

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 383 809**

51 Int. Cl.:
C07K 16/28 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 96 Número de solicitud europea: **04810551 .4**
96 Fecha de presentación: **04.11.2004**
97 Número de publicación de la solicitud: **1692184**
97 Fecha de publicación de la solicitud: **23.08.2006**

54 Título: **Anticuerpos que se unen al receptor de interleucina 4**

30 Prioridad:
07.11.2003 US 518166 P

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
26.06.2012

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
26.06.2012

73 Titular/es:
**IMMUNEX CORPORATION
ONE AMGEN CENTER DRIVE
THOUSAND OAKS, CA 91320-1799, US**

72 Inventor/es:
**CARTER, Paul J. y
ZHOU, Hongxing**

74 Agente/Representante:
de Elzaburu Márquez, Alberto

ES 2 383 809 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Anticuerpos que se unen al receptor de interleucina 4

REFERENCIA CRUZADA CON LA SOLICITUD RELACIONADA

5 La presente solicitud reivindica el beneficio de la solicitud provisional estadounidense núm. 60/518,166, presentada el 7 de noviembre de 2003.

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

10 La interleucina 4 (IL-4), previamente conocida como factor estimulante de células B, o BSF-1, se caracterizó originalmente por su capacidad de estimular la proliferación de células B en respuesta a bajas concentraciones de anticuerpos dirigidos a la inmunoglobulina superficial. Se ha demostrado que la IL-4 posee un espectro mucho más amplio de actividades biológicas, que incluye la co-estimulación del crecimiento de células T, mastocitos, granulocitos, megacariocitos y eritrocitos. Además, la IL-4 estimula la proliferación de diversas líneas celulares dependientes de IL-2- e IL-3-, induce la expresión de las moléculas del complejo de histocompatibilidad mayor de clase II en células B en reposo y potencia la secreción de los isotipos IgE e IgG1 por células B estimuladas. La IL-4 está asociada a una respuesta inmunitaria de tipo TH2-, siendo una de las citocinas segregadas por las células TH2.

15 Se ha identificado y caracterizado IL-4 murina y humana, incluyendo la clonación de cDNA de IL-4 y la determinación de las secuencias de aminoácidos codificadas y nucleotídicas. Véanse Yokota *et al.*, 1986, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 83:5894; Noma *et al.*, 1986, Nature 319:640; Grabstein *et al.*, 1986, J. Exp. Med. 163:1405 y la patente estadounidense 5,017,691.

20 La IL-4 se une a receptores particulares de la superficie celular, lo cual resulta en la transducción de una señal biológica a células tales como células efectoras inmunitarias. Los receptores de IL-4 se describen, y la información sobre DNA y secuencia de aminoácidos se presenta, en Mosley *et al.*, 1989, Cell 59:335-48, (IL-4R murina); Idzerda *et al.*, 1990, J. Exp. Med. 171:861-73, (IL-4R humana); y en la patente estadounidense 5,599,905. El receptor de IL-4 descrito en estas publicaciones algunas veces se denomina IL-4R alfa.

25 Se han publicado otras proteínas asociadas con IL-4R alfa en algunos tipos de células, y que son componentes de complejos receptores de IL-4to de multi-subunidades. Una de dichas subunidades es IL-2R gamma, también conocida como 1L-2R gamma c. Véase el análisis de complejos IL-4R en Sato *et al.*, 1994, Current Opinion in Cell Biology, 6:174-79. También se ha publicado que IL-4R alfa es un componente de ciertos complejos receptores de IL-13 de multi-subunidades. Véase Zurawski *et al.*, 1995, J. Biol. Chem. 270:13869; de Vries, 1998, J. Allergy Clin. Immunol. 102:165; y Callard *et al.*, 1996, Immunology Today, 17:108.

30 Se ha implicado a IL-4 en una serie de trastornos, cuyos ejemplos son alergia y asma.

SUMARIO DE LA INVENCION

La presente invención provee métodos y composiciones relacionados con nuevos antagonistas de IL-4R, que son anticuerpos y derivados de anticuerpos, que se unen a IL-4R alfa. La presente invención proporciona un anticuerpo aislado que se une al receptor de IL-4, comprendiendo un dominio variable de cadena ligera, en donde

- 35 a. la cadena ligera CDR1 comprende los residuos 24-35 de SEC ID NO:6 y
 b. la cadena ligera CDR2 comprende los residuos 51-57 de SEC ID NO:6, y
 c. la cadena ligera CDR3 comprende los residuos 90-99 de SEC ID NO:6.; y

40 un dominio variable de la cadena pesada, donde las secuencias de la cadena pesada CDR1, CDR2 y CDR3 comprenden los residuos 30 a 35, 49 a 65 y 97 a 104 de SEC ID NO: 16, respectivamente, los residuos 30 a 35, 49 a 65 y 97 a 104 de la SEC ID NO: 18, respectivamente, los residuos 30 a 35, 49 a 65 y 97 a 104 de la SEC ID NO: 20, respectivamente, los residuos 30 a 35, 49 a 65 y 97 a 104 de la SEC ID NO: 22, respectivamente, los residuos 30 a 35, 49 a 65 y 97 a 104 de la SEC ID NO: 26, los residuos 30 a 35, 49 a 65 y 97 a 104 de la SEC ID NO:28, respectivamente, los residuos 30 a 35, 49 a 65 y 97 a 104 de la SEC ID NO: 30, respectivamente, los residuos 30 a 35, 49 a 65 y 97 a 104 de la SEC ID NO: 32, respectivamente, los residuos 30 a 35, 49 a 65 y 97 a 104 de la SEC ID NO: 34, respectivamente, los residuos 30 a 35, 49 a 65 y 97 a 104 de la SEC ID NO: 38, respectivamente o los residuos 30 a 35, 49 a 65 y 97 a 104 de la SEC ID NO: 40, respectivamente.

45 El dominio variable de la cadena pesada puede comprender una secuencia que sea por lo menos 90% idéntica a una secuencia de SEC ID NO:16. El dominio variable de la cadena pesada puede comprender una secuencia que sea por lo menos 90% idéntica a una secuencia de SEC ID NO:16 y SEC ID NO:38. En otra realización, dicho dominio variable de la cadena ligera comprende una secuencia que es la SEC ID NO:6, y dicho dominio variable de la cadena pesada comprende una secuencia que se selecciona del grupo que consiste en la SEC ID NO:16, 18, 20, 22, 26, 28, 30, 32, 34, 38 o 40.

En otro aspecto, la presente invención provee un anticuerpo seleccionado del grupo que consiste en L2H1, L2H4, L2H12, L2H13, L2H2, L2H3, L2H6, L2H7, L2H8, L2H9 y L2H10.

En otro aspecto, la presente invención provee un anticuerpo humano, humanizado o quimérico.

5 En otro aspecto, la presente invención provee un anticuerpo monoclonal. En otro aspecto, la presente invención provee un anticuerpo seleccionado del grupo que consiste en IgD, IgE, IgM, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4 y IgG4 que tiene por lo menos una mutación en una región bisagra que alivia una tendencia a formar un anticuerpo de enlace disulfuro intra-catenario H.

10 En otro aspecto, la presente invención provee un polipéptido aislado que comprende una porción de unión al receptor de IL-4 de un anticuerpo de la invención, donde dicho polipéptido comprende un Fab, F(ab')₂, scFv, diacuerpo, triacuerpo o tetracuerpo.

En otro aspecto, la presente invención provee un ácido nucleico aislado que comprende una secuencia nucleotídica que codifica la cadena ligera de un anticuerpo de la invención, la cadena pesada de un anticuerpo de la invención o un polipéptido de la invención. El ácido nucleico puede comprender la secuencia de SEC ID NO:5.

15 En otro aspecto, la presente invención provee un vector que comprende un ácido nucleico aislado de la invención. En otra realización, dicho vector es un vector de expresión.

