 소양증 상태의 예는, 예를 들어, 아토피 피부염, 습진, 건선, 경피증 및 소양증을 포함하지만, 이에 제한되지는 않는다. IL-31-매개된 알레르기 상태의 예는, 예를 들어, 알레르기성 피부염, 여름 습진, 두드러기, 호흡곤란증, 염증성 기도 질환, 재발성 기도 폐쇄, 기도 과민성, 만성 폐쇄성 폐질환 및 자가면역으로 인한 염증성 진행을 포함하지만, 이에 제한되지는 않는다.

[0152] 발명의 돌연변이체 항-NGF 항체는 NGF-매개된 통증 또는 상태를 치료하는데 사용될 수 있다. 통증의 예는, 예를 들어, 만성 통증, 염증성 통증, 수술-후 절개 통증, 신경병증성 통증, 골절 통증, 골다공증성 골절 통증, 대상포진-후 신경통, 암 통증, 화상으로 인한 통증, 상처와 연관된 통증, 외상과 연관된 통증, 신경병증성 통증, 근골격계 장애와 연관된 통증, 류마티스성 관절염, 골관절염, 강직성 척추염, 혈청반응음성(비-류마티스성) 관절병증, 비-관절 류머티즘, 관절주위 장애, 또는 말초 신경병증을 포함하지만, 이에 제한되지는 않는다. 특정 실시형태에서, 통증은 골관절염 통증이다.

[0153] 발명의 돌연변이체 항-TGFβ 항체는 TGFβ-매개된 질환 또는 상태를 치료하는데 사용될 수 있다. TGFβ-매개된 질환 또는 상태의 예는, 예를 들어, 만성 신장 질환을 포함하지만, 이에 제한되지 않는다.

[0154] 본 명세서에 인용된 모든 특허 및 문헌 참조는 그 전체가 참고로 본 명세서에 포함된다.

[0155] 다음 실시예는 이전 개시내용을 보완하고 본 명세서에 기술된 주제에 대한 더 나은 이해를 제공하기 위해 제공된다. 이들 실시예는 기술된 주제를 제한하는 것으로 간주되어서는 안된다. 본 명세서에 기술된 실시예 및 실시형태는 단지 예시 목적을 위한 것이며, 이에 비추어 다양한 변형 또는 변경이 당업자에게 명백할 것이고 발명의 진정한 범주 내에 포함되어야 하고, 이를 벗어나지 않고 이루어질 수 있음을 이해해야 한다.

[0156] **실시예**

[0157] [실시예 1]

[0158] **고양잇과 IgG Fc 돌연변이체의 구축**

[0159] 모든 고양이과 IgG의 구축(도 1)은 Strietzel 등 (Strietzel 등의 문헌(2014)[*Vet Immunol Immunopathol*, 158(3-4)권, 페이지 214-223])에 기술된 것과 같이 수행되었으며, 여기서 IgG 서브-클래스 1 대립유전자 a(IgG1a)에 대한 고양이과 불변 영역을 인코딩하는 서열을 함유하는 플라스미드가 활용되었고 본 명세서에서 조사된 각각의 mAb에 대한 VH/VL 서열은 불변 도메인을 인코딩하는 뉴클레오티드와 함께 상류 및 프레임에 삽입되었다. 돌연변이는 Agilent의 QuikChange II 돌연변이유발 및 단일-부위 지향된 돌연변이유발을 위한 연관된 Agilent 프라이머 디자인 도구(<https://www.agilent.com/store/primerDesignProgram.jsp>)를 사용하여 각 플라

스미드의 CH3 도메인의 위치 S434 및 S428(도 2)안으로 합체되었다.

[0160] 항체 구조물은 표준 리포펙타민 형질감염 프로토콜(Invitrogen Life Technologies, 미국 캘리포니아주 칼스배드 소재)을 사용하여 HEK 293 세포에 또는 ExpiCHO 일시적 시스템(ThermoFisher Scientific) 키트 프로토콜을 사용하여 CHO 세포 안으로 일시적으로 발현되었다. ExpiCHO 발현은 IgG 경쇄 및 IgG 중쇄를 인코딩하는 유전자 서열을 함유하는 플라스미드의 공동-형질감염을 위해 ThermoFisher에 의해 요약된 프로토콜을 따랐다. HEK293 발현을 위해, 중쇄 플라스미드 및 경쇄 플라스미드의 동일한 중량이 공동-형질감염되었다. 세포가 7일 동안 성장하도록 한 후 항체 정제를 위해 상등액이 수집되었다. 항체는 Octet QKe 정량화(Pall ForteBio Corp, 미국 캘리포니아주 멘로파크 소재)를 통해 단백질 A 센서에 대한 결합을 위해 스크리닝되었다. 단백질 A에 결합된 구조물은 단백질 품질에 대해 Strietzel 등에 기술된 것과 같이 정제되고 정량화되었다.

[0161] [실시예 2]

[0162] **표적 결합 친화도 및 효능 검정**

[0163] 각 mAb에 대한 친화도는 Biacore에 의해 평가되었고 IC50은 적절한 세포 기반 효능 검정을 통해 결정되었다. 표면 플라즈몬 공명은 Biacore T200(GE Healthcare, 펜실베이니아주 피츠버그 소재)에서 수행되어 각 항체의 그 표적에 대한 결합 친화도를 측정했으며, 각 표적 단백질 2.5 µg/ml가 각각 CM5 센서 플로우 셀(2~4)에서 최종 밀도 ~250 RU(공명 장치)를 위해 EDC/NHS를 사용하여 아민 커플링에 의해 고정화되었다.

[0164] 플로우 셀(1)은 실행 완충액 효과를 보정하기 위한 내부 기준으로 사용되었다. 항체 결합은 15° C에서 250초의 접촉 시간과 30 µl/분의 유속으로 측정되었다. 해리 시간은 300초였다. 재생은 재생 완충액(10mM 글리신 pH1.5 및 10mM NaOH)과 유속 20 µl/분에서 각각 60초 동안 수행되었다. 실행/회식 완충액(1X HBS-EP, GE Healthcare, BR-1006-69, 100mM HEPES, 150mM NaCl, 30mM EDTA 및 0.5% v/v 계면활성제 P20을 포함한 10X, pH7.4, 여과된 MQ H2O에서 1:10)은 동일한 검정 형식에서 음성 대조군으로 사용되었다.

[0165] 데이터는 이중 참조 방법을 사용하여 Biacore T200 평가 소프트웨어로 분석되었다. 얻어진 곡선은 1:1 결합 모델로 피팅되었다. 야생형과 S434 및 S428 돌연변이체 IgG 사이에 결합 친화도 또는 IC50에서의 차이는 관찰되지 않았다(표 1).

[0166] [표 1]

WT 및 S434 및 S428 돌연변이체 IgG의 친화도 및 효능. WT와 돌연변이체 IgG 사이의 차이가 측정되지 않았다.

mAb	야생형		S434H 돌연변이체		S428L 돌연변이체	
	표적에 대한 친화도	IC50	표적에 대한 친화도	IC50	표적에 대한 친화도	IC50
mAb1	2.23E-11	ND			2.28E-11	ND
mAb2	2.30E-11	0.69 nM			8.00E-12	0.58 nM
mAb3	5.82E-13	0.036 nM	1.32E-12			
mAb6	3.75E-12	9 nM			8.43E-11	10 nM

[0167]

[0168] Nd는 결정되지 않음을 지칭함.

[0169] mAb1는 고양잇과화된 항-IL31 항체를 지칭함. 항-IL31 항체는 당업계에 잘 알려져 있다. 예를 들어, 미국 특허 번호 제10,526,405호; 제10,421,807호; 제9,206,253호; 제8,790,651호를 참조한다. mAb2 mAb3는 고양잇과화된 항-NGF 항체를 지칭함. 항-NGF 항체 또한 당업계에 잘 알려져 있다. 예를 들어, 미국 특허 번호 제10,125,192호; 제10,093,725호; 제9,951,128호; 제9,617,334호; 및 제9,505,829호를 참조한다. mAb6는 고양잇과화된 항-TGFβ 항체를 지칭함. 항-TGFβ 항체 또한 당업계에 잘 알려져 있다. 예를 들어, 미국 특허 출원 번호 제63/036,092호 및 제63/248,679호를 참조함.

[0170] [실시예 3]

[0171] **시험관내 FcRn 결합 검정**

[0172] 고양잇과 FcRn은 단리되고, 제조되었고 돌연변이체 Fc IgG는 Strietzelg 등에 따라 고양잇과 FcRn에 대해 검정되었다. 표준 RACE PCR을 사용하여 고양잇과 FcRn-α 서브유닛 및 β-마이크로글로불린을 증폭시켰다. FcRn-α

서브유닛 및  $\beta$ -미크로글로불린은 HEK 293 세포 내에 공동-형질감염되었고 FcRn 복합체는 c-말단 His 태그를 통한 IMAC 친화도 정제에 의해 정제되었다. KD는 CM5 센서 칩을 사용하여 Biacore 3000 또는 Biacore T200(GE Healthcare, 미국 펜실베이니아주 피츠버그 소재)에 의해 측정되었다.

[0173] FcRn은 원하는 표면 밀도에 도달하기 위해 표준 아민 고정화 방법을 사용하여 센서의 표면 상에 고정화되었다. HBS-EP는 고정화 실행 완충액으로 사용되었고 10mM MES; 150mM NaCl; 0.005% Tween20; 0.5mg/mL BSA; pH6 및 pH7.2 및 PBS; 0.005% Tween20; 0.5mg/mL BSA; pH7.4는 완충액 및 적정을 실행하는 방법에 사용되었다. Fc 돌연변이체 IgG는 수용체 표면 위로 유동되었고 친화도는 Scrubber2 소프트웨어 분석(BioLogic Software Pty, Ltd., 호주 캠벨 소재) 또는 T200 평가 소프트웨어를 사용하여 결정되었다(표 2). 완충액만 함유하는 블랭크 실행은 모든 실행에서 차감되었다. 유동 세포는 50mM Tris pH8을 사용하여 재생되었다. 실행은 15° C에서 수행되었다.

[0174] 위치 434 및 428에서 만들어진 돌연변이는 pH6에서 FcRn에 대한 IgG의 친화도에 현저한 영향을 미친다. 이 연구는 IgG에 대한 FcRn 친화도에서의 증가가 VHVL 도메인에 의존적이지 않고 임의의 고양잇과 IgG1a에 대해 보편적임을 밝힌다.

[0175] [표 2]

표면 플라즈몬 공명(Biacore)에 의해 측정된 고양잇과 FcRn에 대한 야생형(WT), N434 및 S428 돌연변이체 IgG의 결합:

mAb	야생형		S434H 돌연변이체		S428L 돌연변이체	
	FcRn pH6	FcRn pH7.2	FcRn pH6	FcRn pH7.2	FcRn pH6	FcRn pH7.2
mAb1	1.21E-08	NBO			3.77E-09	1.80E-07
mAb2	2.50E-08	3.80E-07			1.51E-09	6.00E-08
mAb3	2.95E-09	8.63E-06	1.02E-09	5.24E-10		
mAb6	1.20E-07	NBO			1.50E-08	2.30E-07

[0176]

[0177] NBO는 결합이 관찰되지 않음을 지칭함.

[0178] mAb1은 표 1에서 논의된 것과 같이, 고양잇과화된 항-IL31 항체를 지칭함. mAb2는 표 1에서 논의된 것과 같이, 고양잇과화된 항-NGF 항체를 지칭함. mAb6은 표 1에서 논의된 것과 같이, 고양잇과화된 항-TGF $\beta$  항체를 지칭함.



[0179] [표 3]

표면 플라즈몬 공명(Biacore)에 의해 측정된 고양이과 FcRn 에 대한 야생형(WT) 및 N434 돌연변이체 IgG의 결합.

	야생형		돌연변이체	
	FcRn pH6	FcRn pH7.2	FcRn pH6	FcRn pH7.2
야생형	2.95E-09	8.63E-06		
S434A			4.49E-09	4.59E-12
S434C			1.18E-08	2.91E-12
S434D			5.66E-09	5.34E-07
S434E			3.35E-09	1.25E-09
S434F			7.45E-10	2.10E-08
S434G			9.58E-09	2.16E-08
S434I			1.44E-08	1.81E-08
S434K			6.76E-09	5.06E-09
S434L			8.67E-09	6.57E-09
S434M			2.80E-09	1.92E-09
S434N			6.94E-09	8.47E-12
S434P			5.64E-09	1.57E-11
S434Q			4.80E-09	8.01E-11
S434R			1.19E-09	1.63E-08
S434T			1.06E-08	4.12E-12
S434V			3.71E-09	4.30E-12
S434W			7.71E-10	2.16E-08
S434Y			4.33E-10	1.44E-08

[0180]

[0181] 항-NGF 항체가 사용됨.

[0182] [실시예 4]

[0183] **고양이에서 Fc 돌연변이체 IgG PK 연구**

[0184] 약동학(PK) 연구가 여러 표적에 대해 생성된 mAb를 갖는 IgG1a 서브클래스에 대한 반감기 연장 돌연변이 S434H 및 S428L의 효과를 보여주기 위해 수행되었다. 연구 설계는 다양했지만 기본적으로 두 가지 유형의 연구가 수행되었다:

[0185] 연구 설계1: mAb가 4마리의 수컷 및 4마리의 암컷 국내 단모종 고양이의 그룹에게 용량당 2 mg/kg으로 투여되었다. 제1 및 제2 용량은 28일 간격으로 피하로 투여되었다. 제3 용량은 28일 후 정맥내로 투여되었다. 혈청 샘플은 매주 14주 동안 수집되었다.

[0186] 연구 설계2: mAb가 3마리 또는 4마리 국내 단모종 고양이의 그룹에게 2 mg/kg의 단일 용량으로 피하로 또는 정맥내로 투여되었다. 혈청 샘플은 매주 수집되었다.

