

(19)日本国特許庁(JP)

(12)公表特許公報(A)

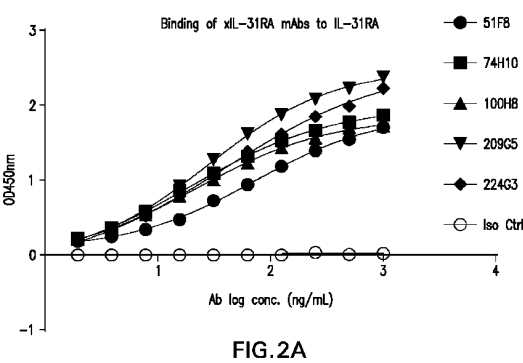
(11)公表番号
特表2024-546759
(P2024-546759A)

(43)公表日 令和6年12月26日(2024.12.26)

(51)国際特許分類		F I		テーマコード (参考)	
C 0 7 K	16/28 (2006.01)	C 0 7 K	16/28	Z N A	4 B 0 6 5
C 1 2 N	15/13 (2006.01)	C 1 2 N	15/13		4 C 0 8 5
C 1 2 N	15/63 (2006.01)	C 1 2 N	15/63	Z	4 H 0 4 5
C 1 2 N	1/15 (2006.01)	C 1 2 N	1/15		
C 1 2 N	1/19 (2006.01)	C 1 2 N	1/19		
		審査請求	未請求	予備審査請求	未請求 (全148頁) 最終頁に続く
(21)出願番号	特願2024-534465(P2024-534465)	(71)出願人	510000976		
(86)(22)出願日	令和4年12月15日(2022.12.15)		インターベット インターナショナル ベー・フェー・		
(85)翻訳文提出日	令和6年8月2日(2024.8.2)		オランダ国、5 8 3 1・アー・エヌ・ボツクスメル、ウイム・ドウ・コルベル		
(86)国際出願番号	PCT/EP2022/086040		スタート・3 5		
(87)国際公開番号	WO2023/111128	(74)代理人	100114188		
(87)国際公開日	令和5年6月22日(2023.6.22)		弁理士 小野 誠		
(31)優先権主張番号	63/290,256	(74)代理人	100119253		
(32)優先日	令和3年12月16日(2021.12.16)		弁理士 金山 賢教		
(33)優先権主張国・地域又は機関	米国(US)	(74)代理人	100124855		
(31)優先権主張番号	63/290,259	(74)代理人	100124855		
(32)優先日	令和3年12月16日(2021.12.16)		弁理士 坪倉 道明		
(33)優先権主張国・地域又は機関	米国(US)	(74)代理人	100129713		
(31)優先権主張番号	63/341,443		弁理士 重森 一輝		
		(74)代理人	100137213		
		最終頁に続く	最終頁に続く		

(54)【発明の名称】 イヌインターロイキンー3 1 受容体アルファ I I に対するイヌ化抗体

(57)【要約】
本発明は、イヌ I Lー3 1 受容体アルファに対する高い結合親和性を有し、イヌ I Lー3 1 受容体アルファへのイヌ I Lー3 1 の結合を遮断することができるイヌ I Lー3 1 受容体アルファに対するイヌ化マウス抗体を提供する。本発明は更に、イヌにおけるアトピー性皮膚炎の処置のための抗体の使用を提供する。
【選択図】 図 2 A



【特許請求の範囲】

【請求項 1】

アミノ酸配列：CDR重1（HCDR1）、CDR重2（HCDR2）、及びCDR重3（HCDR3）をそれぞれ含む3つの重鎖相補性決定領域（HCDR）のセットを含む重鎖を含むイヌインターロイキン-31受容体アルファ（イヌIL-31RA）に結合する哺乳動物抗体又はその抗原結合断片であって、

（i）前記HCDR1は、配列番号3のアミノ酸配列を含み、

（ii）前記HCDR2は、配列番号10、配列番号11、配列番号12、及び配列番号13からなる群から選択されるアミノ酸配列を含み、

（iii）前記HCDR3は、配列番号20、配列番号21、配列番号22、及び配列番号23からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む、

哺乳動物抗体又はその抗原結合断片。

【請求項 2】

イヌIL-31RAに結合すると、前記抗体が、配列番号97、配列番号103、配列番号99、配列番号102、又はそれらの任意の組合せからなる群から選択されるアミノ酸配列によって構成されるエピトープに結合する、

請求項1に記載の哺乳動物抗体又はその抗原結合断片。

【請求項 3】

イヌIL-31RAに結合すると、前記抗体が、配列番号97及び配列番号103のアミノ酸配列によって構成されるエピトープに結合する、請求項2に記載の哺乳動物抗体又はその抗原結合断片。

【請求項 4】

イヌIL-31RAに結合すると、前記抗体が、配列番号98及び配列番号102のアミノ酸配列によって構成されるエピトープに結合する、請求項2に記載の哺乳動物抗体又はその抗原結合断片。

【請求項 5】

（i）前記HCDR1が、配列番号3のアミノ酸配列を含み、

（ii）前記HCDR2が、配列番号10のアミノ酸配列を含み、及び

（iii）前記HCDR3が、配列番号20のアミノ酸配列を含む、

請求項1又は3に記載の哺乳動物抗体又はその抗原結合断片。

【請求項 6】

（i）前記HCDR1が、配列番号3のアミノ酸配列を含み、

（ii）前記HCDR2が、配列番号11のアミノ酸配列を含み、及び

（iii）前記HCDR3が、配列番号21のアミノ酸配列を含む、

請求項1～4のいずれか一項に記載の哺乳動物抗体又はその抗原結合断片。

【請求項 7】

（i）前記HCDR1が、配列番号3のアミノ酸配列を含み、

（ii）前記HCDR2が、配列番号12のアミノ酸配列を含み、及び

（iii）前記HCDR3が、配列番号22のアミノ酸配列を含む、

請求項1～4のいずれか一項に記載の哺乳動物抗体又はその抗原結合断片。

【請求項 8】

（i）前記HCDR1が、配列番号3のアミノ酸配列を含み、

（ii）前記HCDR2が、配列番号13のアミノ酸配列を含み、及び

（iii）前記HCDR3が、配列番号23のアミノ酸配列を含む、

請求項1又は4に記載の哺乳動物抗体又はその抗原結合断片。

【請求項 9】

アミノ酸配列：CDR軽1（LCDR1）、CDR軽2（LCDR2）、及びCDR軽3（LCDR3）をそれぞれ含む3つの軽鎖相補性決定領域（LCDR）のセットを含む軽鎖を更に含み、

（iv）前記LCDR1は、配列番号30及び配列番号31からなる群から選択される

10

20

30

40

50

アミノ酸配列を含み、

(v) 前記LCDR2は、配列番号38、配列番号39、及び配列番号40からなる群から選択されるアミノ酸配列を含み、及び

(vi) 前記LCDR3は、配列番号45のアミノ酸配列を含む、

請求項1～8のいずれか一項に記載の哺乳動物抗体又はその抗原結合断片。

【請求項10】

3つの軽鎖相補性決定領域(LCDR)：CDR軽1(LCDR1)、CDR軽2(LCDR2)、及びCDR軽3(LCDR3)のセットを更に含み、

(iv) 前記LCDR1は、配列番号30のアミノ酸配列を含み、

(v) 前記LCDR2は、配列番号40のアミノ酸配列を含み、及び

(vi) 前記LCDR3は、配列番号45のアミノ酸配列を含む、

請求項5又は6に記載の哺乳動物抗体又はその抗原結合断片。

【請求項11】

3つの軽鎖相補性決定領域(LCDR)：CDR軽1(LCDR1)、CDR軽2(LCDR2)、及びCDR軽3(LCDR3)のセットを更に含み、

(iv) 前記LCDR1は、配列番号30のアミノ酸配列を含み、

(v) 前記LCDR2は、配列番号38のアミノ酸配列を含み、及び

(vi) 前記LCDR3は、配列番号45のアミノ酸配列を含む、

請求項7に記載の哺乳動物抗体又はその抗原結合断片。

【請求項12】

3つの軽鎖相補性決定領域(LCDR)：CDR軽1(LCDR1)、CDR軽2(LCDR2)、及びCDR軽3(LCDR3)のセットを更に含み、

(iv) 前記LCDR1は、配列番号31のアミノ酸配列を含み、

(v) 前記LCDR2は、配列番号39のアミノ酸配列を含み、及び

(vi) 前記LCDR3は、配列番号45のアミノ酸配列を含む、

請求項8に記載の哺乳動物抗体又はその抗原結合断片。

【請求項13】

前記抗体及びその抗原結合断片が、イヌIL-31RAに結合し、イヌインターロイキン-31に対するイヌIL-31RAの結合を遮断する、請求項1～12のいずれか一項に記載の哺乳動物抗体又はその抗原結合断片。

【請求項14】

前記哺乳動物抗体又はその抗原結合断片が、イヌ化抗体又はそのイヌ化抗原結合断片である、請求項1～13のいずれか一項に記載の哺乳動物抗体又はその抗原結合断片。

【請求項15】

配列番号112、配列番号113、配列番号114、及び配列番号115からなる群から選択されるアミノ酸配列と少なくとも90%、95%、又は100%の同一性を含むアミノ酸配列を含むヒンジ領域を含む、請求項14に記載のイヌ化抗体又はその抗原結合断片。

【請求項16】

イヌフラグメント結晶化可能領域(cFc領域)を含み、前記cFc領域は、配列番号110、配列番号116、配列番号117、及び配列番号118からなる群から選択されるアミノ酸配列と少なくとも90%、95%、98%、99%、又は100%の同一性を含むアミノ酸配列を含む、請求項14又は15に記載のイヌ化抗体又はその抗原結合断片。

【請求項17】

イヌフラグメント結晶化可能領域(cFc領域)を含み、前記cFc領域は、配列番号111のアミノ酸配列と少なくとも90%、95%、98%、99%、又は100%の同一性を含むアミノ酸配列を含み、ここで、配列番号110の31位のアスパラギン酸残基(D)及び配列番号110の63位のアスパラギン残基(N)の両方が、アラニン残基(A)によって置換されたままである、請求項14又は15に記載のイヌ化抗体又はその抗

10

20

30

40

50

原結合断片。

【請求項 18】

前記イヌ化 I L - 3 1 R A 抗体が、配列番号 8 2、配列番号 8 3、配列番号 8 4、及び配列番号 8 5 からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む軽鎖と、配列番号 7 9、配列番号 8 0、及び配列番号 8 1 からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む重鎖と、を含む、イヌ化抗体又はその抗原結合断片。

【請求項 19】

イヌ I L - 3 1 R A に結合すると、前記抗体が、配列番号 9 7 及び配列番号 1 0 3 のアミノ酸配列によって構成されるエピトープに結合する、請求項 18 に記載のイヌ化抗体又はその抗原結合断片。

【請求項 20】

前記イヌ化 I L - 3 1 R A 抗体が、
配列番号 8 4 のアミノ酸配列を含む軽鎖及び配列番号 8 0 のアミノ酸配列を含む重鎖；
又は

配列番号 8 4 のアミノ酸配列を含む軽鎖及び配列番号 8 1 のアミノ酸配列を含む重鎖；
又は

配列番号 8 5 のアミノ酸配列を含む軽鎖及び配列番号 8 0 のアミノ酸配列を含む重鎖；
又は

配列番号 8 5 のアミノ酸配列を含む軽鎖及び配列番号 8 1 のアミノ酸配列を含む重鎖を含む、請求項 18 又は 19 に記載のイヌ化抗体又はその抗原結合断片。

【請求項 21】

請求項 14 ～ 20 のいずれか一項に記載のイヌ化抗体又はその抗原結合断片の重鎖をコードする核酸。

【請求項 22】

請求項 14 ～ 20 のいずれか一項に記載のイヌ化抗体又はその抗原結合断片の軽鎖をコードする核酸。

【請求項 23】

核酸の対であって、前記核酸の対の一方が、請求項 14 ～ 20 に記載の抗体のうちのいずれか 1 つに記載される特定のイヌ化抗体の軽鎖をコードするヌクレオチド配列を含み、前記核酸の対の他方が、前記特定のイヌ化抗体の重鎖をコードするヌクレオチド配列を含む、核酸の対。

【請求項 24】

請求項 23 に記載の核酸の対又は請求項 21 若しくは 22 に記載の核酸を含む発現ベクター。

【請求項 25】

発現ベクターの対であって、前記発現ベクターの対の一方が、請求項 14 ～ 20 のいずれか一項に記載の抗体のいずれか 1 つの特定のイヌ化抗体の軽鎖をコードするヌクレオチド配列を含む核酸を含み、前記発現ベクターの対の他方が、前記特定のイヌ化抗体の重鎖をコードするヌクレオチド配列を含む核酸を含む、発現ベクターの対。

【請求項 26】

請求項 24 に記載の発現ベクター又は請求項 25 に記載の発現ベクターの対を含む宿主細胞。

【請求項 27】

請求項 14 ～ 20 のいずれか一項に記載のイヌ化抗体又はその抗原結合断片と、薬学的に許容される担体又は希釈剤と、を含む医薬組成物。

【請求項 28】

治療有効量の請求項 27 に記載の医薬組成物を動物対象に投与することを含む、動物対象におけるアトピー性皮膚炎に関連する掻痒症の遮断を補助する方法。

【請求項 29】

請求項 14 ～ 20 のいずれか一項に記載のイヌ化抗体又はその抗原結合断片と、薬学的

10

20

30

40

50

に許容される担体又は希釈剤と、を含む、イヌにおいてアトピー性皮膚炎に関連する掻痒症の遮断を補助するのに使用するための医薬組成物。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

電子的に提出された配列表の参照

本出願は、XML形式で電子的に提出された配列表を含み、その全体が参照により本明細書に組み込まれる。2022年12月9日に作成されたXMLファイルの名前は25365.xmlである。EFS-Webを介して提出されたこの配列表は、本明細書の一部であり、その全体が参照により本明細書に組み込まれる。

【0002】

関連出願の相互参照

本出願は、2022年5月13日に提出された米国仮特許出願第63/341,443号、2021年12月16日に提出された米国特許出願第63/290,259号、及び2021年12月16日に提出された米国特許出願第63/290,256号の35U.S.C. § 119(e)に基づく優先権を主張する。その主題は、その全体が参照により本明細書に組み込まれる。

【0003】

本発明は、イヌIL-31受容体アルファに対する高い結合親和性を有し、イヌIL-31受容体アルファへのイヌIL-31の結合を遮断することができる、イヌIL-31受容体アルファに対する抗体に関する。本発明はまた、イヌにおけるアトピー性皮膚炎の処置における本発明の抗体の使用に関する。

【背景技術】

【0004】

免疫系は、宿主を感染症及び癌から保護するために協働して機能する常在及び再循環する特殊な細胞のネットワークを含む。免疫系がこの機能を果たす能力は、白血球によって分泌され、まとめてインターロイキンと呼ばれるタンパク質群の生物学的活性に大きく依存する。よく研究されているインターロイキンの中には、インターロイキン-31(IL-31)、インターロイキン-4(IL-4)、インターロイキン-13(IL-13)、及びインターロイキン-22(IL-22)として同定された4つの重要な分子がある。IL-4、IL-13、IL-22、及びIL-31は、細胞外病原体(例えば、組織又は管腔内に存在する寄生生物)に対する保護に必要な免疫応答の発生のための重要なサイトカインであるが、これらのサイトカインはまた、アトピー性皮膚炎を含むヒト及び動物におけるアレルギー性疾患の病因に関与している。

【0005】

アトピー性皮膚炎(AD)は、再発性の掻痒性及び慢性炎症性皮膚疾患であり、ヒトにおける免疫系調節不全及び表皮バリア異常を特徴とする。アトピー性皮膚炎の病理学的属性及び免疫学的属性は、広範な調査の対象であった[Rahman et al. Inflammation & Allergy-Drug Target 10:486-496(2011)及びHarskamp et al., Seminar in Cutaneous Medicine and Surgery 32:132-139(2013)に概説されている]。アトピー性皮膚炎はまた、コンパニオンアニマル、特にイヌにおける一般的な状態であり、その有病率はイヌ集団の約10~15%であると推定されている。イヌ及びネコにおけるアトピー性皮膚炎の発病[Nuttall et al., Veterinary Records 172(8):201-207(2013)に概説されている]は、ヒトにおけるアトピー性皮膚炎の発病との有意な類似性を示し、これには、様々な免疫細胞による皮膚浸潤、並びにIL-31、IL-4、及びIL-13が優勢であることを含むCD4⁺Th2極性化サイトカイン環境が含まれる。更に、IL-22は、アトピー性皮膚炎に特徴的な表皮過形成をもたらす過剰な上皮増殖に関与している。

10

20

30

40

50

【0006】

例えば、イヌIL-31に対する抗体は、イヌのアトピー性皮膚炎に関連する掻痒症に効果があることが示されている[米国特許第8,790,651号明細書；米国特許第10,093,731号明細書]。加えて、ヒトIL-31受容体アルファ(IL-31RA)に対する抗体が試験され、ヒトにおけるアトピー性皮膚炎に関連する掻痒症に対する効果を有することが見出された[Ruzicka, et al., New England Journal of Medicine, 376(9), 826-835(2017)]。

【0007】

アトピー性皮膚炎の治療を補助することが証明されている、及び／又はそうすることが約束されていることのいずれかが示されている医薬品には、ヤヌスキナーゼ(JAK)阻害剤[例えば、米国特許第8,133,899号明細書；米国特許第8,987,283号明細書；国際公開第2018/108969号を参照されたい]、脾臓チロシンキナーゼ(SYK)阻害剤[例えば、米国特許第8,759,366号明細書を参照されたい]、及びTH2細胞上に発現される化学誘引物質受容体相同分子に対するアンタゴニスト[例えば、米国特許第7,696,222号明細書、米国特許第8,546,422号明細書、米国特許第8,637,541号明細書、及び米国特許第8,546,422号明細書を参照されたい]が含まれる。

【0008】

しかしながら、アトピー性皮膚炎の処置におけるいくつかの最近の成功にもかかわらず、イヌのアトピー性皮膚炎の症状の1又は複数に対処することができる代替療法及び／又はより良好な療法を設計する必要性が依然として存在する。

【0009】

本明細書における任意の参考文献の引用は、そのような参考文献が本出願に対する「従来技術」として利用可能であることの承認として解釈されるべきではない。

【先行技術文献】

【特許文献】

【0010】

- 【特許文献1】米国特許第8,790,651号明細書
- 【特許文献2】米国特許第10,093,731号明細書
- 【特許文献3】米国特許第8,133,899号明細書
- 【特許文献4】米国特許第8,987,283号明細書
- 【特許文献5】国際公開第2018/108969号
- 【特許文献6】米国特許第8,759,366号明細書
- 【特許文献7】米国特許第7,696,222号明細書
- 【特許文献8】米国特許第8,546,422号明細書
- 【特許文献9】米国特許第8,637,541号明細書

【非特許文献】

【0011】

- 【非特許文献1】Rahman et al. Inflammation & Allergy - drug target 10:486-496(2011)
- 【非特許文献2】Harskamp et al., Seminar in Cutaneous Medicine and Surgery 32:132-139(2013)
- 【非特許文献3】Nuttall et al., Veterinary Records 172(8):201-207(2013)
- 【非特許文献4】Ruzicka, et al., New England Journal of Medicine, 376(9), 826-835(2017)

【発明の概要】

【0012】

本発明は、イヌ由来のIL-31受容体アルファ(IL-31RA)に対する、イヌ化

10

20

30

40

50

マウス抗体を含む新しい哺乳動物抗体を提供する。ある種の実施形態では、イヌIL-31受容体アルファ(cIL-31RA)に対する哺乳動物抗体は、単離された抗体である。好ましい実施形態では、哺乳動物抗体又はその抗原結合断片は、イヌIL-31RAに結合する。より特定の実施形態では、哺乳動物抗体又は抗原結合断片は、イヌインターロイキン-31に対するイヌIL-31RAの結合も遮断する。ある種の実施形態では、哺乳動物抗体は、イヌIL-31RAに対する抗体である。より特定の実施形態では、哺乳動物抗体は、イヌ化抗体である。更により特定の実施形態では、イヌ化抗体は、イヌIL-31RAに対するイヌ化マウス抗体である。

【0013】

したがって、本発明は、イヌインターロイキン-31受容体アルファに結合し、3つの重鎖相補性決定領域(HCDR)、CDR重1(HCDR1)、CDR重2(HCDR2)及びCDR重3(HCDR3)のセットを含む重鎖を含み、HCDR1が配列番号3のアミノ酸配列を含み、HCDR2は、配列番号10、配列番号11、配列番号12又は配列番号13のアミノ酸配列を含み、HCDR3は、配列番号20、配列番号21、配列番号22又は配列番号23のアミノ酸配列を含む、哺乳動物抗体又はその抗原結合断片を提供する。

【0014】

ある種の実施形態では、哺乳動物抗体又は抗原結合断片は、3つの軽鎖相補性決定領域(LCDR)、CDR軽1(LCDR1)、CDR軽2(LCDR2)、及びCDR軽3(LCDR3)のセットを含む軽鎖を更に含み、LCDR1は、配列番号30又は配列番号31のアミノ酸配列を含み、LCDR2は、配列番号38、配列番号39、又は配列番号40のアミノ酸配列を含み、LCDR3は配列番号45のアミノ酸配列を含む。

【0015】

特定の実施形態では、イヌIL-31RAに結合すると、哺乳動物抗体又はその抗原結合断片は、配列番号97、配列番号103、配列番号99、又は配列番号102のアミノ酸配列によって構成される1又は複数のエピトープに結合する。より特定の実施形態では、イヌIL-31RAに結合すると、哺乳動物抗体又はその抗原結合断片は、一方のエピトープが配列番号97のアミノ酸配列に含まれ、他方のエピトープが配列番号103のアミノ酸配列によって構成される2つのエピトープに結合する。別の実施形態では、イヌIL-31RAに結合すると、哺乳動物抗体又はその抗原結合断片は、一方のエピトープが配列番号99のアミノ酸配列に含まれ、他方のエピトープが配列番号102のアミノ酸配列によって構成される2つのエピトープに結合する。

【0016】

特定の実施形態では、イヌIL-31RAに結合すると、哺乳動物抗体又はその抗原結合断片は、配列番号97のアミノ酸配列によって構成されるエピトープに結合する。別の実施形態では、イヌIL-31RAに結合すると、哺乳動物抗体又はその抗原結合断片は、配列番号103のアミノ酸配列によって構成されるエピトープに結合する。更に別の実施形態では、イヌIL-31RAに結合すると、哺乳動物抗体又はその抗原結合断片は、配列番号99のアミノ酸配列によって構成されるエピトープに結合する。更に別の実施形態では、イヌIL-31RAに結合すると、哺乳動物抗体又はその抗原結合断片は、配列番号102のアミノ酸配列によって構成されるエピトープに結合する。

【0017】

関連する実施形態では、イヌIL-31RAに結合した場合、抗体は、配列番号97若しくは配列番号103、又は配列番号97と配列番号103の両方、及び／又は配列番号99若しくは配列番号102、又は配列番号99と配列番号102の両方のアミノ酸配列内の少なくとも1つのアミノ酸残基、好ましくは1～3個のアミノ酸残基、より好ましくは2～5個のアミノ酸残基、及び／又はより好ましくは3～8個以上のアミノ酸残基において結合する。

【0018】

特定の実施形態では、哺乳動物抗体又はその抗原結合断片は、配列番号3のアミノ酸配

10

20

30

40

50

列を含むHCDR1、配列番号10のアミノ酸配列を含むHCDR2、及び配列番号20のアミノ酸配列を含むHCDR3を含む。この種のより特定の実施形態では、哺乳動物抗体又はその抗原結合断片は、配列番号30のアミノ酸配列を含むLCDR1、配列番号40のアミノ酸配列を含むLCDR2、及び配列番号45のアミノ酸配列を含むLCDR3を更に含む。

【0019】

他の実施形態では、哺乳動物抗体又はその抗原結合断片は、配列番号3のアミノ酸配列を含むHCDR1、配列番号11のアミノ酸配列を含むHCDR2、及び配列番号21のアミノ酸配列を含むHCDR3を含む。この種のより特定の実施形態では、哺乳動物抗体又はその抗原結合断片は、配列番号30のアミノ酸配列を含むLCDR1、配列番号40

10

【0020】

更に他の実施形態では、哺乳動物抗体又はその抗原結合断片は、配列番号3のアミノ酸配列を含むHCDR1、配列番号12のアミノ酸配列を含むHCDR2、及び配列番号22のアミノ酸配列を含むHCDR3を含む。この種のより特定の実施形態では、哺乳動物抗体又はその抗原結合断片は、配列番号30のアミノ酸配列を含むLCDR1、配列番号38のアミノ酸配列を含むLCDR2、及び配列番号45のアミノ酸配列を含むLCDR3を更に含む。

【0021】

20

更に他の実施形態では、哺乳動物抗体又はその抗原結合断片は、配列番号3のアミノ酸配列を含むHCDR1、配列番号13のアミノ酸配列を含むHCDR2、及び配列番号23のアミノ酸配列を含むHCDR3を含む。この種のより特定の実施形態では、哺乳動物抗体又はその抗原結合断片は、配列番号31のアミノ酸配列を含むLCDR1、配列番号39のアミノ酸配列を含むLCDR2、及び配列番号45のアミノ酸配列を含むLCDR3を更に含む。

【0022】

好ましい実施形態では、抗体及びその抗原結合断片は、イヌIL-31RAに結合し、イヌインターロイキン-31に対するイヌIL-31RAの結合を遮断する。特定の実施形態では、イヌIL-31RAに対する哺乳動物抗体はマウス抗体である。特定の実施形態では、イヌIL-31RAに対する哺乳動物抗体は、イヌ化抗体である。より特定の実施形態では、イヌIL-31RAに対するイヌ化抗体は、イヌ化マウス抗体である。

30

【0023】

本発明のイヌ化抗体は、イヌフラグメント結晶化可能領域(cFc領域)を含む。本発明のイヌ化抗体は、イヌ軽鎖定常領域も含む。特定の実施形態では、イヌ軽鎖定常領域は、カップイヌ軽鎖定常領域である。より特定の実施形態では、カップイヌ軽鎖定常領域は、配列番号127のアミノ酸配列を含む。

【0024】

更に、イヌ化抗体又はその抗原結合断片は、cFc領域及びヒンジ領域を含む重鎖を含むことができる。ヒンジ領域は、好ましくはイヌヒンジ領域である。イヌヒンジ領域は、天然に存在するIgG-Aヒンジ領域、IgG-Bヒンジ領域、IgG-Cヒンジ領域、又はIgG-Dヒンジ領域を含むことができる。あるいは、ヒンジ領域は、対応する修飾されたイヌヒンジ領域である。特定の実施形態では、ヒンジ領域は、配列番号112のアミノ酸配列と少なくとも90%、95%、又は100%の同一性を含むアミノ酸配列を含むIgG-Aヒンジ領域である。他の実施形態では、ヒンジ領域は、配列番号113のアミノ酸配列と少なくとも90%、95%、又は100%の同一性を含むアミノ酸配列を含むIgG-Bヒンジ領域である。更に他の実施形態では、ヒンジ領域は、配列番号114のアミノ酸配列と少なくとも90%、95%、又は100%の同一性を含むアミノ酸配列を含むIgG-Cヒンジ領域である。更に他の実施形態では、ヒンジ領域は、配列番号115のアミノ酸配列を含む修飾IgG-Dヒンジ領域である。

40

50

【0025】

同様に、イヌFc領域は、IgG-A、IgG-B、IgG-C、IgG-D又はそれらの修飾であり得る。特定の実施形態では、イヌ化抗体又はその抗原結合断片はIgG-Bmを含む。ある種の実施形態では、イヌ化抗体又はその抗原結合断片は、配列番号116のアミノ酸配列と少なくとも90%、95%、98%、99%又は100%の同一性を有するアミノ酸配列を含むIgG-Aを含む。他の実施形態では、イヌ化抗体又はその抗原結合断片は、配列番号110のアミノ酸配列と少なくとも90%、95%、98%、99%又は100%の同一性を有するアミノ酸配列を含むIgG-Bを含む。更に他の実施形態では、イヌ化抗体又はその抗原結合断片は、配列番号117のアミノ酸配列と少なくとも90%、95%、98%、99%又は100%の同一性を有するアミノ酸配列を含むIgG-Cを含む。更に他の実施形態では、イヌ化抗体又はその抗原結合断片は、配列番号118のアミノ酸配列と少なくとも90%、95%、98%、99%又は100%の同一性を有するアミノ酸配列を含むIgG-Dを含む。更に他の実施形態では、イヌ化抗体又はその抗原結合断片は、配列番号111のアミノ酸配列と少なくとも90%、95%、98%、99%又は100%の同一性を有するアミノ酸配列を含むIgG-Bmを含み、配列番号110の31位のアスパラギン酸残基(D)及び配列番号110の63位のアスパラギン残基(N)の両方が、IgG-Bmの配列中のアラニン残基(A)で置換されたままである。

10

【0026】

特定の実施形態では、イヌ化抗体又はその抗原結合断片はイヌIgG-Dを含むが、天然に存在するIgG-Dヒンジ領域は、配列番号112のアミノ酸配列と少なくとも90%、95%、又は100%の同一性を有するアミノ酸配列を含むヒンジ領域によって置き換えられる。他の実施形態では、イヌ化抗体は、IgG-Dを含む重鎖を含むが、天然に存在するIgG-Dヒンジ領域は、配列番号113のアミノ酸配列と少なくとも90%、95%、又は100%の同一性を有するアミノ酸配列を含むヒンジ領域によって置き換えられる。更に他の実施形態では、イヌ化抗体は、IgG-Dを含む重鎖を含むが、天然に存在するIgG-Dヒンジ領域は、配列番号114のアミノ酸配列と少なくとも90%、95%、又は100%の同一性を有するアミノ酸配列を含むヒンジ領域によって置き換えられる。更に他の実施形態では、イヌ化抗体は、IgG-Dを含む重鎖を含むが、天然に存在するIgG-Dヒンジ領域は、配列番号115のアミノ酸配列を含むヒンジ領域によって置き換えられている。

20

30

【0027】

組成物のある種の実施形態では、イヌIL-31RAに対するイヌ化抗体は、配列番号79、配列番号80、又は配列番号81のアミノ酸配列を含む重鎖と、配列番号82、配列番号83、配列番号84、又は配列番号85のアミノ酸配列を含む軽鎖と、を含む。本発明は更に、これらのイヌ化抗体の抗原結合断片を提供する。

【0028】

特定の実施形態では、イヌ化抗体は、配列番号84のアミノ酸配列を含む軽鎖と、配列番号80のアミノ酸配列を含む重鎖と、を含む。他の実施形態では、イヌ化抗体は、配列番号84のアミノ酸配列を含む軽鎖と、配列番号81のアミノ酸配列を含む重鎖と、を含む。更に他の実施形態では、イヌ化抗体は、配列番号84のアミノ酸配列を含む軽鎖と、配列番号79のアミノ酸配列を含む重鎖と、を含む。

40

【0029】

更に他の実施形態では、イヌ化抗体は、配列番号85のアミノ酸配列を含む軽鎖と、配列番号80のアミノ酸配列を含む重鎖と、を含む。更に他の実施形態では、イヌ化抗体は、配列番号85のアミノ酸配列を含む軽鎖と、配列番号81のアミノ酸配列を含む重鎖と、を含む。更に他の実施形態では、イヌ化抗体は、配列番号85のアミノ酸配列を含む軽鎖と、配列番号79のアミノ酸配列を含む重鎖と、を含む。

【0030】

更に他の実施形態では、イヌ化抗体は、配列番号83のアミノ酸配列を含む軽鎖と、配

50

列番号 80 のアミノ酸配列を含む重鎖と、を含む。更に他の実施形態では、イヌ化抗体は、配列番号 83 のアミノ酸配列を含む軽鎖と、配列番号 81 のアミノ酸配列を含む重鎖と、を含む。更に他の実施形態では、イヌ化抗体は、配列番号 83 のアミノ酸配列を含む軽鎖と、配列番号 79 のアミノ酸配列を含む重鎖と、を含む。

【0031】

更に他の実施形態では、イヌ化抗体は、配列番号 82 のアミノ酸配列を含む軽鎖と、配列番号 80 のアミノ酸配列を含む重鎖と、を含む。更に他の実施形態では、イヌ化抗体は、配列番号 82 のアミノ酸配列を含む軽鎖と、配列番号 81 のアミノ酸配列を含む重鎖と、を含む。更に他の実施形態では、イヌ化抗体は、配列番号 82 のアミノ酸配列を含む軽鎖と、配列番号 79 のアミノ酸配列を含む重鎖と、を含む。

10

【0032】

特定の実施形態では、イヌ IL-31RA に結合した場合、哺乳動物抗体（例えば、イヌ化抗体）は、配列番号 97 若しくは配列番号 103、又は配列番号 97 と配列番号 103 の両方のアミノ酸によって構成されるエピトープに結合する。特定の実施形態では、エピトープの同定は、化学架橋結合及び質量分析検出に基づく。関連する実施形態では、イヌ IL-31RA に結合すると、哺乳動物抗体は、配列番号 97 若しくは配列番号 103 のアミノ酸配列内、又は配列番号 97 及び配列番号 103 の両方内の少なくとも 1 つのアミノ酸残基、好ましくは 1～3 個のアミノ酸残基、より好ましくは 2～5 個のアミノ酸残基、及び／又はより好ましくは 3～8 個以上のアミノ酸残基に結合する。

【0033】

特定の実施形態では、配列番号 97 に結合する哺乳動物抗体は、配列番号 2 の 94 位のチロシン残基、すなわち Y₉₄ に結合する。他の実施形態では、哺乳動物抗体は、配列番号 2 の 102 位のリジン残基、すなわち K₁₀₂ に結合する。更に他の実施形態では、哺乳動物抗体は、配列番号 2 の 112 位のリジン残基、すなわち K₁₁₂ に結合する。更に他の実施形態では、哺乳動物抗体は、配列番号 2 の 94 位のチロシン残基及び配列番号 2 の 102 位のリジン残基に結合する。更に他の実施形態では、哺乳動物抗体は、配列番号 2 の 102 位のリジン残基及び配列番号 2 の 112 位のリジン残基に結合する。更に他の実施形態では、哺乳動物抗体は、配列番号 2 の 94 位のチロシン残基及び配列番号 2 の 112 位のリジン残基に結合する。更に他の実施形態では、哺乳動物抗体は、94 位のチロシン残基に結合し、配列番号 2 の 102 位のリジン残基及び配列番号 2 の 112 位のリジン残基に結合する。

20

30

【0034】

関連する実施形態では、配列番号 103 に結合する哺乳動物抗体は、配列番号 2 の 183 位のアルギニン残基、すなわち R₁₈₃ に結合する。他の実施形態では、哺乳動物抗体は、配列番号 2 の 193 位のセリン残基、すなわち S₁₉₃ に結合する。更に他の実施形態では、哺乳動物抗体は、配列番号 2 の 202 位のトレオニン残基、すなわち T₂₀₂ に結合する。更に他の実施形態では、哺乳動物抗体は、配列番号 2 の 183 位のアルギニン残基及び配列番号 2 の 193 位のセリン残基に結合する。更に他の実施形態では、哺乳動物抗体は、配列番号 2 の 193 位のセリン残基及び配列番号 2 の 202 位のトレオニン残基に結合する。更に他の実施形態では、哺乳動物抗体は、配列番号 2 の 183 位のアルギニン残基及び配列番号 2 の 202 位のトレオニン残基に結合する。更に他の実施形態では、哺乳動物抗体は、配列番号 2 の 183 位のアルギニン残基に結合し、配列番号 2 の 193 位のセリン残基及び配列番号 2 の 202 位のトレオニン残基に結合する。本発明は更に、これらの哺乳動物抗体の抗原結合断片を提供する。

40

【0035】

本発明はまた、3 つの HCDR 又は 3 つの LCDR のセット；イヌ化抗体又はその抗原結合断片の重鎖可変領域；イヌ化抗体若しくはその抗原結合断片の重鎖、イヌ化抗体若しくはその抗原結合断片の軽鎖可変領域、及び／又はイヌ化抗体若しくはその抗原結合断片の軽鎖のいずれかをコードする、単離された核酸を含む核酸を提供する。本発明は更に、核酸の対を提供し、核酸の対の一方は、本発明の抗体のいずれか 1 つの特定のイヌ化抗体