En otro aspecto, la presente invención provee una célula aislada que comprende un ácido nucleico de la invención. En una realización, dicha célula es un hibridoma. En otra realización, dicha célula es una célula transgénica.

En otro aspecto, la presente invención provee una célula que comprende un anticuerpo de la invención. En una realización, dicha célula es un hibridoma. En otra realización, dicha célula es una célula transgénica.

20 En otro aspecto, la presente invención provee una célula que comprende un polipéptido de la invención. En una realización, dicha célula es una célula transgénica.

25 En otro aspecto, la presente invención provee un método para preparar un anticuerpo de la invención, que comprende incubar una célula que comprende un ácido nucleico que codifica la cadena ligera de dicho anticuerpo y un ácido nucleico que codifica la cadena pesada de dicho anticuerpo bajo condiciones que permiten que dicha célula exprese dicha cadena ligera y dicha cadena pesada, y que permiten que dicha cadena ligera y dicha cadena pesada se ensamblen en dicho anticuerpo, y aislar dicho anticuerpo de dicha célula. En una realización, dicha célula es un hibridoma. En otra realización, dicha célula es una célula transgénica.

30 En otro aspecto, la presente invención provee un método *in vitro* para inhibir un receptor de IL-4, que comprende contactar una célula que expresa el receptor de IL-4 alfa con un anticuerpo de la invención o un polipéptido de la invención bajo condiciones que permiten que dicho anticuerpo o dicho polipéptido se una a dicho receptor de IL-4 alfa. En una realización, dicha célula es una célula humana.

35 En otro aspecto, la presente invención provee el anticuerpo de la invención o un polipéptido de la invención para uso en medicina o para uso en el tratamiento de una afección inflamatoria o cancerosa. En otra realización, dicha afección inflamatoria o cancerosa es una afección inmunológica. En otra realización, dicha afección es asma, artritis septicémica, dermatitis herpetiforme, urticaria idiopática crónica, colitis ulcerosa, esclerodermia, cicatrización hipertrófica, enfermedad de Whipple, hiperplasia prostática benigna, un trastorno pulmonar en el que el receptor de IL-4 desempeña una función, afección en la que la ruptura de la barrera epitelial mediada por el receptor de IL-4 desempeña una función, un trastorno del sistema digestivo en el que el receptor de IL-4 desempeña una función, una reacción alérgica a una medicación, enfermedad de Kawasaki, anemia drepanocítica, síndrome de Churg-Strauss, enfermedad de Grave, preclampsia, síndrome de Sjogren, síndrome linfoproliferativo autoinmunitario, anemia hemolítica autoinmunitaria, esófago de Barrett, uveítis autoinmunitaria, tuberculosis, fibrosis quística, micosis broncopulmonar alérgica, enfermedad pulmonar obstructiva crónica, fibrosis y neumopatía inducida por bleomicina, fibrosis pulmonar inducida por radiación, proteinosis alveolar pulmonar, síndrome de dificultad respiratoria aguda, sarcoidosis, síndrome de hiper IgE, síndrome hipereosinofílico idiopático, enfermedad ampollosa autoinmunitaria, pénfigo vulgar, pénfigo bulloso, miastenia grave, síndrome de fatiga crónica o nefrosis.

45 En otro aspecto, la presente invención provee una composición farmacéutica que comprende un anticuerpo de la invención o un polipéptido de la invención y un excipiente, diluyente o tampón. La invención también provee el uso de un anticuerpo según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, o un polipéptido de la invención, en la elaboración de un medicamento para tratar una afección inflamatoria o cancerosa.

50 También se provee el uso de un anticuerpo o un polipéptido de la invención, donde dicha afección es asma, artritis septicémica, dermatitis herpetiforme, urticaria idiopática crónica, colitis ulcerosa, esclerodermia, cicatrización hipertrófica, enfermedad de Whipple, hiperplasia prostática benigna, un trastorno pulmonar en el que el receptor de IL-4 desempeña una función, afección en la que la ruptura de la barrera epitelial mediada por el receptor de IL-4 desempeña una función, un trastorno del sistema digestivo en el que el receptor de IL-4 desempeña una función, una reacción alérgica a una medicación, enfermedad de Kawasaki, anemia drepanocítica, síndrome de Churg-Strauss, enfermedad de Grave, preclampsia, síndrome de Sjogren, síndrome linfoproliferativo autoinmunitario,

anemia hemolítica autoinmunitaria, esófago de Barrett, uveítis autoinmunitaria, tuberculosis, fibrosis quística, micosis broncopulmonar alérgica, enfermedad pulmonar obstructiva crónica, fibrosis y neumatía inducida por bleomicina, fibrosis pulmonar inducida por radiación, proteinosis alveolar pulmonar, síndrome de dificultad respiratoria aguda, sarcoidosis, síndrome de hiper IgE, síndrome de hipereosinofílico idiopático, una enfermedad ampollosa autoinmunitaria, pénfigo vulgar, pénfigo bulloso, miastenia grave, síndrome de fatiga crónica o nefrosis.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

Las Figuras 1A-C presentan la secuencia nucleotídica de la región codificante de un cDNA del receptor de IL-4 humana alfa. La secuencia de aminoácidos codificada por el cDNA también se presenta. Se aisló el clon de cDNA de una genoteca de cDNA derivada de una línea de células T humana, T22. La proteína codificada comprende (del término N al C) un péptido de señal N-terminal, seguido por un dominio extracelular, una región transmembrana (subrayada) y un dominio citoplásmico, como se analiza adicionalmente en la publicación PCT WO 01/92340 A3. La secuencia nucleotídica y las secuencias de aminoácidos de las Figuras 1A a 1C también se presentan en las SEC ID NO:1 y 2, respectivamente.

Las Figuras 2A-2D presentan secuencias de polinucleótidos que codifican las regiones variables de la cadena ligera de L1 (SEC ID NO:3), L2 (SEC ID NO:5), L3, (SEC ID NO:7), L4 (SEC ID NO:9), L5 (SEC ID NO:11) y L6 (SEC ID NO:13), y secuencias de polinucleótidos que codifican las regiones variables de la cadena pesada de H1 (SEC ID NO:15), H2 (SEC ID NO:17), H3 (SEC ID NO:19), H4 (SEC ID NO:21), H5 (SEC ID NO:23), H6 (SEC ID NO:25), H7 (SEC ID NO:27), H8 (SEC ID NO:29), H9 (SEC ID NO:31), H10 (SEC ID NO:33), H11 (SEC ID NO:35), H12 (SEC ID NO:37), H13 (SEC ID NO:39), H14 (SEC ID NO:41), H15 (SEC ID NO:43), H16 (SEC ID NO:45), H17 (SEC ID NO:47), H18 (SEC ID NO:49), H19 (SEC ID NO:51), H20 (SEC ID NO:53), H21 (SEC ID NO:55), H22 (SEC ID NO:57), H23 (SEC ID NO:59) y H24 (SEC ID NO:61). Las secuencias se muestran usando abreviaturas de los nucleótidos de una sola letra. Las secuencias correspondientes a las regiones CDR1, CDR2 y CDR3 se indican en negrita para cada secuencia y subrayadas en L1 y H1. Las secuencias correspondientes a FR1, FR2, FR3 y FR4 se muestran en tipo simple.