[0187] 약동학 계산은 Watson™의 도움으로 비구획 접근법(AUC 계산을 위한 선형 사다리꼴 규칙)을 사용하여 수행되었다. 추가 계산은 2차 및 3차 약물의 주입 후 농도-시간 프로파일의 중첩에 대한 AUC의 보정을 포함한, Excel™으로 수행되었다. 간단한 통계(평균, 표준 편차, 변동의 계수)가 있는 농도-시간 데이터 및 약동학 데이터의 요약은 Excel™ 또는 Watson™을 사용하여 계산되었다. 다른 통계 분석은 수행되지 않았다.

[0188] 고양이과 IgG1 점 돌연변이 S428L는 3개의 상이한 고양이과 IgG의 반감기를 국내 단모종 고양이에서 2.5 내지 3 배 증가시키는 것으로 나타났다. mAb1의 경우 반감기가 11일에서 26일로, mAb2의 경우 7.9일에서 23일로, 그리고 mAb4의 경우 5.9일에서 15.5일로 증가했다. 고양이과 IgG1 점 돌연변이 S434H는 1개의 mAb의 반감기를 10.1일에서 13.2일로 증가시키는 것으로 나타났다.

[0189] 작용의 메카니즘은 pH 6에서 고양이과 FcRn에 대한 친화도를 향상시키는 것을 통해 이루어고, 그것은 매우 상이하고 뚜렷한 가용성 표적에 결합하는 다중 고양이과 IgG로 입증되었다. 따라서, 고양이과 IgG1a의 S428L 및 N434 돌연변이의 반감기 연장은 VHVL 도메인과 무관하다는 것이 입증되었다.

[0190] [표 4]

야생형 및 S428L 및 S434H 돌연변이체 고양잇과 IgG 에 대해 계산된 반감기:

IgG	반감기(일)
mAb1 WT	11.3
mAb1 S428L	26
mAb2 WT	7.9
mAb2 S428L	23
mAb3 WT	10.1
mAb3 S434H	13.2
mAb6 WT	5.9
mAb6 S428L	15.5

[0191]

[0192] mAb1는 고양잇과화된 항-IL31 항체를 지칭함. 항-IL31 항체는 당업계에 잘 알려져 있다. 예를 들어, 미국 특허 번호 제10,526,405호; 제10,421,807호; 제9,206,253호; 제8,790,651호를 참조한다. mAb2 mAb3는 고양잇과화된 항-NGF 항체를 지칭함. 항-NGF 항체 또한 당업계에 잘 알려져 있다. 예를 들어, 미국 특허 번호 제10,125,192호; 제10,093,725호; 제9,951,128호; 제9,617,334호; 및 제9,505,829호를 참조한다. mAb6는 고양잇과화된 항-TGFβ 항체를 지칭함. 항-TGFβ 항체 또한 당업계에 잘 알려져 있다. 예를 들어, 미국 특허 출원 번호 제63/036,092호 및 제63/248,679호를 참조함.

[0193] [실시예 5]

[0194] **FcRn 결합 검정**

[0195] 고양잇과 FcRn은 단리되고, 제조되었고, 돌연변이체 Fc IgG는 위에서 논의된 Strietzel 등에 따라 고양잇과 FcRn에 대해 검정되었다. 표준 PCR은 고양잇과 FcRn-α 서브유닛 및 β-마이cro글로불린을 증폭하는데 사용되었다. FcRn-α 서브유닛 및 β-마이cro글로불린은 HEK 293 세포 내에 공동-형질감염되었고 FcRn 복합체는 c-말단 His 태그를 통한 IMAC 친화도 정제에 의해 정제되었다. FcRn 복합체는 BirA 효소 비오틴화 반응을 통해 비오틴 표지되었다. KD는 SA 센서 칩을 사용하여 Biacore T200(GE Healthcare, 미국 펜실베이니아주 피츠버그 소재) 또는 Biacore 8K(Cytiva, 미국 매사추세츠주 말버러 소재)에 의해 측정되었다.

[0196] FcRn은 변형된 SA 캡처 방법을 사용하여 센서의 표면 상에서 캡처되었다. 10 mM MES; 150 mM NaCl; 0.005% Tween20; 0.5 mg/mL BSA; pH6이 수집, 실행 완충액 및 적정을 실행하는 방법으로 사용되었다. 또한 1x HBS-P, 0.5 mg/mL BSA; pH7.4가 완충액 및 적정을 실행하는 방법에 사용되었다. Fc 돌연변이체 IgG는 수용체 표면 위로 유동되었고 친화도는 T200 평가 소프트웨어 또는 Biacore Insight Evaluation 소프트웨어를 사용하여 결정되었다. 완충액만 함유하는 블랭크 실행은 모든 실행에서 차감되었다. 유동 세포는 50mM Tris pH 8 또는 pH 9를 사용하여 재생되었다. 실행은 15° C에서 수행되었다.

[0197] 각각의 위치에서 만들어진 돌연변이는 pH 6에서 FcRn에 대한 IgG의 친화도에 현저한 영향을 미친다. 고양잇과 FcRn에 대한 야생형(WT) 및 돌연변이체 IgG의 결합은 표면 플라즈몬 공명(Biacore)에 의해 측정되었다.

[0198] 친화도에 대한 현저한 효과는 상이한 표적에 결합하는, 완전하게 상이하고 구조적으로 상이한 항체(즉, 항-IL31 및 항-NGF 항체) 및 동일한 표적에 결합하는 항체의 상이한 버전(즉, 항-IL31 및 항-NGF 항체의 상이한 버전)에서도 관찰되었다(표 1~5). 따라서, IgG에 대한 FcRn 친화도에서의 증가는 VHVL 도메인 또는 CDR 영역에 의존하지 않는다. 또한, 친화도에 대한 현저한 효과는 다중 IgG 서브클래스에서 관찰되었다. 일반적으로, 결과는 IgG에 대한 FcRn 친화도에서의 증가가 고양잇과 IgG 서브클래스와 무관함을 나타낸다.

[0199] [표 5a]

고양잇과 FcRn에 대한 아생형(WT) 및 S428 및 S434 돌연변이체 IgG의 결합

돌연변이	고양잇과 IgG 서브클래스	mAb4			mAb3		
		ID No.	KD pH6	KD pH7.4	ID No.	KD pH6	KD pH7.4
WT	IgG1a	1	3.20E-08	NBO	88	2.60E-08	NBO
S428A	IgG1a	2	6.64E-08	NBO	89	2.23E-08	NBO
S428C	IgG1a	3	2.90E-08	NBO	90	2.62E-08	NBO
S428D	IgG1a	4	1.90E-07	NBO	91	5.68E-08	NBO
S428E	IgG1a	5	3.79E-08	NBO	92	5.74E-08	NBO
S428F	IgG1a	6	2.97E-08	NBO	93	6.75E-09	NBO
S428G	IgG1a	7	NBO	NBO	94	8.77E-08	NBO
S428H	IgG1a	8	2.55E-08	NBO	95	5.33E-08	NBO
S428I	IgG1a	9	1.67E-08	NBO	96	2.22E-08	NBO
S428K	IgG1a	10	2.14E-08	NBO	97	2.22E-08	NBO
S428L	IgG1a	11	1.55E-08	NBO	98	1.54E-08	NBO
S428M	IgG1a	12	1.88E-08	NBO	99	6.89E-09	NBO
S428N	IgG1a	13	4.90E-08	NBO	100	1.12E-08	NBO
S428P	IgG1a	14	NBO	NBO	101	1.78E-08	NBO
S428Q	IgG1a	15	NBO	NBO	102	7.13E-08	NBO
S428R	IgG1a	16	NBO	NBO	103	2.73E-08	NBO
S428T	IgG1a	17	NBO	NBO	104	2.58E-08	NBO
S428V	IgG1a	18	6.39E-08	NBO	105	1.71E-08	NBO
S428W	IgG1a	19	NBO	NBO	106	1.85E-08	NBO
S428Y	IgG1a	20	6.34E-08	NBO	107	5.82E-08	NBO
S428L 및 S434H	IgG1a	22	1.77E-08	NBO	109	1.31E-08	NBO
S428L 및 S434F	IgG1a	23	8.47E-08	NBO	110	3.38E-09	2.00E+07
S428L 및 S434L	IgG1a	24	9.72E-08	NBO	111	3.12E-10	2.04E+14
S428L 및 S434P	IgG1a	25	2.25E-06	NBO	112	1.88E-08	NBO
S428L 및 S434W	IgG1a	26	1.72E-08	NBO	113	2.36E-08	NBO
S428Y 및 S434H	IgG1a	27	1.88E-08	NBO	114	3.25E-09	1.17E+11
S428Y 및 S434F	IgG1a	28	1.89E-08	NBO	115	2.94E-09	3.62E+08
S428Y 및 S434L	IgG1a	29	4.40E-08	NBO	116	3.43E-08	NBO
S428Y 및 S434P	IgG1a	30	4.06E-08	NBO	117	1.66E-08	NBO
S428Y 및 S434W	IgG1a	31	7.80E-09	4.31E-07	118	8.12E-10	2.55E+06
S428M 및 S434H	IgG1a	32	1.72E-08	NBO			
S428M 및 S434F	IgG1a	33	4.29E-09	4.01E-06			
S428M 및 S434L	IgG1a	34	2.83E-08	NBO			
S428M 및 S434P	IgG1a	35	4.20E-08	NBO			
S428M 및 S434W	IgG1a	36	6.83E-09	5.01E-06			
S428M 및 S434L	IgG1a	49	1.86E-08	NBO	131	1.39E-08	NBO
S428M 및 S434P	IgG1a	50	3.98E-08	NBO	132	2.61E-08	NBO
S434H	IgG1a	00	4.88E-09	NBO	00	2.60E-09	NBO
WT	IgG1b	56	9.08E-08	NBO	138	2.91E-09	NBO
S428L	IgG1b	57	1.66E-08	NBO	139	8.44E-08	NBO
S434H	IgG1b	58	1.51E-08	NBO	140	9.85E-09	NBO
WT	IgG2_hi	59	4.44E-08	NBO	141	2.79E-08	NBO
S428L	IgG2_hi	60	2.45E-08	NBO	142	1.12E-08	NBO
S428M	IgG2_hi	61	8.10E-08	NBO	143	1.51E-08	NBO
S434H	IgG2_hi	62	2.55E-08	NBO	144	1.31E-08	NBO
S434F	IgG2_hi	63	1.91E-08	NBO	145	4.04E-09	3.61E-05
S428L 및 S434H	IgG2_hi	64	2.07E-08	NBO	146	2.45E-09	7.42E-06
S428L 및 S434F	IgG2_hi	65	6.31E-09	NBO	147	3.48E-10	4.93E-08
S428M 및 S434H	IgG2_hi	66	2.41E-08	NBO	148	6.67E-09	2.39E-05
S428M 및 S434F	IgG2_hi	67	1.07E-08	NBO	149	1.43E-09	1.08E-07

[0200]

[0201] mAb4 및 mAb3은 각각 고양잇과화된 항-IL31(ZTS-5864) 및 항-NGF(ZTS-768) 항체를 지칭함. 이 표 및 위의 표 1, 2 및 4의 mAb3는 동일함(즉, ZTS-768). 그러나, 이 표의 mAb3은 표 1, 2, 및 4에 나열된 mAb2 항체와 비교해 상이한 VL, VH, 및 CDR 영역을 가짐.

[0202] NBO = 결합이 관찰되지 않음.

[0203] [표 5b]

고양잇과 FcRn 에 대한 야생형(WT) 및 S428 및 S434 돌연변이체 IgG 의 결합

돌연변이	고양 잇과 IgG 서브 클래스	mAb4			mAb5		
		ID No.	KD pH6	KD pH7. 4	ID No.	KD pH6	KD pH7. 4
S428L	IgG1a	11	1.55E-08	NBO	68	8.65E-09	NBO
S428M 및 S434L	IgG1a	49	1.86E-08	NBO	81	1.86E-08	NBO
S428M 및 S434P	IgG1a	50	3.98E-08	NBO	82	3.32E-08	NBO

[0204]

[0205] mAb4 및 mAb5는 고양잇과화된 항-IL31 항체를 지칭함. mAb4는 mAb5와 비교해 상이한 VL, VH, 및 CDR 영역을 가짐.

[0206] NBO = 결합이 관찰되지 않음.

[0207] [실시예 6]

[0208] **FcRn 결합 검정**

[0209] 위의 실시예 섹션에서 논의된 것과 같이, 고양잇과 FcRn은 단리되고, 제조되었고 돌연변이체 Fc IgG는 Strietzelg 등에 따라 고양잇과 FcRn에 대해 검정되었다. 표준 RACE PCR을 사용하여 고양잇과 FcRn- $\alpha$  서브유닛 및  $\beta$ -마이크로글로불린을 증폭시켰다. FcRn- $\alpha$  서브유닛 및  $\beta$ -마이크로글로불린은 HEK 293 세포 내에 공동-형질감염되었고 FcRn 복합체는 c-말단 His 태그를 통한 IMAC 친화도 정제에 의해 정제되었다. KD는 CM5 센서 칩을 사용하여 Biacore 3000 또는 Biacore T200(GE Healthcare, 미국 펜실베이니아주 피츠버그 소재)에 의해 측정되었다.

[0210] FcRn은 변형된 SA 캡처 방법을 사용하여 센서의 표면 상에서 캡처되었다. 10 mM MES; 150 mM NaCl; 0.005% Tween20; 0.5 mg/mL BSA; pH6이 수집, 실행 완충액 및 적정을 실행하는 방법으로 사용되었다. 또한 1x HBS-P, 0.5 mg/mL BSA; pH7.4가 완충액 및 적정을 실행하는 방법에 사용되었다. Fc 돌연변이체 IgG는 수용체 표면 위로 유동되었고 친화도는 T200 평가 소프트웨어 또는 Biacore Insight Evaluation 소프트웨어를 사용하여 결정되었다. 완충액만 함유하는 블랭크 실행은 모든 실행에서 차감되었다. 유동 세포는 50mM Tris pH 8 또는 pH 9를 사용하여 재생되었다. 실행은 15° C에서 수행되었다.