50

の軽鎖をコードするヌクレオチド配列を含み、核酸の対の他方は、その（当該）特定のイヌ化抗体の重鎖をコードするヌクレオチド配列を含む。本発明は更に、そのような核酸の対、又は本発明の個々の核酸を含む発現ベクターを提供する。更に、本発明は、発現ベクターの対を提供し、発現ベクターの対の一方は、本発明の抗体のいずれか1つの特定のイヌ化抗体の軽鎖をコードするヌクレオチド配列を含む核酸を含み、発現ベクターの対の他方は、その（当該）特定のイヌ化抗体の重鎖をコードするヌクレオチド配列を含む核酸を含む。

【0036】

したがって、本発明は更に、本発明の哺乳動物抗体（イヌ化抗体を含む）の3つの重鎖相補性決定領域（CDR）、CDR重1（HC DR 1）、CDR重2（HC DR 2）、及びCDR重3（HC DR 3）のセットをコードする核酸を提供する。より特定の実施形態では、核酸は、配列番号3のアミノ酸配列を含むHC DR 1；配列番号10、配列番号11、配列番号12若しくは配列番号13のアミノ酸配列を含むHC DR 2；配列番号20、配列番号21、配列番号22若しくは配列番号23のアミノ酸配列を含むHC DR 3；又はそれらの任意の組合せをコードする。

10

【0037】

本発明は更に、本発明の哺乳動物抗体（イヌ化抗体を含む）又はその抗原結合断片の3つの軽鎖相補性決定領域（CDR）、CDR軽1（LC DR 1）、CDR軽2（LC DR 2）及びCDR軽3（LC DR 3）のセットをコードする核酸を提供する。この種のより特定の実施形態では、核酸は、配列番号30若しくは配列番号31のアミノ酸配列を含むLC DR 1；配列番号38、配列番号39、若しくは配列番号40のアミノ酸配列を含むLC DR 2；及び配列番号45のアミノ酸配列を含むLC DR 3；又はそれらの任意の組合せをコードする。

20

【0038】

本発明は更に、本発明の哺乳動物抗体（イヌ化抗体を含む）又はその抗原結合断片の重鎖のいずれかをコードする核酸を提供する。本発明はまた、本発明の哺乳動物抗体（イヌ化抗体を含む）又はその抗原結合断片の軽鎖のいずれかをコードする核酸を提供する。更に、本発明は、本発明の核酸の1又は複数を含み、発現することができる発現ベクター、及びそのような発現ベクターの1又は複数を含む宿主細胞を提供する。

30

【0039】

本発明は更に、本発明のイヌ化抗体及びその抗原結合断片を薬学的に許容される担体及び／又は希釈剤と共に含む医薬組成物を提供する。本発明は更に、本発明の核酸を薬学的に許容される担体及び／又は希釈剤と共に含む医薬組成物、並びに／あるいは本発明の核酸の1又は複数を経口的に許容される担体及び／又は希釈剤と共に含む発現ベクターを提供する。

【0040】

本発明はまた、アトピー性皮膚炎を処置する方法であって、アトピー性皮膚炎を有する動物対象に前述の医薬組成物の1つを投与することを含む方法を提供する。特定の実施形態では、動物対象はイヌである。本発明はまた、治療有効量の本発明の医薬組成物を、それを必要とする動物対象に投与することを含む、動物対象におけるアトピー性皮膚炎に関連する掻痒症の遮断を補助する方法を提供する。特定の実施形態では、動物対象はイヌである。

40

【0041】

加えて、本発明は、イヌIL-31RAに結合するイヌ化抗体又はその抗原結合断片を産生する方法を提供する。特定の実施形態では、方法は、本発明のイヌ化抗体の軽鎖及びそのイヌ化抗体の重鎖をコード及び発現する1又は複数の発現ベクターを含む宿主細胞を、核酸が発現される条件下で培養培地中で培養し、それにより、本発明のイヌ化抗体の軽鎖及び／又はそのイヌ化抗体の重鎖を含むポリペプチドを産生することを含む。次いで、ポリペプチドを宿主細胞又は培地から回収する。ある種の実施形態では、本発明のイヌ化抗体の軽鎖を含むポリペプチド及びそのイヌ化抗体の重鎖を含むポリペプチドを、イヌ化

50

抗体を形成しやすい条件下でそれぞれと組み合わせる。

【0042】

本発明のこれら及び他の態様は、以下の図面の簡単な説明及び詳細な説明を参照することによってよりよく理解されよう。

【図面の簡単な説明】

【0043】

【図1】IL-31RAに対するIL-31の結合を示す図である。イヌIL-31RAの細胞外ドメイン(ECD)を、イヌIL-31に結合するその能力について試験した。結果は、IL-31RA ECDがビオチン化イヌIL-31に用量依存的に結合し、EC50が0.55 ng/mlであることを示している。

10

【図2A】IL-31RAに対するxIL-31RAモノクローナル抗体(mAbs)の結合を示す図である。

【図2B】IL-31RAに対するxIL-31RAモノクローナル抗体(mAbs)の結合を示す図である。選択したマウスmAbを、イヌIL-31RAに対するそれらの反応性について試験した。結果は、選択されたマウスmAbがイヌIL-31RAに用量依存的に結合することを示す。10種のマウスモノクローナル抗体はいずれもイヌIL-31RAに対する強い結合反応性を有する。図2Aは、マウスmAb: 51F8 (●)、74H10 (■)、100H8 (▲)、209G5 (▼)、224G3 (◆)、及びアイソタイプ対照(o)を示す。図2Bは、マウスmAb: 55B3 (●)、65G9 (■)、85C10 (▲)、218D9 (▼)、227E7 (◆)、及びアイソタイプ対照(o)を示す。

20

【図3】IL-31RAに対するモノクローナル抗体(mAbs)によるIL-31RAへのIL-31の結合の遮断を示す図である。選択したマウスmAb(抗イヌIL-31RA)を、フローサイトメトリによってIL-31とIL-31RA/OSMRとの結合を遮断する能力について試験した。FACSの結果は、10個のマウスmAbが、CHO-IL-31RA/OSMR細胞上に提示されたIL-31RA/OSMR複合体とのIL-31の結合を阻止し得ることを示している。抗体51F8、74H10、100H8、209G5、及び218D9は、優れたブロック活性を示した。

【図4】IL-31によるSTAT-3リン酸化の誘導を示す図である。IL-31受容体複合体を発現するBa/f3-OI細胞を、IL-31誘導性STAT-3リン酸化について試験した。結果は、STAT-3リン酸化がBa/f3-OI細胞(■)においてIL-31によって用量依存的に誘導されたことを示しており、(i)イヌIL-31受容体複合体が細胞表面上に首尾よく発現されること、(ii)IL-31受容体へのイヌIL-31の結合が内因性STAT3リン酸化を刺激し得ること、及び(iii)その後、その下流のシグナル伝達経路を開始すること、を暗示している。Ba/f3細胞(o)を対照として使用した。

30

【図5A】選択されたxIL-31RA抗体によるBa/f3-OI細胞におけるIL-31媒介STAT-3リン酸化の阻害を示す図である。

【図5B】選択されたxIL-31RA抗体によるBa/f3-OI細胞におけるIL-31媒介STAT-3リン酸化の阻害を示す図である。結果は、選択されたmAbが、Ba/f3-OI細胞において用量依存的様式でIL-31媒介STAT-3リン酸化を阻害することを示す。図5Aは、マウスmAbの209G5 (■)、218D9 (▲)、85C10 (▼)、及びIL-31タンパク質(◆)を示す。図5Bは、マウスmAbの100H8 (六角形印)、74H10 (■)、85C10 (▲)、51F8 (▼)、及びcIL-31タンパク質(◆)を示す。

40

【図6A】抗体100H8についてのイヌIL-31RA上のエピトープを提供する図である。

【図6B】抗体51F8についてのイヌIL-31RA上のエピトープを提供する図である。

【図6C】抗体218D9についてのイヌIL-31RA上のエピトープを提供する図で

50

ある。

【図 6 D】抗体 8 5 C 1 0 についてのイヌ I L - 3 1 R A 上のエピトープを提供する図である。

【図 6 E】抗体 2 2 4 G 3 についてのイヌ I L - 3 1 R A 上のエピトープを提供する図である。図 6 A は、1 0 0 H 8 のエピトープを示し、エピトープは、それぞれ配列番号 9 7（配列番号 1 1 9 内）及び配列番号 1 0 3（配列番号 1 2 0 内）のアミノ酸配列を含む。図 6 B は、5 1 F 8 のエピトープを示し、エピトープは、配列番号 9 8（配列番号 1 2 1 内）及び配列番号 1 0 0（配列番号 1 2 2 内）のアミノ酸配列を含む。図 6 C は、2 1 8 D 9 のエピトープを示し、エピトープは、それぞれ配列番号 1 0 4（配列番号 1 2 3 内）及び配列番号 1 0 5（配列番号 1 2 4 内）のアミノ酸配列を含む。図 6 D は、8 5 C 1 0 のエピトープを示し、エピトープは、それぞれ配列番号 1 0 6（配列番号 1 2 5 内）及び配列番号 1 0 8（配列番号 1 2 6 内）のアミノ酸配列を含む。図 6 E は、2 2 4 G 3 のエピトープを示し、エピトープは、配列番号 1 0 9（配列番号 1 2 6 内にでもある）のアミノ酸配列を含む。c I L - 3 1 R E C D 抗原上のそれぞれのエピトープに対する配列番号 2 のアミノ酸配列の結合残基の位置も示す。

【図 7 A】同定されたマウス-イヌのキメラ抗体又はイヌ化抗体の、イヌ I L - 3 1 R A に対する結合活性についてのプロットを提供する。

【図 7 B】同定されたマウス-イヌのキメラ抗体又はイヌ化抗体の、イヌ I L - 3 1 R A に対する結合活性についてのプロットを提供する。

【図 7 C】同定されたマウス-イヌのキメラ抗体又はイヌ化抗体の、イヌ I L - 3 1 R A に対する結合活性についてのプロットを提供する。

【図 7 D】同定されたマウス-イヌのキメラ抗体又はイヌ化抗体の、イヌ I L - 3 1 R A に対する結合活性についてのプロットを提供する。

【図 7 E】同定されたマウス-イヌのキメラ抗体又はイヌ化抗体の、イヌ I L - 3 1 R A に対する結合活性についてのプロットを提供する。結果は、イヌ化抗体がそれらの対応する親抗体（マウス-イヌキメラ抗体によって表される）と同様の結合親和性を有することを示している。図 7 A は、モノクローナル 5 1 F 8 抗体：キメラ 5 1 F 8（●）c 5 1 F 8 V H 3 V L 6（■）、c 5 1 F 8 V H 3 V L 7（▲）、c 5 1 F 8 V H 4 V L 6（▼）、及び c 5 1 F 8 V H 4 V L 7（◆）、並びにアイソタイプ対照（○）の結合プロットを示す。図 7 B は、モノクローナル 1 0 0 H 8 抗体：キメラ 1 0 0 H 8（●）、c 1 0 0 H 8 V H 5 V L 4（■）、及び c 1 0 0 H 8 V H 7 V L 4（▲）の結合プロットを示す。図 7 C は、モノクローナル 8 5 C 1 0 抗体：キメラ 8 5 C 1 0（●）、c 8 5 C 1 0 V H 3 V L 2（■）、及び c 8 5 C 1 0 V H 1 V L 2（▲）の結合プロットを示す。図 7 D は、モノクローナル 2 1 8 D 9 抗体：キメラ 2 1 8 D 9（●）、c 2 1 8 D 9 V H 3 V L 2（■）、c 2 1 8 D 9 V H 3 V L 3（▲）、c 2 1 8 D 9 V H 4 V L 2（▼）、及び c 2 1 8 D 9 V H 4 V L 3（◆）、並びにアイソタイプ対照（○）の結合プロットを示す。図 7 E は、モノクローナル 2 2 4 G 3 抗体：m 2 2 4 G 3 C h i m（●）、c 2 2 4 G 3 V H 2 V L 2（■）、及び c 2 2 4 G 3 V H 2 V L 3（▲）の結合プロットを示す。E C 5 0 が表に提供される。

【0 0 4 4】

抗体番号の前の「キメラ」という用語は、抗体がマウス-イヌキメラ抗体、例えばキメラ 2 1 8 D 9 又はキメラ 5 1 F 8 であることを意味する。更に、抗体番号の前の「m」の後に「C h i m」が続くことは、抗体がマウス-イヌキメラ抗体、例えば m 2 2 4 G 3 C h i m であることを意味する。抗体番号の前の小文字の「c」は、それがイヌ化抗体、例えば c 2 1 8 D 9 V H 4 V L 2 であることを意味する。

【図 8】B a / f 3 - O I 細胞における I L - 3 1 媒介 S T A T - 3 リン酸化の阻害による I L - 3 1 R A への I L - 3 1 の結合の遮断を示す図である。結果は、イヌ化 2 1 8 D 9 抗体が、B a / f 3 - O I 細胞において用量依存的様式で I L - 3 1 媒介 S T A T - 3 リン酸化を阻害することができ、構築物 c 2 1 8 D 9 V H 3 V L 3 及び c 2 1 8 D 9 V H 4 V L 3 が、親マウス-イヌキメラ 2 1 8 D 9 抗体と同じ阻害活性を有することを示す：

キメラ 218D9 (●)、c218D9VH3VL2 (■)、c218D9VH3VL3 (▲)、c218D9VH4VL2 (▼)、及び c218D9VH4VL3 (◆) ; 並びに IL-31 のみの対象 (○)。

【発明を実施するための形態】

【0045】

アトピー性皮膚炎のためのより良好な治療法の必要性に応答して、本発明は、アトピー性皮膚炎に関連する皮膚炎症に対して有意な効果を達成することができる製剤及び方法論を提供する。

【0046】

略語

本発明の詳細な説明及び実施例を通して、以下の略語を使用する。

【0047】

ADCC 抗体依存性細胞傷害

CDC 補体依存性細胞傷害

CDR Kabat ナンバリングシステムを使用して定義される、免疫グロブリン可変領域中の相補性決定領域

EC50 50%の有効性又は結合をもたらす濃度

ELISA 酵素結合免疫吸着アッセイ

FR 抗体フレームワーク領域：CDR領域を除く免疫グロブリン可変領域

IC50 50%阻害をもたらす濃度

IgG 免疫グロブリンG

Kabat Elvin A. Kabatによって開拓された免疫グロブリンのアラインメント及びナンバリングシステム [Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md. (1991)]

mAb モノクローナル抗体 (Mab又はMAbも)

V領域 異なる抗体間で配列が可変であるIgG鎖のセグメント。

VH 免疫グロブリン重鎖可変領域

VL 免疫グロブリン軽鎖可変領域

【0048】

定義

本発明がより容易に理解され得るように、特定の技術的及び科学的用語を以下に具体的に定義する。本明細書の他の箇所で具体的に定義されていない限り、本明細書で使用される他の全ての技術用語及び科学用語は、本発明が属する技術分野の当業者によって一般的に理解される意味を有する。

【0049】

添付の特許請求の範囲を含む本明細書で 사용되는場合、「a」、「an」、及び「the」等の単語の単数形は、文脈が明らかにそうでないことを指示しない限り、それらの対応する複数の指示対象を含む。

【0050】

「投与」及び「処置」は、動物、例えばイヌ対象、細胞、組織、器官又は生物学的流体に適用される場合、外因性の医薬、治療、診断剤、又は組成物と動物、例えばイヌ対象、細胞、組織、器官又は生物学的流体との接触を指す。細胞の処置は、細胞への試薬の接触、並びに流体が細胞と接触している流体への試薬の接触を包含する。

【0051】

「投与」及び「処置」はまた、例えば、試薬、診断、結合化合物又は別の細胞による細胞のインビトロ及びエクスピボ処理を意味する。「対象」という用語は、任意の生物、好ましくは動物、より好ましくは哺乳動物 (例えば、イヌ又はネコ)、最も好ましくはイヌを含む。

10

20

30

40

50

【0052】

「処置する」又は「処置」は、本発明の抗体のいずれかを含有する組成物等の治療剤を、1又は複数の症状を有するか、又はその薬剤が治療活性を有する症状を有することが疑われるイヌ対象又は患者に、内部的又は外部的に投与することを意味する。典型的には、薬剤は、任意の臨床的に測定可能な程度だけ（1又は複数の）そのような症状の退縮を誘導するか、又はそのような症状の進行を阻害することによってであろうとなかろうと、処置された対象又は集団における1又は複数の疾患／状態症状を緩和及び／又は改善するのに有効な量で投与される。任意の特定の疾患／状態症状を軽減するのに有効な治療剤の量（「治療有効量」とも呼ばれる）は、疾患／症状、患者（例えば、イヌ）の年齢及び体重、並びに対象において所望の応答を誘発する医薬組成物の能力等の因子によって異なり得る。疾患／状態症状が緩和又は改善されたかどうかは、その症状の重症度又は進行状態を評価するために獣医又は他の熟練したヘルスケア提供者によって通常使用される任意の臨床測定によって評価することができる。本発明の実施形態（例えば、処置方法又は製造品）は、あらゆる対象において、標的疾患／状態の（1又は複数の）症状を軽減するのに有効ではないかもしれないが、それは、当該分野で公知の任意の統計学的検定、例えば、スチューデントのt検定、カイ二乗検定、マン・ホイットニーによるU検定、クラスカル・ウォリス検定（H検定）、ヨルクヒール・タープストラ検定及びウィルコクソン検定によって決定されるように、統計学的に有意な数の対象において標的疾患／状態の（1又は複数の）症状を軽減するはずである。

10

【0053】

ヒト、獣医学的（例えば、イヌ）又は研究対象に適用される「処置」は、治療的処置並びに研究及び診断の用途を指す。ヒト、獣医学的（例えば、イヌ）、若しくは研究対象、又は細胞、組織、若しくは器官に適用される「処置」は、本発明の抗体と、例えばイヌ若しくは他の動物対象、細胞、組織、生理学的区画、又は生理学的流体との接触を包含する。

20

【0054】

本明細書で使用される場合、「イヌ」という用語は、特に明記しない限り、全ての家畜イヌ、カニス・ループス・ファミリア（*Canis lupus familiaris*）又はカニス・ファミリア（*Canis familiaris*）を含む。

【0055】

本明細書で使用される場合、「ネコ」という用語は、ネコ科の任意のメンバーを指す。このファミリーのメンバーには、野生、動物園、及び家庭のメンバーが含まれ、これらには、イエネコ、純血及び／又は雑種コンパニオンネコ、ショーネコ、実験室ネコ、クローンネコ、及び野生又は野生化したネコが含まれる。

30

【0056】

本明細書で使用される場合、「イヌフレーム」という用語は、本明細書でCDR残基として定義される超可変領域残基以外のイヌ抗体の重鎖及び軽鎖のアミノ酸配列を指す。イヌ化抗体に関して、大部分の実施形態では、天然のイヌCDRのアミノ酸配列は、両方の鎖において対応する外来CDR（例えば、マウス抗体又はラット抗体由来のもの）で置き換えられる。イヌ抗体の重鎖及び／又は軽鎖には、例えば、下記に例示されるような、及び／又は参照によりその全体が本明細書に組み込まれる米国特許第10,106,607号明細書に開示されるような、イヌ化抗体内の外来CDRの立体配置を保存するために、及び／又はFc機能を修飾するために、いくつかの外来非CDR残基が含まれていてもよい。

40

【0057】

「Fc」又は互換的に使用される「Fc領域」と略される「フラグメント結晶化可能領域」は、Fc受容体と呼ばれる細胞表面受容体と相互作用する抗体のCH3-CH2部分に対応する。4つのイヌIgGの各々のイヌフラグメント結晶化可能領域（cFc領域）は、Tang et al. [Vet. Immunol. Immunopathol. 80:259-270 (2001); Bergeron et al., Vet. Immu

50

n o l . I m m u n o p a t h o l . 1 5 7 : 3 1 - 4 1 (2 0 1 4) 及び米国特許第 1 0 , 1 0 6 , 6 0 7 号明細書も参照されたい] によって最初に記載された。

【 0 0 5 8 】

本明細書で使用される場合、イヌ F c (c F c) 「 I g G - B m 」 は、 I g G - B の配列番号 1 1 1 のアミノ酸配列 (下記参照) のように、及び c 末端リジン (「 K 」) を含まない、2 つのアミノ酸残基置換、 D 3 1 A 及び N 6 3 A を含むイヌ I g G - B F c である。配列番号 1 1 0 の 3 1 位のアスパラギン酸残基 (D) 及び配列番号 1 1 0 の 6 3 位のアスパラギン残基 (N) は、いずれも I g G - B m においてアラニン残基 (A) に置換されている。これらの 2 つのアミノ酸残基置換は、天然に存在するイヌ I g G - B の抗体依存性細胞傷害 (A D C C) 及び補体依存性細胞傷害 (C D C) を有意に減少させるのに役立つ [その内容全体が参照により本明細書に組み込まれる米国特許第 1 0 , 1 0 6 , 6 0 7 号明細書を参照されたい] 。 I g G - B m に対する更なるアミノ酸置換も想定され、これは I g G - B で行うことができるものと並行し、二重特異性抗体におけるヘテロ二量体形成を促進するためのアミノ酸置換を含み得る。 I g G - B のアミノ酸配列、配列番号 1 1 0 は、以下である。

10

【 0 0 5 9 】

```
1                                     50
LGGPSVFIFP PKPKDTLLIA RTPEVTCVVV DLDPEDPEVQ ISWFVDGKQM
↳ CH2

51                                     100
QTAKTQPREE QFNGTYRVVS VLPIGHQDWL KGKQFTCKVN NKALPSPIER

101                                    150
TISKARGQAH QPSVYVLPPS REELSKNTVS LTCLIKDFFP PDIDVEWQSN
↳ CH3

151                                    200
GQQEPESKYR TTPPQLDEDG SYFLYSKLSV DKSRWQRGDT FICAVMHEAL

201                                    215
HNHYTQKSLS HSPGK
```

20

30

【 0 0 6 0 】

I g G - B m のアミノ酸配列、配列番号 1 1 1 を以下に提供する。

```
LGGPSVFIFPPKPKDTLLIARTPEVTCVVVALDPEDPEVQISWFVDGKQMQTAKTQPREEQFAGT
YRVVSVLPIGHQDWLKGKQFTCKVNNKALPSPIERTISKARGQAHQPSVYVLPPSREELSKNTVS
LTCLIKDFFPPDIDVEWQSNQEQEPESKYRTTPPQLDEDGSYFLYSKLSVDKSRWQRGDTFICAV
MHEALHNHYTQESLSHSPG
```

40

【 0 0 6 1 】

本明細書中で使用される場合、抗体のアミノ酸配列における別のアミノ酸残基による「アミノ酸残基の置換」は、例えば、別のアミノ酸残基による「アミノ酸残基の置換え」と等価であり、アミノ酸配列における特定の位置における特定のアミノ酸残基が異なるアミノ酸残基によって置き換えられている (又は置換されている) ことを示す。そのような置換は、特に設計することができ、すなわち、例えば組換え DNA 技術によってアミノ酸配列の特定の位置でアラニンをセリンで意図的に置き換えることができる。あるいは、抗体

50

の特定のアミノ酸残基又は一連のアミノ酸残基は、例えば細胞によって産生された抗体がその抗原上の所与の領域、例えばエピトープ又はその一部を含有するものに結合する能力に基づいて、及び／又は抗体が置換されているCDRと同じカノニカル構造を保持する特定のCDRを含むために、より自然な選択プロセスを介して1又は複数のアミノ酸残基によって置き換えられ得る。そのような置換／置換えは、「バリエーション」CDR及び／又はバリエーション抗体をもたらし得る。

【0062】

本明細書で使用される場合、「抗体」という用語は、所望の生物学的活性を示す任意の形態の抗体を指す。抗体は、モノマー、二量体、又はより大きな多量体であり得る。したがって、それは最も広い意味で使用され、限定されないが、モノクローナル抗体（全長モノクローナル抗体を含む）、ポリクローナル抗体、多重特異性抗体（例えば、二重特異性抗体）、イヌ化抗体、完全イヌ抗体、キメラ抗体及びラクダ化単ドメイン抗体を具体的に包含する。「親抗体」は、イヌ治療用抗体として使用するための抗体のイヌ化等の意図された使用のための抗体の修飾の前に免疫系を抗原に曝露することによって得られる抗体である。

10

【0063】

本明細書で使用される場合、例えばイヌ受容体のその結合パートナー（リガンド）への「ブロック」又は「ブロックしている」又は「結合をブロックしている」本発明の抗体は、標準的な結合アッセイ（例えば、B I A C o r e（登録商標）、E L I S A又はフローサイトメトリ）で決定されるように、イヌ受容体のそのイヌリガンドへの結合をブロックする（部分的又は完全に）抗体であり、逆もまた同様である。

20

【0064】

典型的には、本発明の抗体又は抗原結合断片は、その活性がモルベースで発現される場合、（親抗体と比較した場合）そのイヌ抗原結合活性の少なくとも10%を保持する。好ましくは、本発明の抗体又は抗原結合断片は、親抗体としてイヌ抗原結合親和性の少なくとも20%、50%、70%、80%、90%、95%若しくは100%又はそれ超を保持する。本発明の抗体又は抗原結合断片は、その生物学的活性を実質的に変化させない保存的又は非保存的アミノ酸置換（抗体の「保存的バリエーション」又は「機能保存バリエーション」と呼ばれる）を含み得ることも意図される。

【0065】

「単離抗体」は、精製状態を指し、そのような文脈において、分子が、核酸、タンパク質、脂質、炭水化物等の他の生物学的分子、又は細胞片及び増殖培地等の他の材料を実質的に含まないことを意味する。一般に、「単離」という用語は、本明細書に記載の結合化合物の実験的又は治療的使用を実質的に妨げる量で存在しない限り、そのような材料が完全に存在しないこと、又は水、緩衝液若しくは塩が存在しないことを指すことを意図しない。

30

【0066】

本明細書で使用される場合、抗体は、イヌIL-31RAのアミノ酸配列の一部を含むポリペプチドに結合するが、イヌIL-31RAの配列のその部分を欠く他のイヌタンパク質には結合しない場合、所与の抗原配列（この場合、イヌIL-31RAのアミノ酸配列の一部）を含むポリペプチドに特異的に結合すると言われる。例えば、イヌIL-31RAを含むポリペプチドに特異的に結合する抗体は、イヌIL-31RAのFLAG（登録商標）タグ付き形態に結合し得るが、他のFLAG（登録商標）タグ付きイヌタンパク質には結合しない。

40

【0067】

本明細書中で使用されるとき、別段示されない限り、「抗体断片」又は「抗原結合断片」は、抗体の抗原結合断片、すなわち、全長抗体によって結合される抗原（例えば、イヌIL-31RA）に特異的に結合する能力を保持する抗体断片、例えば、1又は複数のCDR領域を保持する断片を指す。抗原結合断片の例としては、Fab、Fab'、F(ab')₂、及びFv断片；ダイアボディ；線形抗体；一本鎖抗体分子、例えばsc-Fv

50

；抗体断片から形成されたナノボディ及び多重特異性抗体が挙げられるが、これらに限定されない。

【0068】

抗体、又は抗体の抗原結合部位に由来する結合化合物は、そのイヌ抗原、又はそのバリエーション若しくはムテインに対して、試験した任意の他のイヌ抗原に対する親和性よりも少なくとも10倍大きい、より好ましくは少なくとも20倍大きい、更により好ましくは少なくとも100倍大きい親和性を有する場合、「特異性」で、そのイヌ抗原、又はそのバリエーション若しくはムテインに結合する。

【0069】

本明細書で使用される場合、「キメラ抗体」は、第1の抗体由来の変域ドメイン及び第2の抗体由来の定常ドメインを有する抗体であり、第1及び第2の抗体は異なる種に由来する[米国特許第4,816,567号明細書；及びMorrison et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 81:6851-6855 (1984)]。典型的には、変域ドメインは、げっ歯類等の実験動物からの抗体（「親抗体」）から得られ、定常ドメイン配列は、動物対象抗体、例えばヒト又はイヌから得られ、その結果、得られたキメラ抗体は、親（例えば、げっ歯類）抗体よりもヒト又はイヌ対象においてそれぞれ有害な免疫応答を誘発する可能性が低くなる。

【0070】

本明細書で使用される場合、「イヌ化抗体」という用語は、イヌ及び非イヌ（例えば、マウス）抗体の両方からの配列を含む抗体の形態を指す。一般に、イヌ化抗体は、少なくとも1又は複数の典型的には2つの変域ドメインの実質的に全てを含み、超可変ループの全て又は実質的に全てが非イヌ免疫グロブリン（例えば、以下に例示されるような6つのCDRを含む）のものに対応し、フレームワーク（FR）領域の全て又は実質的に全て（及び典型的には残りのフレームの全て又は実質的に全て）がイヌ免疫グロブリン配列のものである。本明細書で例示するように、イヌ化抗体は、イヌフレーム又は修飾イヌフレームと共に、マウス（murine、mouse）抗イヌ抗原抗体由来の3つの重鎖CDRと3つの軽鎖CDRの両方を含む。修飾されたイヌフレームは、例えば、イヌ抗原へのその結合及び／又はイヌ抗原の天然結合パートナーへのそのイヌ抗原の結合を遮断する能力を増加させるために、イヌ化抗体の有効性を更に最適化する、本明細書に例示される1又は複数のアミノ酸変化を含む。

【0071】

各軽鎖／重鎖対の変域領域は、抗体結合部位を形成する。したがって、一般に、インタクトな抗体は2つの結合部位を有する。二機能性抗体又は二重特異性抗体を除いて、2つの結合部位は、一般に、同じである。典型的には、重鎖及び軽鎖の両方の変域ドメインは、比較的保存されたフレームワーク領域（FR）内に位置する、相補性決定領域（CDR）とも呼ばれる3つの超可変領域を含む。CDRは通常、フレームワーク領域によってアライメントされ、特定のエピトープへの結合を可能にする。一般に、N末端からC末端に向かって、軽鎖可変ドメイン及び重鎖可変ドメインの両方が、FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3及びFR4を含む。各ドメインへのアミノ酸の割り当ては、一般に、Sequences of Proteins of Immunological Interest, Kabat, et al.; National Institutes of Health, Bethesda, Md.; 5th ed.; NIH Publ. No. 91-3242 (1991); Kabat, Adv. Prot. Chem. 32:1-75 (1978); Kabat, et al., J. Biol. Chem. 252:6609-6616 (1977); Chothia, et al., J. Mol. Biol. 196:901-917 (1987) 又はChothia, et al., Nature 342:878-883 (1989) の定義に従う。

【0072】

本明細書で使用される場合、「超可変領域」という用語は、抗原結合に関与する抗体のアミノ酸残基を指す。超可変領域は、「相補性決定領域」又は「CDR」由来のアミノ酸

残基を含む（すなわち、軽鎖可変ドメイン中のLCDR1、LCDR2及びLCDR3並びに重鎖可変ドメイン中のHCDR1、HCDR2及びHCDR3）。[抗体のCDR領域を配列によって定義する、Kabat et al. Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md. (1991)を参照されたく、また、抗体のCDR領域を構造によって定義する、Chothia and Lesk, J. Mol. Biol. 196:901-917 (1987)を参照されたい]。本明細書で使用される場合、「フレームワーク」又は「FR」残基という用語は、本明細書でCDR残基として定義される超可変領域残基以外の可変ドメイン残基のものを指す。

10

【0073】

イヌIgGの4つの既知のIgG重鎖サブタイプがあり、それらはIgG-A、IgG-B、IgG-C、及びIgG-Dと呼ばれる。2つの公知の軽鎖サブタイプは、ラムダ及びカッパと呼ばれる。本発明の特定の実施形態では、イヌIL-31RAに結合することに加えて、本発明のその抗原に対するイヌ又はイヌ化抗体は、最適には以下の2つの属性を有する。

【0074】

- 1) 抗体依存性細胞傷害(ADCC)及び補体依存性細胞傷害(CDC)等のエフェクター機能の欠如、並びに
- 2) プロテインAクロマトグラフィに基づく技術等の業界標準技術を使用して大規模で容易に精製される。

20

【0075】

天然に存在するイヌIgGアイソタイプはいずれも両方の基準を満たさない。例えば、IgG-Bは、プロテインAを使用して精製することができるが、高レベルのADCC活性を有する。一方、IgG-AはプロテインAに弱く結合するが、ADCC活性も示す。更に、IgG-DはADCC活性を示さないが、IgG-CもIgG-DもプロテインAカラムで精製され得ない。(IgG-CはかなりのADCC活性を有する)。本発明がある種の実施形態においてこれらの問題に対処する1つの方法は、ADCC等のエフェクター機能を欠き、業界標準のプロテインAクロマトグラフィを使用して容易に精製することができる、本発明の抗原に特異的な本発明の修飾イヌIgG-B抗体を提供することによるものである。

30

【0076】

本明細書で使用される場合、「鎮痒剤」は、かゆみを阻害、軽減、及び／又は予防する傾向がある化合物、高分子、及び／又は製剤である。鎮痒剤は、口語的にかゆみ止めと呼ばれる。

【0077】

本明細書で使用される場合、「鎮痒抗体」は、特にアトピー性皮膚炎に関して、ヒト、イヌ、及び／又はネコ等の哺乳動物を含む動物において鎮痒剤として作用することができる抗体である。特定の実施形態では、鎮痒抗体は、IL-31又はその受容体IL-31RA等のIL-31シグナル伝達経路中の特定のタンパク質に結合する。鎮痒抗体のその対応する抗原(例えば、IL-31又はIL-31RA)への結合は、例えばIL-31とIL-31RAとの結合を阻害し、この経路の成功したシグナル伝達を妨害及び／又は防止し、それにより、IL-31シグナル伝達経路によって引き起こされるそう痒を阻害、軽減及び／又は防止する。

40

【0078】

「相同性」は、本明細書中で使用されるとき、2つのポリヌクレオチド配列間又は2つのポリペプチド配列が最適にアラインメントされたときのそれらの間の配列類似性を指す。2つの比較された配列の両方の位置が同じ塩基又はアミノ酸残基によって占められている場合、例えば2つのDNA分子のそれぞれの位置がアデニンによって占められている場合、分子はその位置で相同である。相同性のパーセントは、比較した位置の総数×100

50

で割った、2つの配列が共有する相同位置の数である。例えば、配列が最適にアラインメントされたときに、2つの配列中の10個の位置のうち6個が一致又は相同である場合、2つの配列は60%相同である。一般に、比較は、2つの配列が最大パーセントの相同性を与えるようにアラインメントされたときに行われる。

【0079】

配列同一性は、2つの配列が最適にアラインメントされたときに、2つのポリペプチドのアミノ酸が等価な位置で同じである程度を指す。本明細書で使用される場合、両方の配列のアミノ酸残基が同一である場合、1つのアミノ酸配列は第2のアミノ酸配列に対して100%「同一」である。したがって、2つのアミノ酸配列のアミノ酸残基の50%が同一である場合、アミノ酸配列は第2のアミノ酸配列に対して50%「同一」である。配列比較は、所与のタンパク質、例えばタンパク質、又は比較されるポリペプチドの一部に含まれるアミノ酸残基の連続ブロックにわたって行われる。特定の実施形態では、そうでなければ2つのアミノ酸配列間の対応関係を変化させ得る選択された欠失又は挿入が考慮される。

10

【0080】

配列類似性には、同一の残基及び同一でない生化学的に関連するアミノ酸が含まれる。同様の特性を共有し、交換可能であり得る生化学的に関連するアミノ酸。

【0081】

「保存的に修飾されたバリエーション」又は「保存的置換」は、タンパク質の生物学的活性を変化させることなく変化を頻繁に行うことができるような、類似の特徴（例えば、電荷、側鎖サイズ、疎水性／親水性、主鎖立体配座及び剛性等）を有する他のアミノ酸によるタンパク質中のアミノ酸の置換を指す。当業者は、一般に、ポリペプチドの非必須領域における単一アミノ酸置換が生物学的活性を実質的に変化させないことを認識する〔例えば、Watson et al., Molecular Biology of the Gene, The Benjamin/Cummings Pub. Co., p. 224 (4th Ed.; 1987)を参照されたい〕。更に、構造的又は機能的に類似したアミノ酸の置換は、生物学的活性を破壊する可能性が低い。例示的な保存的置換を下記の表Aに直接示す。