La Figura 3 presenta las secuencias de aminoácidos de las regiones variables de la cadena ligera de L1 (SEC ID NO:4), L2 (SEC ID NO:6), L3, (SEC ID NO:8), L4 (SEC ID NO:10), L5 (SEC ID NO:12) y L6 (SEC ID NO:14), y las secuencias de aminoácidos de las regiones variables de la cadena pesada de H1 (SEC ID NO:16), H2 (SEC ID NO:18), H3 (SEC ID NO:20), H4 (SEC ID NO:22), H5 (SEC ID NO:24), H6 (SEC ID NO:26), H7 (SEC ID NO:28), H8 (SEC ID NO:30), H9 (SEC ID NO:32), H10 (SEC ID NO:34), H11 (SEC ID NO:36), H12 (SEC ID NO:38), H13 (SEC ID NO:40), H14 (SEC ID NO:42), H15 (SEC ID NO:44), H16 (SEC ID NO:46), H17 (SEC ID NO:48), H18 (SEC ID NO:50), H19 (SEC ID NO:52), H20 (SEC ID NO:54), H21 (SEC ID NO:56), H22 (SEC ID NO:58), H23 (SEC ID NO:60) y H24 (SEC ID NO:62). Las secuencias de las regiones variables L1 y H1 se muestran usando abreviaturas de los aminoácidos de una sola letra. Otras secuencias variables de la cadena ligera y de la cadena pesada se indican con guiones en los residuos en los que son idénticas a L1 o H1, y con la abreviatura del aminoácido de una sola letra apropiado donde difieren de L1 o H1. Las secuencias correspondientes a las regiones CDR1, CDR2 y CDR3 se muestran en negrita para cada secuencia y subrayadas en L1 y H1. Las secuencias correspondientes a FR1, FR2, FR3 y FR4 se muestran en tipo simple.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

La presente invención provee composiciones y métodos que se refieren a anticuerpos del receptor anti-IL-4 (1L-4R), incluyendo métodos para tratar determinadas afecciones mediadas por IL-4R, y para inhibir actividades biológicas de interleucina 4 (IL-4) e interleucina 13 (IL-13) *in vivo*. Las composiciones de la invención incluyen, por ejemplo, anticuerpos anti-IL-4R, polipéptidos, polinucleótidos, células que comprenden o expresan anticuerpos, polipéptidos o polinucleótidos de la invención, y composiciones farmacéuticas, cuyos ejemplos se proveen a continuación.

Las secuencias de polinucleótidos y polipéptidos se indican usando abreviaturas estándar de una o tres letras. A menos que se indique otra cosa, las secuencias de polipéptidos tienen sus términos amino a la izquierda y sus términos carboxi a la derecha, y las secuencias de ácidos nucleicos monocatenarias y la cadena superior de de las secuencias de ácido nucleico bicatenarias tienen sus términos 5' a la izquierda y sus términos 3' a la derecha. Una secuencia de polipéptidos o polinucleótidos particular también puede describirse explicando cómo difiere de una secuencia de referencia. Por ejemplo, la frase "una secuencia de polipéptidos que difiere de la SEC ID NO:4 en S28T" describe una secuencia de polipéptidos que es idéntica a la SEC ID NO:4, excepto que el residuo serina en la posición 28 de la SEC ID NO:4 se reemplaza por un residuo treonina.

Las secuencias de polinucleótidos y polipéptidos de regiones variables de la cadena ligera y pesada particulares se muestran en las Figuras 2 y 3, respectivamente, donde están marcadas, por ejemplo, L1 ("región variable de la cadena ligera 1"), H1 ("región variable de la cadena pesada 1"), etc. Los anticuerpos que comprenden una cadena ligera y una cadena pesada de la Figura 3 se indican combinando el nombre de la cadena ligera y el nombre de las regiones variables de la cadena pesada. Por ejemplo, "L4H7," indica un anticuerpo que comprende la secuencia variable de la cadena ligera de L4 y la secuencia variable de la cadena pesada de H7.

"Dominio (o región) variable de la cadena ligera", "domino (o región) variable de la cadena pesada", CDR1, 2 y 3" y "FR1, 2, 3 y 4" se definen de acuerdo con el esquema de Kabat *et al.*, en *Sequences of Proteins of Immunological interest*, 5^{ta} Ed., US Dept. of Health and Human Services, PHS, NIH, núm. publicación NIH 91-3242, 1991.

5 El "porcentaje de identidad" de dos secuencias de polinucleótidos o polipéptidos se determina comparando las secuencias usando el programa de ordenador GAP (una parte del paquete GCG Wisconsin, versión 10.3 (Accelrys, San Diego, CA)) utilizando sus parámetros por defecto.

10 Una molécula biológica (p. ej., un polipéptido, anticuerpo o ácido nucleico) está "aislada" o "sustancialmente purificada" si está lo suficientemente libre de otras moléculas biológicas, sedimentos celulares y otras sustancias que se van a utilizar en protocolos de laboratorio convencionales (p. ej., un ensayo de unión o hibridación). Los métodos para purificar sustancialmente polipéptidos, anticuerpos y ácidos nucleicos se conocen en la técnica.

Los términos "péptido," "polipéptido" y "proteína" se utilizan de manera intercambiable en toda la memoria y se refieren a una molécula que comprende dos o más residuos de aminoácidos unidos entre sí por enlaces peptídicos.

15 Los términos y expresiones "polinucleótido," "oligonucleótido" y "ácido nucleico" se utilizan intercambiably en toda la memoria e incluyen moléculas de DNA (p. ej., cDNA o DNA genómico), moléculas de RNA (p. ej., mRNA), análogos del DNA o RNA generado usando análogos de nucleótidos (p. ej., ácidos nucleicos de péptidos y análogos de nucleótidos no naturales) y sus híbridos. La molécula de ácido nucleico puede ser monocatenaria o bicatenaria. En una realización, las moléculas de ácido nucleico de la invención comprenden un marco de lectura abierto que codifica un anticuerpo su un fragmento, derivado, luteína o variante de la invención.

20 Dos moléculas de ácido nucleico monocatenarias son "el complemento" una de la otra, si sus secuencias pueden alinearse en una orientación anti-paralela de modo tal que cada nucleótido en una secuencia es opuesto a su nucleótido complementario en la otra secuencia, sin la introducción de espacios y sin nucleótidos no aparejados en el extremo 5' o 3' de cualquiera de las secuencias. Una molécula de ácido nucleico que es "complementaria" a una secuencia de nucleótidos determinada es una que es lo suficientemente complementaria a la secuencia de nucleótidos determinada como para poder hibridarse bajo condiciones moderadamente rigurosas a la secuencia de nucleótidos determinada. Por lo tanto, un ácido nucleico puede ser complementario a otro ácido nucleico sin ser su complemento.

25 Un "vector" es un ácido nucleico que se puede utilizar para introducir otro ácido nucleico unido a éste en una célula. Un tipo de vector es un "plásmido", que se refiere a una molécula de DNA bicatenaria lineal o circular en la cual se pueden ligar segmentos de ácido nucleico adicional. Otro tipo de vector es un vector vírico (p. ej., retrovirus, adenovirus y virus adeno-asociados defectuosos de replicación), donde se pueden introducir segmentos de DNA adicionales en el genoma vírico. Ciertos vectores son capaces de replicación autónoma en una célula hospedante en la que se introducen (p. ej., vectores bacterianos que comprenden un origen bacteriano de replicación y vectores mamíferos episomales). Otros vectores (p. ej., vectores mamíferos no episomales) se integran al genoma de una célula hospedante tras la introducción en la célula hospedante, y así se replican junto con el genoma hospedante.

30 Un "vector de expresión" es un tipo de vector que puede dirigir la expresión de un polinucleótido seleccionado.

35 Una secuencia de nucleótidos está "operativamente unida" a una secuencia reguladora, si la secuencia reguladora afecta la expresión (p. ej., el nivel, el tiempo o la ubicación de expresión) de la secuencia nucleotídica. Una "secuencia reguladora" es un ácido nucleico que afecta la expresión (p. ej., el nivel, el tiempo o la ubicación de expresión) de un ácido nucleico. La secuencia reguladora puede, por ejemplo, ejercer sus efectos directamente sobre el ácido nucleico regulado, o a través de la acción de uno o más polipéptidos (p. ej. polipéptidos que se unen a la secuencia reguladora y/o al ácido nucleico). Los ejemplos de secuencias reguladoras incluyen promotores, potenciadores y otros elementos de control de expresión (p. ej., señales de poliadenilación). Otros ejemplos de secuencias reguladoras se describen, por ejemplo, en Goeddel, 1990, *Gene Expression Technology: Methods in Enzymology* 185, Academic Press, San Diego, CA y Baron *et al.*, 1995, *Nucleic Acids Res.* 23:3605-06.