[0211] 위치 434 및 428에서 만들어진 돌연변이는 pH6에서 FcRn에 대한 IgG의 친화도에 현저한 영향을 미친다. 이 연구는 IgG에 대한 FcRn 친화도에서의 증가가 VHVL 도메인에 의존적이지 않음을 밝힌다.

[0212] [표 6a]

표면 플라즈몬 공명(Biacore)에 의해 측정된 고양잇과 FcRn 에 대한 야생형(WT) 및 N434 돌연변이체 IgG 의 결합:

WT/ 돌연 변이 체	표적 3 + mAb6			표적 3 + mAb6			표적 3 + mAb6			표적 3 + mAb6		
	ID No	pH6 에서 KD	pH7. 4 에 서 KD	ID No	pH6 에서 KD	pH7. 4 에 서 KD	ID No	pH6 에서 KD	pH7. 4 에 서 KD	ID No	pH6 에서 KD	pH7. 4 에 서 KD
WT	1	1.47 E-07	NBO	12	3.52 E-08	NBO	14	2.23 E-08	NBO	16	2.05 E-08	NBO
S434H	2	2.21 E-08	NBO	13	2.78 E-09	NBO	15	2.10 E-09	7.08 E-07	17	2.16 E-09	1.26 E-07

[0213]

[0214] 고양잇과 IgG1a 서브클래스 B가 사용됨.

[0215] NBO = 결합이 관찰되지 않음; WT 및 S434H 돌연변이체에 대한 핵산 서열 코돈은 각각 AGC 및 CAC임.



[0216] ID 번호 1, 12, 14, 16, 및 18은 각각 야생형 mAb6 항-TGFβ 항체 ZTS-310, ZTS-120-1, ZTS-120-2, ZTS-120-3, 및 ZTS-120-4를 나타냄. ID 번호 2, 13, 15, 17, 및 19는 각각 돌연변이체 mAb6 항-TGFβ 항체 ZTS-310, ZTS-120-1, ZTS-120-2, ZTS-120-3, 및 ZTS-120-4를 나타냄.

[0217] [표 6b]

표면 플라즈몬 공명(Biacore)에 의해 측정된 고양잇과 FcRn에 대한 야생형(WT) 및 N434 돌연변이체 IgG의 결합:

WT/ 돌연 변이 체	표적 3 + mAb6			표적 3 + mAb6			표적 3 + mAb6			표적 3 + mAb6			표적 3 + mAb6		
	ID No	pH6 에서 KD	pH7. 4 에서 KD	ID No	pH6 에서 KD	pH7. 4 에서 KD	ID No	pH6 에서 KD	pH7. 4 에서 KD	ID No	pH6 에서 KD	pH7. 4 에서 KD	ID No	pH6 에서 KD	pH7. 4 에서 KD
WT	2 0	3.16 E-08	NBO	2 2	1.43 E-08	NBO	2 4	3.02 E-08	NBO	2 6	3.57 E-08	NBO	2 8	4.43 E-08	NBO
S434 H	2 1	2.67 E-09	NBO	2 3	2.02 E-09	NBO	2 5	2.47 E-09	NBO	2 7	2.45 E-09	NBO	2 9	2.73 E-09	NBO

[0218]

[0219] 고양잇과 IgG1a 서브클래스 B가 사용됨.

[0220] NBO = 결합이 관찰되지 않음; WT 및 S434H 돌연변이체에 대한 핵산 서열 코돈은 각각 AGC 및 CAC임.

[0221] ID 번호 20, 22, 24, 26, 및 28은 각각 야생형 mAb6 항-TGFβ 항체 ZTS-120-5, ZTS-120-6, ZTS-120-7, ZTS-120-8, 및 ZTS-120-9를 나타냄. ID 번호 21, 23, 25, 27, 및 29는 각각 돌연변이체 mAb6 항-TGFβ 항체 ZTS-120-5, ZTS-120-6, ZTS-120-7, ZTS-120-8, 및 ZTS-120-9를 나타냄.

[0222] [표 6c]

표면 플라즈몬 공명(Biacore)에 의해 측정된 고양잇과 FcRn에 대한 야생형(WT) 및 N434 돌연변이체 IgG의 결합:

코돈	돌연변이의 수		표적 3 + mAb6		
	1	2	ID No.	pH6에서 KD	pH7.4에서 KD
AGC	WT		1	1.47E-07	NBO
CAC	S434H		2	2.21E-08	NBO
TTC	S434F		3	6.13E-09	NBO 25
TAC	S434Y		4	7.73E-09	NBO
CTG	S434L		5	3.83E-05	NBO
CCC	S434P		6	8.38E-07	NBO
TGG	S434W		7	1.81E-08	NBO 30
CAC/CTG	S434H	S428L	8	9.13E-09	NBO
TTC/CTG	S434F	S428L	9	1.55E-09	4.07E-06
CAC/ATG	S434H	S428M	10	4.97E-09	NBO 35
TTC/ATG	S434F	S428M	11	1.10E-09	1.91E-07

[0223]

[0224] 고양잇과 IgG1a 서브클래스 B가 사용됨.

[0225] NBO = 결합이 관찰되지 않음.

[0226] ID 번호 1은 야생형 항-TGFβ 항체 ZTS-310을 나타냄.

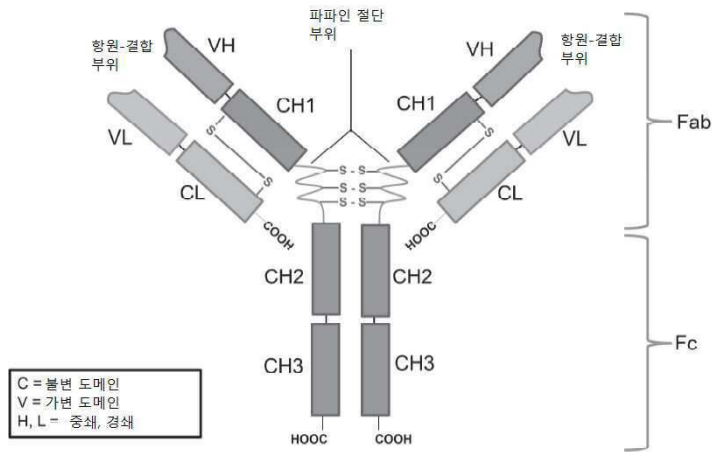
[0227] ID 번호 2~11은 항-TGFβ 항체 ZTS-310의 돌연변이체 형태를 나타냄.

[0228] 발명의 바람직한 실시형태를 설명했지만, 발명은 정확한 실시형태로 제한되지 않고, 다양한 변경 및 변형이 첨부된 청구범위에 정의된 발명의 범주 또는 사상을 벗어나지 않고 당업자에 의해 수행될 수 있음을 이해해야 한다.

도면

도면1

항체 구조





도면2b

고양잇과 Fc IgGa WT 뉴클레오타이드 서열

```
CCCCCTGAGATGCTTGGAGGACCGTCCATCTTTCATCTTCCCCCAA  
AACCCAAAGGACACCCCTCTCGATTTCCCGGACGCCCGGAGGTACAT  
GCTTGGTGGTGGACTTGGGCCAGATGACTCCGATGTCAGATCA  
CATGGTTTGTGGATAACACCCAGGTGTACACAGCCAAAGACGAGTC  
CGCGTGAGGAGCAGTTCAACAGCACCTACCGTGTGGTCAGTGTCC  
TCCCCATCCTACACAGGACTGGCTCAAGGGGAAGGAGTTCAAGT  
GCAAGGTCAACAGCAATCCCTCCCTCCCTCCCTCCCTCCCTCCCTCC  
TCTCCAAGGCCAAAGGACAGCCCCACGAGCCCCAGGTGTACGTCC  
TGCCCTCAGCCCCAGGAGGAGCTCAGCAGGAACAAAAGTCAGTGTGA  
CCTGCCGTGATCAAATCCTTCCACCCGCCGTGACATTCGCCGTCGAGTG  
GGAGATCACCCGGACAGCCGGAGCCAGAGAACAACTACCCGGACGA  
CCCCGCCCCAGCTGGACAGCGACGGGACCTACTTCGTGTACAGCA  
AGCTCTCGGTGGACAGGTCCCCTGCGCAGAGGGGAAACACCTACA  
CCTGCTCGGTGTACACAGGAGCTCTGCACAGCCACCCACACACAGA  
AATCCCTCACCCAGTCTCCGGGTAAA
```

도면2c

고양잇과 Fc IgG1a S434H 뉴클레오티드 서열

```
CCCCCTGAGATGCTTGGAGGACCCGTCATCTTTCATCTTCCCCCCAA
AACCCAAAGGACACCCCTCTCGATTTCCCGGACGCCCGAGGTCACAT
GCTTGGTGGTGGACTTGGGCCCAGATGACTCCGATGTCCAGATCA
CATGGTTTGTGGATAACACACCCAGGTGTACACAGCCAAAGACGAGTC
CGCGTGAGGAGCAGTTCAACAGCACCTACCCTGTGGTCAGTGTCC
TCCCCATCCTACACCCAGGACTGGCTCAAGGGGAAGGAGTTCAAGT
GCAAGGTCAACAAGCAAATCCCTCCCTCCCTCCCTCCCTCCCTCCCTCC
TCTCCAAAGGCCAAAGGACAGCCCAAGCCCAAGCCCAAGGTGTACGTCC
TGCCTCCAGCCAGGAGGAGCTCAGCAGGAACAAGTCAGTGTGA
CCTGCCCTGATCAAA TCCTTCCACCCGCTGACATTTGCCGTCGAGTG
GGAGATCACCCGGACAGCCGGAGCCAGAGAACAACTACCCGGACGA
CCCCGCCCCAGCTGGACAGCAGCCGAGCCGACCTACTTCGTGTACAGCA
AGCTCTCGGTGGACAGGTCCCACTGGCAGAGGGGAAACACCTACA
CCTGCTCGGTGTACACACGAAGCTCTGCACCCACCCACACACACAGA
AATCCCTCACCCAGTCTCCGGGTAAA
```



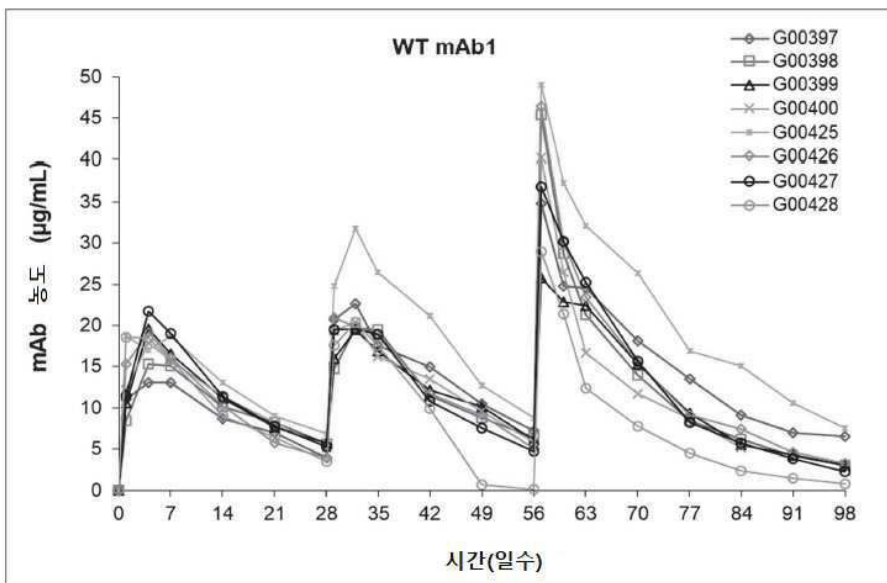
도면2d

고양잇과 Fc IgG1a S428L 뉴클레오티드 서열

```

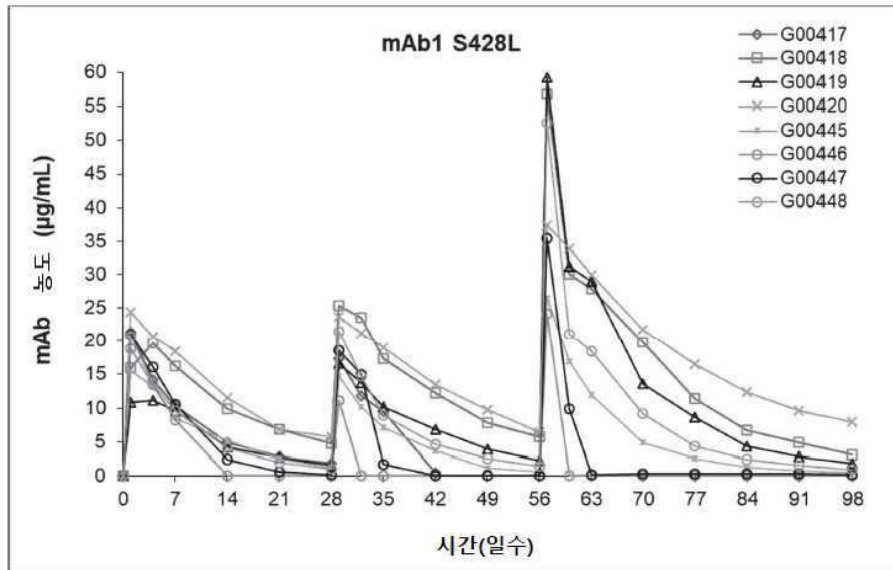
CCCCCTGAGATGCTTGGAGGACCGTCCATCTTCATCTTCCCCC
AACCCAGGACACCCTCTCGATTTCCGGACGCCCGAGGTCACAT
GCTTGGTGGACTTGGCCAGATGACTCCGATGTCCAGATCA
CATGGTTTGTGGATAACACCCAGGTGTACACAGCCAAAGACGAGTC
CGCGTGAGGAGCAGTTCAACAGCACCTACCGTGTGGTCAGTGTCC
TCCCATCCTACACAGGACTGGCTCAAGGGGAAGGAGTTCAAGT
GC AAGTCAACAGCAAATCCCTCCCTCCCTCCCTCCCTCCCTCCCT
TCTCC AAGCCAAAGGACAGCCCAAGCCCAAGCCCAAGCCCAAGCCCA
TGCCCTCAGCCCAAGGAGGAGCTCAGCAGGAACAAAGTCAGTGTGA
CCTGCCCTGATCAAATCCTTCCACCCCGCTGACATTGCCGTCGAGTG
GGAGATCACCCGGACAGCCGGAGCCAGAGAACTACCCGGACGGA
CCCCGCCAGCTGGACAGCCGACGGGACCTACTTCGTGTACAGCA
AGCTCTCGGTGGACAGGTCCCCTGAGGAGGAAACACCTACA
CCTGCTCGGTGCTGCACGAAAGCTCTGCACAGCCACCCACACAGA
AAATCCCTCACCCAGTCTCCGGGTAAA
    
```