20

【0082】

30

40

50

【表 1】

表 A

例示的な保存的アミノ酸置換

元の残基	保存的置換
Ala(A)	Gly;Ser
Arg(R)	Lys;His
Asn(N)	Gln;His
Asp(D)	Glu;Asn
Cys(C)	Ser;Ala
Gln(Q)	Asn
Glu(E)	Asp;Gln
Gly(G)	Ala
His(H)	Asn;Gln
Ile(I)	Leu;Val
Leu(L)	Ile;Val
Lys(K)	Arg;His
Met(M)	Leu;Ile;Tyr
Phe(F)	Tyr;Met;Leu
Pro(P)	Ala;Gly
Ser(S)	Thr
Thr(T)	Ser
Trp(W)	Tyr;Phe
Tyr(Y)	Trp;Phe
Val(V)	Ile;Leu

【0083】

本発明の抗体の機能保存的バリエーションも本発明によって企図される。本明細書で使用される「機能保存的バリエーション」は、所望の特性、例えば抗原親和性及び／又は特異性を変化させることなく1又は複数のアミノ酸残基が変化した抗体又は断片を指す。そのようなバリエーションとしては、アミノ酸を、上記の表Aの保存的アミノ酸置換等の同様の特性を有するもので置き換えることが挙げられるが、これらに限定されない。

【0084】

「単離された核酸分子」は、単離されたポリヌクレオチドが自然界で見出されるか、又は自然界では連結されていないポリヌクレオチドに連結されているポリヌクレオチドの全部又は一部に関連しない、ゲノム、mRNA、cDNA、若しくは合成起源又はそれらの何らかの組合せのDNA又はRNAを意味する。本開示の目的のために、特定のヌクレオチド配列「を含む核酸分子」はインタクトな染色体を包含しないことを理解されたい。指定された核酸配列「を含む」単離された核酸分子は、指定された配列に加えて、最大10又は更には最大20又はそれを超える他のタンパク質若しくはその一部又は断片のコード配列を含み得るか、又は列挙された核酸配列のコード領域の発現を制御する作動可能に連結された調節配列を含み得るか、及び／又はベクター配列を含み得る。

【0085】

本発明は、本発明の単離されたイヌ化抗体、状態の処置、例えば、イヌにおけるアトピ

一性皮膚炎の処置における抗体の使用方法を提供する。イヌでは、A、B、C、及びDと呼ばれる4つのIgG重鎖が存在する。これらの重鎖は、IgG-A（又はIgGA）、IgG-B（又はIgGB）、IgG-C（又はIgGC）、及びIgG-D（又はIgGD）と呼ばれるイヌIgGの4つの異なるサブクラスを表す。2つの重鎖の各々は、1つの可変ドメイン（VH）と、CH-1、CH-2、及びCH-3と呼ばれる3つの定常ドメインとからなる。CH-1ドメインは、「ヒンジ」又は代替では「ヒンジ領域」と呼ばれるアミノ酸配列を介してCH-2ドメインに接続している。

【0086】

これらの4つの重鎖の核酸及びアミノ酸配列は、Tang et al. [Vet. Immunol. Immunopathol. 80: 259-270 (2001)] によって最初に同定された。これらの重鎖のアミノ酸及び核酸配列は、GenBankデータベースからも入手可能である。例えば、IgGA重鎖のアミノ酸配列はアクセッション番号AAL35301.1であり、IgGBはアクセッション番号AAL35302.1であり、IgGCはアクセッション番号AAL35303.1であり、IgGDはアクセッション番号（AAL35304.1）である。イヌ抗体はまた、2種類の軽鎖、カッパ及びラムダを含有する。これらの軽鎖のDNA及びアミノ酸配列は、GenBank Databaseから入手することができる。例えば、カッパ軽鎖アミノ酸配列はアクセッション番号ABY57289.1を有し、ラムダ軽鎖はアクセッション番号ABY55569.1を有する。

【0087】

4つの未修飾イヌFcの既知のアミノ酸配列は以下の通りである。

【0088】

c IgG-A [配列番号116]

LGGPSVLIFFPKPKDILRITRTPVETCVVLDLGREDPEVQISWFVDGKEVHTAKTQSREQQFNGT
YRVVSVLPIDHGDWLTGKEFKCRVNHIDLPSPERTISKARGRAHKPSVYVLPSPKELSSSDTV
SITCLIKDFYPPDIDVEWQSNQEQEPERKHRMTPPQLDEDGSYFLYSKLSVDKSRWQQGDPFTCA
VMHETLQNHYTELSSHSPGK

【0089】

c IgG-B [配列番号110]

LGGPSVFIFFPKPKDTLLIARTPEVTCVVVDLPEDPEVQISWFVDGKQMOTAKTQPREEQFNGT
YRVVSVLPIDHGDWLTGKQFTCKVNNKALPSPIERTISKARGQAHQPSVYVLPSPREELSKNTVS
LTCLIKDFFPDIDVEWQSNQEQEPESKYRTTPPQLDEDGSYFLYSKLSVDKSRWQRGDTFICAV
MHEALHNHYTQESLSHSPGK

【0090】

c IgG-C [配列番号117]

LGGPSVFIFFPKPKDILVTARTPTVTCVVVDLPENPEVQISWFVDSKQVQTANTQPREEQSNGT
YRVVSVLPIDHGDWLTGKQFKCKVNNKALPSPIEEIISKTPGQAHQPNVYVLPSPRDEMKNVT
LTCLVKDFFPPEIDVEWQSNQEQEPESKYRMTTPPQLDEDGSYFLYSKLSVDKSRWQRGDTFICAV
MHEALHNHYTQISLSHSPGK

【0091】

c IgG-D [配列番号118]

LGGPSVFIFPPKPKDILRITRTPEITCVVLDLGGREDPEVQISWFDGKEVHTAKTQPREQQFNST
YRVVSVLPPIEHQDWLTGKEFKCRVNHIGLPSPIERTISKARGQAHQPSVYVLPSPKELSSSDTV
TLTCLIKDFFPPEIDVEWQSNGQPEPEPEPEKYHTTAPQLDEDEGSYFLYSKLSVDKSRWQQGDTFTCA
VMHEALQNHYTDLSLSHSPGK

【0092】

カップイン軽鎖定常領域のアミノ酸配列は、【配列番号127】である。

【0093】

RNDAQPAVYLFQPSPDQLHTGSASVVCLLNSFYPKDINVKWKVDGVIQDTGIQESVTEQDKDSTY
SLSSTLTMSSTEYLSHELYSCEITHKSLPSTLIKSFQRSECQRVD

【0094】

本発明では、4つのイヌIgG Fc断片のそれぞれのアミノ酸配列は、Tang et al（前出）によって決定されたCH1及びCH2ドメインの同定された境界に基づく。イヌIL-31RAに結合するイヌ化マウス抗イヌ抗体としては、限定されないが、イヌIgG-A、IgG-B、IgG-C及びIgG-D重鎖及び／又はイヌカップ軽鎖若しくはラムダ軽鎖をマウス抗イヌIL-31RA CDRと共に含む本発明の抗体が挙げられる。したがって、本発明は、イヌIL-31RAに結合し、好ましくはまた、イヌIL-31に対するそのイヌIL-31RAの結合を遮断する、単離されたイヌ化マウス抗イヌ抗体を含む、本発明のイヌ化マウス抗イヌ抗体を提供する。

【0095】

したがって、本発明は更に、イヌ化マウス抗体、及び、症状の処置、例えば、イヌにおけるアトピー性皮膚炎の処置における本発明の抗体の使用方法を提供する。

【0096】

本発明は更に、対応する軽鎖と適合させて、イヌ化抗体を作製することができる全長のイヌ化重鎖を提供する。したがって、本発明は更に、（単離されたイヌ化マウス抗イヌ抗体を含む）本発明のイヌ化マウス抗イヌ抗原抗体及び症状の処置、例えば、イヌにおけるアトピー性皮膚炎の処置における本発明の抗体の使用方法を提供する。

【0097】

本発明はまた、1又は複数のエフェクター機能を増大させるために、低下させるために、又は排除するためにcFc領域が遺伝子修飾されているイヌフラグメント結晶化可能領域（cFc領域）を含む本発明の抗体を提供する。本発明の一態様では、遺伝子修飾cFc領域は、1又は複数のエフェクター機能を減少させるか又は排除する。本発明の別の態様では、遺伝子修飾cFc領域は、1又は複数のエフェクター機能を増強する。ある種の実施形態では、遺伝子修飾cFc領域は、遺伝子修飾イヌIgGB Fc領域である。別のこのような実施形態では、遺伝子修飾cFc領域は、遺伝子修飾イヌIgGC Fc領域である。特定の実施形態では、エフェクター機能は、増強、減少、又は排除される抗体依存性細胞傷害（ADCC）である。別の実施形態では、エフェクター機能は、増強、減少又は排除される補体依存性細胞傷害（CDC）である。更に別の実施形態では、cFc領域は、ADCC及びCDCの両方を増強、減少又は排除するように遺伝子修飾されている。

【0098】

エフェクター機能を欠くイヌIgGのバリエーションを作製するために、多数の変異体イヌIgGB重鎖を作製した。これらのバリエーションは、重鎖アミノ酸配列のFc部分に以下の単一又は組合せの置換：P4A、D31A、N63A、G64P、T65A、A93G、及びP95Aの1又は複数を含み得る。バリエーション重鎖（すなわち、そのようなアミノ酸置換を含む）を発現プラスミドにクローニングし、軽鎖をコードする遺伝子を含むプラス

ミドと共に H E K 2 9 3 細胞にトランスフェクトする。インタクトな抗体を H E K 2 9 3 細胞から発現及び精製し、次いで、F c _γ R I 及び C 1 q への結合について評価して、免疫エフェクター機能の媒介に対するそれらの可能性を評価することができる。[その内容全体が参照により本明細書に組み込まれる米国特許第 1 0 , 1 0 6 , 6 0 7 号明細書を参照されたい]

本発明はまた、その天然の I g G - D ヒンジ領域の代わりに、以下からのヒンジ領域を含む修飾イヌ I g G - D を提供する。

【 0 0 9 9 】

I g G - A : F N E C R C T D T P P C P V P E P 配列番号 1 1 2

I g G - B : P K R E N G R V P R P P D C P K C P A P E M 配列番号 1 1 3 ; 又は

I g G - C : A K E C E C K C N C N N C P C P G C G L 配列番号 1 1 4

10

【 0 1 0 0 】

あるいは、I g G - D ヒンジ領域は、セリン残基をプロリン残基、すなわち配列番号 1 1 5 の P K E S T C K C I P C P V P E S で置換することによって遺伝子修飾することができる(下線及び太字のプロリン残基(P)を天然に存在するセリン残基で置換する)。そのような修飾は、f a b アーム交換を欠くイヌ I g G - D をもたらし得る。修飾イヌ I g G - D は、組換え DNA 技術[例えば、M a n i a t i s e t a l . , M o l e c u l a r C l o n i n g , A L a b o r a t o r y M a n u a l (1 9 8 2)] の標準的な方法を用いて構築することができる。これらのバリエーションを構築するために、イヌ I g G - D のアミノ酸配列をコードする核酸を、修飾された I g G - D をコードするように修飾することができる。次いで、修飾された核酸配列は、タンパク質発現のために発現プラスミドにクローニングされる。

20

【 0 1 0 1 】

本明細書に記載のイヌ化マウス抗イヌ抗体の 6 つの相補性決定領域(C D R)は、マウス軽鎖 L C D R 1、L C D R 2 及び L C D R 3 を含むイヌ抗体カップ(k)又はラムダ(l)軽鎖と、マウス重鎖 H C D R 1、H C D R 2 及び H C D R 3 を含むイヌ抗体重鎖 I g G とを含むことができる。

【 0 1 0 2 】

核酸

本発明は、本発明の抗体をコードする核酸(例えば、以下の実施例を参照されたい)を更に含む。

30

【 0 1 0 3 】

B L A S T アルゴリズムによって比較が行われる場合、本明細書において提供される、変化しない C D R を除いて、イヌ化抗体のアミノ酸配列と少なくとも約 7 0 % 同一、好ましくは少なくとも約 8 0 % 同一、より好ましくは少なくとも約 9 0 % 同一、最も好ましくは少なくとも約 9 5 % 同一(例えば、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %、9 9 %、1 0 0 %)であるアミノ酸配列を含む免疫グロブリンポリペプチドをコードする核酸も本発明に含まれ、アルゴリズムのパラメータは、それぞれの参照配列の全長にわたってそれぞれの配列間の最大一致を与えるように選択される。本発明は更に、B L A S T アルゴリズムを用いて比較を行う場合、参照アミノ酸配列のいずれかと少なくとも約 7 0 % 類似する、好ましくは少なくとも約 8 0 % 類似する、より好ましくは少なくとも約 9 0 % 類似する、最も好ましくは少なくとも約 9 5 % 類似する(例えば、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %、9 9 %、1 0 0 %)アミノ酸配列を含む免疫グロブリンポリペプチドをコードする核酸を提供し、アルゴリズムのパラメータは、それぞれの参照配列の全長にわたってそれぞれの配列間で最大のマッチを与えるように選択され、これも本発明に含まれる。

40

【 0 1 0 4 】

本明細書で使用される場合、ヌクレオチド及びアミノ酸の配列同一性パーセントは、アラメントデフォルトパラメータ及び同一性のデフォルトパラメータを用いて、C , M a c V e c t o r (M a c V e c t o r , I n c . C a r y , N C 2 7 5 1 9)、V e c t o r N T I (I n f o r m a x , I n c . M D)、O x f o r d M o l e c u l a

50

r Group PLC (1996) 及び Clustal W アルゴリズムを使用して決定することができる。これらの市販のプログラムを使用して、同じ又は類似のデフォルトパラメータを使用して配列類似性を決定することもできる。あるいは、例えば、デフォルトパラメータを使用する GCG (Genetics Computer Group, Program Manual for the GCG Package, Version 7, Madison, Wisconsin) パイルアッププログラムを使用して、デフォルトフィルタ条件下での Advanced Blast 検索を使用することができる。
【0105】

以下の参考文献は、配列分析にしばしば使用される BLAST アルゴリズムに関する：
BLAST ALGORITHMS: Altschul, S. F., et al., J. Mol. Biol. 215:403-410 (1990); Gish, W., et al., Nature Genet. 3:266-272 (1993); Madden, T. L., et al., Meth. Enzymol. 266:131-141 (1996); Altschul, S. F., et al., Nucleic Acids Res. 25:3389-3402 (1997); Zhang, J., et al., Genome Res. 7:649-656 (1997); Wootton, J. C., et al., Comput. Chem. 17:149-163 (1993); Hancock, J. M. et al., Comput. Appl. Biosci. 10:67-70 (1994); ALIGNMENT SCORING SYSTEMS: Dayhoff, M. O., et al., "A model of evolutionary change in proteins." in Atlas of Protein Sequence and Structure, vol. 5, suppl. 3. M. O. Dayhoff (ed.), pp. 345-352, (1978); Natl. Biomed. Res. Found., Washington, DC; Schwartz, R. M., et al., "Matrices for detecting distant relationships." in Atlas of Protein Sequence and Structure, vol. 5, suppl. 3. (1978), M. O. Dayhoff (ed.), pp. 353-358 (1978), Natl. Biomed. Res. Found., Washington, DC; Altschul, S. F., J. Mol. Biol. 219:555-565 (1991); States, D. J., et al., Methods 3:66-70 (1991); Henikoff, S., et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89:10915-10919 (1992); Altschul, S. F., et al., J. Mol. Evol. 36:290-300 (1993); ALIGNMENT STATISTICS: Karlin, S., et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 87:2264-2268 (1990); Karlin, S., et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90:5873-5877 (1993); Domb, A., et al., Ann. Prob. 22:2022-2039 (1994); 及び Altschul, S. F. "Evaluating the statistical significance of multiple distinct local alignments." in Theoretical and Computational Methods in Genome Research (S. Suha i, ed.), pp. 1-14, Plenum, New York (1997)。
【0106】

抗体タンパク質操作

限定ではなく例として、イヌ重鎖定常領域は、IgGA、IgG-B、IgGC、IgGD、又は修飾 cFc、例えば本明細書で使用される IgG-Bm に由来し得 [参照によりその全体が本明細書に組み込まれる米国特許第 10, 106, 607 号明細書を参照されたい]、イヌ軽鎖定常領域はカップ又はラムダに由来し得る。

【0107】

10

20

30

40

50

抗体は、例えば抗体の特性を改善するために、親（すなわち、マウス）モノクローナル抗体の可変ドメイン内のイヌフレームワーク及び／又はイヌフレーム残基に対する修飾を含むように操作することができる。

【0108】

イヌ化抗イヌIL-31受容体アルファモノクローナル抗体の構築は、イヌIgGの重鎖及び軽鎖をコードするDNA配列を決定することによって行うことができる。イヌ重鎖及び軽鎖のDNA及びタンパク質配列は当技術分野で公知であり、NCBI遺伝子及びタンパク質データベースを検索することによって得ることができる。上記のように、イヌ抗体については、4つの既知のIgGサブタイプ：IgG-A、IgG-B、IgG-C及びIgG-D、並びに2つのタイプの軽鎖、すなわちカップ及びラムダが存在する。

10

【0109】

イヌ化マウス抗イヌIL-31RA抗体は、当該分野で公知の方法によって組換え生産することができる。本明細書に開示される抗体又は断片の発現のための宿主として利用可能な哺乳動物細胞株は当技術分野で周知であり、American Type Culture Collection (ATCC) から入手可能な多くの不死化細胞株を含む。これらには、とりわけ、チャイニーズハムスター卵巣 (CHO) 細胞、NSO、SP2細胞、HeLa細胞、ベビーハムスター腎臓 (BHK) 細胞、サル腎臓細胞 (COS)、ヒト肝細胞癌細胞 (例えば、Hep G2)、A549細胞、3T3細胞、HEK-293細胞及び多数の他の細胞株が含まれる。哺乳動物宿主細胞には、ヒト、マウス、ラット、イヌ、サル、ブタ、ヤギ、ウシ、ウマ及びハムスターの細胞が含まれる。どの細胞株が高い発現レベルを有するかを決定することによって、特に好ましい細胞株を選択する。使用され得る他の細胞株は、Sf9細胞、両生類細胞、細菌細胞、植物細胞及び真菌細胞等の昆虫細胞株である。重鎖又はその抗原結合部分若しくは断片、軽鎖及び／又はその抗原結合断片をコードする組換え発現ベクターを哺乳動物宿主細胞に導入する場合、抗体は、宿主細胞における抗体の発現、又はより好ましくは、宿主細胞が成長している培養培地への抗体の分泌を可能にするのに十分な期間にわたって宿主細胞を培養することによって産生される。

20

【0110】

抗体は、標準的なタンパク質精製方法を使用して培養培地から回収することができる。更に、産生細胞株からの本発明の抗体（又はそれからの他の部分）の発現は、いくつかの公知の技術を用いて増強することができる。例えば、グルタミンシンテターゼ遺伝子発現系 (GS系) は、特定の条件下で発現を増強するための一般的なアプローチである。GSシステムは、欧州特許第0216846号明細書、同第0256055号明細書、及び同第0323997号明細書、並びに欧州特許出願第89303964.4号明細書に関連して全体又は部分的に論じられている。

30

【0111】

ある種の実施形態では、抗体又は抗原結合断片は、重鎖定常領域、例えばイヌ定常領域、例えばIgG-A、IgG-B、IgG-C及びIgG-Dイヌ重鎖定常領域又はそのバリエーションを含む。ある種の実施形態では、抗体又は抗原結合断片は、軽鎖定常領域、例えばイヌ軽鎖定常領域、例えばラムダ若しくはカッパイヌ軽鎖領域又はそのバリエーションを含む。限定ではなく例として、イヌ重鎖定常領域はIgG-B由来であり得、イヌ軽鎖定常領域はカップ由来であり得る。

40

【0112】

エピトープマッピング

抗体とその同族タンパク質抗原との相互作用は、抗体の特異的アミノ酸（パラトープ）と標的抗原の特異的アミノ酸（エピトープ）との結合を介して媒介される。エピトープは、免疫グロブリンによる特異的反応を引き起こす抗原決定基である。エピトープは、抗原の表面上のアミノ酸の群からなる。目的のタンパク質は、異なる抗体によって認識されるいくつかのエピトープを含み得る。抗体によって認識されるエピトープは、線形エピトープ又は立体配座エピトープとして分類される。線形エピトープは、タンパク質中のアミノ

50

酸の連続配列のストレッチによって形成されるが、立体配座エピトープは、一次アミノ酸配列において不連続（例えば、遠く離れている）であるが、三次元タンパク質折り畳み時に一緒にされるアミノ酸からなる。

【0113】

エピトープマッピングは、それらの標的抗原上の抗体によって認識されるアミノ酸配列（すなわち、エピトープ）を同定するプロセスを指す。標的抗原上のモノクローナル抗体（mAb）によって認識されるエピトープの同定は、重要な用途を有する。例えば、それは、新しい治療薬、診断薬、及びワクチンの開発を助けることができる。エピトープマッピングはまた、最適化された治療用mAbの選択を助け、それらの作用機序の解明を助けることができる。IL-31受容体アルファ上のエピトープ情報はまた、固有のエピトープを解明し、ワクチンの保護効果又は病原性効果を定義することができる。エピトープ同定はまた、同定されたペプチドエピトープと担体タンパク質又は他の免疫刺激剤との化学的又は遺伝的カップリングに基づくサブユニットワクチンの開発をもたらし得る。

【0114】

エピトープマッピングは、ポリクローナル抗体又はモノクローナル抗体を使用して行うことができ、エピトープの疑われる性質に応じていくつかの方法がエピトープ同定に使用される（すなわち、線形対立体配座）。線形エピトープのマッピングは、より直接的であり、比較的容易に実行することができる。この目的のために、線形エピトープマッピングのための商業サービスは、多くの場合、ペプチドスクリーンを使用する。この場合、標的タンパク質の短いペプチド配列の重複するセットが化学合成され、目的の抗体に結合するこれらの能力について試験される。この戦略は、迅速であり、高スループットであり、実行するのに比較的安価である。一方、不連続エピトープのマッピングは、より技術的に困難であり、モノクローナル抗体とその標的タンパク質とのX線共結晶学、水素-重水素（H/D）交換、酵素消化と組み合わせた質量分析、並びに当業者に公知の他のいくつかの方法等のより特殊な技術を必要とする。

【0115】

エピトープ結合及び交差ブロッキング抗体

本発明の抗イヌIL-31RA抗体又はその抗原結合断片は、本明細書中に開示される抗体の1つと同じイヌIL-31RA中のエピトープに結合する任意の抗体又はその抗原結合断片、例えば、配列番号104、配列番号105のいずれか、又は配列番号104と配列番号105の両方のアミノ酸配列を含むエピトープに結合する218D9抗体、又は配列番号98、配列番号100のいずれか、又は配列番号98と配列番号100の両方のアミノ酸配列を含むエピトープに結合する51F8抗体等（交差ブロック（部分的又は完全に）される、又はイヌIL-31RA結合について本明細書中に記載される抗体又は断片によって交差ブロック（部分的又は完全に）されるイヌ化抗体及び任意の抗体又はその抗原結合断片を含む）並びに任意のそのバリエーションを含む。

【0116】

交差ブロッキング抗体及び抗原結合断片は、標準的な結合アッセイ（例えば、以下に例示されるようなBIACore（登録商標）、ELISA、又はフローサイトメトリ）において、例えば100H8又は74H10抗体と交差競合するそれらの能力に基づいて同定することができる。例えば、組換えイヌIL-31RAタンパク質をプレートに固定化し、抗体の1つを蛍光標識し、非標識抗体が標識抗体の結合と競合する能力を評価する標準的なELISAアッセイを使用することができる。追加的又は代替的に、BIACore（登録商標）分析を使用して、抗体が交差競合する能力を評価することができる。例えば、100H8抗体又は74H10抗体のイヌIL-31RAへの結合を阻害する試験抗体の能力は、試験抗体が、イヌIL-31RAへの結合について100H8抗体又は74H10抗体と競合することができ、したがって、場合によっては、100H8抗体及び／又は74H10抗体が結合するのと同じイヌIL-31RA上のエピトープに結合し得ることを実証する。

【0117】

本発明の抗イヌIL-31RA抗体又は断片のいずれかと同じエピトープに結合する抗体及びその断片も、本発明の一部を形成する。

【0118】

医薬組成物及び投与

本発明の抗体を含む医薬組成物又は無菌組成物を調製するために、これらの抗体を薬学的に許容され得る担体又は賦形剤と混合することができる。[例えば、Remington's Pharmaceutical Sciences and U. S. Pharmacopeia: National Formulary, Mack Publishing Company, Easton, PA (1984)を参照されたい]。

【0119】

治療剤及び診断剤の製剤は、例えば、凍結乾燥粉末、スラリー、水溶液又は懸濁液の形態の許容される担体、賦形剤又は安定剤と混合することによって調製され得る[例えば、Hardman, et al. (2001) Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics, McGraw-Hill, New York, NY; Gennaro (2000) Remington: The Science and Practice of Pharmacy, Lippincott, Williams, and Wilkins, New York, NY; Avis, et al. (eds.) (1993) Pharmaceutical Dosage Forms: Parenteral Medications, Marcel Dekker, NY; Lieberman, et al. (eds.) (1990) Pharmaceutical Dosage Forms: Tablets, Marcel Dekker, NY; Lieberman, et al. (eds.) (1990) Pharmaceutical Dosage Forms: Disperse Systems, Marcel Dekker, NY; Weiner and Kotkoskie (2000) Excipient Toxicity and Safety, Marcel Dekker, Inc., New York, NYを参照されたい]。1つの実施形態では、本発明の抗体は、酢酸ナトリウム溶液(pH5~6)において適切な濃度に希釈され、NaCl又はスクロースが張性のために加えられる。安定性を高めるために、ポリソルベート20又はポリソルベート80等の更なる薬剤を添加してもよい。

【0120】

単独で又は別の薬剤と組み合わせて投与される抗体組成物の毒性及び治療有効性は、例えば、LD₅₀(集団の50%に対して致死的な用量)及びED₅₀(集団の50%において治療有効な用量)を決定するための、細胞培養又は実験動物における標準的な薬学的手順によって決定することができる。毒性効果と治療効果との間の用量比は、治療指数(LD₅₀/ED₅₀)である。特定の態様では、高い治療指数を示す抗体が望ましい。これらの細胞培養アッセイ及び動物研究から得られたデータは、イヌにおける使用のための投薬量の範囲を定式化する際に使用することができる。そのような化合物の投与量は、好ましくは、毒性がほとんど又は全くないED₅₀を含む循環濃度の範囲内にある。投与量は、使用される剤形及び投与経路に応じて、この範囲内で変動し得る。

【0121】

投与様式は様々であり得る。適切な投与経路としては、経口、直腸、経粘膜、腸、非経口、筋肉内、皮下、皮内、髄内、髄腔内、直接脳室内、静脈内、腹腔内、鼻腔内、眼内、吸入、吹送、局所、皮膚、経皮、又は動脈内が挙げられる。特定の実施形態では、本発明の抗体は、注射等の侵襲的経路によって投与することができる。本発明の更なる実施形態では、本発明の抗体又はその医薬組成物は、静脈内、皮下、筋肉内、動脈内に、又は吸入、エアロゾル送達によって投与される。非侵襲的経路(例えば、経口;例えば、丸剤、カプセル剤又は錠剤)による投与も本発明の範囲内である。

【0122】

組成物は、当技術分野で公知の医療機器を用いて投与することができる。例えば、本発

明の医薬組成物は、例えばプレフィルドシリンジ又は自動注射器を含む皮下注射針での注射によって投与することができる。本明細書に開示される医薬組成物はまた、米国特許第 6,620,135 号明細書；同第 6,096,002 号明細書；同第 5,399,163 号明細書；同第 5,383,851 号明細書；同第 5,312,335 号明細書；同第 5,064,413 号明細書；同第 4,941,880 号明細書；同第 4,790,824 号明細書又は同第 4,596,556 号明細書に開示されている装置等の無針皮下注射装置を用いて投与されてもよい。

【0123】

本明細書に開示される医薬組成物はまた、注入によって投与され得る。医薬組成物を投与する周知のインプラント及びモジュールの例としては、制御された速度で医薬品を分配するための植込み型微量注入ポンプを開示している米国特許第 4,487,603 号明細書、正確な注入速度で医薬品を送達するための医薬品注入ポンプを開示している米国特許第 4,447,233 号明細書、連続薬物送達のための可変流量植込み型注入装置を開示している米国特許第 4,447,224 号明細書、マルチチャンバ区画を有する浸透圧薬物送達システムを開示している米国特許第 4,439,196 号明細書が挙げられる。他の多くのそのようなインプラント、送達システム、及びモジュールは、当業者に周知である。

【0124】

あるいは、本発明の抗体を全身的様式ではなく局所的様式で、しばしばデポー製剤又は持続放出製剤で投与することができる。

【0125】

投与レジメンは、治療用抗体の血清又は組織の代謝回転速度、症状のレベル、治療用抗体の免疫原性及び生物学的マトリックス中の標的細胞の接近可能性を含むいくつかの因子に依存する。好ましくは、投与レジメンは、標的疾患／症状の改善をもたらすのに十分な治療抗体を送達し、同時に望ましくない副作用を最小限に抑える。したがって、送達される生物学的製剤の量は、部分的には、特定の治療用抗体及び処置される症状の重症度に依存する。適切な用量の治療用抗体を選択する際の指針が利用可能である〔例えば、Wawrzynczak Antibody Therapy, Bios Scientific Pub. Ltd, Oxfordshire, UK (1996)；Kresina (ed.) Monoclonal Antibodies, Cytokines and Arthritis, Marcel Dekker, New York, NY (1991)；Bach (ed.) Monoclonal Antibodies and Peptide Therapy in Autoimmune Diseases, Marcel Dekker, New York, NY (1993)；Baert, et al. New Engl. J. Med. 348:601-608 (2003)；Milgrom et al. New Engl. J. Med. 341:1966-1973 (1999)；Slamon et al. New Engl. J. Med. 344:783-792 (2001)；Beniaminovitz et al. New Engl. J. Med. 342:613-619 (2000)；Ghosh et al. New Engl. J. Med. 348:24-32 (2003)；Lipsky et al. New Engl. J. Med. 343:1594-1602 (2000)を参照されたい〕。

【0126】

適切な用量の決定は、例えば、処置に影響を及ぼすことが当技術分野で知られている又は疑われるパラメータ又は因子を使用して、獣医によって行われる。一般に、用量は、最適用量よりも幾分少ない量で始まり、その後、任意の負の副作用に対して所望の又は最適な効果が達成されるまで、わずかな増分で増加する。重要な診断手段には、症状のものが含まれる。

【0127】

本明細書で提供される抗体は、連続注入によって、又は例えば、毎日、週に 1～7 回、毎週、隔週、毎月、隔月、四半期ごと、半年ごと、毎年等に投与される用量によって提供

され得る。用量は、例えば、静脈内、皮下、局所、経口、経鼻、直腸、筋肉内、脳内、脊髄内、又は吸入によって提供され得る。総毎週用量は、一般に少なくとも $0.05 \mu\text{g}/\text{kg}$ 体重、より一般的には少なくとも $0.2 \mu\text{g}/\text{kg}$ 、 $0.5 \mu\text{g}/\text{kg}$ 、 $1 \mu\text{g}/\text{kg}$ 、 $10 \mu\text{g}/\text{kg}$ 、 $100 \mu\text{g}/\text{kg}$ 、 $0.25 \text{mg}/\text{kg}$ 、 $1.0 \text{mg}/\text{kg}$ 、 $2.0 \text{mg}/\text{kg}$ 、 $5.0 \text{mg}/\text{ml}$ 、 $10 \text{mg}/\text{kg}$ 、 $25 \text{mg}/\text{kg}$ 、 $50 \text{mg}/\text{kg}$ 又はそれ以上である [例えば、Yang, et al. New Engl. J. Med. 349: 427-434 (2003); Herold, et al. New Engl. J. Med. 346: 1692-1698 (2002); Liu, et al. J. Neurol. Neurosurg. Psych. 67: 451-456 (1999); Portielji, et al. Cancer Immunol. Immunother. 52: 133-144 (2003) を参照されたい]。イヌの血清中の本発明の抗体の所定の標的濃度、例えば 0.1 、 0.3 、 1 、 3 、 10 、 30 、 100 、 $300 \mu\text{g}/\text{ml}$ 以上を達成するための用量も提供され得る。他の実施形態では、本発明の抗体を、 10 、 20 、 50 、 80 、 100 、 200 、 500 、 1000 又は $2500 \text{mg}/\text{対象}$ で、毎週、隔週、「4 週間ごとに」、毎月、隔月又は四半期ごとに皮下又は静脈内投与する。

10

20

30

40

50

【0128】

本明細書で使用される場合、「阻害する」又は「処置する」又は「処置」は、障害に関連する症状の発症の延期及び／又はそのような障害の症状の重症度の低下を含む。この用語は更に、既存の制御されない又は望ましくない症状を改善すること、更なる症状を予防すること、及びそのような症状の根本的な原因を改善又は予防することを含む。したがって、この用語は、障害、状態及び／若しくは症状を有するか、又はそのような障害、疾患若しくは症状を発症する可能性を有する脊椎動物対象（例えば、イヌ）に有益な結果が与えられたことを意味する。

【0129】

本明細書で使用される場合、「治療有効量」、「治療有効用量」及び「有効量」という用語は、単独で、又は追加の治療剤と組み合わせて細胞、組織又は対象、例えばイヌに投与した場合に、疾患若しくは状態の 1 又は複数の症状又はそのような疾患若しくは状態の進行の測定可能な改善を引き起こすのに有効な本発明の抗体の量を指す。治療有効用量は更に、症状の少なくとも部分的な改善、例えば関連する医学的症状の治療、治癒、予防若しくは改善、又はそのような症状の治療、治癒、予防若しくは改善の速度の増加をもたらすのに十分な抗体の量を指す。組合せに適用される場合、治療有効用量は、組み合わせて投与されるか、連続的に投与されるか、又は同時に投与されるかにかかわらず、治療効果をもたらす有効成分の組合せ量を指す。有効量の治療薬は、通常、少なくとも 20% ；好ましくは少なくとも約 30% ；より好ましくは少なくとも 40% 、最も好ましくは少なくとも 50% である、診断尺度又はパラメータの少なくとも 10% の改善をもたらすであろう。有効量はまた、症状の重症度を評価するために主観的尺度が使用される場合に主観的尺度の改善をもたらすことができる。

【0130】

【実施例】

【実施例 1】

IL-31 受容体アルファ

ヌクレオチド配列

配列番号 1 のヌクレオチド配列は、HIS タグに融合したイヌ IL-31 受容体アルファ (cIL-31RA) の細胞外ドメインをコードする。イヌ IL-31RA ECD HIS タグ付きタンパク質は、配列番号 2 のアミノ酸配列を含む。ヌクレオチド配列を化学合成によって調製し、次いで、HEK-293 細胞又は CHO 細胞のいずれかの真核細胞における対応するタンパク質の産生に適した発現プラスミドにクローニングした。