45 Una "célula hospedante" es una célula que puede utilizarse para expresar un ácido nucleico, p. ej., un ácido nucleico de la invención. Una célula hospedante puede ser una procariota, por ejemplo, *E. coli*, o puede ser una eucariota, por ejemplo, una eucariota unicelular (p. ej., una levadura u otro hongo), una célula vegetal (p. ej., una célula de tabaco o tomate), una célula animal (p. ej., una célula humana, una célula de mono, una célula de hámster, una célula de rata, una célula de ratón o una célula de insecto), o un hibridoma. Los ejemplos de células hospedantes incluyen la línea COS-7 de células de riñón de mono (ATCC CRL 1651) (véase Gluzman *et al.*, 1981, *Cell* 23:175), células L, células C127, células 3T3 (ATCC CCL 163), células de ovario de hámster chino (CHO) o sus derivados tales como Veggie CHO y líneas celulares relacionadas que crecen en medios libres de suero (véase Rasmussen *et al.*, 1998, *Cytotechnology* 28:31) o la cepa de CHO DX-B11, deficiente de DHFR (véase Urlaub *et al.*, 1980, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 77:4216-20), células HeLa, líneas celulares BHK (ATCC CRL 10), la línea celular CV1/EBNA derivada de la línea celular de riñón de mono verde africano CV1 (ATCC CCL 70) (véase McMahan *et al.*, 1991, *EMBO J.* 10:2821), células renales de embrión humano tales como 293, 293 EBNA o MSR 293, células epidérmicas humanas A431, células Colo205 humanas, otras líneas celulares de primates transformadas, células diploides normales, cepas celulares derivadas en cultivo *in vitro* de tejido primario, explantes primarios, células HL-60, U937, HaK o Jurkat. Típicamente, una célula hospedante es una célula cultivada que puede transformarse o transfectarse con un ácido nucleico que codifica un polipéptido, que puede luego expresarse en la célula hospedante. La frase

60

"célula hospedante recombinante" se puede utilizar para indicar una célula hospedante que se ha transformado o transfectado con un ácido nucleico a expresar. Una célula hospedante puede ser también una célula que comprende el ácido nucleico pero que no lo expresa en un nivel deseado, a menos que se introduzca una secuencia reguladora en la célula hospedante, de modo tal que se torna operativamente unida con el ácido nucleico. Se ha de entender que la expresión célula hospedante se refiere no solamente a la célula en cuestión particular sino también a la descendencia o descendencia potencial de dicha célula. Ya que pueden ocurrir ciertas modificaciones en generaciones futuras debido o bien a mutación o a influencias ambientales, dicha descendencia puede, de hecho, no ser idéntica a la célula madre, pero incluso se incluyen dentro del alcance del término, tal como se emplea en la presente memoria.

Un "anticuerpo quimérico" es un anticuerpo en el que una porción de la cadena pesada y/o liviana es idéntica, homóloga o derivada de un anticuerpo de una especie particular o que pertenece a una clase o subclase de anticuerpo particular, mientras que el resto de la cadena(s) es/son idéntica(s), homóloga(s) o deriva/n de un anticuerpo(s) de otra especie o que pertenece/n a otra clase o subclase de anticuerpo. También se incluyen fragmentos de dichos anticuerpos que exhiben la actividad biológica deseada (es decir, la capacidad de unirse específicamente al receptor de IL-4). Véanse la patente estadounidense núm. 4,816,567 y Morrison, 1985, Science 229:1202-07.

Un "anticuerpo injertado con CDR" es un anticuerpo que comprende una o más CDR derivadas de un anticuerpo de una especie o isotipo particular y el marco de otro anticuerpo de la misma especie o isotipo o de una especie o isotipo diferente.

Un "anticuerpo multiespecífico" es un anticuerpo que reconoce más de un epítipo en uno o más antígenos. Una subclase de este tipo de anticuerpo es un "anticuerpo bi-específico" que reconoce dos epítopos distintos en los mismos antígenos o en antígenos diferentes.

Una "variante" de un polipéptido (p. ej., un anticuerpo) comprende una secuencia de aminoácidos donde uno o más residuos de aminoácidos se insertan, eliminan y/o sustituyen en la secuencia de aminoácidos relativa a otra secuencia de polipéptidos. Las variantes de la invención incluyen proteínas de fusión.

Un "derivado" de un polipéptido es un polipéptido (p. ej., un anticuerpo) que ha sido químicamente modificado en algún modo distinto de las variantes de inserción, eliminación o sustitución, p. ej., mediante conjugación u otro resto químico. A menos que se indique otra cosa, el término "anticuerpo" incluye, además de los anticuerpos que comprenden dos cadenas pesadas de longitud total y dos cadenas ligeras de longitud total, sus derivados, variantes, fragmentos y muteínas, cuyos ejemplos se describen a continuación.

Una molécula (p. ej., un anticuerpo) "se une específicamente al receptor de IL-4", si se une al receptor de IL-4, o su fragmento, con por lo menos una afinidad 10 veces mayor que cuando se une la molécula a un polipéptido no relacionado con el receptor de IL-4.

Un "dominio de unión al antígeno" o "región de unión al antígeno" es la porción de una molécula de anticuerpo que contiene los residuos de aminoácidos (u otros restos) que interactúan con un antígeno y confieren al anticuerpo su especificidad y afinidad hacia el antígeno.

Un "epítipo" es la porción de una molécula que está unida por un anticuerpo. Un epítipo puede comprender porciones no contiguas de la molécula (p. ej., en un polipéptido, residuos de aminoácidos que no son contiguos unos con otros en la secuencia de polipéptidos pero que, juntos en el contexto de la molécula, están unidos por un anticuerpo).

Indicaciones

En un aspecto, la presente invención provee métodos para tratar, prevenir, curar, aliviar o atenuar una enfermedad, trastorno, afección o padecimiento. Entre las afecciones que se pueden tratar de acuerdo con la presente invención se encuentran asma, artritis septicémica/reactiva, dermatitis herpetiforme, urticaria idiopática crónica, esclerodermia, cicatrización hipertrófica, enfermedad de Whipple, hiperplasia prostática benigna, trastornos pulmonares en los que la IL-4 desempeña una función, afecciones en las que la ruptura de la barrera epitelial inducida por IL-4 desempeña una función, trastornos del sistema digestivo en los que la IL-4 desempeña una función, incluyendo enfermedad inflamatoria de los intestinos y otras afecciones inflamatorias del tubo digestivo, reacciones alérgicas a la medicación, enfermedad de Kawasaki, anemia drepanocítica (que incluye crisis drepanocítica), síndrome de Churg-Strauss, enfermedad de Grave, preclampsia, síndrome de Sjogren, síndrome linfoproliferativo inmunitario, anemia hemolítica autoinmunitaria, esófago de Barrett, uveítis autoinmunitaria, tuberculosis y nefrosis, como se describe en más detalle a continuación. Los antagonistas de IL-4R también son útiles como adyuvantes para inmunoterapia por alergia y como adyuvantes de vacunas.

Los ejemplos de anticuerpos adecuados para tratar estas afecciones se describen a continuación e incluyen, p. ej., anticuerpos que se unen a IL-4R e inhiben allí la unión de IL-4. Los anticuerpos particularmente útiles también inhiben la unión de IL-13 al receptor de IL-13 (IL-13R). Las realizaciones particulares de la invención incluyen nuevos anticuerpos y derivados de anticuerpos, fragmentos, muteínas y variantes, polipéptidos, moléculas de ácido

nucleico, células, métodos para elaborar lo precedente, métodos para inhibir IL-4Ra y métodos para tratar a un sujeto, cuyos ejemplos se describen en lo sucesivo.