도면3

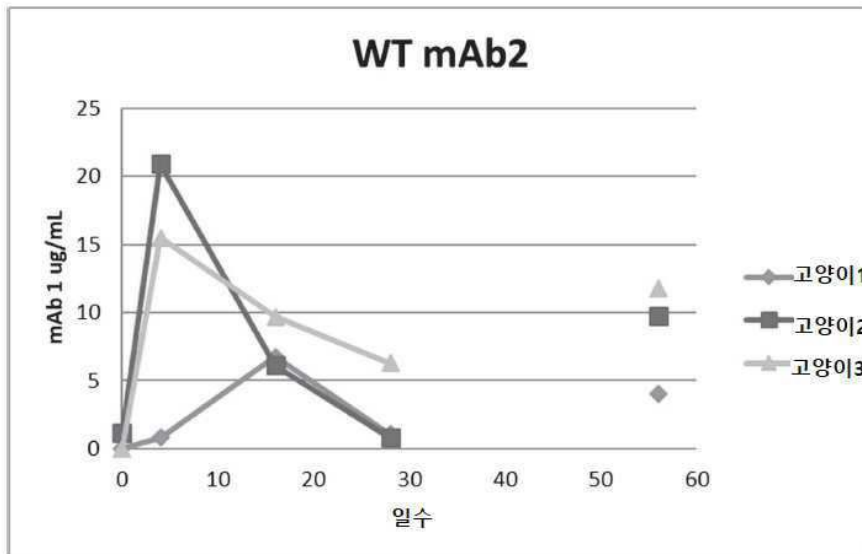




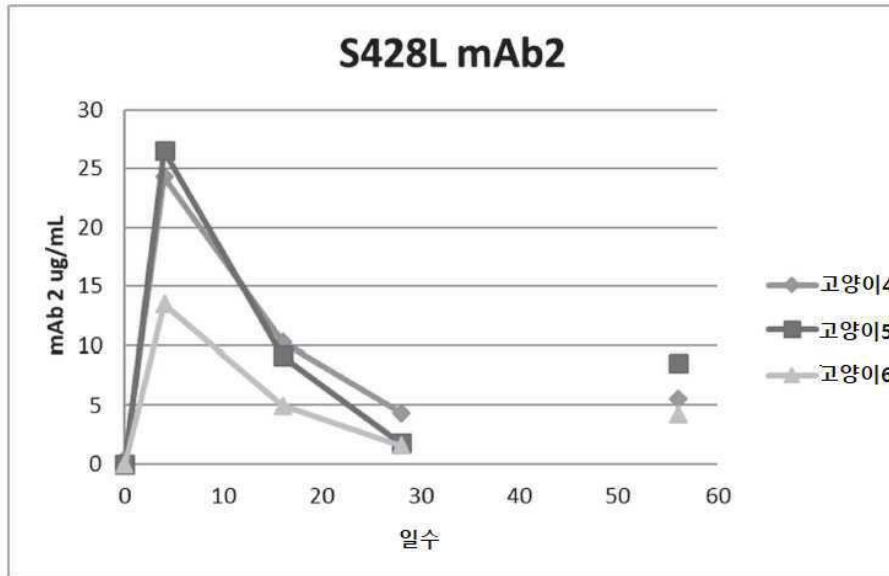
도면4



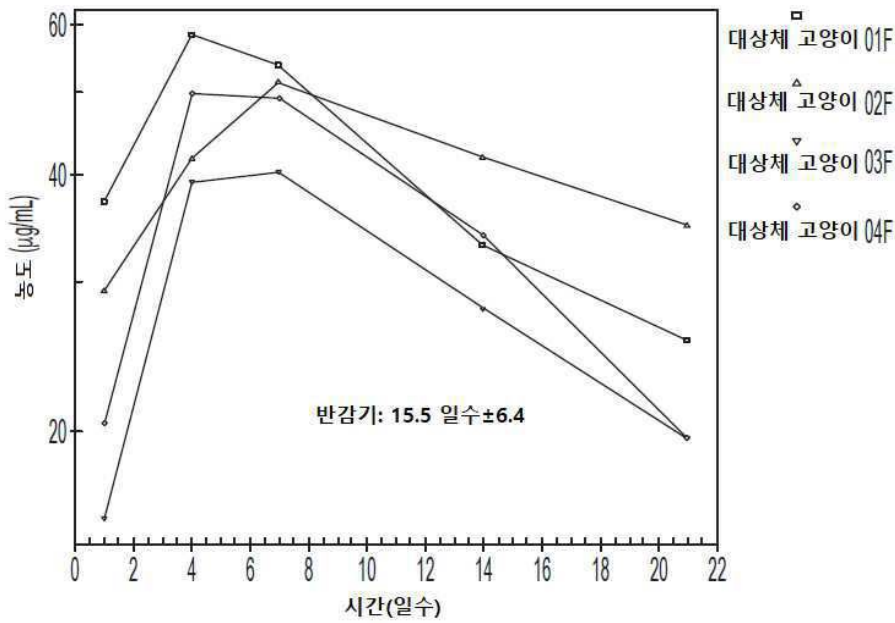
도면5



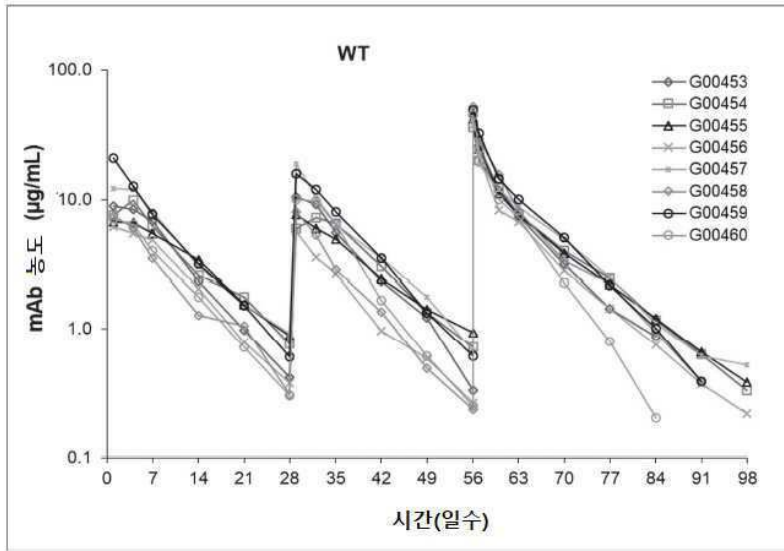
도면6



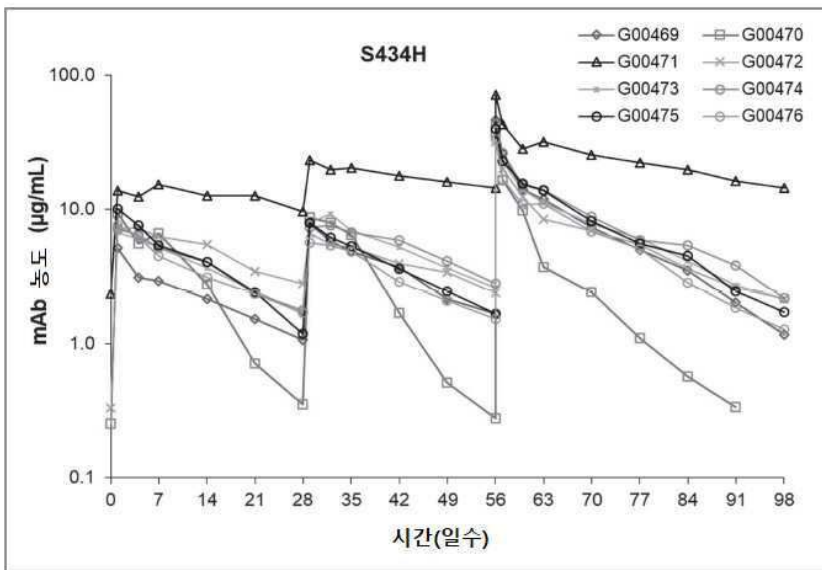
도면7



도면8



도면9



서열 목록

SEQUENCE LISTING

<110> Zoetis Services LLC

<120> FELINE ANTIBODY VARIANTS

<130> ZP000359A

<140> PCT/US2021/052579

<141> 2021-09-29  
 <150> US 63/084,693  
 <151> 2020-09-29  
 <160> 138  
 <170> PatentIn version 3.5  
 <210> 1  
 <211> 335  
 <212> PRT  
 <213> Felis catus  
 <400> 1

Ala Ser Thr Thr Ala Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Cys Gly  
 1                    5                    10                    15  
 Thr Thr Ser Gly Ala Thr Val Ala Leu Ala Cys Leu Val Leu Gly Tyr  
                   20                    25                    30  
  
 Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser  
                   35                    40                    45  
 Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ala Ser Gly Leu Tyr Ser  
                   50                    55                    60  
 Leu Ser Ser Met Val Thr Val Pro Ser Ser Arg Trp Leu Ser Asp Thr  
 65                    70                    75                    80  
 Phe Thr Cys Asn Val Ala His Pro Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys  
                   85                    90                    95  
  
 Thr Val Arg Lys Thr Asp His Pro Pro Gly Pro Lys Pro Cys Asp Cys  
                   100                    105                    110  
 Pro Lys Cys Pro Pro Pro Glu Met Leu Gly Gly Pro Ser Ile Phe Ile  
                   115                    120                    125  
 Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Ser Ile Ser Arg Thr Pro Glu  
                   130                    135                    140  
 Val Thr Cys Leu Val Val Asp Leu Gly Pro Asp Asp Ser Asp Val Gln  
 145                    150                    155                    160  
  
 Ile Thr Trp Phe Val Asp Asn Thr Gln Val Tyr Thr Ala Lys Thr Ser  
                   165                    170                    175

Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu  
 180 185 190

Pro Ile Leu His Gln Asp Trp Leu Lys Gly Lys Glu Phe Lys Cys Lys  
 195 200 205

Val Asn Ser Lys Ser Leu Pro Ser Pro Ile Glu Arg Thr Ile Ser Lys  
 210 215 220

Ala Lys Gly Gln Pro His Glu Pro Gln Val Tyr Val Leu Pro Pro Ala  
 225 230 235 240

Gln Glu Glu Leu Ser Arg Asn Lys Val Ser Val Thr Cys Leu Ile Lys  
 245 250 255

Ser Phe His Pro Pro Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ile Thr Gly Gln  
 260 265 270

Pro Glu Pro Glu Asn Asn Tyr Arg Thr Thr Pro Pro Gln Leu Asp Ser  
 275 280 285

Asp Gly Thr Tyr Phe Val Tyr Ser Lys Leu Ser Val Asp Arg Ser His  
 290 295 300

Trp Gln Arg Gly Asn Thr Tyr Thr Cys Ser Val Leu His Glu Ala Leu  
 305 310 315 320

His Ser His His Thr Gln Lys Ser Leu Thr Gln Ser Pro Gly Lys  
 325 330 335

<210> 2

<211> 335

<212> PRT

<213> Felis catus

<400> 2

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

1 5 10 15

Thr Thr Ser Gly Ala Thr Val Ala Leu Ala Cys Leu Val Leu Gly Tyr  
 20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser  
 35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ala Ser Gly Leu Tyr Ser

50                      55                      60  
 Leu Ser Ser Met Val Thr Val Pro Ser Ser Arg Trp Leu Ser Asp Thr  
  
 65                      70                      75                      80  
 Phe Thr Cys Asn Val Ala His Pro Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys  
                                  85                      90                      95  
 Thr Val Arg Lys Thr Asp His Pro Pro Gly Pro Lys Pro Cys Asp Cys  
                                  100                      105                      110  
 Pro Lys Cys Pro Pro Pro Glu Met Leu Gly Gly Pro Ser Ile Phe Ile  
                                  115                      120                      125  
 Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Ser Ile Ser Arg Thr Pro Glu  
  
 130                      135                      140  
 Val Thr Cys Leu Val Val Asp Leu Gly Pro Asp Asp Ser Asp Val Gln  
 145                      150                      155                      160  
 Ile Thr Trp Phe Val Asp Asn Thr Gln Val Tyr Thr Ala Lys Thr Ser  
                                  165                      170                      175  
 Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu  
                                  180                      185                      190  
 Pro Ile Leu His Gln Asp Trp Leu Lys Gly Lys Glu Phe Lys Cys Lys  
  