【0131】

イヌ IL-31RA ECD-10His: [配列番号 1]

gtgctgccccgccaagccccgagaacatcagctgcatcttctactacgaggagaacttcacctgcacctggag
ccccgagaaggaggccagctacacctggtacaaggtgaagagaacctacagctacggctacaagagcgaca
tctgcagcaccgacaacagcaccagaggcaaccacgccagctgcagcttcctgccccccaccatcaccaac
ccccgacaactacaccatccaggtggaggcccgagaacgccgacggcatcatgaagagcgacatcacctactg
gaacctggacgccatcatgaagatcgagcccccgagatcttcagcgtgaagagcgtgctgggcatcaaga
gaatgctgcagatcaagtggatcagaccctgctggccccccacagcagcaccctgaagtacaccctgaga
ttcagaaccatcaacagcgctactggatggaggtgaacttcaccaaggaggacatcgacagagacgagac
ctacaacctgaccgagctgcaggccttcaccgagtacgtgatgacctgagatgcgcccccgccgagagca
tgttctggagcggctggagccaggagaaggtgggcaccaccgaggaggaggccccctacggcctggacctg
tggagagtgtgaagcccgccatggtggacggcagaagaccctgacagctgatgtggaagaaggccaccgg
cgcccccgctgctggagaaggccctgggctacaacatctggtacttccccgagaacaacaccaacctgaccg
agaccgtgaacaccaccaaccagacccacgagctgtacctgggcggcaagacctactgggtgtacgtggtg
agctacaacagcctgggcgagagccccgtggccaccctgagaatccccgcctgaacgagaagaccttcca
gtgcatcgaggccatgcaggcctgcctgacctcaggaccagctggtggtggagtggcagagcagcgcccccg
aggtggacacctggatggtggagtgggttccccgacgtggacagcgagcccagcagcttcagctgggagagc
gtgagccaggccagaaactggacctccagaaggacgagctgaagccctgtggtgctacaacatcagcgt
gtaccccgctgctgagagacagagtgggcccagccctacagcaccacaggcctacgtgcaggaggggcatcccc
gcgcccggccccgtgacctaggccgacagcatcggcgtgaagaccgtgacctcacctggaaggagatcccc
aagagcaagagaaaacggcttcatcaagaactacaccatcttctaccaggccgaggacggcaaggagttcag
caagaccgtgaacagcaacatcctgcagtacagactggagagcctgaccagaagaaccagctacagcctgc
aggtgatggccagcaccaacgccggcgccaccaacggcaccaagatcaacttcaagaccctgagcatcagc
caccaccaccaccaccaccaccaccaccac

10

20

30

40

50

【 0 1 3 2 】

【 実施例 2 】

I L - 3 1 受容体アルファ E C D の発現及び精製

配列番号 1 のヌクレオチド配列を含むプラスミドを、製造者の推奨に従って M a x C y t e 機器を介したエレクトロポレーションを使用して H E K - 2 9 3 細胞又は C H O 細胞にトランスフェクトした。トランスフェクションの数日後、トランスフェクト細胞及び非トランスフェクト対照の上清を回収し、スピンドウンして細胞片を除去した。H I S タグを有する I L - 3 1 R A を、製造者の推奨に従って、トランスフェクトされた細胞から清澄化され収集された流体をニッケルカラムに通すことによって細胞培養液から精製した。精製したタンパク質を、280nmの紫外光の吸光度を測定することによって定量した。

【 0 1 3 3 】

イヌ I L - 3 1 R A E C D - 1 0 H i s : [配列番号 2]

VLPAPKPNISCI FYEENFTCTWSPEKEASYTWYKVKRTYSYGYKSDICSTDNSTRGNHASCSFL
PPTITNPDNYTIQVEAQNADGIMKSDITYWNLDAIMKIEPPEIFSVKSVLGIKRMLQIKWIRPVL
APHSSTLKYTLRFRTINSAYWMEVNFTEKDIDRDETYNLTTELQAFTEYVMTLRCAPAESMFWSGW
SQEKVGTTEEEAPYGLDLWRVLKPAMVDGRRPVQLMWKKATGAPVLEKALGYNIWYFPENNTNLT
ETVNTTNQTHELYLGKTYWVYVVSYNLGSFPVATLRIPALNEKTFQCIAMQACLTQDQLVVE
WQSSAPEVDTWMVEWFPDVDSEPSSFWSVESVSQARNWTIQKDELKPLWCYNISVYPVLRDRVGP
YSTQAYVQEGIPSAGPVTQADSIGVKTVTITWKEIPKSKRNGFIKNYTIIFYQAEDGKEFSKTVNS
NILQYRLESLTRRTSYSLQVMAS TNAGGTNGTKINFKTL SISHHHHHHHHHH

10

【 0 1 3 4 】
【 表 2 】

表 1

イヌ IL-31RA 細胞外ドメイン-HIS タグ

	配列番号	核酸	アミノ酸
イヌ IL-31RA ECD-10His	1	X	
イヌ IL-31RA ECD-10His	2		X

20

【 0 1 3 5 】
【 実施例 3 】

ビオチン化イヌ IL-31 に対するイヌ IL-31RA の結合：
プロトコル

- 1) (1 又は複数の) 免疫プレートをリン酸緩衝生理食塩水 (PBS) 中 1 μg/mL に希釈することによって IL-31RA タンパク質でコーティングする。100 μL/ウェルを添加する。(1 又は複数の) プレートを 2 ~ 7 ° で一晩インキュベートする。
- 2) プレートを 275 μL/ウェルのリン酸緩衝生理食塩水 + TWEEN (登録商標) 20 (PBST) で 3 回洗浄する。
- 3) 穏やかに振盪しながら (120 ± 20 RPM)、36 ± 2 °C で 30 ~ 45 分間、200 μL/ウェルのブロッキング緩衝液 [PBST 中 1 % 脱脂粉乳 (NFDM)] でプレートをブロッキングする。
- 4) プレートを 275 μL/ウェルの PBST で 3 回洗浄する。
- 5) ビオチン化 IL-31 (10 μg/mL) を PBST 中 1 % NFDM で希釈プレート上で 3 倍希釈し、100 μL/ウェルを (1 又は複数の) 免疫プレートに移す。穏やかに振盪しながら (120 ± 20 RPM)、36 ± 2 °C で 30 ~ 45 分間インキュベートする。
- 6) プレートを 275 μL/ウェルの PBST で 3 回洗浄する。
- 7) 西洋ワサビペルオキシダーゼ-ストレプトアビジン (HRP-ストレプトアビジン) を PBST 中 1 % NFDM 中で 1 : 1000 の最終希釈度に希釈する。
- 8) 100 μL/ウェルの HRP-ストレプトアビジンを (1 又は複数の) 免疫プレートに添加し、穏やかに振盪しながら (120 ± 20 RPM) 36 ± 2 °C で 30 ~ 45 分間インキュベートする。
- 9) プレートを 275 μL/ウェルの PBST で 3 回洗浄する。
- 10) 使用直前に等量の予熱された TMP 2 成分基質を合わせる。
- 11) 100 μL/ウェルの調製した 3, 3', 5, 5'-テトラメチルベンジジン (TMP) 基質を (1 又は複数の) 免疫プレートに添加し、穏やかに振盪しながら (120 ±

30

40

50

20 RPM)、 $36 \pm 2^\circ\text{C}$ で10～15分間暗所でインキュベートする。

12) $100 \mu\text{L}$ / ウェルの1Mの H_3PO_4 を添加することによって反応を停止させる。

13) 540 nm の参照波長を用いて 450 nm の波長でマイクロプレートリーダーを用いてプレートを読み取る。

【0136】

イヌIL-31RAの細胞外ドメイン(ECD)を、イヌIL-31に結合するその能力について試験した(図1を参照されたい)。結果は、IL-31RA ECDがビオチン化イヌIL-31に用量依存的に結合し、EC50が 0.55 ng/mL であることを示している。

【0137】

【実施例4】

イヌIL-31受容体アルファに対するモノクローナル抗体

イヌIL-31RAに対するモノクローナル抗体(mAb)は、マウスをイヌIL-31RA ECDで複数回免疫することによって産生させた。マウスを、最初の免疫化のためにマウスあたり $50 \mu\text{g}$ 及びその後のブーストのためにマウスあたり $25 \mu\text{g}$ を使用して、0日目、14日目及び28日目に3回、GS独自のアジュバント中IL-31RA ECDで腹腔内経路を介して免疫化した。48日目に、マウスを $25 \mu\text{g}$ の抗原でもう一度免疫化し、4日後にそれらの脾臓細胞を骨髓腫SP2/0細胞株と融合させて、ハイブリドーマ分泌抗体を産生させた。免疫後の様々な時点で、血清をマウスから回収し、ELISAによってイヌIL-31RAに対して試験した。最も高いIL-31RA ECD反応性を有するマウス由来の脾臓細胞を骨髓腫SP2/0細胞株と融合させて、ハイブリドーマを作製した。融合のおよそ14日後、成長中のハイブリドーマからの上清を、IL-31RAタンパク質を発現する細胞を使用するフローサイトメトリによってスクリーニングした。ハイブリドーマの反応性を以下のようにELISAによって確認した：

【0138】

ELISAの手順：

1) 96ウェルプレートをIL-31RA(PBS緩衝液中 $1 \mu\text{g/mL}$)、 $25 \mu\text{L}$ / ウェルでコーティングする。

2) プレートを 4°C で一晩インキュベートする。

3) プレートをPBST(PBS+0.05%Tween20)で3回洗浄する

4) プレートをブロッキング緩衝液[5%ウシ胎児血清(FBS)含有PBS]、 $25 \mu\text{L}$ / ウェルで室温にて30分間ブロッキングする。

5) $25 \mu\text{L}$ / ウェルのハイブリドーマ上清を96ウェルプレートに移し、室温で60分間インキュベートする。

6) プレートをPBSTで3回洗浄する。

7) $25 \mu\text{L}$ / ウェルの抗マウスHRP、ブロッキング緩衝液中1:4000希釈液をプレートに添加し、室温で60分間インキュベートする。

8) プレートをPBSTで5回洗浄する。

9) TMB系試薬を2～3分間の比色反応のためにプレートに添加する。

10) 0.16Mの硫酸で反応を停止させる。

11) プレートをプレートリーダーで読み取る。

【0139】

図2A～2Bに示されるように、選択されたマウスmAbを、イヌIL-31RAに対するそれらの反応性について試験した。結果は、選択されたマウスmAbがイヌIL-31RAに用量依存的に結合することを示す。図2A～図2Bに示されるように、イヌIL-31RAに対する強い結合反応性を有する10(10)個のマウスモノクローナル抗体が得られた。

【0140】

これらの10個のマウスモノクローナル抗体の重鎖可変領域及び軽鎖可変領域のアミノ

10

20

30

40

50

酸配列を以下に示す。

【0141】

100H8VH [配列番号52]

EVQLQQSGPELVKPGASVKIPCKASGYTFTDYNMDWVKQSHGKSLEWIGHINPNNGGILYNQKFK
GKATLTVDRSSNTAYMELRSLTSEDVAVYFCARWAPLVRQPYWYFDVWGTGTTVTVSS

100H8VL [配列番号53]

DIKMTQSPSSIFASLGERVTITCKASQDINSYLNWFQQKPGKSPKTLIYRADRLVDGVPSRFSGS
GSGQDYSLTISSLEYEDMGIYYCLQYDEFPLTFGAGTKLELN

10

222E7VH [配列番号54]

EVQLQQSGPELVKPGSSVKIPCKASGYTFTDYNMDWVKQSHGKSLEWIGHINPNIGGTLYNQKFK
GKATLSVDKSSSTAYMELRSLTSEDVAVYYCARWAQLRQPYWYFDVWGPGTTVTVSS

222E7VL [配列番号55]

DIKMTQSPSSMYASLGERVTITCKASQDINSYLNWFQQKPGKSPKTLIYRVNRLVDGVPSRFSGS
GSGQDYSLTISSLEYEDMGIYYCLQYDEFPLTFGAGTKLELK

20

55B3VH [配列番号56]

EVQLQQSGPELVKPGASVKIPCKASGYTFTDYNMDWVKQSHGKSLEWIGHINPNTGGTIYNQKFK
GKATLTVDKSSSTAYMDLRSLTSEDVAVYYCARWAQLLRQPYWYFDVWGTGTTVTVSS

55B3VL [配列番号57]

DIKMTQSPSSMYASLGERVTITCKASQDINSYFNWVQQKPGKSPKTLIFRANRLVDGVPSRFSGS
GSGQDYSLTINSLEYEDMGIYYCLQYDEFPLTFGAGTKLELK

30

74H10VH [配列番号58]

EVQLQQSGPELVKPGASMKIPCKTSGYTFTDYNMDWVKQSHGKSLEWIGHINPNNGGTLYNQKFK
DKATLTVDRSSNTAYMELRSLTSEDVAVYYCARWAPLLRQPYWYFDVWGTGTTVTVSS

74H10VL [配列番号59]

DIKMTQSPSSMYASLGERVTITCKASQDINSYLNWFQQKPGKSPKTLIYRADRLVDGVPSRFSGS
GSGQDYSLTISSLEYEDMGIYYCLQYDEFPLTFGDGKLELN

40

209G5VH [配列番号60]

EVQLQQSVAELVRPGASVKLSCTASGFNIKNTYMHVVKERPEQGLEWIGRIDPANGNSKYAPKFQ
GKATITTDTSNTAYLQLSSLTSEDTAIYYCARYYYVSSHFDVWGTGTTVTVSS

209G5VL [配列番号61]

50

SIVMTQTPKFLLVSAGDRVITITCKASQSVTNDVTWYQQKPGQSPKLLIYYASNRYT
GVPDRFTGSGYGTDFTFTISTVQAEDLAVYFCQQDYSSPFTFGSGTKLEIK

5 1 F 8 V H [配列番号 6 2]

EVQLQQSVAELVRPGASVKLSCTASGFNIKNTFIHWVKQRPEQGLEWIGRIDPANGNTKYAPKFQ
GRATLTADTSSNTAYLQLSSLTSEDTAIYYCARYYYVSSYFDVWGTGTTVTVSS

5 1 F 8 V L [配列番号 6 3]

10

SIVMTQTPKFLLVSAGDRVITITCKASQSVTNDVTWYQQKPGQSPKLLIFSASNRYTGVPDRFTGS
GYGTDFTFTISTVQAEDLAVYFCQQDYSSPWTFGGGTKLEIK

6 5 G 9 V H [配列番号 6 4]

EFQLQQSGPELVKPGASVKISCKASGYSFTDYGMNWLKQINGKSLIEWIAIINPNYGTASSNPKFK
DKATLTVDHSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYYCARAFDGYFYWYFDVWGTGTTVTVSS

6 5 G 9 V L [配列番号 6 5]

20

DVVMQTPLSLPVSLGDQASISCRSSQSLIHTNGNTYLHWYLQKPGQSPKLLIYKVSNRFSGVPD
RFGSGSGTDFTLKISRLEAEDLGVIYFCSQSTHVPLTFGAGTKLELR

8 5 C 1 0 V H [配列番号 6 6]

EFQLQQSGPELVKPGASVKISCKASGYSFTDYSINWVKQSNKSLIEWIGVINPNYGTSSHNQKFK
GKATMTVDQSSSTAYMQLNSLTSEDSAVYYCARALDDYYFYWYFDVWGIGTTVTVSS

8 5 C 1 0 V L [配列番号 6 7]

30

DVVMQTPLSLPVSLGDQASISCRSSQSLVHTNGNTYLHWYLQKPGQSPKLLIYKVSNRFSGVPD
RFGSGSGTDFTLKISRVEAEDLGVIYFCSQTTHVPLTFGAGTKLELK

2 1 8 D 9 V H [配列番号 6 8]

QVTLKESGPGILQPSQTLTCSFSGFSLSTFGRGVGWIRQPSGKGLDWLTHIWWDDDKYYNPAL
KSRLTISKDTSKNQVFLKIANVDTADTATYYCARIAGGLRRAPYAMDSWGQTSVTVSS

2 1 8 D 9 V L [配列番号 6 9]

40

DIQMTQSPASLSVSVGETVTITCRASENIYSSLAHYQQKQKSPQLLVYAATNLADGVPSRFSGS
GSGTQYSLKINSLQSEDSGNYCQHFRDTPPTFGGGTKLEIK

2 2 4 G 3 V H [配列番号 7 0]

EVQLVESGGDLVKPGGSLKLSCAASGFTFSSYGMSWVRQTPDKRLEWVATISNGGSYTYYPDSVK
GRFTISRDNKNTLYMQMSSLKSEDTAMYYCARNEPPDYWGQTSVTVSS

2 2 4 G 3 V L [配列番号 7 1]

50

QIVLTQSPAIMASASLGERVTMTCTASSSVGSSYLHWYQQKPGSSPKLWIYDTSNLA SGVPVRFSG
SGSGTSYSLTISSMEAEDAATYYCHQYHRSPYTFGGGTKLEIK

【0142】

以下の表2は、Octet Kinetics（以下の実施例9も参照されたい）によって分析される会合速度定数（ka）、解離速度定数（kd）及び解離定数（KD）を提供する。これらの定数は、イヌIL-31RAに対する個々のモノクローナル抗体の結合親和性を反映する。

【表3】

表2

選択された抗IL-31RA抗体の結合親和性

mAb	KD (M)	ka (1/Ms)	kd (1/s)
100H8	1.52E-10	7.88E+05	1.20E-04
51F8	2.07E-10	6.84E+05	1.41E-04
55B3	2.72E-10	5.68E+05	1.54E-04
65G9	4.51E-10	7.87E+05	3.55E-04
74H10	1.96E-10	4.63E+05	9.05E-05
209G5	1.31E-10	3.70E+05	4.87E-05
85C10	8.51E-10	4.27E+05	3.63E-04
218D9	6.98E-11	6.64E+05	4.63E-05
222E7	1.74E-10	1.62E+06	2.82E-04
224G3	9.64E-13	1.12E+06	1.08E-06

【0143】

結果は、選択されたmAbが、約0.85nM～約1pMの範囲の低いナノモルからサブピコモルの結合親和性を有することを示す。

【0144】

上記の10のモノクローナル抗体のそれぞれについての6つのCDRのセットを以下の表3に提供する。更に、これらのCDRの各々のカノニカル構造を以下の表4に提供する。

10

20

30

40

50

【表 4】

表 3

マウス CDR のアミノ酸配列

	アミノ酸配列	配列番号	アミノ酸配列	配列番号
	100H8		74H10	
HCDR1	DYNMD	3	DYNMD	3
HCDR2	HINPNNGGILYNQKFKG	10	HINPNNGGTLYNQKFKD	11
HCDR3	WAPLVRQPYWY	20	WAPLLRQPYWYFDV	21
LCDR1	KASQDINSYLN	30	KASQDINSYLN	30
LCDR2	RADRLVD	40	RADRLVD	40
LCDR3	LQYDEFPLT	45	LQYDEFPLT	45
	222E7		55B3	
HCDR1	DYNMD	3	DYNMD	3
HCDR2	HINPNIGGTLYNQKFKG	12	HINPNTGGTIYNQKFKG	13
HCDR3	WAQLQRQPYWYFDV	22	WAQLLRQPYWYFDV	23
LCDR1	KASQDINSYLN	30	KASQDINSYFN	31
LCDR2	RVNRLVD	38	RANRLVD	39
LCDR3	LQYDEFPLT	45	LQYDEFPLT	45
	51F8		209G5	
HCDR1	NTFIH	5	NTYMH	6
HCDR2	RIDPANGNTKYAPKFQG	15	RIDPANGNSKYAPKFQG	16
HCDR3	YYYVSSY	25	YYYVSSHFDV	26
LCDR1	KASQSVTNDVT	32	KASQSVTNDVT	32
LCDR2	SASNRYT	41	YASNRYT	42
LCDR3	QQDYSSPWT	47	QQDYSSPFT	48
	65G9		218D9	
HCDR1	DYGMN	7	TFGRGVG	8
HCDR2	IINPNYGTASSNPVKFD	17	HIWWDDDKYYPALKS	18
HCDR3	AFDGYFFYWYFDV	27	IAGGLRRAPYAMDS	28
LCDR1	RSSQSLIHTNGNTYLH	34	RASENIYSSLA	35
LCDR2	KVSNRFS	37	AATNLAD	43
LCDR3	SQSTHVPLT	50	QHFRDTPPT	51
	224G3		85C10	
HCDR1	SYGMS	9	DYSIN	4
HCDR2	TISNGGSYTYYPDSVKG	19	VINPNYGTSSHNQKFKG	14
HCDR3	NEPPDY	29	ALDDYYFYWY	24
LCDR1	TASSSVGSSYLH	36	RSSQSLVHTNGNTYLH	33
LCDR2	DTSNLAS	44	KVSNRFS	37
LCDR3	HQYHRSPYT	49	SQTTHVPLT	46

【 0 1 4 5 】

10

20

30

40

50

【表 5】

表 4

マウス CDR のカノニカル構造

	L1	L2	L3	H1	H2	H3
100H8	L1-2	L2-1	L3-1	H1-1	H2-2	H3-11
85C10	L1-4	L2-1	L3-1	H1-1	H2-2	H3-10
51F8	L1-2	L2-1	L3-1	H1-1	H2-2	H3-7
222E7	L1-2	L2-1	L3-1	H1-1	H2-2	H3-14
55B3	L1-2	L2-1	L3-1	H1-1	H2-2	H3-14
209G5	L1-2	L2-1	L3-1	H1-1	H2-2	H3-10
65G9	L1-4	L2-1	L3-1	H1-1	H2-2	H3-14
218D9	L1-2	L2-1	L3-1	H1-1	H2-4	H3-14
224G3	L1-2	L2-1	L3-1	H1-1	H2-4	H3-6
74H10	L1-2	L2-1	L3-1	H1-1	H2-2	H3-14

【 0 1 4 6 】

上記の表 3 におけるこれらの 10 セットの CDR のうち、IL-31RA に結合する 4 つの抗イヌ IL-31RA 抗体の特定の群が、顕著なアミノ酸配列類似性を含むとして特定された。

【 0 1 4 7 】

重鎖				
AB	HCDR1	配列番号	HCDR2	配列番号
100H8	DYNMD	NO:3	HINPNNGGILYNQKFKG	NO:10
74H10	DYNMD	NO:3	HINPNNGGTLYNQKFKD	NO:11
222E7	DYNMD	NO:3	HINPNIGGTLYNQKFKG	NO:12
55B3	DYNMD	NO:3	HINPNTGGTIYNQKFKG	NO:13

AB	HCDR3	配列番号
100H8	WAPLVRQPYWY	NO:20
74H10	WAPLLRQPYWYFDV	NO:21
222E7	WAQLQRQPYWYFDV	NO:22
55B3	WAQLLRQPYWYFDV	NO:23

10

20

30

40

50

軽鎖				
AB	LCDR1	配列番号	LCDR2	配列番号
100H8	KASQDINSYLN	NO:30	RADRLVD	NO:40
74H10	KASQDINSYLN	NO:30	RADRLVD	NO:40
222E7	KASQDINSYLN	NO:30	RVNRLVD	NO:38
55B3	KASQSVTNDVT	NO:31	RANRLVD	NO:39

10

AB	LCDR3	配列番号
100H8	LQYDEFPLT	NO:45
74H10	LQYDEFPLT	NO:45
222E7	LQYDEFPLT	NO:45
55B3	LQYDEFPLT	NO:45

【0148】

20

実際、4つの抗体のこの群の全てのHCDR1は、同一のアミノ酸配列（配列番号3）を有する。4つのHCDR2は異なるが、それらはあまり異ならない。特に、100H8のHCDR2は、トレオニン残基ではなく9位にイソロイシン残基を有することによって他の3つのHCDR2とは異なる。74H10は、グリシン残基ではなくアスパラギン酸残基をそのC末端に有することによって100H8と更に異なる。100H8と同様に、他の3つのHCDR2は、それらのC末端にグリシン残基を有する。100H8とは異なり、他の3つのHCDRは、それらのC末端に3つの更なるアミノ酸残基（FDV）を有する。74H10及び55B3の両方は、100H8のようなバリン残基ではなく、それらの4位にロイシンを有するが、222E7はグルタミン残基を有する。最後に、100H8及び74H10の両方が3位にプロリン残基を有するのに対して、222E7及び55B3の両方が3位にグルタミン残基を有する。

30

【0149】

40

4つの抗体のこの群における4つのLCDR1のうちの3つは、同一のアミノ酸配列（配列番号30）を有するが、55B3のLCDR1は、それらの最初の4つのアミノ酸残基を共有するのに対して、そのLCDR1は、その残りの7つのアミノ酸残基において他の3つのLCDR1とは異なる。100H8及び74H10のLCDR2は同一のアミノ酸配列（配列番号40）を有するが、55B3及び222E7のLCDR2はいずれも、100H8及び74H10のアスパラギン酸残基の代わりに3位にアスパラギン残基を有することにより、他の2つのLCDR2とは異なる。更に、222E7のLCDR2は、3つの他の抗体のLCDR2に見られるアラニン残基ではなく、2位にバリン残基を有する。特に、4つの抗体のこの群における4つのLCDR3は全て、同一のアミノ酸配列（配列番号45）を有する。

40

【0150】

50

上に詳述したイヌIL-31RAに対する残りの6つの抗体、すなわち、65G9、85C10、224G3、51F8、209G5及び218D9は、それぞれのCDRアミノ酸配列において顕著な同一性を有する2対の抗体と、相対的な外れ値である2つの抗体とに更に分解することができる。したがって、抗体65G9の6CDRのセットと抗体85C10の6CDRのセットとの間にはかなりのアミノ酸配列同一性がある（表3を参照されたい）。一貫して、抗体65G9及び85C10は両方とも、IL-31RA-ECDのC末端領域内の2つの線形配列に結合し、その一方は同じであり（配列番号106；

50

表 6 及び図 6 D を参照されたい)、他方は実質的な重複を有する(配列番号 107 を配列番号 108 と比較する; 表 6 を参照されたい)。特に、外れ値の 1 つである抗体 244 G 3 は、抗体 85 C 10 の第 2 の線形配列(配列番号 109 を配列番号 108 と比較する; 表 6 を参照されたい)に含まれる IL-31RA-ECD (図 6 E を参照されたい)の C 末端領域の単一の線形配列を含むエピトープに結合する。

【0151】

第 2 の群は、抗体 51 F 8 及び抗体 209 G 5 を含有し、これらはまた、それらのそれぞれの 6 CDR セットの間にかかなりのアミノ酸配列同一性を有する(表 3 を参照されたい)。一貫して、抗体 51 F 8 及び 209 G 5 は両方とも、IL-31RA-ECD の N 末端領域内の 2 つの線形配列に結合し、そのうちの 1 つは同じであり(配列番号 98 ; 表 6 及び図 6 B を参照されたい)、一方、抗体 209 G 5 が結合する IL-31RA-ECD の第 2 の線形配列(配列番号 101)は、抗体 51 F 8 が結合する IL-31RA-ECD の第 2 の線形配列のアミノ配列内にある(配列番号 100 ; 表 6 を参照されたい)。

【0152】

もう 1 つの外れ値である抗体 218 D 9 は、IL-31RA-ECD (配列番号 104 及び 105 ; 図 6 C 及び表 6 を参照されたい)のアミノ酸配列の中央部分に位置する 2 つの線形アミノ酸配列に結合する。この抗体は、IL-31RA の強力な結合剤であること、及び IL-31RA と IL-31 との結合の良好な遮断剤であることの両方であることが証明された。

【0153】

[実施例 5]

抗 IL-31 受容体アルファ抗体の遮断活性

抗イヌ IL-31RA ハイブリドーマ上清が IL-31RA への IL-31 の結合を遮断する能力を、下記のブロッキング ELISA において評価した。

【0154】

プロトコル

1) 96 ウェルのハーフエリアプレートを、25 μ L / ウェルの IL-31RA (PBS 緩衝液中 1 μ g / mL) でコーティングする。

2) プレートを 4 $^{\circ}$ C で一晩インキュベートする。

3) プレートを PBST (PBS + 0.05% Tween 20) で 3 回洗浄する

4) 室温で 30 分間、ブロッキング緩衝液(5% FBS を含む PBS)、25 μ L / ウェルでプレートをブロッキングする。

5) 25 μ L / ウェルのハイブリドーマ上清を 96 ウェルプレートに移し、室温で 60 分間インキュベートする。

6) プレートを PBST で 3 回洗浄する。

7) 25 μ L / ウェルのビオチン化 IL31 (ブロッキング緩衝液中 0.5 μ g / mL) を室温で 60 分間インキュベートする。

8) プレートを PBST で 3 回洗浄する。

9) 25 μ L / ウェルのストレプトアビジン-HRP、ブロッキング緩衝液中 1:500 希釈液をプレートに添加し、室温で 60 分間インキュベートする。

10) プレートを PBST で 5 回洗浄する。

11) TMB 系試薬を 2~3 分間の比色反応のためにプレートに添加する。

12) 0.16 M の硫酸で反応を停止させる。

13) プレートをプレートリーダーで読み取る。

【0155】

結果:

最初に同定されたおよそ 2000 個のハイブリドーマクローンのうち、およそ 300 個が IL-31RA に対する結合親和性を有することが見出され、そのようなクローンの約 10 個もまた、イヌ IL-31 のイヌ IL-31RA への結合の有意な遮断を示した(以下の実施例を参照されたい)。

【0156】

[実施例6]

イヌIL31-RAに対するモノクローナル抗体のブロッキング活性を試験するためのFACSアッセイ

抗イヌIL-31RA抗体によるイヌIL-31の結合及び遮断を評価するための細胞ベースのアッセイを開発するために、c末端Flagタグを有するイヌIL-31RA及びc末端HAタグを有するOSMRのヌクレオチド配列を化学合成によって調製し、次いで、レンチウイルスベクターLenti-puro及びLenti-Hygroにそれぞれクローニングした。Lenti-X293T細胞から調製したレンチウイルスLenti-puro-IL31RA-Flag及びLenti-Hygro-OSMR-HAをCHO-k1細胞に同時トランスフェクトした。イヌIL-31RA及びOSMRを共発現するCHO安定細胞プールを、抗flag抗体及び抗HA抗体と共にFACSによって選択した。単一細胞クローンを安定なプールから単離した。開発されたCHO-IL-31RA/OSMR表細胞株を、IL-31をその受容体複合体IL-31RA/OSMRで遮断するための抗イヌIL-31RAモノクローナル抗体をスクリーニングするために適用する。

10

【0157】

材料

細胞株：CHO-IL-31RA/OSMR安定細胞株

細胞増殖培地：10%FBS、8µg/mlピューロマイシン及び200µg/mlハイグロマイシンを含むF-12K培地

20

組換えイヌIL-31-Hisタンパク質(0.5µg/ml)

FACS緩衝液：PBS

アイソタイプ対照：マウスIgG(Genscript, A01007)(3µg/ml)

二次抗体：マウス抗Hisタグ抗体、1µg/ml(Genscript, A01802)

フローサイトメータ：BD FACSCanto

【0158】

フローサイトメトリ手順

1) CHO-IL-31RA/OSMR細胞をT75フラスコ中の増殖培地で増殖させた。

2) トリプシン処理して細胞を分離し、次いで細胞を5mLの新鮮な増殖培地に再懸濁する。

3) 細胞を300gで3分間スピンドウンし、上清を廃棄し、細胞をPBSで2回洗浄する。

4) 細胞をPBS中に 2×10^6 細胞/mLとして再懸濁する。

5) 細胞を、50µl/ウェルの96ウェルアッセイプレートに播種した。

6) 抗IL-31RA抗体(20µg/mL)又はアイソタイプ対照をIL-31(1µg/mL)と混合し、次いで、50µlの混合物をアッセイプレートの各ウェルに移す。

40

7) 4℃で40分間インキュベートした後、細胞を150µlの冷PBSで2回洗浄した。

8) 100µlの二次抗体(1µg/mL)をアッセイプレートの各ウェルに添加する。

9) 4℃で40分間インキュベートした後、細胞を150µlの冷PBSで2回洗浄した。

10) 細胞を100µl/ウェルの冷PBSに再懸濁し、フローサイトメトリによって読み取る。

【0159】

50

図3に示されるように、FACSの結果は、10個のマウス抗イヌIL-31RA mAbのうちの9個が、CHO-IL-31RA/OSMR細胞上に提示されるIL-31RA/OSMR複合体とのIL-31の結合を有意に阻止し得ることを示している。リード抗体は、51F8、74H10、100H8、209G5及び218D9である。

【0160】

〔実施例7〕

STAT-3アッセイ

Stat-3は、IL-31に対するヘテロ二量体受容体を含む細胞においてIL-31によって活性化されることが知られている。イヌIL-31によるSTAT-3の活性化を評価するアッセイを開発するために、IL-31RA及びOSMRをそれぞれコードするヌクレオチド配列を化学合成によって調製し、次いで、発現ベクターpcDNA3.1にクローニングした。IL-31RA及びOSMRヌクレオチド配列をそれぞれ含有するベクターをBa/f3細胞に同時トランスフェクトし、「Ba/f3-OI」として示されるトランスフェクト細胞を抗生物質選択下でプールとして成長させた。イヌIL-31がSTAT-3活性化を誘導する能力を以下のように試験した。

10

【0161】

材料：

細胞株：Ba/f3-OI安定プール細胞

マウスIL-3又はイヌIL-31(cIL-31)を含む増殖培地：

RPMI 1640 435mL (ThermoFisher, 12633-020)

20

FBS 50mL (SAFCカタログ番号12003c-500mL)

2-メルカプトエタノール (50mM) 0.5mL (Gibco 31350-010)

100X Pen Strep 5mL (Gibco 15140-122 Lot 1734040)

200mM L-Glu 10mL (Gibco 25030-081 Lot 1677185)

500ng/mL Geneticin G418 (Gibco又はSigma製)

5ng/mL mIL-3又は100ng/mL cIL-31

飢餓培地：mIL-3及びcIL-31を含まない増殖培地

p-STAT3 (Tyr705) アッセイキット：PerkinElmer、ALSU-PST3-A-HV

30

【0162】

手順：

細胞培養

1) Ba/f3-OI細胞のバイアルを解凍し、125rpmの37℃ CO₂シェーカ中、mIL-3を含む増殖培地で細胞を増殖させる。

2) 2～3継代の細胞を継代して、細胞ベースのアッセイを設定する前に90%以上の生存率を有する細胞を得る。

3) アッセイを設定するために、細胞を収集し、 1×10^7 生存細胞/mLまで飢餓培地に再懸濁する。

40

4) 細胞を96ウェルプレート、50μL/ウェル(約 5×10^5 細胞/ウェル)に分注する。

5) 希釈プレート中の飢餓培地でcIL-31を3倍希釈し、次いで、連続希釈した50μLの各cIL-31一定分量を細胞プレートに移す。

6) 細胞プレートを37℃ CO₂シェーカ中、125rpmで1～2時間、15～30分間インキュベートする。

【0163】

製造業者の説明書によるAlphaLISAアッセイ：

7) 細胞をスピンドウンし、上清を吸引し、50～100μL/ウェルの1×溶解緩衝液を添加する。1000rpmで振盪しながら室温で10分間インキュベートする。

50

【0164】

8) 30 μ L の細胞溶解物を 1 / 2 面積プレートに取り出すか、又は将来の試験のために -80 $^{\circ}$ C で凍結保存する。

【0165】

S U R E F I R E アッセイ：

8) 15 μ L / ウェルのアクセプターミックスを細胞溶解物に添加する。プレートを密封し、1000 rpm で 2 分間攪拌し、次いで、室温で 1 ~ 2 時間インキュベートする。

9) 15 μ L / ウェルのドナーミックスを細胞溶解物に添加する。密封し、1000 rpm で 2 分間攪拌し、次いで、室温で 1 ~ 2 時間インキュベートする（プレートを 4 $^{\circ}$ C で一晩保存することができる。室温で 1 時間インキュベートした後、翌日プレートを読み取る）

10) プレートを 520 ~ 620 nm で α プレートリーダーで読み取る。

【0166】

結果：

図 4 は、イヌ IL-31 による STAT-3 リン酸化の誘導を示し、これは用量依存的様式で Ba / f3-OI 細胞において STAT-3 の活性化を刺激する。Ba / f3 細胞を対照として使用した。IL-31 受容体複合体を発現する Ba / f3-OI 細胞を、IL-31 誘導性 STAT-3 リン酸化について試験した。結果は、STAT-3 リン酸化が Ba f3-OI 細胞において IL-31 によって用量依存的に誘導されたことを示しており、(i) イヌ IL-31 受容体複合体が細胞表面上に首尾よく発現されること、(i i) IL-31 受容体へのイヌ IL-31 の結合が内因性 STAT3 リン酸化を刺激し得ること、及び (i i i) その後、その下流のシグナル伝達経路を開始すること、を暗示している。

【0167】

[実施例 8]

抗イヌ IL-31 RA 抗体の生物学的活性

抗イヌ IL-31 RA mAb が Ba / f3-OI 細胞において STAT-3 の活性化を阻害する能力を以下のように評価する。

【0168】

1) Ba / f3-OI 細胞のバイアルを解凍し、125 rpm の 37 $^{\circ}$ C CO₂ シェーカー中、mIL-3 を含む増殖培地で Ba / f3-OI 細胞を増殖させる。