En un aspecto, la presente invención provee métodos que comprenden administrar un anticuerpo anti-IL-4Ra a un sujeto. En una realización, el sujeto está afectado por, o conlleva riesgo de padecer, una afección (incluyendo, p. ej., una enfermedad, infección, lesión, patología o trastorno) causada, mediada, potenciada, exacerbada o afectada, directa o indirectamente, por la actividad de IL-4Ra. Dichas afecciones incluyen, por ejemplo, afecciones causadas, inducidas, mediadas, potenciadas, exacerbadas, afectadas, directa o indirectamente, por IL-4 y/o IL-13. Otros factores o citocinas también pueden desempeñar una función en dichas afecciones.

Las actividades biológicas de IL-4 son mediadas a través de la unión a los receptores de la superficie celular específicos, denominados receptores de interleucina 4 (IL-4R). Las afecciones inducidas por IL-4 incluyen aquellas que surgen de las respuestas biológicas que resultan de la unión de IL-4 a un receptor de IL-4 nativo en una célula, o que pueden inhibirse o suprimirse evitando que la IL-4 se una a un receptor de IL-4. Las afecciones que se pueden tratar incluyen, aunque sin limitarse a ello, trastornos médicos caracterizados por expresión anormal de IL-4 o de uno o más componentes de un IL-4R o IL-13R (incluyendo, por ejemplo, expresión excesiva o expresión deficiente en un tejido o tipo de célula particular, o expresión deficiente en una etapa del desarrollo particular), o por una respuesta anormal del hospedante a la producción de IL-4. Otros ejemplos son afecciones en las que la producción, proliferación o flujo del anticuerpo inducido por IL-4 de un tipo de célula particular desempeña una función. Los trastornos inducidos por IL-4 incluyen aquellos en los que la IL-4 induce el aumento de los receptores de IL-4 o aumenta la producción de otra proteína que desempeña una función en una enfermedad (p. ej., otra citocina).

Un método para tratar a un mamífero, incluyendo un sujeto humano, que padece dicho trastorno médico, comprende administrar un anticuerpo anti-IL-4R, o su derivado, al mamífero o de lo contrario poner en contacto un IL-4R del mamífero con el anticuerpo o derivado, p. ej., en un procedimiento *ex vivo*. Las afecciones que se pueden tratar de acuerdo con la presente invención se describen, por ejemplo, en el documento USSN 09/847,816, presentado el 1 de mayo de 2001, cuya descripción relevante se incorpora a la presente memoria por referencia. Dichas afecciones incluyen, aunque sin limitarse a ello, asma, artritis septicémica/reactiva, dermatitis herpetiforme, urticaria (especialmente urticaria idiopática crónica), úlceras, inflamación gástrica, inflamación de las mucosas, colitis ulcerosa, enfermedad de Crohn, enfermedad inflamatoria de los intestinos, otros trastornos del sistema digestivo en los que la IL-4 desempeña una función (p. ej., inflamación inducida por IL-4 de parte del tubo digestivo), afecciones en las que la ruptura de la barrera inducida por IL-4 desempeña una función (p. ej., afecciones caracterizadas por una disminución del funcionamiento de la barrera epitelial en el pulmón o el tubo digestivo), esclerodermia, cicatrización hipertrófica, enfermedad de Whipple, hiperplasia prostática benigna, afecciones pulmonares inducidas por IL-4 (incluyendo aquellas que se mencionan a continuación), reacciones alérgicas a la medicación, enfermedad de Kawasaki, anemia o crisis drepanocítica, síndrome de Churg-Strauss, enfermedad de Grave, preclampsia, síndrome de Sjogren, síndrome linfoproliferativo autoinmunitario, anemia hemolítica autoinmunitaria, esófago de Barrett, uveítis autoinmunitaria, tuberculosis, nefrosis, pénfigo vulgar o pénfigo bulloso (enfermedades ampollas autoinmunitarias) y miastenia grave (una enfermedad muscular autoinmunitaria).

Los anticuerpos anti-IL-4R y sus derivados, también encuentran utilidad como adyuvantes para inmunoterapia de alergia y como adyuvantes de vacunas. Por consiguiente, un anticuerpo anti-IL-4R puede emplearse como adyuvante en el tratamiento de inmunoterapia de alergia. El anticuerpo anti-IL-4R también es útil como adyuvante de vacuna, como los adyuvantes para vacunas anticáncer y vacunas antinfeciosas. El uso de adyuvantes de IL-4, especialmente cuando dirigen la respuesta inmunitaria hacia una respuesta TH1, sería beneficioso en el tratamiento o la prevención de la enfermedad en cuestión.

Artritis septicémica/reactiva

Un anticuerpo anti-IL-4R puede emplearse en el tratamiento de artritis septicémica, también conocida como artritis reactiva o artritis bacteriana. La artritis septicémica puede desencadenarse por (consecuente de, o desarrollarse con posterioridad a) infección con microbios tales como *Staphylococcus aureus*, *Chlamydia trachomatis*, *Yersinia* p. ej., *Y. enterocolitica*, *Salmonella*, p. ej., *S. enteritidis*, *Shigella* y *Campylobacter*. Se ha descrito que *S. aureus* es un patógeno humano principal en la artritis septicémica, responsable de la mayoría de los casos.

Las respuestas Th2 de IL-4 y dependientes de IL-4 desempeñan funciones en la promoción de artritis septicémica. Puede emplearse un anticuerpo anti-IL-4R de acuerdo con la invención para inhibir la IL-4 y también para suprimir la respuesta Th2 en pacientes que padecen artritis septicémica o conllevan riesgo de contraer artritis septicémica.

La IL-4 aumenta la carga del desarrollo bacteriano y la persistencia bacteriana en articulaciones, inhibiendo el aclaramiento de las bacterias. El anticuerpo anti-IL-4R puede emplearse para ayudar en el aclaramiento de las bacterias asociadas con artritis reactiva, reduciendo así las manifestaciones clínicas tales como la inflamación de las articulaciones. El anticuerpo anti-IL-4R puede administrarse a un sujeto humano que padece artritis septicémica para reducir la inflamación articular mediada por IL-4. En un planteamiento, se inyecta un antagonista en una articulación, p. ej., en el líquido sinovial de la rodilla.

El uso de un anticuerpo anti-IL-4R puede beneficiar a sujetos que padecen (o conllevan riesgo de contraer) artritis septicémica, suprimiendo una respuesta TH2 y promoviendo una respuesta TH1 contra la infección. Las citocinas

TH2 pueden contribuir a la persistencia bacteriana en la articulación, mientras que una respuesta TH1 desempeña una función en la eliminación de las bacterias.

El anticuerpo se puede administrar a sujetos infectados con bacterias u otros microbios, tales como aquellos precedentemente mencionados, para prevenir el desarrollo de la artritis septicémica. Se puede administrar un anticuerpo, por ejemplo, después del diagnóstico de dicha infección, pero antes del desarrollo de los síntomas clínicos de artritis septicémica.

Enfermedad de Whipple

Tropheryma whippellii es la bacteria causante de la enfermedad de Whipple, también conocida como lipodistrofia intestinal e hipofagia granulomatosa. La enfermedad se caracteriza por esteatorrea, linfadenopatía frecuentemente generalizada, artritis, fiebre y tos. También se refiere, en pacientes con enfermedad de Whipple, a abundancia de macrófagos "espumosos" en la lámina propia del yeyuno, y los ganglios linfáticos que contienen partículas positivas de ácido peryódico Schiff aparecen baciliformes en la microscopía de electrones (*Steadman's Medical Dictionary*, 26^{ta} Edición, Williams & Wilkins, Baltimore, MD, 1995).