 195                      200                      205  
 Val Asn Ser Lys Ser Leu Pro Ser Pro Ile Glu Arg Thr Ile Ser Lys  
                                  210                      215                      220  
 Ala Lys Gly Gln Pro His Glu Pro Gln Val Tyr Val Leu Pro Pro Ala  
 225                      230                      235                      240  
 Gln Glu Glu Leu Ser Arg Asn Lys Val Ser Val Thr Cys Leu Ile Lys  
                                  245                      250                      255  
 Ser Phe His Pro Pro Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ile Thr Gly Gln  
  
 260                      265                      270  
 Pro Glu Pro Glu Asn Asn Tyr Arg Thr Thr Pro Pro Gln Leu Asp Ser  
                                  275                      280                      285  
 Asp Gly Thr Tyr Phe Val Tyr Ser Lys Leu Ser Val Asp Arg Ser His  
                                  290                      295                      300



Trp Gln Arg Gly Asn Thr Tyr Thr Cys Ser Val Ser His Glu Ala Leu  
 305                      310                      315                      320

His His His His Thr Gln Lys Ser Leu Thr Gln Ser Pro Gly Lys

                                 325                      330                      335

<210> 3

<211> 335

<212> PRT

<213> Felis catus

<400> 3

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

1                      5                      10                      15

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

                                 20                      25                      30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser

                                 35                      40                      45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ala Ser Gly Leu Tyr Ser

                                 50                      55                      60

Leu Ser Ser Met Val Thr Val Pro Ser Ser Arg Trp Leu Ser Asp Thr

65                      70                      75                      80

Phe Thr Cys Asn Val Ala His Pro Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys

                                 85                      90                      95

Thr Val Arg Lys Thr Asp His Pro Pro Gly Pro Lys Pro Cys Asp Cys

                                 100                      105                      110

Pro Lys Cys Pro Pro Pro Glu Met Leu Gly Gly Pro Ser Ile Phe Ile

                                 115                      120                      125

Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Ser Ile Ser Arg Thr Pro Glu

                                 130                      135                      140

Val Thr Cys Leu Val Val Asp Leu Gly Pro Asp Asp Ser Asp Val Gln

145                      150                      155                      160

Ile Thr Trp Phe Val Asp Asn Thr Gln Val Tyr Thr Ala Lys Thr Ser

                                 165                      170                      175

Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu  
 180 185 190  
 Pro Ile Leu His Gln Asp Trp Leu Lys Gly Lys Glu Phe Lys Cys Lys  
 195 200 205  
 Val Asn Ser Lys Ser Leu Pro Ser Pro Ile Glu Arg Thr Ile Ser Lys  
 210 215 220  
 Ala Lys Gly Gln Pro His Glu Pro Gln Val Tyr Val Leu Pro Pro Ala  
 225 230 235 240

Gln Glu Glu Leu Ser Arg Asn Lys Val Ser Val Thr Cys Leu Ile Lys  
 245 250 255  
 Ser Phe His Pro Pro Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ile Thr Gly Gln  
 260 265 270  
 Pro Glu Pro Glu Asn Asn Tyr Arg Thr Thr Pro Pro Gln Leu Asp Ser  
 275 280 285  
 Asp Gly Thr Tyr Phe Val Tyr Ser Lys Leu Ser Val Asp Arg Ser His  
 290 295 300

Trp Gln Arg Gly Asn Thr Tyr Thr Cys Ser Val Ser His Glu Ala Leu  
 305 310 315 320  
 His Ser His His Thr Gln Lys Ser Leu Thr Gln Ser Pro Gly Lys  
 325 330 335

<210> 4

<211> 1005

<212> DNA

<213> Felis catus

<400> 4

gctccacca cggccccatc ggtgttccca ctggcccca gctgcgggac cacatctggc 60  
 gccaccgtgg cctggcctg cctggtgtta ggctacttcc ctgagccggt gaccgtgtcc 120  
 tggaaactcgg gcgccctgac cagcgggtgtg cacaccttcc cggccgtcct gcaggcctcg 180  
  
 gggctgtact ctctcagcag catggtgaca gtgccctcca gcaggtggct cagtgcacacc 240  
 ttcacctgca acgtggccca cccgccagc aacaccaagg tggacaagac cgtgcgcaaa 300  
 acagaccacc caccgggacc caaacctgc gactgtccca aatgccacc cctgagatg 360  
 cttggaggac cgtccatctt catcttccc caaaacca aggacaccct ctcgatttcc 420

cggacgcccc aggtcacatg cttgggtgtg gacttgggcc cagatgactc cgatgtccag 480  
 atcacatggt ttgtggataa caccagggtg tacacagcca agacaggtcc gcgtgaggag 540  
 cagttcaaca gcacctaccg tgtggtcagt gtctctccca tcttacacca ggactggctc 600

aaggggaagg agttcaagtg caaggtcaac agcaaatccc tcccctcccc catcgagagg 660  
 accatctcca aggccaaagg acagccccac gagccccagg tgtacgtcct gcctccagcc 720  
 caggaggagc tcagcaggaa caaagtcagt gtgacctgcc tgatcaaac cttccaccg 780  
 cctgacattg ccgtcgagtg ggagatcacc ggacagccgg agccagagaa caactaccgg 840  
 acgacccccg cccagctgga cagcagccgg acctacttcg tgtacagcaa gctctcgggtg 900  
 gagaggtccc actggcagag gggaaacacc tacacctgct cgggtgcaca cgaagctctg 960  
 cacagccacc acacacagaa atccctcacc cagtctccgg gtaaa 1005

<210> 5

<211> 98

<212> PRT

<213> Felis catus

<400> 5

Ala Ser Thr Thr Ala Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Cys Gly  
 1                    5                    10                    15  
 Thr Thr Ser Gly Ala Thr Val Ala Leu Ala Cys Leu Val Leu Gly Tyr  
                   20                    25                    30  
 Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser  
                   35                    40                    45  
 Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ala Ser Gly Leu Tyr Ser  
                   50                    55                    60  
 Leu Ser Ser Met Val Thr Val Pro Ser Ser Arg Trp Leu Ser Asp Thr  
 65                    70                    75                    80  
 Phe Thr Cys Asn Val Ala His Pro Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys  
                   85                    90                    95  
 Thr Val

<210> 6

<211> 18

<212> PRT

<213> Felis catus

<400> 6

Arg Lys Thr Asp His Pro Pro Gly Pro Lys Pro Cys Asp Cys Pro Lys

1                    5                    10                    15

Cys Pro

<210> 7

<211> 110

<212> PRT

<213> Felis catus

<400> 7

Pro Pro Glu Met Leu Gly Gly Pro Ser Ile Phe Ile Phe Pro Pro Lys

1                    5                    10                    15

Pro Lys Asp Thr Leu Ser Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Leu

                  20                    25                    30

Val Val Asp Leu Gly Pro Asp Asp Ser Asp Val Gln Ile Thr Trp Phe

                  35                    40                    45

Val Asp Asn Thr Gln Val Tyr Thr Ala Lys Thr Ser Pro Arg Glu Glu

                  50                    55                    60

Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro Ile Leu His

65                    70                    75                    80

Gln Asp Trp Leu Lys Gly Lys Glu Phe Lys Cys Lys Val Asn Ser Lys

                  85                    90                    95

Ser Leu Pro Ser Pro Ile Glu Arg Thr Ile Ser Lys Ala Lys

                  100                    105                    110

<210> 8

<211> 109

<212> PRT

<213> Felis catus

<400> 8

Gly Gln Pro His Glu Pro Gln Val Tyr Val Leu Pro Pro Ala Gln Glu

1                    5                    10                    15

Glu Leu Ser Arg Asn Lys Val Ser Val Thr Cys Leu Ile Lys Ser Phe  
 20 25 30  
 His Pro Pro Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ile Thr Gly Gln Pro Glu  
 35 40 45  
 Pro Glu Asn Asn Tyr Arg Thr Thr Pro Pro Gln Leu Asp Ser Asp Gly  
 50 55 60  
 Thr Tyr Phe Val Tyr Ser Lys Leu Ser Val Asp Arg Ser His Trp Gln  
 65 70 75 80  
 Arg Gly Asn Thr Tyr Thr Cys Ser Val Ser His Glu Ala Leu His Ser  
 85 90 95  
 His His Thr Gln Lys Ser Leu Thr Gln Ser Pro Gly Lys  
 100 105

<210> 9  
 <211> 294  
 <212> DNA  
 <213> Felis catus  
 <400> 9  
 gcctccacca cggcccacatc ggtgttccca ctggcccaca gctgcgggac cacatctggc 60

gccaccgtgg cctggcctg cctggtgtta ggctacttcc ctgagccggt gaccgtgtcc 120  
 tggaaactccg gcgcctgac cagcgggtgtg cacaccttcc cggccgtcct gcaggcctcg 180  
 gggctgtact ctctcagcag catggtgaca gtgccctcca gcaggtggct cagtgcaccc 240  
 ttcacctgca acgtggccca cccgccccagc aacaccaagg tggacaagac cgtg 294

<210> 10  
 <211> 54  
 <212> DNA  
 <213> Felis catus  
 <400> 10  
 cgcaaaacag accaccacc gggacccaaa cctgcgact gtcccaaatg ccca 54

<210> 11  
 <211> 330  
 <212> DNA  
 <213> Felis catus

<400> 11  
 cccctgaga tgcttgagg accgtccatc ttcattctcc ccccaaaacc caaggacacc 60  
 ctctcgattt cccggacgcc cgaggtcaca tgcttggtgg tggacttggg cccagatgac 120  
 tccgatgtcc agatcacatg gtttgtggat aacacccagg tgtacacagc caagacgagt 180  
 ccgctgagg agcagttcaa cagcacctac cgtgtgtca gtgtcctccc catcctacac 240  
 caggactggc tcaaggggaa ggagttcaag tgcaaggtca acagcaaatc cctcccctcc 300  
 cccatcgaga ggacatctc caaggccaaa 330

<210> 12

<211> 327

<212> DNA

<

213> Felis catus

<400> 12  
 ggacagcccc acgagcccca ggtgtacgtc ctgcctccag cccaggagga gctcagcagg 60  
 aacaaagtca gtgtgacctg cctgatcaaa tccttcacc cgctgacat tgccgtcgag 120  
 tgggagatca ccggacagcc ggagccagag aacaactacc ggacagcccc gccccagctg 180  
 gacagcgacg ggacctactt cgtgtacagc aagctctcgg tggacaggtc ccaactggcag 240  
 aggggaaaca cctacacctg ctcggtgtca cacgaagctc tgcacagcca ccacacacag 300  
 aaatcctca cccagtctcc gggtaaa 327

<210> 13

<211> 351

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> ZTS-5864 Heavy Chain Variable Region

<400> 13  
 gacgtgcaat tgggtggagtc tgggggagac ctggtgaagc ctggggggtc cctgagactc 60  
 acctgtgtgg cctctggatt caccttcagt gactatgcaa tgagctgggt cgccaggct 120  
 ccagggaagg ggctgcagtg ggtcgcaggt attgacagtg ttggaagtgg cacaagctac 180  
 gcagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca atgccaagaa cacgtgtat 240  
 ctgcagatga acagcctcaa gaccgaggac acggccacat attactgtgc gagcgggttc 300  
 cctgggtcct ttgagcactg gggccaagga accctggtga cggctctgag c 351

<210> 14

<211> 117



<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ZTS-5864 Heavy Chain Variable Region

<400> 14

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

1                    5                    10                    15

Ser Leu Arg Leu Thr Cys Val Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr

                  20                    25                    30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Gln Trp Val

                  35                    40                    45

Ala Gly Ile Asp Ser Val Gly Ser Gly Thr Ser Tyr Ala Asp Ser Val

                  50                    55                    60

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

65                    70                    75                    80

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

                  85                    90                    95

Ala Ser Gly Phe Pro Gly Ser Phe Glu His Trp Gly Gln Gly Thr Leu

                  100                    105                    110

Val Thr Val Ser Ser

                  115

<210> 15

<211> 5

<212> PRT

<213> Canis familiaris

<400> 15

Asp Tyr Ala Met Ser

1                    5

<210> 16

<211> 17

<212> PRT

<213> Canis familiaris

<400> 16

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

1                    5                    10                    15

Gly

<210> 17

<211> 8

<212> PRT

<213> Canis familiaris

<400> 17

Gly Phe Pro Gly Ser Phe Glu His

1                    5

<210> 18

<211> 312

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> ZTS-5864 Light Chain Variable Region

<400> 18

cagtctgtgc tgaactcagcc atcctcagtg tctgggaccc taggccagag gatcaccatc                    60

tcctgcaccg gaagcagctc caacatcggg agtggttatg tgggctggta tcaacaagtc                    120

ccaggaatgg gccccaaaac cgatcatctat tataatagcg accgaccctc tggagtccca                    180

gataggttct ccggctccaa gtctggcagc tcaggcaccc tgaccatcac tggattgcag                    240

gctgaagacg aggctgacta ttactgttca gtatatgaca gaactttcaa tgctgtgttc                    300

ggcggaggga cc                    312

<210> 19

<211> 104

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ZTS-5864 Light Chain Variable Region

<400> 19

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

1                    5                    10                    15

Arg Ile Thr Ile Ser Cys Thr Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Ser Gly