2) 2 ~ 3 継代の細胞を継代して、細胞ベースのアッセイを設定する前に 90 % 以上の生存率を有する細胞を得る。

3) アッセイを設定するために、細胞を収集し、 1×10^7 生存細胞 / mL まで飢餓培地に再懸濁する。

4) 細胞を 96 ウェルプレート、50 μ L / ウェル（約 5×10^5 細胞 / ウェル）に分注する。

5) 96 ウェルプレート上の一列の飢餓培地中で抗体を 200 μ g / mL の濃度から始めて 3 倍希釈する。次いで、各ウェルに 5 μ L の cIL-31 を添加して、100 ng / mL の最終濃度にする。

6) 50 μ L の希釈抗体及び cIL-31 混合物を細胞プレートの各ウェルに移し、穏やかに混合する。

7) 細胞プレートを 125 rpm の 37 $^{\circ}$ C の CO₂ シェーカーで 15 ~ 30 分間インキュベートする。製造業者の説明書による AlphaLISA アッセイ：（実施例 7 参照）

【0169】

モノクローナル抗体 209G5、218D9 及び 85C10 については図 5A に、モノクローナル抗体 100H8、74H10、51F8 及び 85C10 については図 5B に、218D9 の様々な構築物については再び図 8 に例示されるように、試験された IL-31 RA mAb の全てが Ba / f3-OI 細胞におけるイヌ IL-31 媒介 STAT-3 リン酸化を阻害するが、これらの抗体の非存在下では阻害がない（IL-31 と表示）。

図 8 から、様々な 218D9 抗体構築物の IC50 は、キメラ抗体について約 2.2 nM ; c218D9VH3VL2 については 230 nM ; c218D9VH4VL2 については 8.3 nM ; c218D9VH4VL3 については 2.9 nM ; c218D9VH3VL3 については 2.5 nM であると計算された。

【0170】

〔実施例 9〕

イヌ IL-31RA 受容体に対する抗イヌ IL-31RA モノクローナル抗体のインビトロ結合

全ての動態測定を、SA バイオセンサ及び Data Acquisition 12.0 ソフトウェアを使用して Octet HTX によって行った。ビオチン標識抗原（イヌ IL-31RA）を、1 µg/mL の濃度で、予備再水和 SA バイオセンサに 120 秒間負荷した。次に、バイオセンサをブロッキング相用の Octet Kinetics Buffer (PBS+0.02% Tween 20、0.1% BSA) に 120 秒間入れた。次いで、会合段階のために、抗原を負荷したバイオセンサを、Octet Kinetics Buffer 中の 100 nM から 3.13 nM までの抗 IL-31RA モノクローナル抗体の 2 倍連続希釈液に 300 秒間入れた。最後のウェルは緩衝液のみであり、そのセンサを参照センサの減算に使用した。最後に、バイオセンサを解離相用の Octet Kinetics Buffer に 300 秒間入れた。Data Analysis 12.0 ソフトウェアを使用して分析を行い、1:1 結合モデルを使用して曲線を当てはめた。

【0171】

結合親和性測定結果は、試験した全てのモノクローナル抗体が、約 1.5 nM ~ 約 1 pM（上記の表 2 を参照されたい）の範囲の低いナノモルからサブピコモルの結合親和性を有することを示す。上位のブロッキング抗体のうちの 2 つ：51F8 及び 218D9 は、それぞれ約 0.2 nM 及び約 0.07 nM の KD を有していた（以下の表 5B を参照されたい）。

【0172】

〔実施例 10〕

イヌ化抗体

イヌ重鎖及び軽鎖の DNA 及びタンパク質配列は公知であり、NCBI 遺伝子及びタンパク質データベースを検索することによって得ることができる。上記のように、イヌ抗体については、4 つの既知の IgG サブタイプ：IgG-A、IgG-B、IgG-C 及び IgG-D、並びに 2 つのタイプの軽鎖、すなわちカッパ及びラムダが存在する。いかなる特定のアプローチにも束縛されないが、イヌ化抗イヌ IL-31 受容体アルファ mAb を産生するために異なる組合せで混合することができる、イヌ化重鎖及び軽鎖を産生するプロセスは、以下のスキームを含む：

所望の抗 IL-31 受容体アルファ mAb の CDR を含む VH ドメイン及び VL ドメインの DNA 配列を同定する。

i) 所望の抗 IL-31RA mAb の H 鎖 CDR 及び L 鎖 CDR を同定する。

i i) イヌ IgG の H 鎖及び L 鎖に適した配列を同定する。

i i i) 上記の配列のイヌ IgG の H 鎖及び L 鎖の内因性 CDR をコードする DNA 配列を同定する。

i v) 内因性イヌ H 鎖及び L 鎖 CDR をコードする DNA 配列を、所望の抗 IL-31RA CDR をコードする DNA 配列と置き換える。更に、いくつかのイヌフレームワーク残基が所望の抗 IL-31 受容体アルファ mAb フレームワーク領域から選択された残基で置き換えられていてもよい。

v) 工程 (v) からの DNA を合成し、それを適切な発現プラスミドにクローニングし、所望のイヌ化 H 鎖及び L 鎖を含有するプラスミドを HEK 293 細胞にトランスフェクトする。

v i) 発現したイヌ化抗体を HEK 293 上清から精製する。

v i i) イヌIL-31受容体アルファ鎖への結合について精製イヌ化抗体を試験する。

【0173】

上で概説した工程の適用は、以下に提供されるイヌ化H鎖及びL鎖アミノ酸配列のセットをもたらす得る。

【0174】

c 5 1 F 8 V H 1 - c I g G B m [配列番号 7 2]

EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKTSGYTFINTFIHWVRQAPGAGLDWMGQIDPANGNTKYAPKFQ
GRVTLTADTSTSTAYMELSSLRAGDIAVYYCARYYYVSSYFDVWGQGTLVTVSSASTTAPSVFPL
APSCGSTSGSTVALACLVSGYFPEPVTVSWNSGSLTSGVHTFPSVLQSSGLYSLSSMVTVPSSRW
PSETFTCNVAHPASKTKVDKVPVKRENGRVPRPPDCPKCPAPEMLGGPSVFIFPPKPKDTLLIAR
TPEVTCVVVALDPEDPEVQISWFDGKQMOTAKTQPREEQFAGTYRVVSVLPIGHQDWLKGKQFT
CKVNNKALPSPIERTISKARGQAHQPSVYVLPPSREELSKNTVSLTCLIKDFFPPDIDVEWQSNG
QQEPESKYRTPPQLDEDGSYFLYSKLSVDKSRWQRGDTFICAVMHEALHNHYTQESLSHSPGK

10

【0175】

c 5 1 F 8 V H 2 - c I g G B m [配列番号 7 3]

EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCTASGFNIKNTFIHWVRQAPGAGLDWIGRIDPANGNTKYAPKFQ
GRVTLTADTSTSTAYMELSSLRAGDIAVYYCARYYYVSSYFDVWGQGTLVTVSSASTTAPSVFPL
APSCGSTSGSTVALACLVSGYFPEPVTVSWNSGSLTSGVHTFPSVLQSSGLYSLSSMVTVPSSRW
PSETFTCNVAHPASKTKVDKVPVKRENGRVPRPPDCPKCPAPEMLGGPSVFIFPPKPKDTLLIAR
TPEVTCVVVALDPEDPEVQISWFDGKQMOTAKTQPREEQFAGTYRVVSVLPIGHQDWLKGKQFT
CKVNNKALPSPIERTISKARGQAHQPSVYVLPPSREELSKNTVSLTCLIKDFFPPDIDVEWQSNG
QQEPESKYRTPPQLDEDGSYFLYSKLSVDKSRWQRGDTFICAVMHEALHNHYTQESLSHSPGK

20

30

【0176】

c 5 1 F 8 V H 3 - c I g G B m [配列番号 7 4]

EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCTASGFNIKNTFIHWVRQAPGAGLDWIGRIDPANGNTKYAPKFQ
GRATLTADTSTNTAYMQLSSLRAGDIAVYYCARYYYVSSYFDVWGQGTLVTVSSASTTAPSVFPL
APSCGSTSGSTVALACLVSGYFPEPVTVSWNSGSLTSGVHTFPSVLQSSGLYSLSSMVTVPSSRW
PSETFTCNVAHPASKTKVDKVPVKRENGRVPRPPDCPKCPAPEMLGGPSVFIFPPKPKDTLLIAR
TPEVTCVVVALDPEDPEVQISWFDGKQMOTAKTQPREEQFAGTYRVVSVLPIGHQDWLKGKQFT
CKVNNKALPSPIERTISKARGQAHQPSVYVLPPSREELSKNTVSLTCLIKDFFPPDIDVEWQSNG
QQEPESKYRTPPQLDEDGSYFLYSKLSVDKSRWQRGDTFICAVMHEALHNHYTQESLSHSPGK

40

【0177】

c 5 1 F 8 V H 4 - c I g G B m [配列番号 7 5]

50

EVQLVQSGAEVVKPGASVKVSCTASGFNIKNTFIHWVRQRPAGLDWIGRIDPANGNTKYAPKFQ
GRATLTADTSTNTAYMQLSLRLAGDIAVYYCARYYYVSSYFDVWGTGTLTVSSASTTAPSVFPL
APSCGSTSGSTVALACLVSIFYPEPVTVSWNSGSLTSGVHTFPSVLQSSGLYSLSSMVTVPSSRW
PSETFTCNVAHPASKTKVDKVPKRENGRVPRPPDCPKCPAPEMLGGPSVFIFFPKPKDTLLIAR
TPEVTCVVVALDPEDPEVQISWFDVGKQMOTAKTQPREEQFAGTYRVVSVLPIGHQDWLKGKQFT
CKVNNKALPSPIERTISKARGQAHQPSVYVLPSPREELSKNTVSLTCLIKDFFPPDIDVEWQSNQ
QQEPESKYRTPPQLDEEDGSYFLYSKLSVDKSRWQRGDTFICAVMHEALHNHYTQESLSHSPGKR
NDAQPAVYLFQPSPDQLHTGSASVVCLLNSFYPKDINVKWKVDGVIQDTGIQESVTEQDKDSTYS
LSSTLTMSSTEYLSHELYSCEITHKSLPSTLIKSFQRSECQRVD

10

【0178】**c 5 1 F 8 V L 1 - c C K 【配列番号 76】**

EIVMTQSPASLSLSQEEKVTITCKASQSVTNDVTWYQQKPGQAPKLLIYSASNRYTGVPSRFSGS
GSGTDFSFTISSLEPEDVAVYYCQQDYSSPWTFGQGTKLEIKRNDAPAVYLFQPSPDQLHTGSA
SVVCLLNSFYPKDINVKWKVDGVIQDTGIQESVTEQDKDSTYLSSTLTMSSTEYLSHELYSCEI
THKSLPSTLIKSFQRSECQRVD

20

【0179】**c 5 1 F 8 V L 6 - c C K 【配列番号 77】**

DIVMTQTPLSLSVSPGETASISCKASQSVTNDVTWFRQKPGQSPQLLIYSASNRYTGVPRFSGS
GSGTDFTLRISTVEADDTGVYYCQQDYSSPWTFGQGTKLEIKRNDAPAVYLFQPSPDQLHTGSA
SVVCLLNSFYPKDINVKWKVDGVIQDTGIQESVTEQDKDSTYLSSTLTMSSTEYLSHELYSCEI
THKSLPSTLIKSFQRSECQRVD

30

【0180】**c 5 1 F 8 V L 7 - c C K 【配列番号 78】**

DIVMTQTPLSLSVSPGETASISCKASQSVTNDVTWFRQKPGQSPKLLIYSASNRYTGVPRFSGS
GSGTDFTLRISTVEADDTGVYYCQQDYSSPWTFGQGTKLEIKRNDAPAVYLFQPSPDQLHTGSA
SVVCLLNSFYPKDINVKWKVDGVIQDTGIQESVTEQDKDSTYLSSTLTMSSTEYLSHELYSCEI
THKSLPSTLIKSFQRSECQRVD

40

【0181】**c 1 0 0 H 8 V H 4 - c I g G B m 【配列番号 79】**

50

EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKTSGYTFTDYNMDWVRQAPGAGLDWMGHINPNNGGILYNQKFK
GRVTLTADTSTSTAYMELSSLRAGDIAVYYCARWAPLVRQPYWYFDVWGQGTLVTVSSASTTAPS
VFPLAPSCGSTSGSTVALACLVSGYFPEPVTVSWNSGSLTSGVHTFPSVLQSSGLYSLSSMVTVP
SSRWPSETFTCNVAHPASKTKVDKVPVKRENGRVPRPPDCPKCPAPEMLGGPSVFI FPPKPKDTL
LIARTPEVTCVVVALDPEDPEVQISWFDGKQMQTAKTQPREEQFAGTYRVVSVLPIGHQDWLKG
KQFTCKVNNKALPSPIERTISKARGQAHQPSVYVLPPSREELSKNTVSLTCLIKDFFPPDIDVEW
QSNQGQEPESKYRTTPPQLDEDGSYFLYSKLSVDKSRWQRGDTFICAVMHEALHNHYTQESLSHS
PGK

10

【 0 1 8 2 】**c 1 0 0 H 8 V H 7 - c I g G B m 【 配 列 番 号 8 0 】**

EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDYNMDWVRQAPGAGLDWIGHINPNNGGILYNQKFK
GKATLTADTSTSTAYMELSSLRAGDIAVYYCARWAPLVRQPYWYFDVWGQGTLVTVSSASTTAPS
VFPLAPSCGSTSGSTVALACLVSGYFPEPVTVSWNSGSLTSGVHTFPSVLQSSGLYSLSSMVTVP
SSRWPSETFTCNVAHPASKTKVDKVPVKRENGRVPRPPDCPKCPAPEMLGGPSVFI FPPKPKDTL
LIARTPEVTCVVVALDPEDPEVQISWFDGKQMQTAKTQPREEQFAGTYRVVSVLPIGHQDWLKG
KQFTCKVNNKALPSPIERTISKARGQAHQPSVYVLPPSREELSKNTVSLTCLIKDFFPPDIDVEW
QSNQGQEPESKYRTTPPQLDEDGSYFLYSKLSVDKSRWQRGDTFICAVMHEALHNHYTQESLSHS
PGK

20

【 0 1 8 3 】**c 1 0 0 H 8 V H 8 - c I g G B m 【 配 列 番 号 8 1 】**

EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDYNMDWVRQAPGAGLDWIGHINPNNGGILYNQKFK
GKATLTVDRSTNTAYMELSSLRAGDIAVYFCARWAPLVRQPYWYFDVWGQGTLVTVSSASTTAPS
VFPLAPSCGSTSGSTVALACLVSGYFPEPVTVSWNSGSLTSGVHTFPSVLQSSGLYSLSSMVTVP
SSRWPSETFTCNVAHPASKTKVDKVPVKRENGRVPRPPDCPKCPAPEMLGGPSVFI FPPKPKDTL
LIARTPEVTCVVVALDPEDPEVQISWFDGKQMQTAKTQPREEQFAGTYRVVSVLPIGHQDWLKG
KQFTCKVNNKALPSPIERTISKARGQAHQPSVYVLPPSREELSKNTVSLTCLIKDFFPPDIDVEW
QSNQGQEPESKYRTTPPQLDEDGSYFLYSKLSVDKSRWQRGDTFICAVMHEALHNHYTQESLSHS
PGK

30

40

【 0 1 8 4 】**c 1 0 0 H 8 V L 1 - c C K 【 配 列 番 号 8 2 】**

EIVMTQSPASLSLSQEEKVTITCKASQDINSYLNWYQQKPGQAPKLLIYRADRLVDGVPSRFSGS
GSGTDFSFSTISSLEPEDVAVYYCLQYDEFPLTFGAGTKVELKRNDAPAVYLFQPSPDQLHTGSA
SVVCLLNSFYPKDINVKKVDGVIQDTGIQESVTEQDKDSTYSLSSTLTMSSTEYLSHELYSCEI
THKSLPSTLIKSFQRSECQRVD

50

【0185】

c 1 0 0 H 8 V L 2 - c C K 【配列番号 8 3】

EIVMTQSPASLSLSQEEKVTITCKASQDINSYLNWFQQKPGQAPKLLIYRADRLVDGVPSRFSGS
GSGTDFSFTISSLEPEDVAVYYCLQYDEFPLTFGAGTKLELKRNDAPAVYLFQPSPDQLHTGSA
SVVCLLNSFYPKDINVKWKVDGVIQDTGIQESVTEQDKDSTYSLSSSTLTMSSTEYLSHELYSCEI
THKSLPSTLIKSFORSECQRVD

【0186】

c 1 0 0 H 8 V L 3 - c C K 【配列番号 8 4】

DIKMTQSPASLSLSQEEKVTITCKASQDINSYLNWFQQKPGQAPKLLIYRADRLVDGVPSRFSGS
GSGTDFSFTISSLEPEDVAVYYCLQYDEFPLTFGAGTKLELKRNDAPAVYLFQPSPDQLHTGSA
SVVCLLNSFYPKDINVKWKVDGVIQDTGIQESVTEQDKDSTYSLSSSTLTMSSTEYLSHELYSCEI
THKSLPSTLIKSFORSECQRVD

10

【0187】

c 1 0 0 H 8 V L 4 - c C K 【配列番号 8 5】

DIVMTQTPLSLSVSPGETASISCKASQDINSYLNWFRQKPGQSPQLLIYRADRLVDGVPDRFSGS
GSGTDFTLRISTVEADDTGVYYCLQYDEFPLTFGAGTKVELKRNDAPAVYLFQPSPDQLHTGSA
SVVCLLNSFYPKDINVKWKVDGVIQDTGIQESVTEQDKDSTYSLSSSTLTMSSTEYLSHELYSCEI
THKSLPSTLIKSFORSECQRVD

20

【0188】

c 2 1 8 D 9 V H 1 - c I g G B m 【配列番号 8 6】

ELTLQESGPGLVKPSQTLSTLCVVSGSVTTFGRGVGWIRQRPGRGLEWMGHIWDDDKYYNPAL
KSRISITADTAKNQFSLQLSSMTTEDTAVYYCARIAGGLRRAPYAMDSWGQGTTLTVSSASTTAP
SVFPLAPSCGSTSGSTVALACLVSGYFPEPVTVSWNSGSLTSGVHTFPSVLQSSGLYSLSSMVTV
PSSRWPSETFTCNVAHPASKTKVDKPVPKRENGRVPRPPDCPKCPAPEMLGGPSVFIFFPKPKDT
LLIARTPEVTCVVVALDPEDPEVQISWFVDGKQMQTAKTQPREEQFAGTYRVVSVLPIGHQDWLK
GKQFTCKVNNKALPSPIERTISKARGQAHQPSVYVLPSPREELSKNTVSLTCLIKDFFPPDIDVE
WQSNQQQEPESKYRTTPQLDEDGSYFLYSKLSVDKSRWQRGDTFICAVMHEALHNHYTQESLSH
SPGK

30

40

【0189】

c 2 1 8 D 9 V H 2 - c I g G B m 【配列番号 8 7】

50

ELTLQESGPGLVKPSQTLSTLCSFSGFSLSTFGRGVGWIRQRPGRGLEWMGHIWWDDDKYYNPAL
KSRISITADTAKNQFSLQLSSMTTEDTAVYYCARIAGGLRRAPYAMDSWGQGT LVT VSSASTTAP
SVFPLAPSCGSTSGSTVALACLVSGYFPEPVT VSWNSGSLTSGVHTFPSVLQSSGLYSLSSMVTV
PSSRWPSETFTCNVAHPASKTKVDKPVPKRENGRVPRPPDCPKCPAPEMLGGPSVFI FPPKPKDT
LLIARTPEVTCVVVALDPEDPEVQISWFVDGKQMQTAKTQPREEQFAGTYRVVSVLP IGHQDWLK
GKQFTCKVNNKALPSPIERTISKARGQAHQPSVYVLPSPREELSKNTVSLTCLIKDFFPPDIDVE
WQSNQQEPESKYRTTPPQLDEDGSYFLYSKLSVDKSRWQRGDTFICAVMHEALHNHYTQESLSH
SPGK

10

【 0 1 9 0 】**c 2 1 8 D 9 V H 3 – c I g G B m 【 配 列 番 号 8 8 】**

EVTLQESGPGLVKPSQTLSTLCSFSGFSLSTFGRGVGWIRQRPGRGLEWMGHIWWDDDKYYNPAL
KSRLSITKDTAKNQFSLQLSSMTTEDTAVYYCARIAGGLRRAPYAMDSWGQGT LVT VSSASTTAP
SVFPLAPSCGSTSGSTVALACLVSGYFPEPVT VSWNSGSLTSGVHTFPSVLQSSGLYSLSSMVTV
PSSRWPSETFTCNVAHPASKTKVDKPVPKRENGRVPRPPDCPKCPAPEMLGGPSVFI FPPKPKDT
LLIARTPEVTCVVVALDPEDPEVQISWFVDGKQMQTAKTQPREEQFAGTYRVVSVLP IGHQDWLK
GKQFTCKVNNKALPSPIERTISKARGQAHQPSVYVLPSPREELSKNTVSLTCLIKDFFPPDIDVE
WQSNQQEPESKYRTTPPQLDEDGSYFLYSKLSVDKSRWQRGDTFICAVMHEALHNHYTQESLSH
SPGK

20

【 0 1 9 1 】**c 2 1 8 D 9 V H 4 – c I g G B m 【 配 列 番 号 8 9 】**

EVTLQESGPGLVKPSQTLSTLCSFSGFSLSTFGRGVGWIRQRPGRGLEWMGHIWWDDDKYYNPAL
KSRLSITKDTAKNQVFLQLSSMTTEDTAVYYCARIAGGLRRAPYAMDSWGQGT LVT VSSASTTAP
SVFPLAPSCGSTSGSTVALACLVSGYFPEPVT VSWNSGSLTSGVHTFPSVLQSSGLYSLSSMVTV
PSSRWPSETFTCNVAHPASKTKVDKPVPKRENGRVPRPPDCPKCPAPEMLGGPSVFI FPPKPKDT
LLIARTPEVTCVVVALDPEDPEVQISWFVDGKQMQTAKTQPREEQFAGTYRVVSVLP IGHQDWLK
GKQFTCKVNNKALPSPIERTISKARGQAHQPSVYVLPSPREELSKNTVSLTCLIKDFFPPDIDVE
WQSNQQEPESKYRTTPPQLDEDGSYFLYSKLSVDKSRWQRGDTFICAVMHEALHNHYTQESLSH
SPGK

30

【 0 1 9 2 】**c 2 1 8 D 9 V L 1 – c C K 【 配 列 番 号 9 0 】**

EIVMTQSPASLSLSQEEKVTITCRASENIYSSLAWYQQKPGQAPKLLIYAATNLADGVPSRFSGS
GSGTDFSF TISSLEPEDVAVYYCQHFRDTPPTFGQGTKLEIKRNDAPAVYLFQPSPDQLHTGSA
SVVCLLNSFYPKDINVKKVDGVIQDTGIQESVTEQDKDSTYSLSSTLTMSSTEYLSHELYSCEI
THKSLPSTLIKSFQRSECQRVD

40

【 0 1 9 3 】

50

c 2 1 8 D 9 V L 2 - c C K [配列番号 9 1]

DIVMTQTPLSLSVSPGETASISCRASENIYSSLAWFRQKPGQSPQLLIYAATNLADGVPDRFSGS
GSGTDFTLRISRVEADDTGVYYCQHFRDTPPTFGQGTKLEIKRNDAPAVYLFQPSPDQLHTGSA
SVVCLLNSFYPKDINVKWKVDGVIQDTGIQESVTEQDKDSTYSLSSTLTMSSTEYLSHELYSCEI
THKSLPSTLIKSFORSECQRVD

[0 1 9 4]**c 2 1 8 D 9 V L 3 - c C K [配列番号 9 2]**

10

DIVMTQTPLSLSVSPGETASISCRASENIYSSLAWFRQKPGQSPQLLVYAATNLADGVPDRFSGS
GSGTDYTLRISRVEADDTGVYYCQHFRDTPPTFGQGTKLEIKRNDAPAVYLFQPSPDQLHTGSA
SVVCLLNSFYPKDINVKWKVDGVIQDTGIQESVTEQDKDSTYSLSSTLTMSSTEYLSHELYSCEI
THKSLPSTLIKSFORSECQRVD

[0 1 9 5]**c 2 1 8 D 9 V H 1 [配列番号 9 3]**

20

ELTLQESGPGLVKPSQTLSLTCVVS GGSVTTFGRGVGWIRQRPGRGLEWMGHIWWDDDKYYPAL
KSRISITADTAKNQFSLQLSSMTTEDTAVYYCARIAGGLRRAPYAMDSWGQGLTVTVSS

[0 1 9 6]**c 2 1 8 D 9 V H 2 [配列番号 9 4]**

ELTLQESGPGLVKPSQTLSLTCSFSGFSLSTFGRGVGWIRQRPGRGLEWMGHIWWDDDKYYPAL
KSRISITADTAKNQFSLQLSSMTTEDTAVYYCARIAGGLRRAPYAMDSWGQGLTVTVSS

[0 1 9 7]

30

c 2 1 8 D 9 V H 3 [配列番号 9 5]

EVTLQESGPGLVKPSQTLSLTCSFSGFSLSTFGRGVGWIRQRPGRGLEWMGHIWWDDDKYYPAL
KSRLSITKDTAKNQFSLQLSSMTTEDTAVYYCARIAGGLRRAPYAMDSWGQGLTVTVSS

[0 1 9 8]**c 2 1 8 D 9 V H 4 [配列番号 9 6]**

EVTLQESGPGLVKPSQTLSLTCSFSGFSLSTFGRGVGWIRQRPGRGLEWMGHIWWDDDKYYPAL
KSRLSITKDTAKNQVFLQLSSMTTEDTAVYYCARIAGGLRRAPYAMDSWGQGLTVTVSS

40

[0 1 9 9]**c 2 1 8 D 9 V L 1 [配列番号 1 2 8]**

EIVMTQSPASLSLSQEEKVTITCRASENIYSSLAWYQQKPGQAPKLLIYAATNLADGVPSRFSGS
GSGTDFSFTISSLEPEDVAVYYCQHFRDTPPTFGQGTKLEIK

[0 2 0 0]**c 2 1 8 D 9 V L 2 [配列番号 1 2 9]**

50

DIVMTQTPLSLSVSPGETASISCRASENIYSSLAWFRQKPGQSPQLLIYAATNLADGVPDRFSGS
GSGTDFTLRISRVEADDTGVYYCQHFRDTPPTFGQGTKLEIK

【0201】

c 2 1 8 D 9 V L 3 [配列番号 1 3 0]

DIVMTQTPLSLSVSPGETASISCRASENIYSSLAWFRQKPGQSPQLLVYAATNLADGVPDRFSGS
GSGTDYTLRISRVEADDTGVYYCQHFRDTPPTFGQGTKLEIK

10

【0202】

[実施例 1 1]

イヌ化抗体のイヌ I L - 3 1 R A に対する反応性

イヌ化抗体を、イヌ I L - 3 1 R A との反応性について以下のように試験した：

1. 免疫プレート上に 200 ng / ウェルの I L - 3 1 R A をコーティングし、プレートを 4 °C で一晚インキュベートする。

2. 0.05 % Tween 20 (P B S T) を含むリン酸緩衝生理食塩水 (P B S) でプレートを 3 回洗浄する。

3. 室温で 45 ~ 60 分間、P B S 中の 0.5 % ウシ血清アルブミン (B S A) でプレートをブロッキングする。

4. プレートを P B S T で 3 回洗浄する。

5. 希釈プレートの各列又は行において、イヌ化抗体を 0.3 μg / mL から始めて 3 倍希釈する。

6. 希釈したイヌ化抗体を免疫プレートの各列又は行に移し、プレートを室温で 45 ~ 60 分間インキュベートする。

7. プレートを P B S T で 3 回洗浄する。

8. 1 : 4000 希釈したホースラディッシュペルオキシダーゼ標識抗イヌ I g G F c をプレートの各ウェルに添加し、次いで、プレートを室温で 45 ~ 60 分間インキュベートする。

9. プレートを P B S T で 3 回洗浄する。

10. 3, 3', 5, 5'-テトラメチルベンジジン (T M B) 基質をプレートの各ウェルに添加し、プレートを室温で 10 ~ 15 分間インキュベートして発色させる。

11. 100 μL の 1.5 M のリン酸を各ウェルに添加して反応を停止させる。540 nm の参照波長を有する 450 nm でプレートを読み取る。

20

30

【0203】

図 7 A ~ 図 7 E に示されるように、イヌ化抗体を、イヌ I L - 3 1 R A に対するそれらの反応性について試験した。結果は、イヌ化抗体がそれらの対応する親抗体（それらのキメラ抗体によって表される）と同様の結合親和性を有することを示している。

【0204】

下記の表 5 A は、異なるイヌ化抗体 (E C 5 0) の、それらの対応するマウスイヌキメラ抗体に対する相対的結合親和性を提供する（図 7 A ~ 図 7 E を参照されたい）。これらは単なる相対的な数であるが、イヌ化抗体 2 1 8 D 9 は、その親キメラマウス抗体と本質的に同じ結合親和性を有する抗体として際立っている。

40

【0205】

抗体番号の前の「キメラ」という用語は、抗体がマウス-イヌキメラ抗体、例えばキメラ 2 1 8 D 9 又はキメラ 5 1 F 8 であることを意味する。更に、抗体番号の前の「m」の後に「C h i m」が続くことは、抗体がマウス-イヌキメラ抗体、例えば m 2 2 4 G 3 C h i m であることを意味する。抗体番号の前の小文字の「c」は、それがイヌ化抗体、例えば c 2 1 8 D 9 V H 4 V L 2 であることを意味する。

【0206】

50

【表 6】

表 5A

イヌ化抗体の相対的結合親和性(EC50)

抗体	EC50
キメラ 100H8	2.021
c100H8VH5L4	2.561
c100H8VH7L4	0.581
キメラ 85C10	2.583
c85C10VH3L2	1.910
c85C10VH1L2	6.002
キメラ 224G3	0.383
c224G3VH2L2	1.078
c224G3VH2L3	0.699
キメラ 51F8	3.417
c51F8VH3L6	16.94
c51F8VH3L7	25.02
c51F8VH4L6	8.306
c51F8VH4L7	11.33
キメラ 218D9	3.153
c218D9VH3L2	4.289
c218D9VH3L3	3.216
c218D9VH4L2	4.096
c218D9VH4L3	3.580

【0207】

以下の表 5B は、51F8 及び 218D9 のイヌ化抗体の結合定数を示す。結果は、この場合も、イヌ化 218D9 抗体が、それらの親キメラマウス抗体と本質的に同じ結合親和性を有するのに対して、イヌ化 51F8 抗体は、それらの親キメラマウス抗体よりもわずかに弱い結合親和性を有することを示している。

【0208】

10

20

30

40

50

【表 7】

表 5B

イヌ化 51F8 及び 218D9 抗体の結合定数

抗体	KD (M)	ka (1/Ms)	kdis (1/s)
キメラ 51F8	2.07E-10	6.84E+05	1.41E-04
c51F8VH3VL6	2.67E-09	4.28E+05	1.14E-03
c51F8VH3VL7	3.99E-09	4.01E+05	1.60E-03
c51F8VH4VL6	1.01E-09	4.45E+05	4.48E-04
c51F8VH4VL7	1.23E-09	4.16E+05	5.12E-04
キメラ 218D9	6.98E-11	6.64E+05	4.63E-05
c218D9VH3VL2	5.28E-10	6.41E+05	3.38E-04
c218D9VH3VL3	4.16E-11	6.61E+05	2.75E-05
c218D9VH4VL2	3.05E-10	5.41E+05	1.65E-04
c218D9VH4VL3	4.47E-11	6.01E+05	2.69E-05

【0209】

〔実施例 12〕

質量分析法を用いたイヌ IL-31 受容体アルファエピトープのマッピング

化学架橋結合及び質量分析検出に基づく方法を用いて、抗イヌ IL-31 受容体アルファ mAb [CovalX Instrument Incorporated、999 Broadway, Suite 305, Saugus, MA 01906-4510 に位置する] によって認識されるエピトープを同定した。イヌ IL-31 受容体アルファ鎖のエピトープマッピングへのこの技術の適用は、以下の表 6 に列挙される mAb によって認識されるエピトープの同定をもたらした。本明細書に開示される抗体によるイヌ IL-31 受容体アルファのエピトープマッピングからの結果は、mAb がイヌ IL-31 受容体アルファ（以下の表 6 を参照されたい）の細胞外ドメイン内に存在する特異的ペプチドエピトープを認識することを示している。表 6 に含まれる 8 つの抗体によるイヌ IL-31 RA のエピトープマッピングからの結果は、mAb が、イヌ IL-31 RA の細胞外ドメイン内に存在する特異的ペプチドエピトープを認識することを示している。注目すべきことに、IL-31 RA-ECD の N 末端から C 末端に分布する 7 つのエピトープが、8 つの抗体によって結合されて同定された。抗体 100H8、51F8、209G5 及び 55B3 は、N 末端に向かってエピトープを共有し、抗体 65G9、85C10 及び 224G3 は、IL-31 RA-ECD の C 末端に向かってエピトープを共有する。抗体 218D9 は、IL-31 RA-ECD の中央部分に位置する 2 つのユニークなエピトープを有する。機能的結果によって示されるように、8 つのモノクローナル抗体は全て、IL-31 によって媒介される STAT-3 リン酸化を阻止し、このことは、7 つのエピトープがイヌ IL-31 RA とそのリガンドとの相互作用において重要であることを意味する。これは、イヌ IL-31 とイヌ IL-31 受容体複合体との相互作用の複雑さを示す。試験した 8 つのモノクローナル抗体のうち 5 つをイヌ化し、IL-31 RA ECD のそれぞれのエピトープの位置及び同定された結合アミノ酸残基の両方を図 6A～6E に示し、以下の表 6 に含める [それぞれ抗体：100H8、51F8、218D9、85C10 及び 224G3 についてのイヌ IL-31 RA 上のエピトープ、並びに cIL-31 R ECD 抗原上のそれぞれのエピトープの配列番号 2 のアミノ酸配列の結合残基の位置を提供する図 6A～図 6E もまた参照されたい]。

【0210】

【表 8】

表 6
抗 IL-31RA モノクローナルによって認識される IL-31RA エピトープ

mAb	配列 番号	エピトープ配列	¹ 結合として同定された残基
100H8	97 103	YWNLDAIMKIEPPEIFSVK RCAPAESMFWSGWSQEKVGT	Y ₉₄ 、K ₁₀₂ 、及び K ₁₁₂ R ₁₈₃ 、S ₁₉₃ 、及び T ₂₀₂
51F8	98 100	KIEPPEIFSVKSVLGIKR TEYVMTLRCAPAES	K ₁₀₂ 、S ₁₁₀ 、K ₁₁₂ 、K ₁₁₈ 、及び R ₁₁₉ T ₁₇₆ 、Y ₁₇₈ 、及び S ₁₈₉
209G5	98 101	KIEPPEIFSVKSVLGIKR YVMTLR	
55B3	99 102	RPVLAPHSSTLKY RCAPAESM	
218D9	104 105	RRPVQLMWKKAT RIPALNEKT	R ₂₂₅ 及び T ₂₃₆ R ₂₉₈ 、K ₃₀₅ 、及び T ₃₀₆
65G9	106 107	RNGFIKNYTIFY RTSYSLQVMAS TNAGGT	
85C10	106 108	RNGFIKNYTIFY SLQVMAS TNAGGTNGT	R ₄₃₀ 、K ₄₃₅ 、T ₄₃₈ 、及び Y ₄₄₁ S ₄₇₂ 、T ₄₇₉ 、及び T ₄₈₇
224G3	109	STNAGGTNGT	S ₄₇₈ 及び T ₄₈₇

¹配列番号 2 のアミノ酸配列を有する c I L - 3 1 R E C D 抗原上の残基位置。

【表 9】

表 7
図 6A~図 6E の配列

図	配列番号	配列
6A	119	SDITYWNLDAIMKIEPPEIFSVKSVLGIKRM
	120	MTLRCAPAESMFWSGWSQEKVGTTEEEAPYG
6B	121	IMKIEPPEIFSVKSVLGIKRM
	122	TELQAFTEYVMTLRCAPAESM
6C	123	AMVDGRRPVQLMWKKATGAPV
	124	GESPVATLRIPALNEKTFQCI
6D	125	RNGFIKNYTIFYQAEDGKEFS
	126#	SYSLQVMAS TNAGGTNGTKIN
6E	126	SYSLQVMAS TNAGGTNGTKIN

#図 6E においても。

【 0 2 1 1 】

10

20

30

40

50

ST.25 SEQUENCE LISTING FROM PRIORITY FILING
SEQUENCE LISTING

<110> Intervet Inc.