El uso de un anticuerpo anti-IL-4R puede beneficiar a sujetos que padecen (o conllevan riesgo de padecer) enfermedad de Whipple, restaurando un equilibrio normal entre los componentes TH1 y TH2 de la respuesta inmunitaria del paciente. El aumento de la producción de IL-4 (una citocina de tipo TH2) y la disminución de los niveles de determinadas citocinas de tipo TH1 se han asociado con la enfermedad de Whipple. Las citocinas TH2 pueden contribuir a la persistencia bacteriana, mientras que una respuesta TH1 desempeña una función en el aclaramiento de las bacterias causales. Los antagonistas de IL-4R pueden administrarse a sujetos infectados con *T. whippellii*, ya sea que el sujeto exhiba o no síntomas clínicos de la enfermedad de Whipple.

Dermatitis herpetiforme

La dermatitis herpetiforme, también conocida como enfermedad de Duhring, es una afección crónica de la piel caracterizada por lesiones ampollosas en la piel, depósitos de IgA cutáneos y comezón. Los pacientes tienen un trastorno de la piel inmunobullosa con enteropatía sensible al gluten asociada, mediado por una respuesta inmunitaria Th2. El anticuerpo anti-IL-4R se administra de acuerdo con la presente invención para inhibir la IL-4 y la respuesta Th2, promoviendo así la curación de las lesiones corrientes y reduciendo o previniendo la formación de ampollas en las superficies corporales extensoras.

Cicatrización hipertrófica

De acuerdo con la presente invención, el anticuerpo anti-IL-4R se administra a sujetos que tienen, o son susceptibles de desarrollar, cicatrización hipertrófica. En un método provisto en la presente invención, se administra un anticuerpo anti-IL-4R a un sujeto con una lesión por quemadura. Se cree que una respuesta inmunitaria a quemaduras y otras lesiones desempeña una función en la patogenia de la cicatrización hipertrófica. El aumento de la producción de citocinas de tipo TH2, incluyendo IL-4, y la reducción de los niveles de ciertas citocinas de tipo TH1, se han descrito en pacientes con quemaduras que padecen cicatrización hipertrófica. El uso de anticuerpos anti-IL-4R puede beneficiar a sujetos que presentan (o conllevan riesgo de padecer) cicatrización hipertrófica, suprimiendo una respuesta inmunitaria de tipo TH2.

Urticaria

La urticaria, especialmente sus formas crónicas tales como urticaria idiopática crónica (CIU), se pueden tratar con un anticuerpo anti-IL-4R de acuerdo con la presente invención. Los pacientes que padecen CIU tienen mayores niveles séricos de IL-4 que los controles, y pueden tener un perfil de citocinas predominantemente de tipo TH2. Los mastocitos y las células T de tipo Th2 están implicados como células efectoras primarias en la urticaria crónica. La IL-4 estimula la proliferación celular. La desgranulación de los mastocitos conduce a la liberación de histamina, eritema subsiguiente, eosinofilia, enrojecimiento de la piel y comezón. Los anticuerpos anti-IL-4R se administran para inhibir la IL-4 y reducir la respuesta de tipo TH2, ayudando de este modo a controlar la urticaria del sujeto.

Colitis ulcerosa: otros trastornos del tubo digestivo

La IL-4 está implicada en la patogenia de la colitis ulcerosa. Las citocinas de tipo Th2, incluyendo IL-4, pueden predominar en la mucosa colónica de pacientes con este trastorno. El uso de anticuerpos anti-IL-4R para suprimir la respuesta TH2 puede aliviar esta afección.

Además de la colitis ulcerosa, otros trastornos del tubo digestivo o del sistema digestivo pueden tratarse con anticuerpos anti-IL-4R. Los ejemplos de dichos trastornos incluyen, aunque sin limitarse a ello, enfermedad inflamatoria de los intestinos (IBD), siendo la colitis ulcerosa y la enfermedad de Crohn formas de IBD, gastritis, úlceras e inflamación de las mucosas.

Cualquier afección gastrointestinal en la que la IL-4 desempeña una función puede tratarse con un anticuerpo anti-IL-4R de acuerdo con la presente invención. Por ejemplo, afecciones que implican inflamación inducida por IL-4 de

parte del tubo digestivo pueden tratarse con un anticuerpo anti-IL-4R. Las realizaciones particulares se refieren al tratamiento de afecciones inflamatorias crónicas del tubo digestivo.

Otras realizaciones se refieren a afecciones en las que la ruptura de la barrera inducida por IL-4 desempeña una función, p. ej., afecciones caracterizadas por una disminución en el funcionamiento de la barrera epitelial en por lo menos una porción del tubo digestivo. Dichas afecciones pueden, por ejemplo, implicar daño al epitelio que es inducido por IL-4, directa o indirectamente.

El epitelio intestinal forma una barrera relativamente impermeable entre el lumen y la submucosa. La ruptura de la barrera epitelial se ha asociado con afecciones tales como enfermedad inflamatoria de los intestinos. Véase el análisis en Youakim, A. and M. Ahdieh (*Am. J. Physiol. 276 (Gastrointest. Liver Physiol. 39):G1279-G1288,1999*), incorporado a la presente memoria por referencia en su totalidad. Una barrera dañada o con "fugas" puede permitir que los antígenos crucen la barrera, que a su vez produce una respuesta inmunitaria que puede causar más daño al tejido gastrointestinal. Dicha respuesta inmunitaria puede incluir el reclutamiento de neutrófilos o células T, por ejemplo. Puede administrarse un anticuerpo anti-IL-4 para inhibir la estimulación no deseada de una respuesta inmunitaria.

15 Trastornos pulmonares

Se proveen en al presente memoria métodos para tratar trastornos pulmonares inducidos por IL-4. Dichos trastornos incluyen, aunque sin limitarse a ello, fibrosis pulmonar, incluyendo enfermedad pulmonar fibrótica crónica, oras afecciones caracterizadas por proliferación de fibroblastos o acumulación de colágeno en los pulmones inducidas por IL-4, afecciones pulmonares en las que la respuesta inmunitaria de tipo TH2 desempeña una función, afecciones caracterizadas por una disminución del funcionamiento de la barrera (p. ej., como consecuencia de daño al epitelio inducido por IL-4) o afecciones en las que la IL-4 desempeña una función en una respuesta inflamatoria (p. ej., asma).

La fibrosis quística se caracteriza por la producción excesiva de moco y el desarrollo de infecciones crónicas. La inhibición de IL-4 y la respuesta Th2 reducirán la formación de moco y ayudarán a controlar las infecciones tales como aspergilosis broncopulmonar alérgica (ABPA).

La micosis broncopulmonar alérgica ocurre principalmente en pacientes con fibrosis quística o asma, donde una respuesta inmunitaria Th2 es dominante, inhibiendo la IL-4 y la respuesta Th2 se ayudará a aclarar y controlar estas infecciones.

La enfermedad pulmonar obstructiva crónica se asocia con hipersecreción de moco y fibrosis. Al inhibir la IL-4 y la respuesta Th2 se reducirá la producción de moco y el desarrollo de fibrosis, mejorando de este modo la función respiratoria y demorando el avance de la enfermedad. La neumopatía inducida por bleomicina y la fibrosis, y la fibrosis pulmonar inducida por radiación son trastornos caracterizados por fibrosis del pulmón que se manifiesta por el flujo de Th2, células CD4* y macrófagos, que producen IL-4, que a su vez media el desarrollo de fibrosis. Al inhibir la IL-4 y la respuesta Th2 se reducirá o prevendrá el desarrollo de estos trastornos.

La proteinosis alveolar pulmonar se caracteriza por la interrupción de aclaramiento de tensioactivo. La IL-4 aumenta el producto tensioactivo. El uso de un anticuerpo anti-IL-4R disminuirá la producción de tensioactivo y disminuirá la necesidad de un lavaje total del pulmón.