20                    25                    30

Tyr Val Gly Trp Tyr Gln Gln Val Pro Gly Met Gly Pro Lys Thr Val

35 40 45

Ile Tyr Tyr Asn Ser Asp Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser

50 55 60

Gly Ser Lys Ser Gly Ser Ser Gly Thr Leu Thr Ile Thr Gly Leu Gln

65 70 75 80

Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ser Val Tyr Asp Arg Thr Phe

85 90 95

Asn Ala Val Phe Gly Gly Gly Thr

100

<210> 20

<211> 13

<212> PRT

<213> *Canis familiaris*

<400> 20

Thr Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Ser Gly Tyr Val Gly

1 5 10

<210> 21

<211> 7

<212> PRT

<213> *Canis familiaris*

<400> 21

Tyr Tyr Asn Ser Asp Arg Pro

1 5

<210> 22

<211> 10

<212> PRT

<213> *Canis familiaris*

<400> 22

Ser Val Tyr Asp Arg Thr Phe Asn Ala Val

1 5 10

<210> 23

<211> 453

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ZTS768\_Heavy\_chain

<400> 23

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

1                    5                    10                    15

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

                  20                    25                    30

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

                  35                    40                    45

Ala Arg Ile Asp Pro Tyr Gly Gly Gly Thr Lys His Asn Glu Lys Phe

                  50                    55                    60

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

65                    70                    75                    80

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

                  85                    90                    95

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

                  100                    105                    110

Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Thr Ala Pro Ser Val Phe Pro

                  115                    120                    125

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

                  130                    135                    140

Cys Leu Val Leu Gly Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn

145                    150                    155                    160

Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln

                  165                    170                    175

Ala Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Met Val Thr Val Pro Ser Ser

                  180                    185                    190

Arg Trp Leu Ser Asp Thr Phe Thr Cys Asn Val Ala His Pro Pro Ser

                  195                    200                    205

Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Arg Lys Thr Asp His Pro Pro Gly



<210> 24

<211> 5

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 24

Asn Tyr Trp Met His

1                    5

<210> 25

<211> 17

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 25

Arg Ile Asp Pro Tyr Gly Gly Gly Thr Lys His Asn Glu Lys Phe Lys

1                    5                    10                    15

Arg

<210> 26

<211> 9

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 26

Ser Gly Tyr Asp Tyr Tyr Phe Asp Val

1                    5

<210> 27

<211> 217

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ZTS768\_Light\_chain

<400> 27

Glu Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Pro Gly

1                    5                    10                    15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Glu Asn Ile Tyr Ser Phe

20                    25                    30

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

35 40 45

Tyr Asn Ala Asn Thr Leu Ala Glu Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

Pro Ser Val Phe Leu Phe Gln Pro Ser Leu Asp Glu Leu His Thr Gly

115 120 125

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

130 135 140

Asn Val Lys Trp Lys Val Asp Gly Val Val Gln Asn Lys Gly Ile Gln

145 150 155 160

Glu Ser Thr Thr Glu Gln Asn Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser

165 170 175

Ser Thr Leu Thr Met Ser Ser Thr Glu Tyr Gln Ser His Glu Lys Phe

180 185 190

Ser Cys Glu Val Thr His Lys Ser Leu Ala Ser Thr Leu Val Lys Ser

195 200 205

Phe Gln Arg Ser Glu Cys Gln Arg Glu

210 215

<210> 28

<211> 11

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 28

Arg Ala Ser Glu Asn Ile Tyr Ser Phe Leu Ala

1 5 10



<210> 29

<211> 7

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 29

Asn Ala Asn Thr Leu Ala Glu

1                    5

<210> 30

<211> 9

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 30

Gln His His Phe Gly Thr Pro Phe Thr

1                    5

<210> 31

<211> 457

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> NV02\_Heavy chain

<400> 31

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

1                    5                    10                    15

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

                  20                    25                    30

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

                  35                    40                    45

Gly Gly Val Trp Ala Gly Gly Ala Thr Asp Tyr Asn Ser Ala Leu Lys

                  50                    55                    60

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

65                    70                    75                    80

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

                  85                    90                    95

Arg Asp Gly Gly Tyr Ser Ser Ser Thr Leu Tyr Ala Met Asp Ala Trp

100 105 110  
 Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ala Ala Ser Thr Thr Ala Pro  
 115 120 125  
 Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Cys Gly Thr Thr Ser Gly Ala Thr  
 130 135 140  
  
 Val Ala Leu Ala Cys Leu Val Leu Gly Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr  
 145 150 155 160  
 Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro  
 165 170 175  
 Ala Val Leu Gln Ala Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Met Val Thr  
 180 185 190  
 Val Pro Ser Ser Arg Trp Leu Ser Asp Thr Phe Thr Cys Asn Val Ala  
 195 200 205  
  
 His Pro Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Arg Lys Thr Asp  
 210 215 220  
 His Pro Pro Gly Pro Lys Pro Cys Asp Cys Pro Lys Cys Pro Pro Pro  
 225 230 235 240  
 Glu Met Leu Gly Gly Pro Ser Ile Phe Ile Phe Pro Pro Lys Pro Lys  
 245 250 255  
 Asp Thr Leu Ser Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Leu Val Val  
 260 265 270  
  
 Asp Leu Gly Pro Asp Asp Ser Asp Val Gln Ile Thr Trp Phe Val Asp  
 275 280 285  
 Asn Thr Gln Val Tyr Thr Ala Lys Thr Ser Pro Arg Glu Glu Gln Phe  
 290 295 300  
 Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro Ile Leu His Gln Asp  
 305 310 315 320  
 Trp Leu Lys Gly Lys Glu Phe Lys Cys Lys Val Asn Ser Lys Ser Leu  
 325 330 335  
  
 Pro Ser Pro Ile Glu Arg Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro His  
 340 345 350

Glu Pro Gln Val Tyr Val Leu Pro Pro Ala Gln Glu Glu Leu Ser Arg  
 355 360 365  
 Asn Lys Val Ser Val Thr Cys Leu Ile Lys Ser Phe His Pro Pro Asp  
 370 375 380  
 Ile Ala Val Glu Trp Glu Ile Thr Gly Gln Pro Glu Pro Glu Asn Asn  
 385 390 395 400

Tyr Arg Thr Thr Pro Pro Gln Leu Asp Ser Asp Gly Thr Tyr Phe Val  
 405 410 415  
 Tyr Ser Lys Leu Ser Val Asp Arg Ser His Trp Gln Arg Gly Asn Thr  
 420 425 430  
 Tyr Thr Cys Ser Val Ser His Glu Ala Leu His Ser His His Thr Gln  
 435 440 445  
 Lys Ser Leu Thr Gln Ser Pro Gly Lys  
 450 455

<210> 32

<211> 10

<212> PRT

<213> Rattus rattus

<400> 32

Gly Phe Ser Leu Thr Asn Asn Asn Val Asn

1 5 10

<210> 33

<211> 16

<212> PRT

<213> Rattus rattus

<400> 33

Gly Val Trp Ala Gly Gly Ala Thr Asp Tyr Asn Ser Ala Leu Lys Ser

1 5 10 15

<210> 34

<211> 14

<212> PRT

<213> Rattus rattus

<400> 34

Asp Gly Gly Tyr Ser Ser Ser Thr Leu Tyr Ala Met Asp Ala  
 1                    5                    10

<210> 35

<211> 217

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> >NV02\_Kappa chain

<400> 35

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

Glu Ser Val Ser Ile Ser Cys Arg Ala Ser Glu Asp Ile Tyr Asn Ala  
                   20                    25                    30

Leu Ala Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Arg Ser Pro Arg Leu Leu Ile  
                   35                    40                    45

Tyr Asn Thr Asp Thr Leu His Thr Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly

50                    55                    60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Gln Thr  
 65                    70                    75                    80

Glu Asp Val Gly Val Tyr Phe Cys Gln His Tyr Phe His Tyr Pro Arg  
                   85                    90                    95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys Arg Ser Asp Ala Gln  
                   100                    105                    110

Pro Ser Val Phe Leu Phe Gln Pro Ser Leu Asp Glu Leu His Thr Gly

115                    120                    125

Ser Ala Ser Ile Val Cys Ile Leu Asn Asp Phe Tyr Pro Lys Glu Val  
                   130                    135                    140

Asn Val Lys Trp Lys Val Asp Gly Val Val Gln Asn Lys Gly Ile Gln  
 145                    150                    155                    160

Glu Ser Thr Thr Glu Gln Asn Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser  
                   165                    170                    175

Ser Thr Leu Thr Met Ser Ser Thr Glu Tyr Gln Ser His Glu Lys Phe

180 185 190  
 Ser Cys Glu Val Thr His Lys Ser Leu Ala Ser Thr Leu Val Lys Ser  
 195 200 205

Phe Gln Arg Ser Glu Cys Gln Arg Glu  
 210 215

<210> 36  
 <211> 11  
 <212> PRT  
 <213> Rattus rattus  
 <400> 36

Arg Ala Ser Glu Asp Ile Tyr Asn Ala Leu Ala  
 1 5 10

<210> 37  
 <211> 7  
 <212> PRT  
 <213> Rattus rattus  
 <400> 37

Asn Thr Asp Thr Leu His Thr  
 1 5

<210> 38  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> Rattus rattus  
 <400> 38

Gln His Tyr Phe His Tyr Pro Arg Thr  
 1 5

<210> 39  
 <211> 5  
 <212> PRT  
 <213> Mus musculus  
 <400> 39

Ser Ser Trp Met Asn  
 1 5

<210> 40

<211> 17

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 40

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

1                    5                    10                    15

Gly

<210> 41

<211> 10

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 41

Ala Arg His Tyr Asp Gly Ser Thr Asp Tyr

1                    5                    10

<210> 42

<211> 11

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 42

Arg Ala Ser Glu Asn Ile Tyr Ser Asn Leu Ala

1                    5                    10

<210> 43

<211> 7

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 43

Ala Ala Thr Asn Leu Ala Asp

1                    5

<210> 44

<211> 9

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 44

Gln His Phe Trp Gly Thr Pro Tyr Thr

1 5

<210> 45

<211> 117

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Felinized Sequence - Variable Heavy Region Engineered to Have

Sequences from Mus musculus and Felis

<400> 45

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Trp Met Asn Trp Leu Arg Gln Ala Pro Ala Gln Gly Phe Glu Trp Met

35 40 45

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

50 55 60

Lys Gly Arg Leu Thr Leu Thr Ala Asp Thr Ser Thr Asp Thr Ala Tyr

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg His Tyr Asp Gly Ser Thr Asp Tyr Trp Gly His Gly Thr Ile

100 105 110

Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 46

<211> 351

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Felinized Sequence - Variable Heavy Region Engineered to Have

Sequences from Mus musculus and Felis

<400> 46



caggtgctgc tggatgagag cggcgcggaa gtgcgccc cggcgcgag cgtgaaaatt 60  
 ttttgcaaag cgagcggcta tagctttacc agcagctgga tgaactggct gcgccaggcg 120  
  
 ccggcgcagg gctttgaatg gatgggccag atttatccgg gcgatggcga taccaactat 180  
 aacggcaaat ttaaaggccg cctgaccctg accgcggata ccagcaccga taccgcgtat 240  
 atggaactga gcagcctgag cagcgcggat accgcggtgt attattgcgc gcgccattat 300  
 gatggcagca ccgattattg gggccatggc accattgtga ccgtgagcag c 351

<210> 47

<211> 103

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Felinized Sequence - Variable Light Region Engineered to Have  
 Sequences from Mus musculus and Felis

<400> 47

Ala Ile Thr Met Thr Gln Ser Pro Gly Ser Leu Ala Gly Ser Pro Gly

1                    5                    10                    15  
 Gln Gln Val Thr Met Asn Cys Arg Ala Ser Glu Asn Ile Tyr Ser Asn

                  20                    25                    30  
 Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln His Pro Lys Leu Leu Ile

                  35                    40                    45  
 Tyr Ala Ala Thr Asn Leu Ala Asp Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly

                  50                    55                    60  
 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Asn Leu Gln Ala

65                    70                    75                    80  
 Glu Asp Val Ala Ser Tyr Tyr Cys Gln His Phe Trp Gly Thr Pro Tyr

                  85                    90                    95  
 Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys

100

<210> 48

<211> 309

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Felinized Sequence - Variable Light Region Engineered to Have

Sequences from *Mus musculus* and *Felis*

<400> 48  
gcgattacca tgaccagag cccgggcagc ctggcgggca gcccgggcca gcaggtgacc 60

atgaactgcc gcgcgagcga aacatttat agcaacctgg cgtggtatca gcagaaaccg 120  
ggccagcadc cgaactgct gatttatgcg gcgaccaacc tggcggatgg cgtgccggat 180  
cgctttagcg gcagcggcag cggcaccgat ttacctga ccattagcaa cctgcaggcg 240  
gaagatgtgg cgagctatta ttgccagcat tttggggca cccgtatac ctttggcggc 300  
ggcaccaaaa 309

<210> 49  
<211> 5  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens  
<400> 49  
Ser Asn Val Ile Ser  
1 5

<210> 50  
<  
211> 18  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens  
<400> 50  
Gly Val Ile Pro Ile Val Asp Ile Ala Asn Tyr Ala Gln Arg Phe Lys  
1 5 10 15  
Gly Arg

<210> 51  
<211> 11  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens  
<400> 51  
Thr Leu Gly Leu Val Leu Asp Ala Met Asp Tyr  
1 5 10  
<210> 52  
<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 52

Arg Ala Ser Gln Ser Leu Gly Ser Ser Tyr

1                    5                    10

<210> 53

<211> 7

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 53

Gly Ala Ser Ser Arg Ala Pro

1                    5

<210> 54

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 54

Gln Gln Tyr Ala Asp Ser Pro Ile Thr

1                    5

<210> 55

<211> 120

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Felinized Sequence - Variable Heavy Region Engineered to Have

Sequences from Homo sapiens and Felis

<400> 55

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

1                    5                    10                    15

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

20                    25                    30

Val Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met

35                    40                    45

Gly Gly Val Ile Pro Ile Val Asp Ile Ala Asn Tyr Ala Gln Arg Phe

50 55 60  
Lys Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Ser Thr Thr Tyr

65 70 75 80  
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95  
Ala Ser Thr Leu Gly Leu Val Leu Asp Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln

100 105 110  
Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 56

<211> 360

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Felinized Sequence - Variable Heavy Region Engineered to Have