Intervet International BV

Morsey, Mohamad

Zhang, Yuanzheng

<120> Caninized Antibodies To Canine Interleukin-31 Receptor Alpha II

<130> 25365-US-PSP

10

<160> 126

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 1521

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> canine with a His Tag

20

<400> 1

gtgctgcccg ccaagcccgga gaacatcagc tgcattctct actacgagga gaacttcacc 60

tgcacctgga gccccgagaa ggaggccagc tacacctggt acaaggtgaa gagaacctac 120

agctacggct acaagagcga catctgcagc accgacaaca gcaccagagg caaccacgcc 180

agctgcagct tctgcccc caccatcacc aaccccgaca actacacat ccaggtggag 240

gcccagaacg cgcagggcat catgaagagc gacatcacct actggaacct ggacgccatc 300

atgaagatcg agcccccgga gatcttcagc gtgaagagcg tgctgggcat caagagaatg 360

ctgcagatca agtggatcag acccgtgctg gccccccaca gcagcacct gaagtacacc 420

ctgagattca gaacatcaa cagcgctac tggatggagg tgaacttcac caaggaggac 480

atcgacagag acgagaccta caacctgacc gagctgcagg ccttcaccga gtacgtgatg 540

acctgagat gcgccccgc cgagagcatg ttctggagcg gctggagcca ggagaagggtg 600

ggcaccaccg aggaggaggc cccctacggc ctggacctgt ggagagtgt gaagccccgc 660

atggtggacg gcagaagacc cgtgcagctg atgtggaaga aggccaccgg cgccccgtg 720

ctggagaagg ccctgggcta caacatctgg tacttccccg agaacaacac caacctgacc 780

gagaccgtga acaccacaa ccagaccac gagctgtacc tggcgggcaa gacctactgg 840

30

40

50

gtgtacgtgg tgagctacaa cagcctgggc gagagccccg tggccaccct gagaatcccc 900
gccctgaacg agaagacctt ccagtgcacg gaggccatgc aggcctgcct gaccacggac 960
cagctgggtgg tggagtggca gagcagcgcc cccgaggtgg acacctggat ggtggagtgg 1020
ttccccgacg tggacagcga gcccagcagc ttacgtggg agagcgtgag ccaggccaga 1080
aactggacca tccagaagga cgagctgaag cccctgtggt gctacaacat cagcgtgtac 1140
cccgtgctga gagacagagt gggccagccc tacagcacc aggcctacgt gcaggagggc 1200
atccccagcg ccggccccgt gaccacggcc gacagcatcg gcgtgaagac cgtgaccatc 1260
acctggaagg agatccccaa gagcaagaga aacggcttca tcaagaacta caccatcttc 1320
taccaggccg aggacggcaa ggagtgcagc aagaccgtga acagcaacat cctgcagtac 1380
agactggaga gcctgaccag aagaaccagc tacagcctgc aggtgatggc cagcaccaac 1440
gccggcggca ccaacggcac caagatcaac ttcaagacc tgagcatcag ccaccaccac 1500
caccaccacc accaccacca c 1521

10

<210> 2
<211> 507
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

20

<220>
<223> canine with a His Tag
<400> 2

Val Leu Pro Ala Lys Pro Glu Asn Ile Ser Cys Ile Phe Tyr Tyr Glu
1 5 10 15

Glu Asn Phe Thr Cys Thr Trp Ser Pro Glu Lys Glu Ala Ser Tyr Thr
20 25 30

30

Trp Tyr Lys Val Lys Arg Thr Tyr Ser Tyr Gly Tyr Lys Ser Asp Ile
35 40 45

Cys Ser Thr Asp Asn Ser Thr Arg Gly Asn His Ala Ser Cys Ser Phe
50 55 60

Leu Pro Pro Thr Ile Thr Asn Pro Asp Asn Tyr Thr Ile Gln Val Glu
65 70 75 80

40

Ala Gln Asn Ala Asp Gly Ile Met Lys Ser Asp Ile Thr Tyr Trp Asn
85 90 95

Leu Asp Ala Ile Met Lys Ile Glu Pro Pro Glu Ile Phe Ser Val Lys
100 105 110

Ser Val Leu Gly Ile Lys Arg Met Leu Gln Ile Lys Trp Ile Arg Pro
115 120 125

Val Leu Ala Pro His Ser Ser Thr Leu Lys Tyr Thr Leu Arg Phe Arg
130 135 140

Thr Ile Asn Ser Ala Tyr Trp Met Glu Val Asn Phe Thr Lys Glu Asp
145 150 155 160

Ile Asp Arg Asp Glu Thr Tyr Asn Leu Thr Glu Leu Gln Ala Phe Thr
165 170 175

Glu Tyr Val Met Thr Leu Arg Cys Ala Pro Ala Glu Ser Met Phe Trp
180 185 190

Ser Gly Trp Ser Gln Glu Lys Val Gly Thr Thr Glu Glu Glu Ala Pro
195 200 205

Tyr Gly Leu Asp Leu Trp Arg Val Leu Lys Pro Ala Met Val Asp Gly
210 215 220

Arg Arg Pro Val Gln Leu Met Trp Lys Lys Ala Thr Gly Ala Pro Val
225 230 235 240

Leu Glu Lys Ala Leu Gly Tyr Asn Ile Trp Tyr Phe Pro Glu Asn Asn
245 250 255

Thr Asn Leu Thr Glu Thr Val Asn Thr Thr Asn Gln Thr His Glu Leu
260 265 270

Tyr Leu Gly Gly Lys Thr Tyr Trp Val Tyr Val Val Ser Tyr Asn Ser
275 280 285

Leu Gly Glu Ser Pro Val Ala Thr Leu Arg Ile Pro Ala Leu Asn Glu

10

20

30

40

50

Lys Thr Phe Gln Cys Ile Glu Ala Met Gln Ala Cys Leu Thr Gln Asp
305 310 315 320

Gln Leu Val Val Glu Trp Gln Ser Ser Ala Pro Glu Val Asp Thr Trp
325 330 335

Met Val Glu Trp Phe Pro Asp Val Asp Ser Glu Pro Ser Ser Phe Ser
340 345 350

10

Trp Glu Ser Val Ser Gln Ala Arg Asn Trp Thr Ile Gln Lys Asp Glu
355 360 365

Leu Lys Pro Leu Trp Cys Tyr Asn Ile Ser Val Tyr Pro Val Leu Arg
370 375 380

Asp Arg Val Gly Gln Pro Tyr Ser Thr Gln Ala Tyr Val Gln Glu Gly
385 390 395 400

20

Ile Pro Ser Ala Gly Pro Val Thr Gln Ala Asp Ser Ile Gly Val Lys
405 410 415

Thr Val Thr Ile Thr Trp Lys Glu Ile Pro Lys Ser Lys Arg Asn Gly
420 425 430

Phe Ile Lys Asn Tyr Thr Ile Phe Tyr Gln Ala Glu Asp Gly Lys Glu
435 440 445

Phe Ser Lys Thr Val Asn Ser Asn Ile Leu Gln Tyr Arg Leu Glu Ser
450 455 460

30

Leu Thr Arg Arg Thr Ser Tyr Ser Leu Gln Val Met Ala Ser Thr Asn
465 470 475 480

Ala Gly Gly Thr Asn Gly Thr Lys Ile Asn Phe Lys Thr Leu Ser Ile
485 490 495

Ser His His His His His His His His His
500 505

40

50

<210> 3
<211> 5
<212> PRT
<213> Mus musculus

<400> 3

Asp Tyr Asn Met Asp
1 5

<210> 4
<211> 5
<212> PRT
<213> Mus musculus

<400> 4

Asp Tyr Ser Ile Asn
1 5

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

<400> 5

Asn Thr Phe Ile His
1 5

<210> 6
<211> 5
<212> PRT
<213> Mus musculus

<400> 6

Asn Thr Tyr Met His
1 5

<210> 7
<211> 5
<212> PRT
<213> Mus musculus

<400> 7

Asp Tyr Gly Met Asn
1 5

10

20

30

40

50

<210> 8
<211> 7
<212> PRT
<213> Mus musculus

<400> 8

Thr Phe Gly Arg Gly Val Gly
1 5

10

<210> 9
<211> 5
<212> PRT
<213> Mus musculus

<400> 9

Ser Tyr Gly Met Ser
1 5

<210> 10
<211> 17
<212> PRT
<213> Mus musculus

20

<400> 10

His Ile Asn Pro Asn Asn Gly Gly Ile Leu Tyr Asn Gln Lys Phe Lys
1 5 10 15

Gly

30

<210> 11
<211> 17
<212> PRT
<213> Mus musculus

<400> 11

His Ile Asn Pro Asn Asn Gly Gly Thr Leu Tyr Asn Gln Lys Phe Lys
1 5 10 15

Asp

40

<210> 12
<211> 17
<212> PRT
<213> Mus musculus

<400> 12

His Ile Asn Pro Asn Ile Gly Gly Thr Leu Tyr Asn Gln Lys Phe Lys
1 5 10 15

Gly 10

<210> 13
<211> 17
<212> PRT
<213> Mus musculus

<400> 13

His Ile Asn Pro Asn Thr Gly Gly Thr Ile Tyr Asn Gln Lys Phe Lys
1 5 10 15

Gly 20

<210> 14
<211> 17
<212> PRT
<213> Mus musculus

<400> 14

Val Ile Asn Pro Asn Tyr Gly Thr Ser Ser His Asn Gln Lys Phe Lys
1 5 10 15

Gly 30

<210> 15
<211> 17
<212> PRT
<213> Mus musculus

<400> 15

Arg Ile Asp Pro Ala Asn Gly Asn Thr Lys Tyr Ala Pro Lys Phe Gln
1 5 10 15

Gly 40

Gly

<210> 16
<211> 17
<212> PRT
<213> Mus musculus

<400> 16

Arg Ile Asp Pro Ala Asn Gly Asn Ser Lys Tyr Ala Pro Lys Phe Gln
1 5 10 15

10

Gly

<210> 17
<211> 17
<212> PRT
<213> Mus musculus

<400> 17

Ile Ile Asn Pro Asn Tyr Gly Thr Ala Ser Ser Asn Pro Lys Phe Lys
1 5 10 15

20

Asp

<210> 18
<211> 16
<212> PRT
<213> Mus musculus

<400> 18

His Ile Trp Trp Asp Asp Asp Lys Tyr Tyr Asn Pro Ala Leu Lys Ser
1 5 10 15

30

<210> 19
<211> 17
<212> PRT
<213> Mus musculus

<400> 19

40

Thr Ile Ser Asn Gly Gly Ser Tyr Thr Tyr Tyr Pro Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 20
<211> 11
<212> PRT
<213> Mus musculus 10

<400> 20

Trp Ala Pro Leu Val Arg Gln Pro Tyr Trp Tyr
1 5 10

<210> 21
<211> 14
<212> PRT
<213> Mus musculus

<400> 21 20

Trp Ala Pro Leu Leu Arg Gln Pro Tyr Trp Tyr Phe Asp Val
1 5 10

<210> 22
<211> 14
<212> PRT
<213> Mus musculus

<400> 22

Trp Ala Gln Leu Gln Arg Gln Pro Tyr Trp Tyr Phe Asp Val
1 5 10

<210> 23
<211> 14
<212> PRT
<213> Mus musculus 30

<400> 23

Trp Ala Gln Leu Leu Arg Gln Pro Tyr Trp Tyr Phe Asp Val
1 5 10

<210> 24
<211> 10 40

<212> PRT
<213> Mus musculus

<400> 24

Ala Leu Asp Asp Tyr Tyr Phe Tyr Trp Tyr
1 5 10

<210> 25
<211> 7
<212> PRT
<213> Mus musculus

10

<400> 25

Tyr Tyr Tyr Val Ser Ser Tyr
1 5

<210> 26
<211> 10
<212> PRT
<213> Mus musculus

20

<400> 26

Tyr Tyr Tyr Val Ser Ser His Phe Asp Val
1 5 10

<210> 27
<211> 13
<212> PRT
<213> Mus musculus

<400> 27

Ala Phe Asp Gly Tyr Tyr Phe Tyr Trp Tyr Phe Asp Val
1 5 10

30

<210> 28
<211> 14
<212> PRT
<213> Mus musculus

<400> 28

Ile Ala Gly Gly Leu Arg Arg Ala Pro Tyr Ala Met Asp Ser
1 5 10

<210> 29

40

<211> 6	
<212> PRT	
<213> Mus musculus	
<400> 29	
Asn Glu Pro Pro Asp Tyr	
1 5	
<210> 30	10
<211> 11	
<212> PRT	
<213> Mus musculus	
<400> 30	
Lys Ala Ser Gln Asp Ile Asn Ser Tyr Leu Asn	
1 5 10	
<210> 31	
<211> 11	
<212> PRT	
<213> Mus musculus	20
<400> 31	
Lys Ala Ser Gln Asp Ile Asn Ser Tyr Phe Asn	
1 5 10	
<210> 32	
<211> 11	
<212> PRT	
<213> Mus musculus	
<400> 32	30
Lys Ala Ser Gln Ser Val Thr Asn Asp Val Thr	
1 5 10	
<210> 33	
<211> 16	
<212> PRT	
<213> Mus musculus	
<400> 33	
Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Thr Asn Gly Asn Thr Tyr Leu His	
1 5 10 15	40

<210> 34
<211> 16
<212> PRT
<213> Mus musculus

<400> 34

Arg Ser Ser Gln Ser Leu Ile His Thr Asn Gly Asn Thr Tyr Leu His
1 5 10 15

<210> 35
<211> 11
<212> PRT
<213> Mus musculus

<400> 35

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

<210> 36
<211> 12
<212> PRT
<213> Mus musculus

<400> 36

Thr Ala Ser Ser Ser Val Gly Ser Ser Tyr Leu His
1 5 10

<210> 37
<211> 7
<212> PRT
<213> Mus musculus

<400> 37

Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser
1 5

<210> 38
<211> 7
<212> PRT
<213> Mus musculus

<400> 38

Arg Val Asn Arg Leu Val Asp
1 5

<210> 39	
<211> 7	
<212> PRT	
<213> Mus musculus	
<400> 39	
Arg Ala Asn Arg Leu Val Asp	
1 5	
<210> 40	10
<211> 7	
<212> PRT	
<213> Mus musculus	
<400> 40	
Arg Ala Asp Arg Leu Val Asp	
1 5	
<210> 41	
<211> 7	
<212> PRT	
<213> Mus musculus	20
<400> 41	
Ser Ala Ser Asn Arg Tyr Thr	
1 5	
<210> 42	
<211> 7	
<212> PRT	
<213> Mus musculus	
<400> 42	30
Tyr Ala Ser Asn Arg Tyr Thr	
1 5	
<210> 43	
<211> 7	
<212> PRT	
<213> Mus musculus	
<400> 43	
Ala Ala Thr Asn Leu Ala Asp	
1 5	40

<210> 44
<211> 7
<212> PRT
<213> Mus musculus

<400> 44

Asp Thr Ser Asn Leu Ala Ser
1 5

<210> 45
<211> 9
<212> PRT
<213> Mus musculus

<400> 45

Leu Gln Tyr Asp Glu Phe Pro Leu Thr
1 5

<210> 46
<211> 9
<212> PRT
<213> Mus musculus

<400> 46

Ser Gln Thr Thr His Val Pro Leu Thr
1 5

<210> 47
<211> 9
<212> PRT
<213> Mus musculus

<400> 47

Gln Gln Asp Tyr Ser Ser Pro Trp Thr
1 5

<210> 48
<211> 9
<212> PRT
<213> Mus musculus

<400> 48

Gln Gln Asp Tyr Ser Ser Pro Phe Thr

1	5	
<210> 49 <211> 9 <212> PRT <213> Mus musculus <400> 49		
His Gln Tyr His Arg Ser Pro Tyr Thr		
1	5	10
<210> 50 <211> 9 <212> PRT <213> Mus musculus <400> 50		
Ser Gln Ser Thr His Val Pro Leu Thr		
1	5	
<210> 51 <211> 9 <212> PRT <213> Mus musculus <400> 51		
Gln His Phe Arg Asp Thr Pro Pro Thr		
1	5	
<210> 52 <211> 123 <212> PRT <213> Mus musculus <400> 52		
Glu Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala		
1	5	1015
Ser Val Lys Ile Pro Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr		
	20	2530
Asn Met Asp Trp Val Lys Gln Ser His Gly Lys Ser Leu Glu Trp Ile		
	35	4045
		40
		50

Gly His Ile Asn Pro Asn Asn Gly Gly Ile Leu Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60

Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Arg Ser Ser Asn Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Arg Ser Leu Thr Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys
85 90 95

Ala Arg Trp Ala Pro Leu Val Arg Gln Pro Tyr Trp Tyr Phe Asp Val
100 105 110

Trp Gly Thr Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 53
<211> 107
<212> PRT
<213> Mus musculus

<400> 53

Asp Ile Lys Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Ile Phe Ala Ser Leu Gly
1 5 10 15

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

Leu Asn Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Lys Thr Leu Ile
35 40 45

Tyr Arg Ala Asp Arg Leu Val Asp Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Gln Asp Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Tyr
65 70 75 80

Glu Asp Met Gly Ile Tyr Tyr Cys Leu Gln Tyr Asp Glu Phe Pro Leu
85 90 95

Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Asn
100 105

10

20

30

40

50

<210> 54
<211> 123
<212> PRT
<213> Mus musculus

<400> 54

Glu Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Leu Val Lys Pro Gly Ser
1 5 10 15

Ser Val Lys Ile Pro Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr
20 25 30

10

Asn Met Asp Trp Val Lys Gln Ser His Gly Lys Ser Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly His Ile Asn Pro Asn Ile Gly Gly Thr Leu Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60

Lys Gly Lys Ala Thr Leu Ser Val Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

20

Met Glu Leu Arg Ser Leu Thr Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Trp Ala Gln Leu Gln Arg Gln Pro Tyr Trp Tyr Phe Asp Val
100 105 110

Trp Gly Pro Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

30

<210> 55
<211> 107
<212> PRT
<213> Mus musculus

<400> 55

Asp Ile Lys Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Met Tyr Ala Ser Leu Gly
1 5 10 15

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

40

Leu Asn Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Lys Thr Leu Ile
35 40 45

Tyr Arg Val Asn Arg Leu Val Asp Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Gln Asp Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Tyr
65 70 75 80

Glu Asp Met Gly Ile Tyr Tyr Cys Leu Gln Tyr Asp Glu Phe Pro Leu
85 90 95

Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys
100 105

<210> 56
<211> 123
<212> PRT
<213> Mus musculus

<400> 56

Glu Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Ile Pro Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr
20 25 30

Asn Met Asp Trp Val Lys Gln Ser His Gly Lys Ser Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly His Ile Asn Pro Asn Thr Gly Gly Thr Ile Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60

Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Asp Leu Arg Ser Leu Thr Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Trp Ala Gln Leu Leu Arg Gln Pro Tyr Trp Tyr Phe Asp Val

10

20

30

40

50

100	105	110	
Trp Gly Thr Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser			
115	120		
<210> 57			
<211> 107			
<212> PRT			
<213> Mus musculus			10
<400> 57			
Asp Ile Lys Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Met Tyr Ala Ser Leu Gly			
1	5	10	15
Glu Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asp Ile Asn Ser Tyr			
20	25	30	
Phe Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Lys Thr Leu Ile			
35	40	45	
Phe Arg Ala Asn Arg Leu Val Asp Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly			20
50	55	60	
Ser Gly Ser Gly Gln Asp Tyr Ser Leu Thr Ile Asn Ser Leu Glu Tyr			
65	70	75	80
Glu Asp Met Gly Ile Tyr Tyr Cys Leu Gln Tyr Asp Glu Phe Pro Leu			
85	90	95	
Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys			
100	105		30
<210> 58			
<211> 123			
<212> PRT			
<213> Mus musculus			
<400> 58			
Glu Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala			
1	5	10	15
Ser Met Lys Ile Pro Cys Lys Thr Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr			40

20	25	30	
Asn Met Asp Trp Val Lys Gln Ser His Gly Lys Ser Leu Glu Trp Ile			
35	40	45	
Gly His Ile Asn Pro Asn Asn Gly Gly Thr Leu Tyr Asn Gln Lys Phe			
50	55	60	
Lys Asp Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Arg Ser Ser Asn Thr Ala Tyr			
65	70	75	80
Met Glu Leu Arg Ser Leu Thr Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys			
85	90	95	
Ala Arg Trp Ala Pro Leu Leu Arg Gln Pro Tyr Trp Tyr Phe Asp Val			
100	105	110	
Trp Gly Thr Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser			
115	120		
<210> 59			
<211> 107			
<212> PRT			
<213> Mus musculus			
<400> 59			
Asp Ile Lys Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Met Tyr Ala Ser Leu Gly			
1	5	10	15
Glu Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asp Ile Asn Ser Tyr			
20	25	30	
Leu Asn Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Lys Thr Leu Ile			
35	40	45	
Tyr Arg Ala Asp Arg Leu Val Asp Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly			
50	55	60	
Ser Gly Ser Gly Gln Asp Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Tyr			
65	70	75	80

10

20

30

40

50

Glu Asp Met Gly Ile Tyr Tyr Cys Leu Gln Tyr Asp Glu Phe Pro Leu
85 90 95

Thr Phe Gly Asp Gly Thr Lys Leu Glu Leu Asn
100 105

<210> 60
<211> 119
<212> PRT
<213> Mus musculus

<400> 60

10

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

Ser Val Lys Leu Ser Cys Thr Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asn Thr
20 25 30

Tyr Met His Trp Val Lys Glu Arg Pro Glu Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

20

Gly Arg Ile Asp Pro Ala Asn Gly Asn Ser Lys Tyr Ala Pro Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Lys Ala Thr Ile Thr Thr Asp Thr Ser Ser Asn Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Tyr Tyr Tyr Val Ser Ser His Phe Asp Val Trp Gly Thr Gly
100 105 110

30

Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 61
<211> 107
<212> PRT
<213> Mus musculus

<400> 61

40

Ser Ile Val Met Thr Gln Thr Pro Lys Phe Leu Leu Val Ser Ala Gly
1 5 10 15

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

Val Thr Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Tyr Ala Ser Asn Arg Tyr Thr Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly
50 55 60

Ser Gly Tyr Gly Thr Asp Phe Thr Phe Thr Ile Ser Thr Val Gln Ala
65 70 75 80

Glu Asp Leu Ala Val Tyr Phe Cys Gln Gln Asp Tyr Ser Ser Pro Phe
85 90 95

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

<210> 62
<211> 119
<212> PRT
<213> Mus musculus

<400> 62

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

Ser Val Lys Leu Ser Cys Thr Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asn Thr
20 25 30

Phe Ile His Trp Val Lys Gln Arg Pro Glu Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Arg Ile Asp Pro Ala Asn Gly Asn Thr Lys Tyr Ala Pro Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Ala Thr Leu Thr Ala Asp Thr Ser Ser Asn Thr Ala Tyr
65 70 75 80

10

20

30

40

50

Leu Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Tyr Tyr Tyr Val Ser Ser Tyr Phe Asp Val Trp Gly Thr Gly
100 105 110

Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 63
<211> 107
<212> PRT
<213> Mus musculus

<400> 63

10

Ser Ile Val Met Thr Gln Thr Pro Lys Phe Leu Leu Val Ser Ala Gly
1 5 10 15

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

20

Val Thr Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Phe Ser Ala Ser Asn Arg Tyr Thr Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly
50 55 60

Ser Gly Tyr Gly Thr Asp Phe Thr Phe Thr Ile Ser Thr Val Gln Ala
65 70 75 80

Glu Asp Leu Ala Val Tyr Phe Cys Gln Gln Asp Tyr Ser Ser Pro Trp
85 90 95

30

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

<210> 64
<211> 122
<212> PRT
<213> Mus musculus

<400> 64

40

Glu Phe Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Asp Tyr
20 25 30

Gly Met Asn Trp Leu Lys Gln Ile Asn Gly Lys Ser Leu Glu Trp Ile
35 40 45

10

Ala Ile Ile Asn Pro Asn Tyr Gly Thr Ala Ser Ser Asn Pro Lys Phe
50 55 60

Lys Asp Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp His Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Ala Phe Asp Gly Tyr Tyr Phe Tyr Trp Tyr Phe Asp Val Trp
100 105 110

20

Gly Thr Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 65
<211> 112
<212> PRT
<213> Mus musculus

<400> 65

30

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

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

Asn Gly Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
35 40 45

Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60

40

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

Ser Arg Leu Glu Ala Glu Asp Leu Gly Val Tyr Phe Cys Ser Gln Ser
85 90 95

Thr His Val Pro Leu Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Arg
100 105 110

10

<210> 66
<211> 122
<212> PRT
<213> Mus musculus

<400> 66

Glu Phe Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Asp Tyr
20 25 30

20

Ser Ile Asn Trp Val Lys Gln Ser Asn Gly Lys Ser Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Val Ile Asn Pro Asn Tyr Gly Thr Ser Ser His Asn Gln Lys Phe
50 55 60

Lys Gly Lys Ala Thr Met Thr Val Asp Gln Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

30

Met Gln Leu Asn Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Ala Leu Asp Asp Tyr Tyr Phe Tyr Trp Tyr Phe Asp Val Trp
100 105 110

Gly Ile Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 67

40

<211> 112
<212> PRT
<213> Mus musculus

<400> 67

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

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

10

Asn Gly Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
35 40 45

Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60

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

20

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Val Tyr Phe Cys Ser Gln Thr
85 90 95

Thr His Val Pro Leu Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys
100 105 110

<210> 68
<211> 124
<212> PRT
<213> Mus musculus

<400> 68

30

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ser Phe Ser Gly Phe Ser Leu Ser Thr Phe
20 25 30

Gly Arg Gly Val Gly Trp Ile Arg Gln Pro Ser Gly Lys Gly Leu Asp
35 40 45

Trp Leu Thr His Ile Trp Trp Asp Asp Asp Lys Tyr Tyr Asn Pro Ala

40

50	55	60	
Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys Asn Gln Val			
65	70	75	80
Phe Leu Lys Ile Ala Asn Val Asp Thr Ala Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr			
85	90	95	
Cys Ala Arg Ile Ala Gly Gly Leu Arg Arg Ala Pro Tyr Ala Met Asp			10
100	105	110	
Ser Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser			
115	120		
<210> 69			
<211> 107			
<212> PRT			
<213> Mus musculus			
<400> 69			20
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ala Ser Leu Ser Val Ser Val Gly			
1	5	10	15
Glu Thr Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Glu Asn Ile Tyr Ser Ser			
20	25	30	
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Gln Gly Lys Ser Pro Gln Leu Leu Val			
35	40	45	
Tyr Ala Ala Thr Asn Leu Ala Asp Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly			30
50	55	60	
Ser Gly Ser Gly Thr Gln Tyr Ser Leu Lys Ile Asn Ser Leu Gln Ser			
65	70	75	80
Glu Asp Ser Gly Asn Tyr Tyr Cys Gln His Phe Arg Asp Thr Pro Pro			
85	90	95	
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys			40
100	105		

<210> 70
<211> 115
<212> PRT
<213> Mus musculus

<400> 70

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Asp Leu Val Lys Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30
10

Gly Met Ser Trp Val Arg Gln Thr Pro Asp Lys Arg Leu Glu Trp Val
35 40 45

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

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80
20

Met Gln Met Ser Ser Leu Lys Ser Glu Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Asn Glu Pro Pro Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr
100 105 110

Val Ser Ser
115

30

<210> 71
<211> 108
<212> PRT
<213> Mus musculus

<400> 71

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

Glu Arg Val Thr Met Thr Cys Thr Ala Ser Ser Ser Val Gly Ser Ser
20 25 30
40

Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Ser Ser Pro Lys Leu Trp
35 40 45

Ile Tyr Asp Thr Ser Asn Leu Ala Ser Gly Val Pro Val Arg Phe Ser
50 55 60

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

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

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

<210> 72
<211> 454
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> caninized mouse

<400> 72

Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Thr Ser Gly Tyr Thr Phe Ile Asn Thr
20 25 30

Phe Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Ala Gly Leu Asp Trp Met
35 40 45

Gly Gln Ile Asp Pro Ala Asn Gly Asn Thr Lys Tyr Ala Pro Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Leu Thr Ala Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ala Gly Asp Ile Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

10

20

30

40

50

Ala Arg Tyr Tyr Tyr Val Ser Ser Tyr Phe Asp Val Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Thr Ala Pro Ser Val Phe
115 120 125

Pro Leu Ala Pro Ser Cys Gly Ser Thr Ser Gly Ser Thr Val Ala Leu
130 135 140

Ala Cys Leu Val Ser Gly Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145 150 155 160

Asn Ser Gly Ser Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ser Val Leu
165 170 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Met Val Thr Val Pro Ser
180 185 190

Ser Arg Trp Pro Ser Glu Thr Phe Thr Cys Asn Val Ala His Pro Ala
195 200 205

Ser Lys Thr Lys Val Asp Lys Pro Val Pro Lys Arg Glu Asn Gly Arg
210 215 220

Val Pro Arg Pro Pro Asp Cys Pro Lys Cys Pro Ala Pro Glu Met Leu
225 230 235 240

Gly Gly Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
245 250 255

Leu Ile Ala Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Ala Leu Asp
260 265 270

Pro Glu Asp Pro Glu Val Gln Ile Ser Trp Phe Val Asp Gly Lys Gln
275 280 285

Met Gln Thr Ala Lys Thr Gln Pro Arg Glu Glu Gln Phe Ala Gly Thr
290 295 300

Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro Ile Gly His Gln Asp Trp Leu Lys
305 310 315 320

10

20

30

40

50

Gly Lys Gln Phe Thr Cys Lys Val Asn Asn Lys Ala Leu Pro Ser Pro
325 330 335

Ile Glu Arg Thr Ile Ser Lys Ala Arg Gly Gln Ala His Gln Pro Ser
340 345 350

Val Tyr Val Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Leu Ser Lys Asn Thr Val
355 360 365

Ser Leu Thr Cys Leu Ile Lys Asp Phe Phe Pro Pro Asp Ile Asp Val
370 375 380

Glu Trp Gln Ser Asn Gly Gln Gln Glu Pro Glu Ser Lys Tyr Arg Thr
385 390 395 400

Thr Pro Pro Gln Leu Asp Glu Asp Gly Ser Tyr Phe Leu Tyr Ser Lys
405 410 415

Leu Ser Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Arg Gly Asp Thr Phe Ile Cys
420 425 430

Ala Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Glu Ser Leu
435 440 445

Ser His Ser Pro Gly Lys
450

<210> 73
<211> 454
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> caninized mouse

<400> 73

Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Thr Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asn Thr
20 25 30

10

20

30

40

50

Phe Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Ala Gly Leu Asp Trp Ile
35 40 45

Gly Arg Ile Asp Pro Ala Asn Gly Asn Thr Lys Tyr Ala Pro Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Leu Thr Ala Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

10

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ala Gly Asp Ile Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Tyr Tyr Tyr Val Ser Ser Tyr Phe Asp Val Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Thr Ala Pro Ser Val Phe
115 120 125

20

Pro Leu Ala Pro Ser Cys Gly Ser Thr Ser Gly Ser Thr Val Ala Leu
130 135 140

Ala Cys Leu Val Ser Gly Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145 150 155 160

Asn Ser Gly Ser Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ser Val Leu
165 170 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Met Val Thr Val Pro Ser
180 185 190

30

Ser Arg Trp Pro Ser Glu Thr Phe Thr Cys Asn Val Ala His Pro Ala
195 200 205

Ser Lys Thr Lys Val Asp Lys Pro Val Pro Lys Arg Glu Asn Gly Arg
210 215 220

Val Pro Arg Pro Pro Asp Cys Pro Lys Cys Pro Ala Pro Glu Met Leu
225 230 235 240

40

50

Gly Gly Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
245 250 255

Leu Ile Ala Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Ala Leu Asp
260 265 270

Pro Glu Asp Pro Glu Val Gln Ile Ser Trp Phe Val Asp Gly Lys Gln
275 280 285

Met Gln Thr Ala Lys Thr Gln Pro Arg Glu Glu Gln Phe Ala Gly Thr
290 295 300

Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro Ile Gly His Gln Asp Trp Leu Lys
305 310 315 320

Gly Lys Gln Phe Thr Cys Lys Val Asn Asn Lys Ala Leu Pro Ser Pro
325 330 335

Ile Glu Arg Thr Ile Ser Lys Ala Arg Gly Gln Ala His Gln Pro Ser
340 345 350

Val Tyr Val Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Leu Ser Lys Asn Thr Val
355 360 365

Ser Leu Thr Cys Leu Ile Lys Asp Phe Phe Pro Pro Asp Ile Asp Val
370 375 380

Glu Trp Gln Ser Asn Gly Gln Gln Glu Pro Glu Ser Lys Tyr Arg Thr
385 390 395 400

Thr Pro Pro Gln Leu Asp Glu Asp Gly Ser Tyr Phe Leu Tyr Ser Lys
405 410 415

Leu Ser Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Arg Gly Asp Thr Phe Ile Cys
420 425 430

Ala Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Glu Ser Leu
435 440 445

Ser His Ser Pro Gly Lys
450

10

20

30

40

50

<210> 74
<211> 454
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> caninized mouse

<400> 74

Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

10

Ser Val Lys Val Ser Cys Thr Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asn Thr
20 25 30

Phe Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Ala Gly Leu Asp Trp Ile
35 40 45

Gly Arg Ile Asp Pro Ala Asn Gly Asn Thr Lys Tyr Ala Pro Lys Phe
50 55 60

20

Gln Gly Arg Ala Thr Leu Thr Ala Asp Thr Ser Thr Asn Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Gln Leu Ser Ser Leu Arg Ala Gly Asp Ile Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Tyr Tyr Tyr Val Ser Ser Tyr Phe Asp Val Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Thr Ala Pro Ser Val Phe
115 120 125

30

Pro Leu Ala Pro Ser Cys Gly Ser Thr Ser Gly Ser Thr Val Ala Leu
130 135 140

Ala Cys Leu Val Ser Gly Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145 150 155 160

Asn Ser Gly Ser Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ser Val Leu
165 170 175

40

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Met Val Thr Val Pro Ser
180 185 190

Ser Arg Trp Pro Ser Glu Thr Phe Thr Cys Asn Val Ala His Pro Ala
195 200 205

Ser Lys Thr Lys Val Asp Lys Pro Val Pro Lys Arg Glu Asn Gly Arg
210 215 220

10

Val Pro Arg Pro Pro Asp Cys Pro Lys Cys Pro Ala Pro Glu Met Leu
225 230 235 240

Gly Gly Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
245 250 255

Leu Ile Ala Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Ala Leu Asp
260 265 270

20

Pro Glu Asp Pro Glu Val Gln Ile Ser Trp Phe Val Asp Gly Lys Gln
275 280 285

Met Gln Thr Ala Lys Thr Gln Pro Arg Glu Glu Gln Phe Ala Gly Thr
290 295 300

Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro Ile Gly His Gln Asp Trp Leu Lys
305 310 315 320

Gly Lys Gln Phe Thr Cys Lys Val Asn Asn Lys Ala Leu Pro Ser Pro
325 330 335

30

Ile Glu Arg Thr Ile Ser Lys Ala Arg Gly Gln Ala His Gln Pro Ser
340 345 350

Val Tyr Val Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Leu Ser Lys Asn Thr Val
355 360 365

Ser Leu Thr Cys Leu Ile Lys Asp Phe Phe Pro Pro Asp Ile Asp Val
370 375 380

40

50

Glu Trp Gln Ser Asn Gly Gln Gln Glu Pro Glu Ser Lys Tyr Arg Thr
385 390 395 400

Thr Pro Pro Gln Leu Asp Glu Asp Gly Ser Tyr Phe Leu Tyr Ser Lys
405 410 415

Leu Ser Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Arg Gly Asp Thr Phe Ile Cys
420 425 430

10

Ala Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Glu Ser Leu
435 440 445

Ser His Ser Pro Gly Lys
450

<210> 75
<211> 564
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

20

<220>
<223> caninized mouse

<400> 75

Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Val Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Thr Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asn Thr
20 25 30