El síndrome de dificultad respiratoria aguda (ARDS) puede ser atribuible a una serie de factores, uno de los cuales es la exposición a sustancias químicas tóxicas. Una población de pacientes susceptible a ARDS consiste en pacientes críticamente enfermos que deben hacer uso de ventiladores. ARDS es una complicación frecuente en dichos pacientes. Un tratamiento con anticuerpo anti-IL-4R puede aliviar el ARDS, reduciendo la inflamación y las moléculas de adhesión, aunque los métodos para tratar a dichos sujetos de acuerdo con la presente invención no se limitan a un mecanismo de acción particular. El anticuerpo anti-IL-4R se puede usar para prevenir o tratar ARDS.

La sarcoidosis se caracteriza por lesiones granulomatosas. El uso del anticuerpo anti-IL-4R para tratar la sarcoidosis, particularmente la sarcoidosis pulmonar, se contempla en la presente invención.

Las afecciones en las que la ruptura de la barrera inducida por IL-4 desempeña una función (p. ej., afecciones caracterizadas por una disminución del funcionamiento de la barrera epitelial en el pulmón) se pueden tratar con anticuerpo anti-IL-4R. El daño a la barrera epitelial en los pulmones puede ser inducido por IL-4 directa o indirectamente. El epitelio en el pulmón funciona como una barrera selectiva que previene que los contenidos del lumen del pulmón ingresen en la submucosa. Una barrera dañada o con "fugas" permite que los antígenos crucen la barrera, que a su vez produce una respuesta inmunitaria que puede causar más daño al tejido del pulmón. Dicha respuesta inmunitaria puede incluir el reclutamiento de eosinófilo o mastocitos, por ejemplo. Se puede administrar un anticuerpo anti-IL-4R para inhibir dicha estimulación no deseable de una respuesta inmunitaria.

Los anticuerpos anti-IL-4R se pueden emplear para promover la curación del epitelio pulmonar, restaurando así el funcionamiento de la barrera. El anticuerpo anti-IL-4R se puede emplear para promover la curación del epitelio pulmonar en pacientes asmáticos, por ejemplo. Alternativamente, el antagonista se administra para propósitos profilácticos, a fin de prevenir daño inducido por IL-4 al epitelio pulmonar.

Tuberculosis

Una respuesta inmunitaria de tipo TH2 desempeña una función, causando daño al tejido (p. ej., necrosis del tejido pulmonar) en pacientes que padecen tuberculosis (TB). Los niveles elevados de IL-4 se asocian con TB. La producción de IL-4 puede ser particularmente elevada en tuberculosis cavitaria (es decir, en pacientes con TB que han desarrollado cavidades pulmonares, que pueden ser detectadas/visualizadas por técnicas tales como radiografías de tórax).

Los anticuerpos anti-IL-4R pueden beneficiar a pacientes con TB (especialmente a aquellos con TB cavitaria), suprimiendo una respuesta inmunitaria de tipo TH2. Los métodos para tratar a dichos sujetos de acuerdo con la presente invención no se limitan a un mecanismo de acción particular, no obstante. Los anticuerpos anti-IL-4R se administran ventajosamente en una cantidad que restaura el equilibrio deseado entre los componentes TH1 y TH2 de la respuesta inmunitaria, y reduce el daño al tejido inducido por IL-4 en un paciente.

Síndrome de Chum-Strauss

El síndrome de Churg-Strauss, una enfermedad también conocida como angeítis granulomatosa alérgica, se caracteriza por inflamación de los vasos sanguíneos en personas con antecedentes de asma o alergia, y por eosinofilia. Se pueden administrar anticuerpos anti-IL-4R para aliviar la inflamación en sujetos que padecen este síndrome. El uso de anticuerpos anti-IL-4R para suprimir la respuesta inmunitaria de tipo TH2, y para combatir la eosinofilia, beneficiaría a los sujetos.

Preclampsia

La preclampsia es una toxemia del embarazo avanzado. La afección se caracteriza por un agudo aumento de la presión arterial, en general acompañado por edema y albuminuria, durante el tercer trimestre del embarazo.

Las respuestas inmunitarias de tipo TH1 y de tipo TH2 elevadas pueden desempeñar una función en la afección. Un método provisto por la presente memoria comprende administrar un anticuerpo anti-IL-4R a una mujer embarazada que ha desarrollado preclampsia. El anticuerpo anti-IL-4R se administra en una cantidad, y durante un periodo de tiempo, suficientes para reducir el nivel de IL-4 (o de citocinas de tipo TH2-colectivamente) hasta un nivel que se considere normal durante embarazo. En general, el anticuerpo anti-IL-4R se administra repetidamente durante todo el embarazo.

Esclerodermia

Los anticuerpos anti-IL-4R se administran a sujetos que padecen esclerodermia de acuerdo con la invención. Los anticuerpos reducen la síntesis de colágeno de los fibroblastos inducida por IL-4 en los pacientes. Los anticuerpos se pueden emplear para prevenir o reducir la fibrosis en la piel y en los tejidos pulmonares, como también en otros tejidos en los que ocurre la fibrosis en pacientes con esclerodermia, suprimiendo la síntesis de colágeno en dichos tejidos, y tratando la enfermedad pulmonar asociada con esclerodermia.

Hiperplasia prostática benigna

La hiperplasia prostática benigna (BPH), también conocida como hipertrofia prostática benigna, se puede tratar con anticuerpos anti-IL-4R. Sin desear estar influenciados por un mecanismo de acción particular, la administración de un anticuerpo anti-IL-4R puede beneficiar a un sujeto con BPH, suprimiendo la inflamación inducida por IL-4 o suprimiendo una respuesta inmunitaria de tipo TH2.

Enfermedad de Grave

Los anticuerpos dirigidos contra el receptor de tirotrópina desempeñan una función importante en la enfermedad de Grave, un trastorno caracterizado por hipertiroidismo. Los estudios de la producción de citocinas en pacientes que padecen la enfermedad de Grave indican un desplazamiento hacia una respuesta de citocinas de tipo TH2. El uso de un anticuerpo anti-IL-4R para suprimir la respuesta inmunitaria de tipo TH2, y para suprimir la producción de anticuerpos, beneficiaría a los pacientes con enfermedad de Grave.

Anemia drepanocítica

Los pacientes con anemia drepanocítica típicamente experimentan periodos intermitentes de exacerbación aguda denominados crisis, donde las crisis se categorizan como anémicas o vaso-oclusivas. Los anticuerpos anti-IL-4R son útiles en el tratamiento o la prevención de crisis drepanocíticas, especialmente en sujetos con niveles elevados de IL-4 o en quienes la respuesta inmunitaria se ha desplazado hacia una respuesta de tipo TH2. La anemia drepanocítica (especialmente las crisis drepanocíticas) se ha asociado con un aumento de susceptibilidad a enfermedades infecciosas, incluyendo infecciones bacterianas. La administración de anticuerpos anti-IL-4R a pacientes con anemia drepanocítica puede ayudar al paciente a generar una respuesta inmunitaria contra las enfermedades infecciosas.

Síndrome de Sjogren

5 La enfermedad autoinmunitaria conocidas como síndrome de Sjogren o síndrome sicca típicamente combina sequedad en los ojos y sequedad en la boca con un trastorno de los tejidos conjuntivos, tal como artritis reumatoidea, lupus, esclerodermia o polimiositis. La gran mayoría de los pacientes son mujeres de mediana edad (o mayores). El síndrome de Sjogren es una enfermedad inflamatoria de las glándulas (p. ej., las glándulas lagrimales y salivales) y otros tejidos del cuerpo. El síndrome típicamente se asocia con la producción de auto-anticuerpos.