Sequences from Homo sapiens and Felis

<400> 56

cagggtgcagc tgggtgcagtc cggagctgag gtgaagaagc caggctccag cgtgaaggtg 60  
tcttgaagg cttccggcta caccttctct tccaacgtga tcagctgggt gagacaggct 120  
ccaggacagg gactggagtg gatgggaggc gtgatcccta tcgtggacat cgccaattac 180  
gctcagaggt ttaagggccg ggtgaccatc acagctgatg agtccacaag caccacatat 240  
atggagctga gctctctgcg cagcaggac accgccgtgt actattgtgc ttctacactg 300  
ggcctggtgc tggacgctat ggactattgg ggccagggca ccctggtgac agtctcgagc 360

<210> 57

<211> 108

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Felinized Sequence - Variable Light Region Engineered to Have

Sequences from Homo sapiens and Felis

<400> 57

Glu Thr Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly  
1 5 10 15  
Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Leu Gly Ser Ser

20 25 30  
 Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu

35 40 45  
 Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Pro Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser

50 55 60  
 Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu

65 70 75 80  
 Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Ala Asp Ser Pro

85 90 95  
 Ile Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

100 105  
 <210> 58  
 <211> 324  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> Felinized Sequence - Variable Light Region Engineered to Have  
 Sequences from Homo sapiens and Felis

<400> 58  
 gagaccgtgc tgacacagtc tcttggcacc ctgagcctgt ctccaggaga gagggccaca 60  
 ctgtcctgca gggcttccca gagcctgggc tccagctacc tggcctggta tcagcagaag 120  
 ccaggccagg ctcccaggct gctgatctac ggagccttt ccagagctcc aggcattcct 180  
 gaccgtttct ctggatccgg aagcggcacc gacttcaccc tgacaatcag cagactggag 240  
  
 cccgaggact tcgccgtgta ctattgtcag cagtatgctg atttcctat cacatttggc 300  
 cagggtacca agctggagat caaa 324

<210> 59  
 <211> 5  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens  
 <400> 59

Ser Asn Val Ile Ser  
 1 5

<210> 60

<211> 17  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens  
 <400> 60  
 Gly Val Ile Pro Ile Val Asp Ile Ala Asn Tyr Ala Gln Arg Phe Lys  
 1                    5                    10                    15  
 Gly

<210> 61  
 <211> 13  
 <212>  
 > PRT  
 <213> Homo sapiens  
 <400> 61  
 Ala Ser Thr Leu Gly Leu Val Leu Asp Ala Met Asp Tyr  
 1                    5                    10

<210> 62  
 <211> 10  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens  
 <400> 62  
 Arg Ala Ser Gln Ser Leu Gly Ser Ser Tyr  
 1                    5                    10

<210> 63  
 <211> 7  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens  
 <400> 63  
 Gly Ala Ser Ser Arg Ala Pro  
 1                    5

<210> 64  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens  
 <400> 64

Gln Gln Tyr Ala Asp Ser Pro Ile Thr

1 5

<210> 65

<211> 120

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Felinized Sequence - Variable Heavy Region Engineered to Have Sequences from Homo sapiens and Felis

<400> 65

Gln Val Leu Leu Val Gln Ser Gly Ala Asp Val Arg Lys Pro Gly Ala

1 5 10 15

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

20 25 30

Val Ile Ser Trp Val Arg Gln Thr Pro Ala Gln Gly Phe Glu Trp Met

35 40 45

Gly Gly Val Ile Pro Ile Val Asp Ile Ala Asn Tyr Ala Gln Arg Phe

50 55 60

Lys Gly Arg Leu Val Leu Thr Ala Asp Thr Ser Thr Asn Thr Ala Tyr

65 70 75 80

Met Glu Leu Arg Ser Leu Lys Ser Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

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

100 105 110

Gly Ser Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 66

<211> 360

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Felinized Sequence - Variable Heavy Region Engineered to Have Sequences from Homo sapiens and Felis

<400> 66



caggtgctgc tggatgcagtc tggcgccgat gtgagaaagc caggcgctag cgtgaagatc 60  
 ttctgcaagg cctctggcta cacctttaca tctaactga tctcctgggt gcgccagaca 120  
 ccagctcagg gattcgagtg gatgggaggc gtgatcccta tcgtggacat cgccaactac 180

gctcagaggt ttaagggccg gctggtgctg accgctgata cctccacaaa taccgcttat 240  
 atggagctga ggtccctgaa gagcgccgac acagccgtgt actattgtgc ctccaccctg 300  
 ggactgggtgc tggacgctat ggattattgg ggccagggca gcctggtgac agtctcgagc 360

<210> 67

<211> 108

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Felinized Sequence - Variable Light Region Engineered to Have  
 Sequences from Homo sapiens and Felis

<400> 67

Glu Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Pro Gly  
 1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Leu Gly Ser Ser  
 20 25 30

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Val Pro Lys Leu Leu  
 35 40 45

Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Pro Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser  
 50 55 60

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu  
 65 70 75 80

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

Ile Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys  
 100 105

<210> 68

<211> 324

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Felinized Sequence - Variable Light Region Engineered to Have

Sequences from Homo sapiens and Felis

<400> 68  
gagatccaga tgaccacgac tccttcacgc ctgtctgcct ccccaggcga cagggtgacc 60

atcacatgcc gggccagcca gtctctgggc tcttcctacc tggcttgga tcagcagaag 120  
ccaggcaagg tgcccaagct gctgatctac ggagccagct ctagagctcc aggcgtgcct 180  
tcccgttct ccggaagcgg atctggcaca gacttcaccc tgacaatctc cagcctggag 240  
ccagaggacg ctgctaccta ctattgtcag cagtatgctg atagccctat cacattcggc 300  
cagggtacca agctggagat caaa 324

<210> 69  
<211> 5  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens  
<400> 69  
Ser Asn Val Ile Ser  
1 5

<210> 70  
<  
211> 17  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens  
<400> 70  
Gly Val Ile Pro Ile Val Asp Ile Ala Asn Tyr Ala Gln Arg Phe Lys  
1 5 10 15  
Gly

<210> 71  
<211> 13  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens  
<400> 71  
Ala Ser Thr Leu Gly Leu Val Leu Asp Ala Met Asp Tyr  
1 5 10  
<210> 72  
<211> 12

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 72

Arg Ala Ser Gln Ser Leu Gly Ser Ser Tyr Leu Ala

1                    5                    10

<210> 73

<211> 7

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 73

Gly Ala Ser Ser Arg Ala Pro

1                    5

<210> 74

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 74

Gln Gln Tyr Ala Asp Ser Pro Ile Thr

1                    5

<210> 75

<211> 120

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Felinized Sequence - Variable Heavy Region Engineered to Have

Sequences from Homo sapiens and Felis

<400> 75

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

1                    5                    10                    15

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

20                    25                    30

Val Ile Ser Trp Val Arg Gln Ser Pro Ala Gln Gly Leu Glu Trp Met

35                    40                    45

Gly Gly Val Ile Pro Ile Val Asp Ile Ala Asn Tyr Ala Gln Arg Phe

50                      55                      60  
 Lys Gly Arg Leu Thr Leu Thr Ala Asp Thr Ser Thr Asp Thr Ala Tyr

65                      70                      75                      80  
 Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Ala Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys

85                      90                      95  
 Ala Ser Thr Leu Gly Leu Val Leu Asp Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln

100                      105                      110  
 Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115                      120

<210> 76

<211> 363

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Felinized Sequence - Variable Heavy Region Engineered to Have

Sequences from Homo sapiens and Felis

<400> 76

caggtgctgc tgggtgcagtc tggcgccgag gtgagaacac caggcgctag cgtgaagatc	60
ttctgcaagg cctctggcta cggctttacc tctaactga tctctgggt gcgccagtcc	120
ccagctcagg gactggagtg gatgggaggc gtgatcccta tcgtggacat cgccaattac	180
gctcagaggt tcaagggccg gctgaccctg acagctgaca cctccacaga taccgcttat	240
atggagctgt ccagcctgag gtccccgat acagctatgt actattgtgc cagcacctg	300
ggactgggtgc tggacgctat ggattattgg ggccagggca cactggtgac cgtggtctcg	360

agc 363

<210> 77

<211> 108

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Felinized Sequence - Variable Light Region Engineered to Have

Sequences from Homo sapiens and Felis

<400> 77

Glu Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Pro Gly

1                      5                      10                      15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Leu Gly Ser Ser  
 20 25 30

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Val Pro Lys Leu Leu  
 35 40 45

Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Pro Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser  
 50 55 60

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu  
 65 70 75 80

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

Ile Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys  
 100 105

<210> 78

<211> 324

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Felinized Sequence - Variable Light Region Engineered to Have  
 Sequences from Homo sapiens and Felis

<400> 78

gagatccaga tgaccagtc tcctccagc ctgtctgct ccccaggcga cagggtgacc 60

atcacatgcc gggccagcca gtctctgggc tcttctacc tggcttgta tcagcagaag 120

ccaggcaagg tgcccaagct gctgatctac ggagccagct ctagagctcc aggcgtgct 180

tcccgttct ccggaagcgg atctggcaca gacttcacc tgacaatctc cagcctggag 240

ccagaggacg ctgctacctt ctattgtcag cagtatgctg atagcctat cacattcggc 300

cagggtacca agctggagat caaa 324

<210> 79

<211> 8

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 79

Gly Tyr Thr Phe Ser Ser Asn Val

1 5

<210> 80

<211> 8

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 80

Val Ile Pro Ile Val Asp Ile Ala

1                    5

<210

> 81

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 81

Leu Gly Leu Val Leu Asp Ala Met Asp Tyr

1                    5                    10

<210> 82

<211> 12

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 82

Arg Ala Ser Gln Ser Leu Gly Ser Ser Tyr Leu Ala

1                    5                    10

<210> 83

<211> 7

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 83

Gly Ala Ser Ser Arg Ala Pro

1                    5

<210> 84

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 84

Gln Gln Tyr Ala Asp Ser Pro Ile Thr

1 5

<210> 85

<211> 120

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Felinized Sequence - Variable Heavy Region Engineered to Have Sequences from Homo sapiens and Felis

<400> 85

Gln Val Leu Leu Val Gln Ser Gly Ala Asp Val Arg Lys Pro Gly Ala

1 5 10 15

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

20 25 30

Val Met His Trp Val Arg Gln Thr Pro Ala Gln Gly Phe Glu Trp Met

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Met Glu Leu Arg Ser Leu Lys Ser Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Arg Thr Leu Gly Leu Val Leu Asp Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln

100 105 110

Gly Ser Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 86

<211> 360

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Felinized Sequence - Variable Heavy Region Engineered to Have Sequences from Homo sapiens and Felis

<400> 86

caggtgctgc tgggtgcagtc tggcgccgat gtgaggaagc caggcgctag cgtgaagatc 60



ttctgcaagg ccctcgcta cacattttcc agcaacgtga tgcactgggt gagacagacc 120  
 cccgctcagg gcttcgagtg gatgggctcc gtgatcccta tcgtggacat cgccacatac 180  
 gctaggcggg ttcagggcag gctggtgctg accgccgata ccagcacaaa taccgettat 240  
 atggagctga gatctctgaa gtccgccgac acagccgtgt actattgtgc tcgcaccctg 300  
 ggactggtgc tggacgctat ggattattgg ggccagggct ccctggtgac agtctcgagc 360

<210> 87

<211> 108

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Felinized Sequence - Variable Light Region Engineered to Have  
 Sequences from Homo sapiens and Felis

<400> 87

Glu Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Pro Gly

1	5	10	15
Asp Arg Val Thr	Ile Thr Cys Arg Ala Ser	Gln Ser Leu Gly Ser Ser	
	20	25	30
Tyr Leu Ala Trp Tyr	Gln Gln Lys Pro Gly Lys Val Pro Lys Leu Leu		
	35	40	45
Ile Tyr Gly Ala Ser Ser	Arg Ala Pro Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser		
	50	55	60
Gly Ser Gly Ser Gly Thr	Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu		

65	70	75	80
Pro Glu Asp Ala Ala Thr	Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Ala Asp Ser Pro		
	85	90	95
Ile Thr Phe Gly Gln Gly Thr	Lys Leu Glu Ile Lys		
	100	105	

<210> 88

<211> 324

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Felinized Sequence - Variable Light Region Engineered to Have  
 Sequences from Homo sapiens and Felis

<400> 88

gagatccaga tgacccagtc tccttcagc ctgtctgct ccccaggcga cagggtgacc 60

atcacatgcc gggccagcca gtctctgggc tcttctacc tggettggta tcagcagaag 120

ccaggcaagg tgccaagct gctgatctac ggagccagct ctagagctcc aggcgtgctt 180

tcccgttct ccggaagcgg atctggcaca gacttcacc tgacaatctc cagcctggag 240

ccagaggacg ctgctaccta ctattgtcag cagtatgctg atagccctat cacattcggc 300

cagggtacca agctggagat caaa 324

<210> 89

<211> 8

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 89

Gly Tyr Thr Phe Ser Ser Asn Val

1 5

<210> 90

<211> 8

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 90

Val Ile Pro Ile Val Asp Ile Ala

1 5

<210> 91

<211> 8

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 91

Leu Val Leu Asp Ala Met Asp Tyr

1 5

<210> 92

<211> 12

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 92

Arg Ala Ser Gln Ser Leu Gly Ser Ser Tyr Leu Ala

1                    5                    10

<210> 93

<211> 7

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400>

93

Gly Ala Ser Ser Arg Ala Pro

1                    5

<210> 94

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 94

Gln Gln Tyr Ala Asp Ser Pro Ile Thr

1                    5

<210> 95

<211> 120

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Felinized Sequence - Variable Heavy Region Engineered to Have

Sequences from Homo sapiens and Felis

<400> 95

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

1                    5                    10                    15

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

20                    25                    30

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

35                    40                    45

Ala Tyr Val Ile Pro Ile Val Asp Ile Ala Tyr Tyr Ala Asp Ser Val

50                    55                    60

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

65                                      70                                      75                                      80