Phe Ile His Trp Val Arg Gln Arg Pro Gly Ala Gly Leu Asp Trp Ile
35 40 45

30

Gly Arg Ile Asp Pro Ala Asn Gly Asn Thr Lys Tyr Ala Pro Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Ala Thr Leu Thr Ala Asp Thr Ser Thr Asn Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Gln Leu Ser Ser Leu Arg Ala Gly Asp Ile Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

40

50

Ala Arg Tyr Tyr Tyr Val Ser Ser Tyr Phe Asp Val Trp Gly Thr Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Thr Ala Pro Ser Val Phe
115 120 125

Pro Leu Ala Pro Ser Cys Gly Ser Thr Ser Gly Ser Thr Val Ala Leu
130 135 140

Ala Cys Leu Val Ser Gly Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145 150 155 160

Asn Ser Gly Ser Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ser Val Leu
165 170 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Met Val Thr Val Pro Ser
180 185 190

Ser Arg Trp Pro Ser Glu Thr Phe Thr Cys Asn Val Ala His Pro Ala
195 200 205

Ser Lys Thr Lys Val Asp Lys Pro Val Pro Lys Arg Glu Asn Gly Arg
210 215 220

Val Pro Arg Pro Pro Asp Cys Pro Lys Cys Pro Ala Pro Glu Met Leu
225 230 235 240

Gly Gly Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
245 250 255

Leu Ile Ala Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Ala Leu Asp
260 265 270

Pro Glu Asp Pro Glu Val Gln Ile Ser Trp Phe Val Asp Gly Lys Gln
275 280 285

Met Gln Thr Ala Lys Thr Gln Pro Arg Glu Glu Gln Phe Ala Gly Thr
290 295 300

Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro Ile Gly His Gln Asp Trp Leu Lys
305 310 315 320

10

20

30

40

50

Gly Lys Gln Phe Thr Cys Lys Val Asn Asn Lys Ala Leu Pro Ser Pro
325 330 335

Ile Glu Arg Thr Ile Ser Lys Ala Arg Gly Gln Ala His Gln Pro Ser
340 345 350

Val Tyr Val Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Leu Ser Lys Asn Thr Val
355 360 365

10

Ser Leu Thr Cys Leu Ile Lys Asp Phe Phe Pro Pro Asp Ile Asp Val
370 375 380

Glu Trp Gln Ser Asn Gly Gln Gln Glu Pro Glu Ser Lys Tyr Arg Thr
385 390 395 400

Thr Pro Pro Gln Leu Asp Glu Asp Gly Ser Tyr Phe Leu Tyr Ser Lys
405 410 415

20

Leu Ser Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Arg Gly Asp Thr Phe Ile Cys
420 425 430

Ala Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Glu Ser Leu
435 440 445

Ser His Ser Pro Gly Lys Arg Asn Asp Ala Gln Pro Ala Val Tyr Leu
450 455 460

Phe Gln Pro Ser Pro Asp Gln Leu His Thr Gly Ser Ala Ser Val Val
465 470 475 480

30

Cys Leu Leu Asn Ser Phe Tyr Pro Lys Asp Ile Asn Val Lys Trp Lys
485 490 495

Val Asp Gly Val Ile Gln Asp Thr Gly Ile Gln Glu Ser Val Thr Glu
500 505 510

Gln Asp Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Met Ser
515 520 525

40

50

Ser Thr Glu Tyr Leu Ser His Glu Leu Tyr Ser Cys Glu Ile Thr His
530 535 540

Lys Ser Leu Pro Ser Thr Leu Ile Lys Ser Phe Gln Arg Ser Glu Cys
545 550 555 560

Gln Arg Val Asp

10

<210> 76
<211> 217
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> caninized mouse

<400> 76

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

20

Glu Lys Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Ser Val Thr Asn Asp
20 25 30

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

Tyr Ser Ala Ser Asn Arg Tyr Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

30

Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Asp Tyr Ser Ser Pro Trp
85 90 95

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

Pro Ala Val Tyr Leu Phe Gln Pro Ser Pro Asp Gln Leu His Thr Gly
115 120 125

40

50

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

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

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

10

Thr Leu Thr Met Ser Ser Thr Glu Tyr Leu Ser His Glu Leu Tyr Ser
180 185 190

Cys Glu Ile Thr His Lys Ser Leu Pro Ser Thr Leu Ile Lys Ser Phe
195 200 205

Gln Arg Ser Glu Cys Gln Arg Val Asp
210 215

<210> 77

20

<211> 217

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> caninized mouse

<400> 77

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

Glu Thr Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gln Ser Val Thr Asn Asp
20 25 30

30

Val Thr Trp Phe Arg Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Gln Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Ser Ala Ser Asn Arg Tyr Thr Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

40

50

Asp Asp Thr Gly Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Asp Tyr Ser Ser Pro Trp
85 90 95

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

Pro Ala Val Tyr Leu Phe Gln Pro Ser Pro Asp Gln Leu His Thr Gly
115 120 125

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

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

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

Thr Leu Thr Met Ser Ser Thr Glu Tyr Leu Ser His Glu Leu Tyr Ser
180 185 190

Cys Glu Ile Thr His Lys Ser Leu Pro Ser Thr Leu Ile Lys Ser Phe
195 200 205

Gln Arg Ser Glu Cys Gln Arg Val Asp
210 215

<210> 78
<211> 217
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> caninized mouse

<400> 78

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

Glu Thr Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gln Ser Val Thr Asn Asp
20 25 30

10

20

30

40

50

Val Thr Trp Phe Arg Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Ser Ala Ser Asn Arg Tyr Thr Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

Asp Asp Thr Gly Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Asp Tyr Ser Ser Pro Trp
85 90 95

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

Pro Ala Val Tyr Leu Phe Gln Pro Ser Pro Asp Gln Leu His Thr Gly
115 120 125

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

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

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

Thr Leu Thr Met Ser Ser Thr Glu Tyr Leu Ser His Glu Leu Tyr Ser
180 185 190

Cys Glu Ile Thr His Lys Ser Leu Pro Ser Thr Leu Ile Lys Ser Phe
195 200 205

Gln Arg Ser Glu Cys Gln Arg Val Asp
210 215

<210> 79
<211> 458
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>

10

20

30

40

50

<223> caninized mouse

<400> 79

Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Thr Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr
20 25 30

Asn Met Asp Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Ala Gly Leu Asp Trp Met
35 40 45

Gly His Ile Asn Pro Asn Asn Gly Gly Ile Leu Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60

Lys Gly Arg Val Thr Leu Thr Ala Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ala Gly Asp Ile Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Trp Ala Pro Leu Val Arg Gln Pro Tyr Trp Tyr Phe Asp Val
100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Thr Ala
115 120 125

Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Cys Gly Ser Thr Ser Gly Ser
130 135 140

Thr Val Ala Leu Ala Cys Leu Val Ser Gly Tyr Phe Pro Glu Pro Val
145 150 155 160

Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ser Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe
165 170 175

Pro Ser Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Met Val
180 185 190

Thr Val Pro Ser Ser Arg Trp Pro Ser Glu Thr Phe Thr Cys Asn Val
195 200 205

10

20

30

40

50

Ala His Pro Ala Ser Lys Thr Lys Val Asp Lys Pro Val Pro Lys Arg
210 215 220

Glu Asn Gly Arg Val Pro Arg Pro Pro Asp Cys Pro Lys Cys Pro Ala
225 230 235 240

Pro Glu Met Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Lys Pro
245 250 255

10

Lys Asp Thr Leu Leu Ile Ala Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val
260 265 270

Val Ala Leu Asp Pro Glu Asp Pro Glu Val Gln Ile Ser Trp Phe Val
275 280 285

Asp Gly Lys Gln Met Gln Thr Ala Lys Thr Gln Pro Arg Glu Glu Gln
290 295 300

20

Phe Ala Gly Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro Ile Gly His Gln
305 310 315 320

Asp Trp Leu Lys Gly Lys Gln Phe Thr Cys Lys Val Asn Asn Lys Ala
325 330 335

Leu Pro Ser Pro Ile Glu Arg Thr Ile Ser Lys Ala Arg Gly Gln Ala
340 345 350

His Gln Pro Ser Val Tyr Val Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Leu Ser
355 360 365

30

Lys Asn Thr Val Ser Leu Thr Cys Leu Ile Lys Asp Phe Phe Pro Pro
370 375 380

Asp Ile Asp Val Glu Trp Gln Ser Asn Gly Gln Gln Glu Pro Glu Ser
385 390 395 400

Lys Tyr Arg Thr Thr Pro Pro Gln Leu Asp Glu Asp Gly Ser Tyr Phe
405 410 415

40

50

Leu Tyr Ser Lys Leu Ser Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Arg Gly Asp
420 425 430

Thr Phe Ile Cys Ala Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
435 440 445

Gln Glu Ser Leu Ser His Ser Pro Gly Lys
450 455

10

<210> 80
<211> 458
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> caninized mouse

<400> 80

Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

20

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr
20 25 30

Asn Met Asp Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Ala Gly Leu Asp Trp Ile
35 40 45

Gly His Ile Asn Pro Asn Asn Gly Gly Ile Leu Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60

Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

30

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ala Gly Asp Ile Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Trp Ala Pro Leu Val Arg Gln Pro Tyr Trp Tyr Phe Asp Val
100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Thr Ala
115 120 125

40

50

Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Cys Gly Ser Thr Ser Gly Ser
130 135 140

Thr Val Ala Leu Ala Cys Leu Val Ser Gly Tyr Phe Pro Glu Pro Val
145 150 155 160

Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ser Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe
165 170 175

Pro Ser Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Met Val
180 185 190

Thr Val Pro Ser Ser Arg Trp Pro Ser Glu Thr Phe Thr Cys Asn Val
195 200 205

Ala His Pro Ala Ser Lys Thr Lys Val Asp Lys Pro Val Pro Lys Arg
210 215 220

Glu Asn Gly Arg Val Pro Arg Pro Pro Asp Cys Pro Lys Cys Pro Ala
225 230 235 240

Pro Glu Met Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Lys Pro
245 250 255

Lys Asp Thr Leu Leu Ile Ala Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val
260 265 270

Val Ala Leu Asp Pro Glu Asp Pro Glu Val Gln Ile Ser Trp Phe Val
275 280 285

Asp Gly Lys Gln Met Gln Thr Ala Lys Thr Gln Pro Arg Glu Glu Gln
290 295 300

Phe Ala Gly Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro Ile Gly His Gln
305 310 315 320

Asp Trp Leu Lys Gly Lys Gln Phe Thr Cys Lys Val Asn Asn Lys Ala
325 330 335

Leu Pro Ser Pro Ile Glu Arg Thr Ile Ser Lys Ala Arg Gly Gln Ala
340 345 350

10

20

30

40

50

His Gln Pro Ser Val Tyr Val Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Leu Ser
355 360 365

Lys Asn Thr Val Ser Leu Thr Cys Leu Ile Lys Asp Phe Phe Pro Pro
370 375 380

Asp Ile Asp Val Glu Trp Gln Ser Asn Gly Gln Gln Glu Pro Glu Ser
385 390 395 400

10

Lys Tyr Arg Thr Thr Pro Pro Gln Leu Asp Glu Asp Gly Ser Tyr Phe
405 410 415

Leu Tyr Ser Lys Leu Ser Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Arg Gly Asp
420 425 430

Thr Phe Ile Cys Ala Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
435 440 445

Gln Glu Ser Leu Ser His Ser Pro Gly Lys
450 455

20

<210> 81
<211> 458
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> caninized mouse

<400> 81

30

Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr
20 25 30

Asn Met Asp Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Ala Gly Leu Asp Trp Ile
35 40 45

Gly His Ile Asn Pro Asn Asn Gly Gly Ile Leu Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60

40

50

Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Arg Ser Thr Asn Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ala Gly Asp Ile Ala Val Tyr Phe Cys
 85 90 95

Ala Arg Trp Ala Pro Leu Val Arg Gln Pro Tyr Trp Tyr Phe Asp Val
 100 105 110

10

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Thr Ala
 115 120 125

Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Cys Gly Ser Thr Ser Gly Ser
 130 135 140

Thr Val Ala Leu Ala Cys Leu Val Ser Gly Tyr Phe Pro Glu Pro Val
145 150 155 160

20

Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ser Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe
 165 170 175

Pro Ser Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Met Val
 180 185 190

Thr Val Pro Ser Ser Arg Trp Pro Ser Glu Thr Phe Thr Cys Asn Val
 195 200 205

Ala His Pro Ala Ser Lys Thr Lys Val Asp Lys Pro Val Pro Lys Arg
 210 215 220

30

Glu Asn Gly Arg Val Pro Arg Pro Pro Asp Cys Pro Lys Cys Pro Ala
225 230 235 240

Pro Glu Met Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Lys Pro
 245 250 255

Lys Asp Thr Leu Leu Ile Ala Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val
 260 265 270

40

50

Val Ala Leu Asp Pro Glu Asp Pro Glu Val Gln Ile Ser Trp Phe Val
275 280 285

Asp Gly Lys Gln Met Gln Thr Ala Lys Thr Gln Pro Arg Glu Glu Gln
290 295 300

Phe Ala Gly Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro Ile Gly His Gln
305 310 315 320

Asp Trp Leu Lys Gly Lys Gln Phe Thr Cys Lys Val Asn Asn Lys Ala
325 330 335

Leu Pro Ser Pro Ile Glu Arg Thr Ile Ser Lys Ala Arg Gly Gln Ala
340 345 350

His Gln Pro Ser Val Tyr Val Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Leu Ser
355 360 365

Lys Asn Thr Val Ser Leu Thr Cys Leu Ile Lys Asp Phe Phe Pro Pro
370 375 380

Asp Ile Asp Val Glu Trp Gln Ser Asn Gly Gln Gln Glu Pro Glu Ser
385 390 395 400

Lys Tyr Arg Thr Thr Pro Pro Gln Leu Asp Glu Asp Gly Ser Tyr Phe
405 410 415

Leu Tyr Ser Lys Leu Ser Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Arg Gly Asp
420 425 430

Thr Phe Ile Cys Ala Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
435 440 445

Gln Glu Ser Leu Ser His Ser Pro Gly Lys
450 455

<210> 82

<211> 217

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

10

20

30

40

50

<223> caninized mouse

<400> 82

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

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

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

Tyr Arg Ala Asp Arg Leu Val Asp Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Leu Gln Tyr Asp Glu Phe Pro Leu
85 90 95

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

Pro Ala Val Tyr Leu Phe Gln Pro Ser Pro Asp Gln Leu His Thr Gly
115 120 125

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

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

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

Thr Leu Thr Met Ser Ser Thr Glu Tyr Leu Ser His Glu Leu Tyr Ser
180 185 190

Cys Glu Ile Thr His Lys Ser Leu Pro Ser Thr Leu Ile Lys Ser Phe
195 200 205

10

20

30

40

50

Gln Arg Ser Glu Cys Gln Arg Val Asp
210 215

<210> 83
<211> 217
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> caninized mouse

10

<400> 83

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

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

Leu Asn Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

20

Tyr Arg Ala Asp Arg Leu Val Asp Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Leu Gln Tyr Asp Glu Phe Pro Leu
85 90 95

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

30

Pro Ala Val Tyr Leu Phe Gln Pro Ser Pro Asp Gln Leu His Thr Gly
115 120 125

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

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

40

50

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

Thr Leu Thr Met Ser Ser Thr Glu Tyr Leu Ser His Glu Leu Tyr Ser
180 185 190

Cys Glu Ile Thr His Lys Ser Leu Pro Ser Thr Leu Ile Lys Ser Phe
195 200 205

10

Gln Arg Ser Glu Cys Gln Arg Val Asp
210 215

<210> 84

<211> 217

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> caninized mouse

<400> 84

20

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

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

Leu Asn Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Arg Ala Asp Arg Leu Val Asp Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

30

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

Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Leu Gln Tyr Asp Glu Phe Pro Leu
85 90 95

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

40

50

Pro Ala Val Tyr Leu Phe Gln Pro Ser Pro Asp Gln Leu His Thr Gly
115 120 125

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

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

10

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

Thr Leu Thr Met Ser Ser Thr Glu Tyr Leu Ser His Glu Leu Tyr Ser
180 185 190

Cys Glu Ile Thr His Lys Ser Leu Pro Ser Thr Leu Ile Lys Ser Phe
195 200 205

Gln Arg Ser Glu Cys Gln Arg Val Asp
210 215

20

<210> 85
<211> 217
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> caninized mouse

<400> 85

30

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

Glu Thr Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gln Asp Ile Asn Ser Tyr
20 25 30

Leu Asn Trp Phe Arg Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Gln Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Arg Ala Asp Arg Leu Val Asp Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly
50 55 60

40

50

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

Asp Asp Thr Gly Val Tyr Tyr Cys Leu Gln Tyr Asp Glu Phe Pro Leu
85 90 95

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

10

Pro Ala Val Tyr Leu Phe Gln Pro Ser Pro Asp Gln Leu His Thr Gly
115 120 125

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

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

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

20

Thr Leu Thr Met Ser Ser Thr Glu Tyr Leu Ser His Glu Leu Tyr Ser
180 185 190

Cys Glu Ile Thr His Lys Ser Leu Pro Ser Thr Leu Ile Lys Ser Phe
195 200 205

Gln Arg Ser Glu Cys Gln Arg Val Asp
210 215

30

<210> 86
<211> 459
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> caninized mouse

<400> 86

Glu Leu Thr Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Gln
1 5 10 15

40

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Val Val Ser Gly Gly Ser Val Thr Thr Phe
20 25 30

Gly Arg Gly Val Gly Trp Ile Arg Gln Arg Pro Gly Arg Gly Leu Glu
35 40 45

Trp Met Gly His Ile Trp Trp Asp Asp Asp Lys Tyr Tyr Asn Pro Ala
50 55 60

10

Leu Lys Ser Arg Ile Ser Ile Thr Ala Asp Thr Ala Lys Asn Gln Phe
65 70 75 80

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

Cys Ala Arg Ile Ala Gly Gly Leu Arg Arg Ala Pro Tyr Ala Met Asp
100 105 110

20

Ser Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Thr
115 120 125

Ala Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Cys Gly Ser Thr Ser Gly
130 135 140

Ser Thr Val Ala Leu Ala Cys Leu Val Ser Gly Tyr Phe Pro Glu Pro
145 150 155 160

Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ser Leu Thr Ser Gly Val His Thr
165 170 175

30

Phe Pro Ser Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Met
180 185 190

Val Thr Val Pro Ser Ser Arg Trp Pro Ser Glu Thr Phe Thr Cys Asn
195 200 205

Val Ala His Pro Ala Ser Lys Thr Lys Val Asp Lys Pro Val Pro Lys
210 215 220

40

50

Arg Glu Asn Gly Arg Val Pro Arg Pro Pro Asp Cys Pro Lys Cys Pro
225 230 235 240

Ala Pro Glu Met Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Lys
245 250 255

Pro Lys Asp Thr Leu Leu Ile Ala Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
260 265 270

Val Val Ala Leu Asp Pro Glu Asp Pro Glu Val Gln Ile Ser Trp Phe
275 280 285

Val Asp Gly Lys Gln Met Gln Thr Ala Lys Thr Gln Pro Arg Glu Glu
290 295 300

Gln Phe Ala Gly Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro Ile Gly His
305 310 315 320

Gln Asp Trp Leu Lys Gly Lys Gln Phe Thr Cys Lys Val Asn Asn Lys
325 330 335

Ala Leu Pro Ser Pro Ile Glu Arg Thr Ile Ser Lys Ala Arg Gly Gln
340 345 350

Ala His Gln Pro Ser Val Tyr Val Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Leu
355 360 365

Ser Lys Asn Thr Val Ser Leu Thr Cys Leu Ile Lys Asp Phe Phe Pro
370 375 380

Pro Asp Ile Asp Val Glu Trp Gln Ser Asn Gly Gln Gln Glu Pro Glu
385 390 395 400

Ser Lys Tyr Arg Thr Thr Pro Pro Gln Leu Asp Glu Asp Gly Ser Tyr
405 410 415

Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Ser Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Arg Gly
420 425 430

Asp Thr Phe Ile Cys Ala Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr
435 440 445

10

20

30

40

50

Thr Gln Glu Ser Leu Ser His Ser Pro Gly Lys
450 455

<210> 87
<211> 459
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> caninized mouse

10

<400> 87

Glu Leu Thr Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Gln
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ser Phe Ser Gly Phe Ser Leu Ser Thr Phe
20 25 30

Gly Arg Gly Val Gly Trp Ile Arg Gln Arg Pro Gly Arg Gly Leu Glu
35 40 45

20

Trp Met Gly His Ile Trp Trp Asp Asp Asp Lys Tyr Tyr Asn Pro Ala
50 55 60

Leu Lys Ser Arg Ile Ser Ile Thr Ala Asp Thr Ala Lys Asn Gln Phe
65 70 75 80

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

Cys Ala Arg Ile Ala Gly Gly Leu Arg Arg Ala Pro Tyr Ala Met Asp
100 105 110

30

Ser Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Thr
115 120 125

Ala Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Cys Gly Ser Thr Ser Gly
130 135 140

Ser Thr Val Ala Leu Ala Cys Leu Val Ser Gly Tyr Phe Pro Glu Pro
145 150 155 160

40

50

Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ser Leu Thr Ser Gly Val His Thr
165 170 175

Phe Pro Ser Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Met
180 185 190

Val Thr Val Pro Ser Ser Arg Trp Pro Ser Glu Thr Phe Thr Cys Asn
195 200 205

10

Val Ala His Pro Ala Ser Lys Thr Lys Val Asp Lys Pro Val Pro Lys
210 215 220

Arg Glu Asn Gly Arg Val Pro Arg Pro Pro Asp Cys Pro Lys Cys Pro
225 230 235 240

Ala Pro Glu Met Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Lys
245 250 255

20

Pro Lys Asp Thr Leu Leu Ile Ala Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
260 265 270

Val Val Ala Leu Asp Pro Glu Asp Pro Glu Val Gln Ile Ser Trp Phe
275 280 285

Val Asp Gly Lys Gln Met Gln Thr Ala Lys Thr Gln Pro Arg Glu Glu
290 295 300

Gln Phe Ala Gly Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro Ile Gly His
305 310 315 320

30

Gln Asp Trp Leu Lys Gly Lys Gln Phe Thr Cys Lys Val Asn Asn Lys
325 330 335

Ala Leu Pro Ser Pro Ile Glu Arg Thr Ile Ser Lys Ala Arg Gly Gln
340 345 350

Ala His Gln Pro Ser Val Tyr Val Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Leu
355 360 365

40

50

Ser Lys Asn Thr Val Ser Leu Thr Cys Leu Ile Lys Asp Phe Phe Pro
370 375 380

Pro Asp Ile Asp Val Glu Trp Gln Ser Asn Gly Gln Gln Glu Pro Glu
385 390 395 400

Ser Lys Tyr Arg Thr Thr Pro Pro Gln Leu Asp Glu Asp Gly Ser Tyr
405 410 415

Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Ser Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Arg Gly
420 425 430

Asp Thr Phe Ile Cys Ala Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr
435 440 445

Thr Gln Glu Ser Leu Ser His Ser Pro Gly Lys
450 455

<210> 88
<211> 459
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> caninized mouse

<400> 88

Glu Val Thr Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Gln
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ser Phe Ser Gly Phe Ser Leu Ser Thr Phe
20 25 30

Gly Arg Gly Val Gly Trp Ile Arg Gln Arg Pro Gly Arg Gly Leu Glu
35 40 45

Trp Met Gly His Ile Trp Trp Asp Asp Asp Lys Tyr Tyr Asn Pro Ala
50 55 60

Leu Lys Ser Arg Leu Ser Ile Thr Lys Asp Thr Ala Lys Asn Gln Phe
65 70 75 80

10

20

30

40

50

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

Cys Ala Arg Ile Ala Gly Gly Leu Arg Arg Ala Pro Tyr Ala Met Asp
100 105 110

Ser Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Thr
115 120 125

Ala Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Cys Gly Ser Thr Ser Gly
130 135 140

Ser Thr Val Ala Leu Ala Cys Leu Val Ser Gly Tyr Phe Pro Glu Pro
145 150 155 160

Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ser Leu Thr Ser Gly Val His Thr
165 170 175

Phe Pro Ser Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Met
180 185 190

Val Thr Val Pro Ser Ser Arg Trp Pro Ser Glu Thr Phe Thr Cys Asn
195 200 205

Val Ala His Pro Ala Ser Lys Thr Lys Val Asp Lys Pro Val Pro Lys
210 215 220

Arg Glu Asn Gly Arg Val Pro Arg Pro Pro Asp Cys Pro Lys Cys Pro
225 230 235 240

Ala Pro Glu Met Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Lys
245 250 255

Pro Lys Asp Thr Leu Leu Ile Ala Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
260 265 270

Val Val Ala Leu Asp Pro Glu Asp Pro Glu Val Gln Ile Ser Trp Phe
275 280 285

Val Asp Gly Lys Gln Met Gln Thr Ala Lys Thr Gln Pro Arg Glu Glu
290 295 300

10

20

30

40

50

Gln Phe Ala Gly Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro Ile Gly His
305 310 315 320

Gln Asp Trp Leu Lys Gly Lys Gln Phe Thr Cys Lys Val Asn Asn Lys
325 330 335

Ala Leu Pro Ser Pro Ile Glu Arg Thr Ile Ser Lys Ala Arg Gly Gln
340 345 350

10

Ala His Gln Pro Ser Val Tyr Val Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Leu
355 360 365

Ser Lys Asn Thr Val Ser Leu Thr Cys Leu Ile Lys Asp Phe Phe Pro
370 375 380

Pro Asp Ile Asp Val Glu Trp Gln Ser Asn Gly Gln Gln Glu Pro Glu
385 390 395 400

Ser Lys Tyr Arg Thr Thr Pro Pro Gln Leu Asp Glu Asp Gly Ser Tyr
405 410 415

20

Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Ser Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Arg Gly
420 425 430

Asp Thr Phe Ile Cys Ala Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr
435 440 445

Thr Gln Glu Ser Leu Ser His Ser Pro Gly Lys
450 455

30

<210> 89

<211> 459

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> caninized mouse

<400> 89

Glu Val Thr Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Gln
1 5 10 15

40

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ser Phe Ser Gly Phe Ser Leu Ser Thr Phe
20 25 30

Gly Arg Gly Val Gly Trp Ile Arg Gln Arg Pro Gly Arg Gly Leu Glu
35 40 45

Trp Met Gly His Ile Trp Trp Asp Asp Asp Lys Tyr Tyr Asn Pro Ala
50 55 60

10

Leu Lys Ser Arg Leu Ser Ile Thr Lys Asp Thr Ala Lys Asn Gln Val
65 70 75 80

Phe Leu Gln Leu Ser Ser Met Thr Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr
85 90 95

Cys Ala Arg Ile Ala Gly Gly Leu Arg Arg Ala Pro Tyr Ala Met Asp
100 105 110

20

Ser Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Thr
115 120 125

Ala Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Cys Gly Ser Thr Ser Gly
130 135 140

Ser Thr Val Ala Leu Ala Cys Leu Val Ser Gly Tyr Phe Pro Glu Pro
145 150 155 160

Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ser Leu Thr Ser Gly Val His Thr
165 170 175

30

Phe Pro Ser Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Met
180 185 190

Val Thr Val Pro Ser Ser Arg Trp Pro Ser Glu Thr Phe Thr Cys Asn
195 200 205

Val Ala His Pro Ala Ser Lys Thr Lys Val Asp Lys Pro Val Pro Lys
210 215 220

40

50

Arg Glu Asn Gly Arg Val Pro Arg Pro Pro Asp Cys Pro Lys Cys Pro
225 230 235 240

Ala Pro Glu Met Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Lys
245 250 255

Pro Lys Asp Thr Leu Leu Ile Ala Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
260 265 270

Val Val Ala Leu Asp Pro Glu Asp Pro Glu Val Gln Ile Ser Trp Phe
275 280 285

Val Asp Gly Lys Gln Met Gln Thr Ala Lys Thr Gln Pro Arg Glu Glu
290 295 300

Gln Phe Ala Gly Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro Ile Gly His
305 310 315 320

Gln Asp Trp Leu Lys Gly Lys Gln Phe Thr Cys Lys Val Asn Asn Lys
325 330 335

Ala Leu Pro Ser Pro Ile Glu Arg Thr Ile Ser Lys Ala Arg Gly Gln
340 345 350

Ala His Gln Pro Ser Val Tyr Val Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Leu
355 360 365

Ser Lys Asn Thr Val Ser Leu Thr Cys Leu Ile Lys Asp Phe Phe Pro
370 375 380

Pro Asp Ile Asp Val Glu Trp Gln Ser Asn Gly Gln Gln Glu Pro Glu
385 390 395 400

Ser Lys Tyr Arg Thr Thr Pro Pro Gln Leu Asp Glu Asp Gly Ser Tyr
405 410 415

Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Ser Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Arg Gly
420 425 430

Asp Thr Phe Ile Cys Ala Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr
435 440 445

10

20

30

40

50

Thr Gln Glu Ser Leu Ser His Ser Pro Gly Lys
450 455

<210> 90
<211> 217
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> caninized mouse

10

<400> 90

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

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

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

20

Tyr Ala Ala Thr Asn Leu Ala Asp Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

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

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

30

Pro Ala Val Tyr Leu Phe Gln Pro Ser Pro Asp Gln Leu His Thr Gly
115 120 125

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

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

40

50

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

Thr Leu Thr Met Ser Ser Thr Glu Tyr Leu Ser His Glu Leu Tyr Ser
180 185 190

Cys Glu Ile Thr His Lys Ser Leu Pro Ser Thr Leu Ile Lys Ser Phe
195 200 205

10

Gln Arg Ser Glu Cys Gln Arg Val Asp
210 215

<210> 91
<211> 217
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> caninized mouse

<400> 91

20

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

Glu Thr Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ala Ser Glu Asn Ile Tyr Ser Ser
20 25 30

Leu Ala Trp Phe Arg Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Gln 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

30

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

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

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

40

50

Pro Ala Val Tyr Leu Phe Gln Pro Ser Pro Asp Gln Leu His Thr Gly
115 120 125

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

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

10

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

Thr Leu Thr Met Ser Ser Thr Glu Tyr Leu Ser His Glu Leu Tyr Ser
180 185 190

Cys Glu Ile Thr His Lys Ser Leu Pro Ser Thr Leu Ile Lys Ser Phe
195 200 205

Gln Arg Ser Glu Cys Gln Arg Val Asp
210 215

20

<210> 92
<211> 217
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> caninized mouse

<400> 92

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

30

Glu Thr Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ala Ser Glu Asn Ile Tyr Ser Ser
20 25 30

Leu Ala Trp Phe Arg Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Gln Leu Leu Val
35 40 45

Tyr Ala Ala Thr Asn Leu Ala Asp Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly
50 55 60

40

50

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Thr Leu Arg Ile Ser Arg Val Glu Ala
65 70 75 80

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

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

10

Pro Ala Val Tyr Leu Phe Gln Pro Ser Pro Asp Gln Leu His Thr Gly
115 120 125

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

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

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

20

Thr Leu Thr Met Ser Ser Thr Glu Tyr Leu Ser His Glu Leu Tyr Ser
180 185 190

Cys Glu Ile Thr His Lys Ser Leu Pro Ser Thr Leu Ile Lys Ser Phe
195 200 205

Gln Arg Ser Glu Cys Gln Arg Val Asp
210 215

30

<210> 93

<211> 124

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> caninized mouse

<400> 93

Glu Leu Thr Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Gln
1 5 10 15

40

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Val Val Ser Gly Gly Ser Val Thr Thr Phe
20 25 30

Gly Arg Gly Val Gly Trp Ile Arg Gln Arg Pro Gly Arg Gly Leu Glu
35 40 45

Trp Met Gly His Ile Trp Trp Asp Asp Asp Lys Tyr Tyr Asn Pro Ala
50 55 60

10

Leu Lys Ser Arg Ile Ser Ile Thr Ala Asp Thr Ala Lys Asn Gln Phe
65 70 75 80

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

Cys Ala Arg Ile Ala Gly Gly Leu Arg Arg Ala Pro Tyr Ala Met Asp
100 105 110

Ser Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

20

<210> 94

<211> 124

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> caninized mouse

<400> 94

Glu Leu Thr Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Gln
1 5 10 15

30

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ser Phe Ser Gly Phe Ser Leu Ser Thr Phe
20 25 30

Gly Arg Gly Val Gly Trp Ile Arg Gln Arg Pro Gly Arg Gly Leu Glu
35 40 45

Trp Met Gly His Ile Trp Trp Asp Asp Asp Lys Tyr Tyr Asn Pro Ala
50 55 60

40

50

Leu Lys Ser Arg Ile Ser Ile Thr Ala Asp Thr Ala Lys Asn Gln Phe
65 70 75 80

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

Cys Ala Arg Ile Ala Gly Gly Leu Arg Arg Ala Pro Tyr Ala Met Asp
100 105 110

10

Ser Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 95

<211> 124

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> caninized mouse

<400> 95

20

Glu Val Thr Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Gln
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ser Phe Ser Gly Phe Ser Leu Ser Thr Phe
20 25 30

Gly Arg Gly Val Gly Trp Ile Arg Gln Arg Pro Gly Arg Gly Leu Glu
35 40 45

Trp Met Gly His Ile Trp Trp Asp Asp Asp Lys Tyr Tyr Asn Pro Ala
50 55 60

30

Leu Lys Ser Arg Leu Ser Ile Thr Lys Asp Thr Ala Lys Asn Gln Phe
65 70 75 80

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

Cys Ala Arg Ile Ala Gly Gly Leu Arg Arg Ala Pro Tyr Ala Met Asp
100 105 110

40

Ser Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 96
<211> 124
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> caninized mouse

10

<400> 96

Glu Val Thr Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Gln
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ser Phe Ser Gly Phe Ser Leu Ser Thr Phe
20 25 30

Gly Arg Gly Val Gly Trp Ile Arg Gln Arg Pro Gly Arg Gly Leu Glu
35 40 45

20

Trp Met Gly His Ile Trp Trp Asp Asp Asp Lys Tyr Tyr Asn Pro Ala
50 55 60

Leu Lys Ser Arg Leu Ser Ile Thr Lys Asp Thr Ala Lys Asn Gln Val
65 70 75 80

Phe Leu Gln Leu Ser Ser Met Thr Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr
85 90 95

Cys Ala Arg Ile Ala Gly Gly Leu Arg Arg Ala Pro Tyr Ala Met Asp
100 105 110

30

Ser Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 97
<211> 19
<212> PRT
<213> Canis familiaris

<400> 97

40

Tyr Trp Asn Leu Asp Ala Ile Met Lys Ile Glu Pro Pro Glu Ile Phe
1 5 10 15

Ser Val Lys

<210> 98

<211> 18

<212> PRT

<213> Canis familiaris

10

<400> 98

Lys Ile Glu Pro Pro Glu Ile Phe Ser Val Lys Ser Val Leu Gly Ile
1 5 10 15

Lys Arg

<210> 99

<211> 13

<212> PRT

<213> Canis familiaris

20

<400> 99

Arg Pro Val Leu Ala Pro His Ser Ser Thr Leu Lys Tyr
1 5 10

<210> 100

<211> 14

<212> PRT

<213> Canis familiaris

30

<400> 100

Thr Glu Tyr Val Met Thr Leu Arg Cys Ala Pro Ala Glu Ser
1 5 10

<210> 101

<211> 6

<212> PRT

<213> Canis familiaris

<400> 101

Tyr Val Met Thr Leu Arg

40

1 5

<210> 102
<211> 8
<212> PRT
<213> Canis familiaris

<400> 102

Arg Cys Ala Pro Ala Glu Ser Met
1 5

10

<210> 103
<211> 20
<212> PRT
<213> Canis familiaris

<400> 103

Arg Cys Ala Pro Ala Glu Ser Met Phe Trp Ser Gly Trp Ser Gln Glu
1 5 10 15

Lys Val Gly Thr
20

20

<210> 104
<211> 12
<212> PRT
<213> Canis familiaris

<400> 104

Arg Arg Pro Val Gln Leu Met Trp Lys Lys Ala Thr
1 5 10

30

<210> 105
<211> 9
<212> PRT
<213> Canis familiaris

<400> 105

Arg Ile Pro Ala Leu Asn Glu Lys Thr
1 5

<210> 106
<211> 12
<212> PRT

40

<213> Canis familiaris

<400> 106

Arg Asn Gly Phe Ile Lys Asn Tyr Thr Ile Phe Tyr
1 5 10

<210> 107

<211> 17

<212> PRT

<213> Canis familiaris

10

<400> 107

Arg Thr Ser Tyr Ser Leu Gln Val Met Ala Ser Thr Asn Ala Gly Gly
1 5 10 15

Thr

<210> 108

<211> 16

<212> PRT

<213> Canis familiaris

20

<400> 108

Ser Leu Gln Val Met Ala Ser Thr Asn Ala Gly Gly Thr Asn Gly Thr
1 5 10 15

<210> 109

<211> 10

<212> PRT

<213> Canis familiaris

<400> 109

30

Ser Thr Asn Ala Gly Gly Thr Asn Gly Thr
1 5 10

<210> 110

<211> 215

<212> PRT

<213> Canis familiaris

<400> 110

Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr
1 5 10 15

40

Leu Leu Ile Ala Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Leu
20 25 30

Asp Pro Glu Asp Pro Glu Val Gln Ile Ser Trp Phe Val Asp Gly Lys
35 40 45

Gln Met Gln Thr Ala Lys Thr Gln Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Gly
50 55 60