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

85                                      90                                      95

Ala Arg Thr Leu Gly Leu Val Leu Asp Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln

100                                      105                                      110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115                                      120

<210> 96

<211> 360

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Felinized Sequence - Variable Heavy Region Engineered to Have Sequences from Homo sapiens and Felis

<400> 96

gacgtgcagc tggaggagtc tggaggcgat ctggtgaagc caggaggcag cctgaggctg 60  
 acctgcgtgg ctcttggtca cacattctcc agcaacgtga tgcactgggt gcggcaggct 120  
 ccaggcaagg gactgcagtg ggtggcttat gtgatcccta tegtggacat cgcctactat 180  
 gctgattccg tgaagggcag gttcaccatc tctatcgaca actccaagaa tacactgtac 240  
 ctgcagatga atagcctgaa gaccgaggat accgccacat actattgtgc tcgcacactg 300  
 ggcttgggtgc tggacgctat ggattattgg ggccagggca ccctgggtgac agtctcgagc 360

<210> 97

<211> 108

<212> PRT

<

213> Artificial Sequence

<220><223> Felinized Sequence - Variable Light Region Engineered to Have Sequences from Homo sapiens and Felis

<400> 97

Glu Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Pro Gly

1                                      5                                      10                                      15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Leu Gly Ser Ser

20                                      25                                      30

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



<213> Homo sapiens

<400> 100

Val Ile Pro Ile Val Asp Ile Ala

1                    5

<210> 101

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 101

Leu Gly Leu Val Leu Asp Ala Met Asp Tyr

1                    5                    10

<210> 102

<211> 12

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 102

Arg Ala Ser Gln Ser Leu Gly Ser Ser Tyr Leu Ala

1                    5                    10

<210> 103

<211> 7

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 103

Gly Ala Ser Ser Arg Ala Pro

1                    5

<210> 104

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 104

Gln Gln Tyr Ala Asp Ser Pro Ile Thr

1                    5

<210> 105

<211> 120

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Felinized Sequence - Variable Heavy Region Engineered to Have Sequences from Homo sapiens and Felis

<400> 105

Gln Val Leu Leu Val Gln Ser Gly Ala Asp Val Arg Lys Pro Gly Ala

1                    5                    10                    15

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

                  20                    25                    30

Val Met His Trp Val Arg Gln Thr Pro Ala Gln Gly Phe Glu Trp Met

                  35                    40                    45

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

                  50                    55                    60

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

65                    70                    75                    80

Met Glu Leu Arg Ser Leu Lys Ser Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

                  85                    90                    95

Ala Arg Thr Leu Gly Leu Val Leu Asp Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln

                  100                    105                    110

Gly Ser Leu Val Thr Val Ser Ser

                  115                    120

<210> 106

<211> 360

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Felinized Sequence - Variable Heavy Region Engineered to Have Sequences from Homo sapiens and Felis

<400> 106

caggtgctgc tgggtgcagtc tggcgccgat gtgaggaagc caggcgctag cgtgaagatc                    60

ttctgcaagg cctctggcta cacattttcc agcaacgtga tgcactgggt gagacagacc                    120

cccgctcagg gcttcgagtg gatgggctcc gtgatcccta tcgtggacat cgccacatac                    180

gctaggcggg ttcagggcag gctgggtgctg accgccgata ccagcacaaa taccgcttat 240

atggagctga gatctctgaa gtccgccgac acagccgtgt actattgtgc tcgcaccctg 300

ggactgggtgc tggacgctat ggattattgg ggccagggt ccttggtgac agtctcgagc 360

<210> 107

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Felinized Sequence - Variable Light Region Engineered to Have  
Sequences from Homo sapiens and Felis

<400> 107

Asp Ile Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Leu Ser Val Asn Leu Gly Gln  
1 5 10 15  
Thr Ala Arg Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Leu Gly Ser Ser Tyr  
20 25 30  
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Lys Leu Val Thr  
35 40 45  
Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Pro Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly  
50 55 60  
Thr Asn Ser Gly Ile Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Gly Ala Arg Ala  
65 70 75 80  
Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Ala Asp Ser Pro Ile  
85 90 95  
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys  
100 105

<210> 108

<211> 321

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Felinized Sequence - Variable Light Region Engineered to Have  
Sequences from Homo sapiens and Felis

<400> 108

gacatcgtgc tgacacagcc ccctagcctg tctgtgaacc tgggacagac agctaggatc 60



acctgcaggg cttccagag cctgggctcc agctacctgg cctggtatca gcagaagcct 120

ggccaggctc caaagctggt gacatacggc gcctcttcca gagctccagg catccccgac 180

cgcttctctg gcaccaattc cggcatcacc gccacaetga ccatcagcgg agccaggget 240

gaggacgagg ctgattacta ttgtcagcag tatgctgatt ctcccatcac ctttgccag 300

ggtaccaagc tggagatcaa a 321

<210> 109

<211> 8

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 109

Gly Tyr Thr Phe Ser Ser Asn Val

1 5

<210> 110

<211> 8

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400>

110

Val Ile Pro Ile Val Asp Ile Ala

1 5

<210> 111

<211> 8

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 111

Leu Val Leu Asp Ala Met Asp Tyr

1 5

<210> 112

<211> 12

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 112

Arg Ala Ser Gln Ser Leu Gly Ser Ser Tyr Leu Ala

1 5 10

<210> 113

<211> 7

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 113

Gly Ala Ser Ser Arg Ala Pro

1 5

<210> 114

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 114

Gln Gln Tyr Ala Asp Ser Pro Ile Thr

1 5

<210> 115

<211> 120

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Felinized Sequence - Variable Heavy Region Engineered to Have Sequences from Homo sapiens and Felis

<400> 115

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Ala Tyr Val Ile Pro Ile Val Asp Ile Ala Tyr Tyr Ala Asp Ser Val

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95  
 Ala Arg Thr Leu Gly Leu Val Leu Asp Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln  
 100 105 110  
 Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser  
 115 120  
 <210> 116  
 <211> 360  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> Felinized Sequence - Variable Heavy Region Engineered to Have  
 Sequences from Homo sapiens and Felis  
 <400> 116  
 gacgtgcagc tggaggagtc tggaggcgat ctggtgaagc caggaggcag cctgaggctg 60  
  
 acctgcgtgg cttctggcta cacattctcc agcaactga tgcaactggg gggcaggct 120  
 ccaggcaagg gactgcagtg ggtggcttat gtgatcccta tcgtggacat cgcctactat 180  
 gctgattccg tgaagggcag gttcaccatc tctatcgaca actccaagaa tacactgtac 240  
 ctgcagatga atagcctgaa gaccgaggat accgccacat actattgtgc tcgcacactg 300  
 ggccctggc tggacgctat ggattattgg ggccagggca ccctgggtgac agtctcgagc 360  
 <210> 117  
 <211> 107  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> Felinized Sequence - Variable Light Region Engineered to Have  
 Sequences from Homo sapiens and Felis  
 <400> 117  
 Asp Ile Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Leu Ser Val Asn Leu Gly Gln  
 1 5 10 15  
 Thr Ala Arg Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Leu Gly Ser Ser Tyr  
 20 25 30  
 Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Lys Leu Val Thr  
 35 40 45  
 Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Pro Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly



1                    5                    10                    15

Gly

<210> 121

<211> 13

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 121

Ala Ser Thr Leu Gly Leu Val Leu Asp Ala Met Asp Tyr

1                    5                    10

<210> 122

<211> 12

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 122

Arg Ala Ser Gln Ser Leu Gly Ser Ser Tyr Leu Ala

1                    5                    10

<210> 123

<211> 7

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 123

Gly Ala Ser Ser Arg Ala Pro

1                    5

<210> 124

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 124

Gln Gln Tyr Ala Asp Ser Pro Ile Thr

1                    5

<210> 125

<211> 120

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Felinized Sequence - Variable Heavy Region Engineered to Have Sequences from Homo sapiens and Felis

<400> 125

Gln Val Leu Leu Val Gln Ser Gly Ala Asp Val Arg Lys Pro Gly Ala

1 5 10 15

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

20 25 30

Val Ile Ser Trp Val Arg Gln Thr Pro Ala Gln Gly Phe Glu Trp Met

35 40 45

Gly Gly Val Ile Pro Ile Val Asp Ile Ala Asn Tyr Ala Gln Arg Phe

50 55 60

Lys Gly Arg Leu Val Leu Thr Ala Asp Thr Ser Thr Asn Thr Ala Tyr

65 70 75 80

Met Glu Leu Arg Ser Leu Lys Ser Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

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

100 105 110

Gly Ser Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 126

<211> 360

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Felinized Sequence - Variable Heavy Region Engineered to Have Sequences from Homo sapiens and Felis

<400> 126

caggtgctgc tgggtgcagtc tggcgccgat gtgagaaagc caggcgctag cgtgaagatc 60

ttctgcaagg cctctggcta cacctttaca tctaactga tctcctgggt gcgccagaca 120

ccagctcagg gattcgagtg gatgggaggc gtgatcccta tcgtggacat cgccaactac 180

gctcagaggt ttaagggccg gctggtgctg accgctgata cctccacaaa taccgcttat 240

atggagctga ggtccctgaa gagcgccgac acagccgtgt actattgtgc ctccaccctg 300

ggactggtgc tggacgctat ggattattgg ggccagggca gcctggtgac agtctcgagc 360

<210> 127

<211> 108

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Felinized Sequence - Variable Light Region Engineered to Have Sequences from Homo sapiens and Felis

<400> 127

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

1 5 10 15

Gln Gln Val Thr Met Asn Cys Arg Ala Ser Gln Ser Leu Gly Ser Ser

20 25 30

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln His Pro Glu Leu Leu

35 40 45

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

50 55 60

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Asn Leu Gln

65 70 75 80

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

85 90 95

Ile Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

100 105

<210> 128

<211> 324

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Felinized Sequence - Variable Light Region Engineered to Have Sequences from Homo sapiens and Felis

<400> 128

gacatcgtga tgaccacgac ccctggcagc ctggctggaa gcccaggaca gcaggtgaca 60

atgaactgca gggccagcca gtctctgggc tccagctacc tggcttgta tcagcagaag 120

ccaggccagc accccgagct gctgatctac ggagcctctt ccagggtcc aggcgtgcct 180  
gaccgttct ccggaagcgg atctggcacc gacttcaccc tgacaatctc taacctgcag 240  
gccgaggacg tggctaatta ctattgtcag cagtatgctg attcccccat cacattcggc 300  
cagggtacca agctggagat caaa 324

<210> 129

<211> 8

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 129

Gly Tyr Thr Phe Ser Ser Asn Val

1 5

<210> 130

<211> 8

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400>

130

Val Ile Pro Ile Val Asp Ile Ala

1 5

<210> 131

<211> 8

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 131

Leu Val Leu Asp Ala Met Asp Tyr

1 5

<210> 132

<211> 12

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 132

Arg Ala Ser Gln Ser Leu Gly Ser Ser Tyr Leu Ala

1 5 10

<210> 133

<211> 7



<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 133

Gly Ala Ser Ser Arg Ala Pro

1 5

<210> 134

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 134

Gln Gln Tyr Ala Asp Ser Pro Ile Thr

1 5

<210> 135

<211> 120

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Felinized Sequence - Variable Heavy Region Engineered to Have Sequences from Homo sapiens and Felis

<400> 135

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Ala Tyr Val Ile Pro Ile Val Asp Ile Ala Tyr Tyr Ala Asp Ser Val

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Thr Leu Gly Leu Val Leu Asp Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln

100 105 110  
 Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser  
 115 120  
 <210> 136  
 <211> 360  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> Felinized Sequence - Variable Heavy Region Engineered to Have  
 Sequences from Homo sapiens and Felis  
 <400> 136  
 gacgtgcagc tggtaggagtc tggaggcgat ctggtgaagc caggaggcag cctgaggctg 60  
  
 acctgcgtgg ctcttggeta cacattctcc agcaacgtga tgactgggt gcggcaggct 120  
 ccaggcaagg gactgcagtg ggtggcttat gtgatcccta tcgtggacat cgctactat 180  
 gctgattccg tgaagggcag gttcaccatc tetatcgaca actccaagaa tacactgtac 240  
 ctgcagatga atagcctgaa gaccgaggat accgccacat actattgtgc tcgcacactg 300  
 ggcttggtgc tggacgctat ggattattgg ggccagggca ccctggtgac agtctcgagc 360  
 <210> 137  
 <211> 108  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> Felinized Sequence - Variable Light Region Engineered to Have  
  
 Sequences from Homo sapiens and Felis  
 <400> 137  
 Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Gly Ser Leu Ala Gly Ser Pro Gly  
 1 5 10 15  
 Gln Gln Val Thr Met Asn Cys Arg Ala Ser Gln Ser Leu Gly Ser Ser  
 20 25 30  
 Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln His Pro Glu Leu Leu  
 35 40 45  
 Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Pro Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser  
  
 50 55 60  
 Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Asn Leu Gln

65                      70                      75                      80  
 Ala Glu Asp Val Ala Asn Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Ala Asp Ser Pro  
                          85                      90                      95  
 Ile Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys  
                          100                      105

<210> 138

<211> 324

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Felinized Sequence - Variable Light Region Engineered to Have

Sequences from Homo sapiens and Felis

<400> 138

gacatcgtga tgaccagtc ccctggcagc ctggctggaa gcccaggaca gcaggtgaca        60  
 atgaactgca gggccagcca gtctctgggc tccagctacc tggettggta tcagcagaag        120  
 ccaggccagc accccgagct gctgatctac ggagcctctt ccagggtcc aggcgtgcct        180  
 gaccggttct ccggaagcgg atctggcacc gacttcacc tgacaatctc taacctgcag        240  
 gccgaggacg tggctaatta ctattgtcag cagtatgctg attccccat cacattcggc        300  
 cagggtacca agctggagat caaa    324