10

Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro Ile Gly His Gln Asp Trp Leu
65 70 75 80

Lys Gly Lys Gln Phe Thr Cys Lys Val Asn Asn Lys Ala Leu Pro Ser
85 90 95

Pro Ile Glu Arg Thr Ile Ser Lys Ala Arg Gly Gln Ala His Gln Pro
100 105 110

20

Ser Val Tyr Val Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Leu Ser Lys Asn Thr
115 120 125

Val Ser Leu Thr Cys Leu Ile Lys Asp Phe Phe Pro Pro Asp Ile Asp
130 135 140

Val Glu Trp Gln Ser Asn Gly Gln Gln Glu Pro Glu Ser Lys Tyr Arg
145 150 155 160

Thr Thr Pro Pro Gln Leu Asp Glu Asp Gly Ser Tyr Phe Leu Tyr Ser
165 170 175

30

Lys Leu Ser Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Arg Gly Asp Thr Phe Ile
180 185 190

Cys Ala Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Glu Ser
195 200 205

Leu Ser His Ser Pro Gly Lys
210 215

40

50

<210> 111
<211> 214
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> modified canine

<400> 111

Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr
1 5 10 15

10

Leu Leu Ile Ala Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Ala Leu
20 25 30

Asp Pro Glu Asp Pro Glu Val Gln Ile Ser Trp Phe Val Asp Gly Lys
35 40 45

Gln Met Gln Thr Ala Lys Thr Gln Pro Arg Glu Glu Gln Phe Ala Gly
50 55 60

20

Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro Ile Gly His Gln Asp Trp Leu
65 70 75 80

Lys Gly Lys Gln Phe Thr Cys Lys Val Asn Asn Lys Ala Leu Pro Ser
85 90 95

Pro Ile Glu Arg Thr Ile Ser Lys Ala Arg Gly Gln Ala His Gln Pro
100 105 110

Ser Val Tyr Val Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Leu Ser Lys Asn Thr
115 120 125

30

Val Ser Leu Thr Cys Leu Ile Lys Asp Phe Phe Pro Pro Asp Ile Asp
130 135 140

Val Glu Trp Gln Ser Asn Gly Gln Gln Glu Pro Glu Ser Lys Tyr Arg
145 150 155 160

Thr Thr Pro Pro Gln Leu Asp Glu Asp Gly Ser Tyr Phe Leu Tyr Ser
165 170 175

40

Lys Leu Ser Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Arg Gly Asp Thr Phe Ile
180 185 190

Cys Ala Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Glu Ser
195 200 205

Leu Ser His Ser Pro Gly
210

<210> 112
<211> 17
<212> PRT
<213> Canis familiaris

<400> 112

Phe Asn Glu Cys Arg Cys Thr Asp Thr Pro Pro Cys Pro Val Pro Glu
1 5 10 15

Pro

<210> 113
<211> 22
<212> PRT
<213> Canis familiaris

<400> 113

Pro Lys Arg Glu Asn Gly Arg Val Pro Arg Pro Pro Asp Cys Pro Lys
1 5 10 15

Cys Pro Ala Pro Glu Met
20

<210> 114
<211> 20
<212> PRT
<213> Canis familiaris

<400> 114

Ala Lys Glu Cys Glu Cys Lys Cys Asn Cys Asn Asn Cys Pro Cys Pro
1 5 10 15

Gly Cys Gly Leu

10

20

30

40

50

20

<210> 115
<211> 17
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> modified canine

<400> 115

10

Pro Lys Glu Ser Thr Cys Lys Cys Ile Pro Pro Cys Pro Val Pro Glu
1 5 10 15

Ser

<210> 116
<211> 216
<212> PRT
<213> Canis familiaris

20

<400> 116

Leu Gly Gly Pro Ser Val Leu Ile Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Ile
1 5 10 15

Leu Arg Ile Thr Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Leu Asp Leu
20 25 30

Gly Arg Glu Asp Pro Glu Val Gln Ile Ser Trp Phe Val Asp Gly Lys
35 40 45

30

Glu Val His Thr Ala Lys Thr Gln Ser Arg Glu Gln Gln Phe Asn Gly
50 55 60

Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro Ile Glu His Gln Asp Trp Leu
65 70 75 80

Thr Gly Lys Glu Phe Lys Cys Arg Val Asn His Ile Asp Leu Pro Ser
85 90 95

Pro Ile Glu Arg Thr Ile Ser Lys Ala Arg Gly Arg Ala His Lys Pro
100 105 110

40

50

Ser Val Tyr Val Leu Pro Pro Ser Pro Lys Glu Leu Ser Ser Ser Asp
115 120 125

Thr Val Ser Ile Thr Cys Leu Ile Lys Asp Phe Tyr Pro Pro Asp Ile
130 135 140

Asp Val Glu Trp Gln Ser Asn Gly Gln Gln Glu Pro Glu Arg Lys His
145 150 155 160

Arg Met Thr Pro Pro Gln Leu Asp Glu Asp Gly Ser Tyr Phe Leu Tyr
165 170 175

Ser Lys Leu Ser Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asp Pro Phe
180 185 190

Thr Cys Ala Val Met His Glu Thr Leu Gln Asn His Tyr Thr Asp Leu
195 200 205

Ser Leu Ser His Ser Pro Gly Lys
210 215

<210> 117
<211> 215
<212> PRT
<213> Canis familiaris

<400> 117

Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Ile
1 5 10 15

Leu Val Thr Ala Arg Thr Pro Thr Val Thr Cys Val Val Val Asp Leu
20 25 30

Asp Pro Glu Asn Pro Glu Val Gln Ile Ser Trp Phe Val Asp Ser Lys
35 40 45

Gln Val Gln Thr Ala Asn Thr Gln Pro Arg Glu Glu Gln Ser Asn Gly
50 55 60

Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro Ile Gly His Gln Asp Trp Leu

10

20

30

40

50

65 70 75 80

Ser Gly Lys Gln Phe Lys Cys Lys Val Asn Asn Lys Ala Leu Pro Ser
85 90 95

Pro Ile Glu Glu Ile Ile Ser Lys Thr Pro Gly Gln Ala His Gln Pro
100 105 110

Asn Val Tyr Val Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Met Ser Lys Asn Thr
115 120 125

10

Val Thr Leu Thr Cys Leu Val Lys Asp Phe Phe Pro Pro Glu Ile Asp
130 135 140

Val Glu Trp Gln Ser Asn Gly Gln Gln Glu Pro Glu Ser Lys Tyr Arg
145 150 155 160

Met Thr Pro Pro Gln Leu Asp Glu Asp Gly Ser Tyr Phe Leu Tyr Ser
165 170 175

20

Lys Leu Ser Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Arg Gly Asp Thr Phe Ile
180 185 190

Cys Ala Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Ile Ser
195 200 205

Leu Ser His Ser Pro Gly Lys
210 215

30

<210> 118

<211> 216

<212> PRT

<213> Canis familiaris

<400> 118

Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Ile
1 5 10 15

Leu Arg Ile Thr Arg Thr Pro Glu Ile Thr Cys Val Val Leu Asp Leu
20 25 30

40

Gly Arg Glu Asp Pro Glu Val Gln Ile Ser Trp Phe Val Asp Gly Lys
35 40 45

Glu Val His Thr Ala Lys Thr Gln Pro Arg Glu Gln Gln Phe Asn Ser
50 55 60

Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro Ile Glu His Gln Asp Trp Leu
65 70 75 80

Thr Gly Lys Glu Phe Lys Cys Arg Val Asn His Ile Gly Leu Pro Ser
85 90 95

Pro Ile Glu Arg Thr Ile Ser Lys Ala Arg Gly Gln Ala His Gln Pro
100 105 110

Ser Val Tyr Val Leu Pro Pro Ser Pro Lys Glu Leu Ser Ser Ser Asp
115 120 125

Thr Val Thr Leu Thr Cys Leu Ile Lys Asp Phe Phe Pro Pro Glu Ile
130 135 140

Asp Val Glu Trp Gln Ser Asn Gly Gln Pro Glu Pro Glu Ser Lys Tyr
145 150 155 160

His Thr Thr Ala Pro Gln Leu Asp Glu Asp Gly Ser Tyr Phe Leu Tyr
165 170 175

Ser Lys Leu Ser Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asp Thr Phe
180 185 190

Thr Cys Ala Val Met His Glu Ala Leu Gln Asn His Tyr Thr Asp Leu
195 200 205

Ser Leu Ser His Ser Pro Gly Lys
210 215

<210> 119

<211> 31

<212> PRT

<213> Canis familiaris

<400> 119

10

20

30

40

50

Ser Asp Ile Thr Tyr Trp Asn Leu Asp Ala Ile Met Lys Ile Glu Pro
1 5 10 15

Pro Glu Ile Phe Ser Val Lys Ser Val Leu Gly Ile Lys Arg Met
20 25 30

<210> 120

<211> 31

<212> PRT

<213> Canis familiaris

10

<400> 120

Met Thr Leu Arg Cys Ala Pro Ala Glu Ser Met Phe Trp Ser Gly Trp
1 5 10 15

Ser Gln Glu Lys Val Gly Thr Thr Glu Glu Glu Ala Pro Tyr Gly
20 25 30

<210> 121

<211> 21

<212> PRT

<213> Canis familiaris

20

<400> 121

Ile Met Lys Ile Glu Pro Pro Glu Ile Phe Ser Val Lys Ser Val Leu
1 5 10 15

Gly Ile Lys Arg Met
20

30

<210> 122

<211> 21

<212> PRT

<213> Canis familiaris

<400> 122

Thr Glu Leu Gln Ala Phe Thr Glu Tyr Val Met Thr Leu Arg Cys Ala
1 5 10 15

Pro Ala Glu Ser Met
20

40

<210> 123
<211> 21
<212> PRT
<213> Canis familiaris

<400> 123

Ala Met Val Asp Gly Arg Arg Pro Val Gln Leu Met Trp Lys Lys Ala
1 5 10 15

Thr Gly Ala Pro Val
20

10

<210> 124
<211> 21
<212> PRT
<213> Canis familiaris

<400> 124

Gly Glu Ser Pro Val Ala Thr Leu Arg Ile Pro Ala Leu Asn Glu Lys
1 5 10 15

Thr Phe Gln Cys Ile
20

20

<210> 125
<211> 21
<212> PRT
<213> Canis familiaris

<400> 125

Arg Asn Gly Phe Ile Lys Asn Tyr Thr Ile Phe Tyr Gln Ala Glu Asp
1 5 10 15

Gly Lys Glu Phe Ser
20

30

<210> 126
<211> 21
<212> PRT
<213> Canis familiaris

<400> 126

Ser Tyr Ser Leu Gln Val Met Ala Ser Thr Asn Ala Gly Gly Thr Asn
1 5 10 15

40

Gly Thr Lys Ile Asn
20

10

20

30

40

50

【図面】

【図 1】

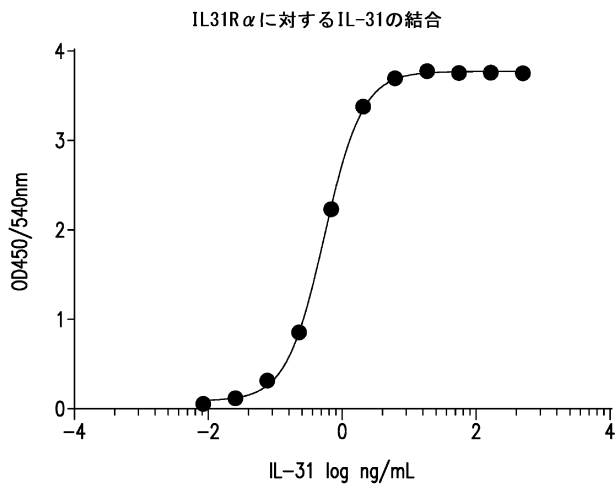


FIG.1

【図 2 A】

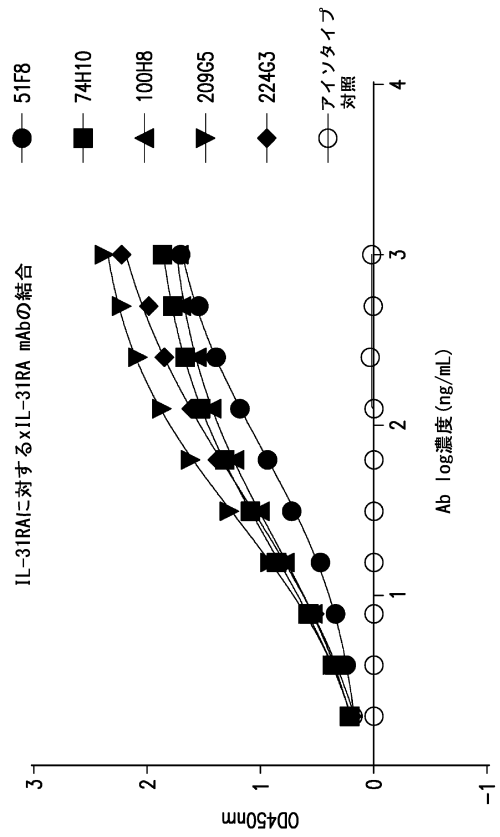


FIG.2A

10

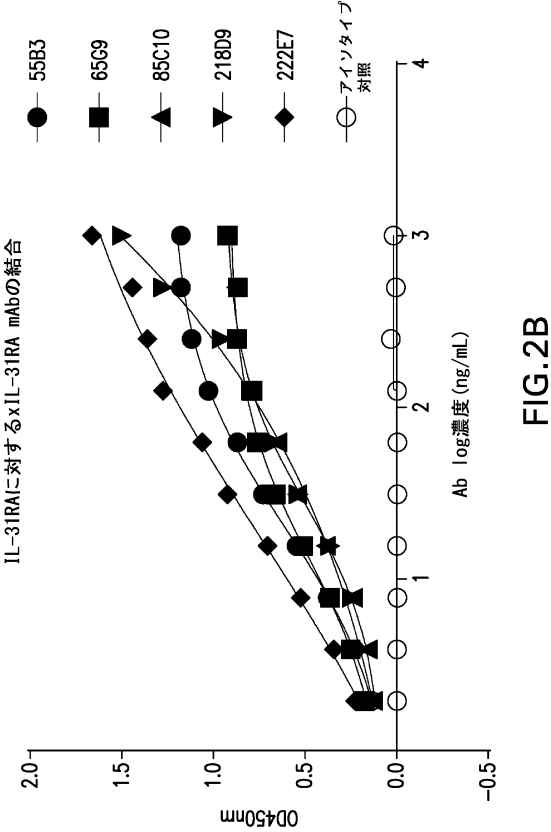
20

30

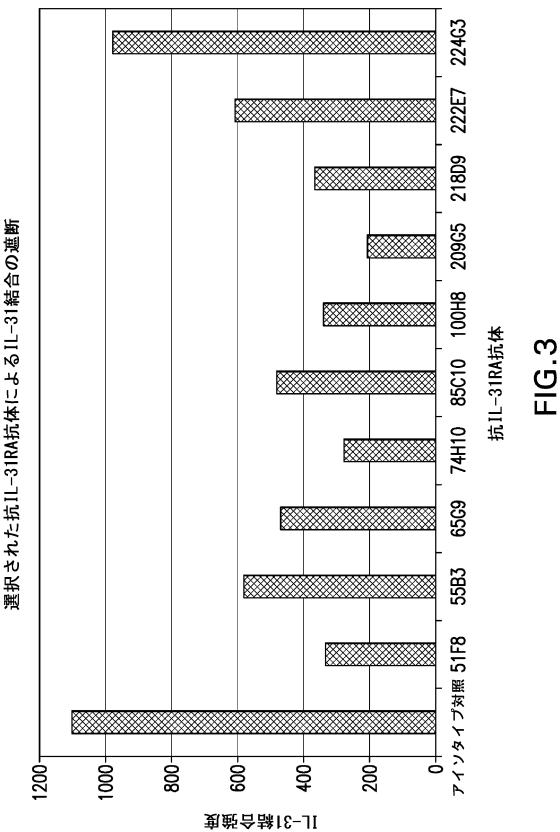
40

50

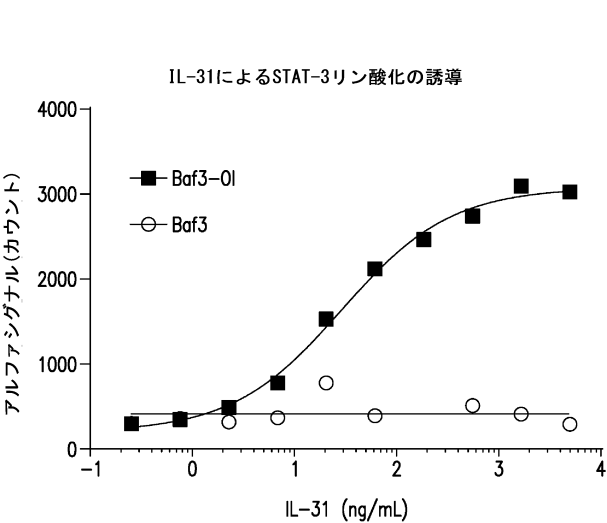
【図 2 B】



【図 3】



【図 4】



	Baf3	Baf3-OI
EC50	~ 0.000	29.16

【図 5 A】

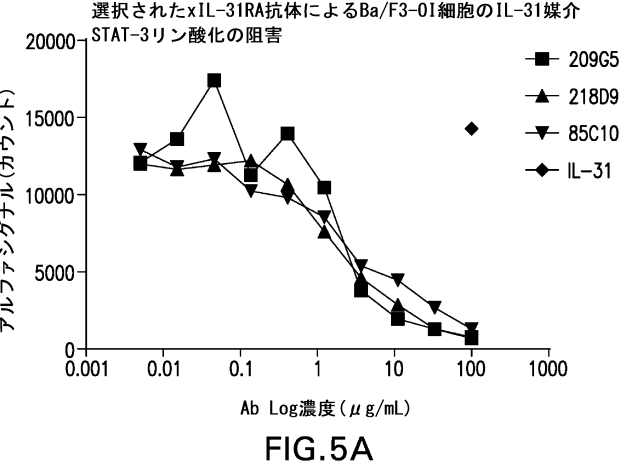


FIG.4

FIG.5A

【図 5 B】

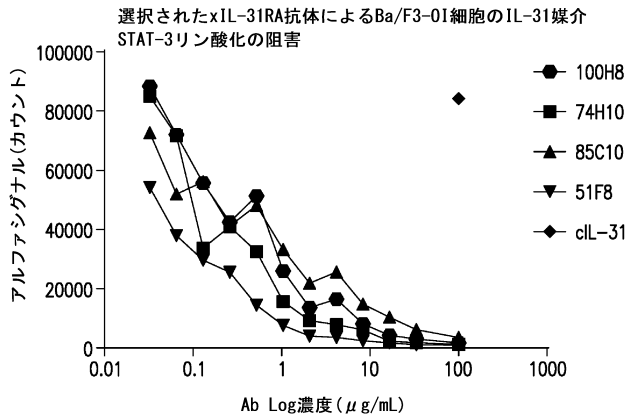


FIG.5B

【図 6 A】

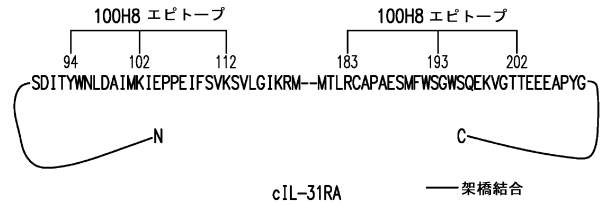


FIG.6A

10

【図 6 B】

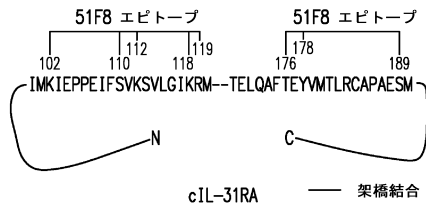


FIG.6B

【図 6 C】

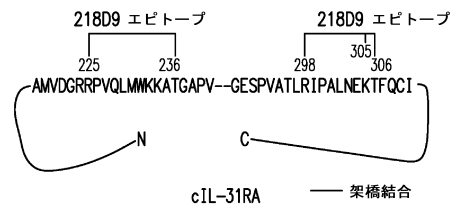


FIG.6C

20

【図 6 D】

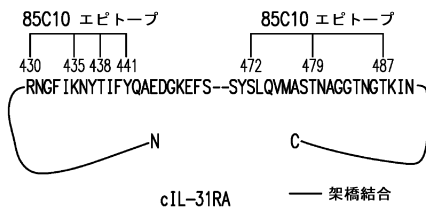


FIG.6D

【図 6 E】

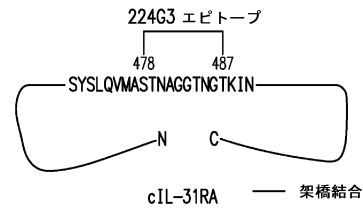


FIG.6E

30

40

50

【図 7 A】

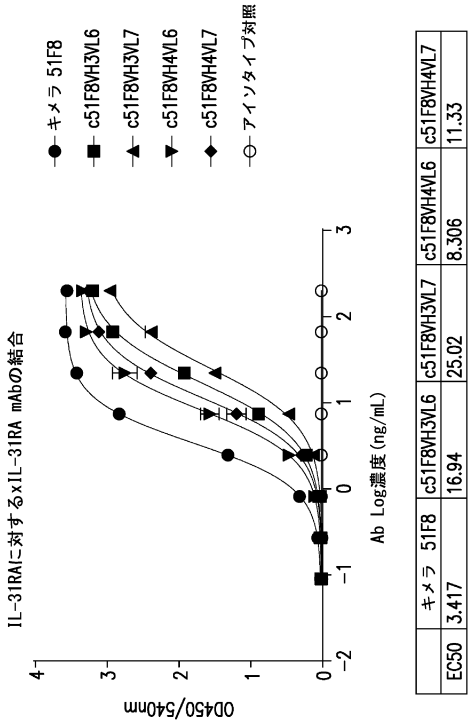


FIG.7A

【図 7 B】

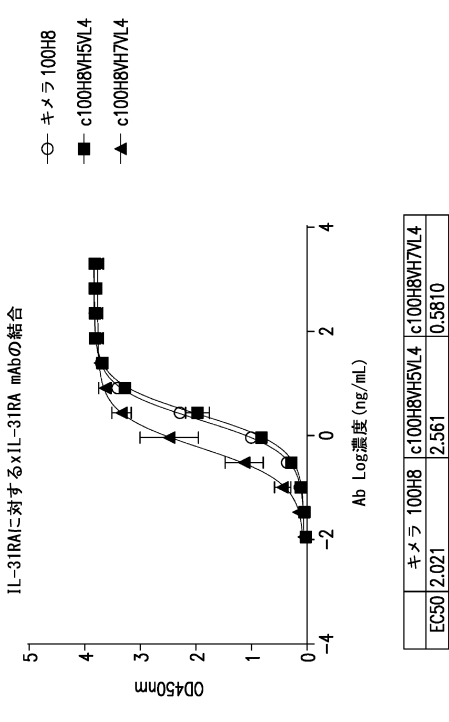


FIG.7B

【図 7 C】

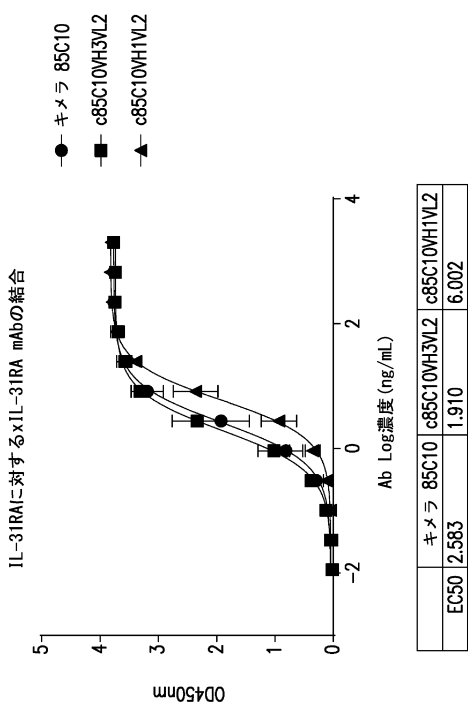


FIG.7C

【図 7 D】

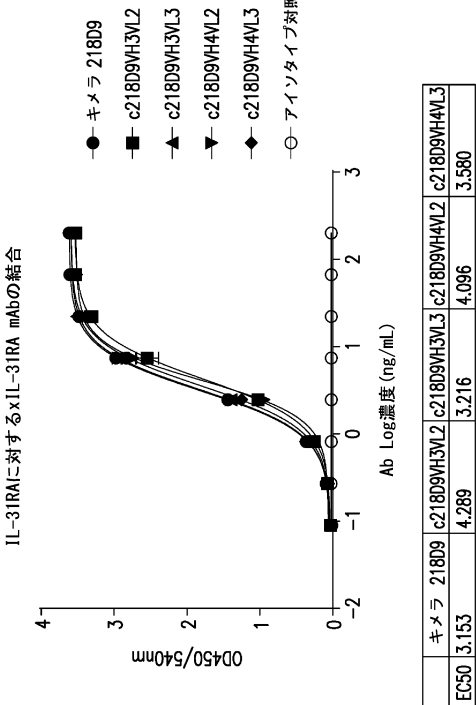


FIG.7D

10

20

30

40

50

【図 7 E】

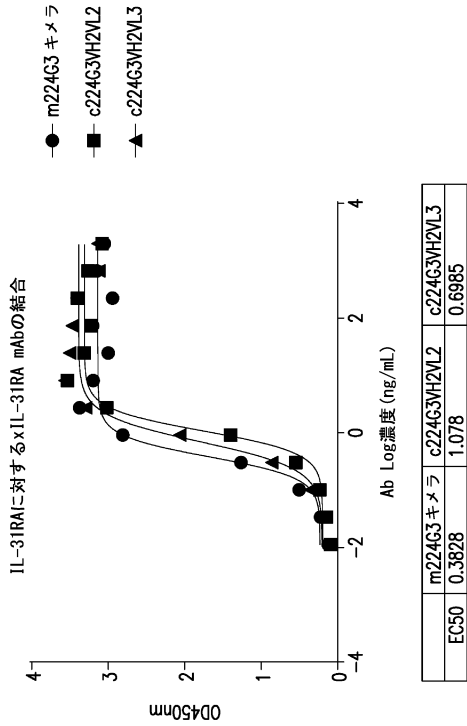


FIG.7E

【図 8】

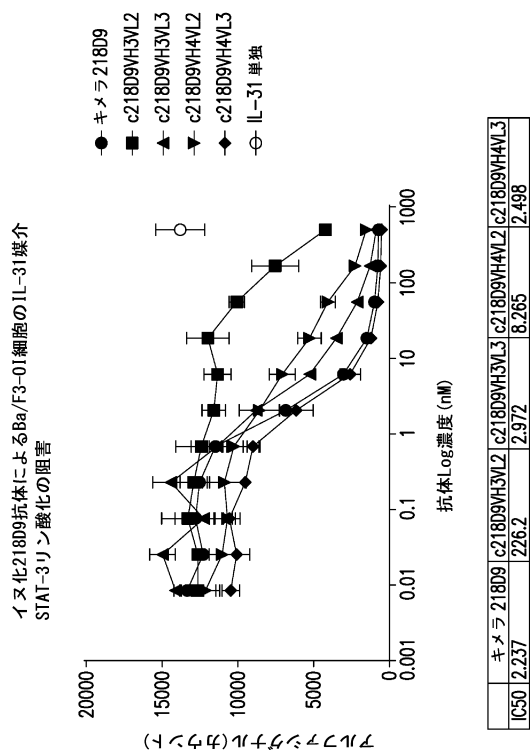


FIG.8

【配列表】

2024546759000001.xml

10

20

30

40

50

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/EP2022/086040

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER INV. C07K16/28 C07K14/715 ADD. According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) C07K Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) EPO-Internal, BIOSIS, EMBASE, WPI Data		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WO 2020/116560 A1 (BICA THERAPEUTICS INC [JP]) 11 June 2020 (2020-06-11) the translation provided in EP3892632 is referred to - & EP 3 892 632 A1 (BICA THERAPEUTICS INC [JP]) 13 October 2021 (2021-10-13) e.g. paragraphs 11,12,39-41; examples 1 and 2; table 1; the whole document -----	1-29
A	WO 2020/142625 A2 (INVETX INC [US]) 9 July 2020 (2020-07-09) e.g. paragraphs 48,50,119; the whole document ----- -/--	1-29
☒ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☒ See patent family annex.		
* Special categories of cited documents : "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 15 March 2023		Date of mailing of the international search report 23/03/2023
Name and mailing address of the ISA/ European Patent Office, P.B. 5618 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016		Authorized officer Gruber, Andreas

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (April 2005)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/EP2022/086040

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 2021/123092 A1 (INTERVET INT BV [NL]; INTERVET INC [US]) 24 June 2021 (2021-06-24) e.g. claims 1,10,11; the whole document -----	1-29
A	WO 2018/073185 A1 (VETOQUINOL SA [FR]) 26 April 2018 (2018-04-26) e.g. claims 1, 42; the whole document -----	1-29
X	CN 110 563 844 A (UNIV HUAZHONG AGRICULTURAL) 13 December 2019 (2019-12-13) e.g. claims 1-4; the whole document -----	1-29
X	CA 3 161 496 A1 (INTERVET INT BV [NL]) 24 June 2021 (2021-06-24) e.g. claims 1,11; the whole document -----	1-29

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/EP2022/086040

Box No. I Nucleotide and/or amino acid sequence(s) (Continuation of item 1.c of the first sheet)

1. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international search was carried out on the basis of a sequence listing:
- a. ☒ forming part of the international application as filed.
- b. ☐ furnished subsequent to the international filing date for the purposes of international search (Rule 13ter.1(a)).
- ☐ accompanied by a statement to the effect that the sequence listing does not go beyond the disclosure in the international application as filed.
2. ☐ With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, this report has been established to the extent that a meaningful search could be carried out without a WIPO Standard ST.26 compliant sequence listing.
3. Additional comments:

10

20

30

40

50

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/EP2022/086040

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2020116560 A1	11-06-2020	CN 113227134 A EP 3892632 A1 JP WO2020116560 A1 US 2022048981 A1 WO 2020116560 A1	06-08-2021 13-10-2021 21-10-2021 17-02-2022 11-06-2020
EP 3892632 A1	13-10-2021	CN 113227134 A EP 3892632 A1 JP WO2020116560 A1 US 2022048981 A1 WO 2020116560 A1	06-08-2021 13-10-2021 21-10-2021 17-02-2022 11-06-2020
WO 2020142625 A2	09-07-2020	AU 2020205073 A1 BR 112021012513 A2 CN 113544153 A EP 3906259 A2 MA 54657 A SG 11202106478U A US 2020216536 A1 US 2020362035 A1 WO 2020142625 A2	19-08-2021 14-09-2021 22-10-2021 10-11-2021 10-11-2021 29-07-2021 09-07-2020 19-11-2020 09-07-2020
WO 2021123092 A1	24-06-2021	AU 2020406738 A1 AU 2020407269 A1 BR 112022011629 A2 BR 112022011669 A2 CA 3161496 A1 CA 3161728 A1 CN 114829396 A CN 114829397 A EP 4077379 A1 EP 4077380 A1 JP 2023506922 A JP 2023506925 A WO 2021123092 A1 WO 2021123094 A1	23-06-2022 16-06-2022 13-09-2022 06-09-2022 24-06-2021 24-06-2021 29-07-2022 29-07-2022 26-10-2022 26-10-2022 20-02-2023 20-02-2023 24-06-2021 24-06-2021
WO 2018073185 A1	26-04-2018	CA 3040823 A1 CN 110114369 A EP 3526246 A1 US 2020181258 A1 WO 2018073185 A1	26-04-2018 09-08-2019 21-08-2019 11-06-2020 26-04-2018
CN 110563844 A	13-12-2019	NONE	
CA 3161496 A1	24-06-2021	AU 2020406738 A1 AU 2020407269 A1 BR 112022011629 A2 BR 112022011669 A2 CA 3161496 A1 CA 3161728 A1 CN 114829396 A CN 114829397 A EP 4077379 A1 EP 4077380 A1 JP 2023506922 A JP 2023506925 A WO 2021123092 A1	23-06-2022 16-06-2022 13-09-2022 06-09-2022 24-06-2021 24-06-2021 29-07-2022 29-07-2022 26-10-2022 26-10-2022 20-02-2023 20-02-2023 24-06-2021

Form PCT/ISA/210 (patent family annex) (April 2005)

フロントページの続き

(51)国際特許分類	F I	テーマコード (参考)
C 1 2 N 1/21 (2006.01)	C 1 2 N 1/21	
C 1 2 N 5/10 (2006.01)	C 1 2 N 5/10	
A 6 1 P 37/08 (2006.01)	A 6 1 P 37/08	
A 6 1 K 39/395 (2006.01)	A 6 1 K 39/395	D
A 6 1 P 17/00 (2006.01)	A 6 1 K 39/395	N
C 1 2 N 15/12 (2006.01)	A 6 1 P 17/00	1 7 1
	C 1 2 N 15/12	

(32)優先日 令和4年5月13日(2022.5.13)

(33)優先権主張国・地域又は機関

米国(US)

(81)指定国・地域 AP(BW,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA,RW,SD,SL,ST,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,RU,TJ,TM),EP(AL,AT,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV,MC,MK,MT,NL,NO,PL,PT,RO,RS,SE,SI,SK,SM,TR),OA(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GQ,GW,KM,ML,MR,NE,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AO,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BH,BN,BR,BW,BY,BZ,CA,CH,CL,CN,CO,CR,CU,CV,CV,CZ,DE,DJ,DK,DM,DO,DZ,EC,EE,EG,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,GT,HN,HR,HU,ID,IL,IN,IQ,IR,IS,IT,JM,JO,JP,KE,KG,KH,KN,KP,KR,KW,KZ,LA,LC,LK,LR,LS,LU,LY,MA,MD,ME,MG,MK,MN,MW,MX,MY,MZ,NA,NG,NI,NO,NZ,OM,PA,PE,PG,PH,PL,PT,QA,RO,RS,RU,RW,SA,SC,SD,SE,SG,SK,SL,ST,SV,SY,TH,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VC,VN,WS,ZA,ZM,ZW

弁理士 安藤 健司

(74)代理人 100183519

弁理士 櫻田 芳恵

(74)代理人 100196483

弁理士 川崎 洋祐

(74)代理人 100160255

弁理士 市川 祐輔

(74)代理人 100216839

弁理士 大石 敏幸

(74)代理人 100228980

弁理士 副島 由加里

(74)代理人 100151448

弁理士 青木 孝博

(74)代理人 100146318

弁理士 岩瀬 吉和

(74)代理人 100127812

弁理士 城山 康文

(72)発明者 モーシー, モハマド

アメリカ合衆国、ネブラスカ・6 8 0 2 2、エルクホーン・ウェスト・センター・ロード・2 1 4 0 1

(72)発明者 ジャン, ユアンジェン

アメリカ合衆国、ニュージャージー・0 7 0 3 3、ケニルワース、ギャロッピング・ヒル・ロード・2 0 0 0

F ターム (参考) 4B065 AA92X AA92Y AB01 AB05 AC14 BA01 CA25 CA44

4C085 AA13 AA14 BB11 CC01 DD62 EE01

4H045 AA11 AA20 AA30 BA10 CA40 DA76 EA22 FA74