Se pueden administrar anticuerpos anti-IL-4R para reducir la respuesta inflamatoria (tal como la inflamación de las glándulas, incluyendo las glándulas lagrimales) en dichos sujetos. Los anticuerpos anti-IL-4R pueden beneficiar a pacientes con el síndrome de Sjogren, suprimiendo una respuesta inmunitaria de tipo TH2. No obstante, los métodos para tratar a sujetos de acuerdo con la presente invención no se limitan a un mecanismo de acción particular.

10 Síndrome linfoproliferativo autoinmunitario

15 Las manifestaciones del síndrome linfoproliferativo autoinmunitario incluyen linfoproliferación y producción de auto-anticuerpos. Los pacientes que padecen el síndrome presentan deficiencia heredada de apoptosis. Los anticuerpos anti-IL-4R pueden beneficiar a sujetos con este síndrome, suprimiendo una respuesta inmunitaria de tipo TH2. No obstante, los métodos para tratar a dichos sujetos de acuerdo con la presente invención no se limitan a un mecanismo de acción particular.

Anemia hemolítica autoinmunitaria

20 La secreción excesiva de IL-4 y una deficiencia de las citocinas de tipo TH1 contribuyen a la patogenia de la anemia hemolítica autoinmunitaria. Los anticuerpos anti-IL-4R se administran de acuerdo con la presente invención para beneficiar a los pacientes, reduciendo la producción de autoanticuerpos y restaurando un equilibrio más normal entre los componentes TH1 y TH2 de la respuesta inmunitaria.

Uveítis autoinmunitaria

25 La uveítis implica la inflamación de la úvea (se considera que en general incluye el iris, el cuerpo ciliar y coroide, en conjunto). El exceso de secreción de IL-4 desempeña una función en la patogenia de esta enfermedad ocular inflamatoria que pone en riesgo la visión. De acuerdo con la presente invención, se administran los anticuerpos anti-IL-4R a un sujeto que padece, o conlleva riesgo de padecer, uveítis. En una realización, los anticuerpos anti-IL-4R se administran a un individuo que padece uveoretinitis autoinmunitaria.

Enfermedad de Kawasaki

30 También conocida como síndrome de ganglios linfáticos mucocutáneos, la enfermedad de Kawasaki (KD) afecta principalmente a niños pequeños. La enfermedad se caracteriza por cambios particulares en el revestimiento de las membranas mucosas, los labios y la boca, y por ganglios linfáticos agrandados e hipersensibles. Los síntomas típicamente incluyen fiebre, conjuntivitis, inflamación de los labios y las membranas mucosas de la boca, ganglios inflamados en el cuello y eritema que cubre las manos y los pies, conduciendo a una piel endurecida, inflamada y desprendida en las manos y los pies. En niños con enfermedad de Kawasaki (KD), también se puede presentar inflamación de las arterias (vasculitis). Debido al efecto de la enfermedad sobre el sistema vascular, la KD es la causa principal de enfermedad cardíaca adquirida en niños.

35 Se pueden administrar anticuerpos anti-IL-4R a sujetos con enfermedad de Kawasaki. La secreción excesiva de IL-4 y una deficiencia de citocinas de tipo TH1 contribuyen a la patogenia de la enfermedad.

Esófago de Barrett

40 El esófago de Barrett es una afección caracterizada por la alteración (subsiguiente a irritación) de las células del tejido epitelial que recubre la porción inferior del esófago. El reflujo frecuente de los contenidos del estómago hacia el esófago, con el transcurso del tiempo, puede conducir a esófago de Barrett. Los pacientes con esófago de Barrett presentan riesgo de padecer cáncer esofágico (p. ej., adenocarcinoma). Sin desear estar influenciados por un mecanismo de acción particular, la administración de un anticuerpo anti-IL-4R puede beneficiar a un sujeto con esófago de Barrett, suprimiendo una respuesta inmunitaria de tipo TH2. En una realización, se administra un anticuerpo anti-IL-4R a un sujeto que padece esofagitis, para inhibir el avance a esófago de Barrett.

Nefrosis

50 La nefrosis, también conocida como síndrome nefrótico, es una nefropatía no inflamatoria y no maligna. En la afección conocida como nefrosis con cambio mínimo, el daño glomerular (que se cree que surge de cambios estructurales en las células epiteliales viscerales glomerulares) produce anomalías que incluyen proteinuria. Una respuesta inmunitaria de tipo TH2 (especialmente secreción de citocinas de tipo TH2, IL-4 e IL-13) desempeña una función en la patogenia de nefrosis con cambio mínimo.

Otras indicaciones

Otros ejemplos de afecciones que pueden tratarse de acuerdo con la presente invención incluyen, aunque sin limitarse a ello, los siguientes. los anticuerpos anti-IL-4R se pueden emplear en el tratamiento o la prevención de síndrome de hiper IgE, síndrome hipereosinofílico idiopático, reacciones alérgicas a medicación, enfermedades ampollas autoinmunitarias (p. ej., pénfigo vulgar o pénfigo buloso), miastenia grave (una enfermedad muscular autoinmunitaria) y síndrome de fatiga crónica. Los anticuerpos anti-IL-4R se pueden emplear en el tratamiento de GVHD; los métodos particulares para tratar GVHD en combinación con otros agentes terapéuticos se describen a continuación. Los anticuerpos anti-IL-4R también son útiles para tratar o prevenir hepatotoxicidad inducida por fármacos tales como diclofenac (un fármaco antiinflamatorio no esteroideo).

Se puede emplear un anticuerpo anti-IL-4R como adyuvante del tratamiento de inmunoterapia para alergia. Los anticuerpos anti-IL-4R también son útiles como adyuvantes de vacunas, tales como adyuvantes para vacunas contra el cáncer y vacunas antiinfecciosas. El uso de los anticuerpos anti-IL-4R es especialmente ventajoso cuando resulta beneficioso favorecer una respuesta inmunitaria de tipo TH1 para prevenir o tratar la afección para la cual se administra la vacuna. Los anticuerpos anti-IL-4R se pueden emplear cuando se desea reducir una respuesta inmunitaria mediada por anticuerpos y/o promover una respuesta inmunitaria mediada por células T.

15 Anticuerpos anti-IL-4R

En un aspecto, la presente invención provee anticuerpos y sus fragmentos, derivados, muteínas y variantes, que se unen al receptor de IL-4 alfa, p. ej., al receptor de IL-4 humano, alfa.

Los anticuerpos anti-IL-4R que se pueden emplear de acuerdo con la presente invención incluyen anticuerpos que inhiben la actividad biológica de IL-4. Los ejemplos de dichas actividades biológicas incluyen la asociación con otro componente receptor (p. ej., IL-2R gamma o IL-13R alfa), unión (o bien solo o como parte de un complejo receptor multimérico), una molécula de señalización (p. ej., IL-4 o IL-13) y transducción de una señal en respuesta a la unión de una molécula de señalización.

Los diferentes anticuerpos anti-IL-4R pueden unirse a diferentes dominios o epítopos de IL-4R o actuar por diferentes mecanismos de acción. Los ejemplos incluyen, aunque sin limitarse a ello, anticuerpos que interfieren con la unión de IL-4 a IL-4R o que inhiben la transducción de señales. El sitio de acción puede ser, por ejemplo, intracelular (p. ej., interfiriendo con una cascada de señalización intracelular) o extracelular. Un anticuerpo no necesita inhibir completamente una actividad inducida por IL-4 para encontrar utilidad en la presente invención, en cambio, los anticuerpos que reducen una actividad particular de IL-4 se contemplan también para uso.

Los análisis anteriormente presentados de mecanismos de acción particulares para los anticuerpos anti-IL-4R en el tratamiento de enfermedades particulares son ilustrativos solamente, y los métodos presentados en la presente memoria no se limitan a ello. Los mecanismos de acción mediante los cuales los anticuerpos anti-IL-4R alivian las enfermedades no están limitados a aquellos anteriormente analizados.

Un anticuerpo anti-IL-4R puede inhibir un flujo de células mediado por IL-4 implicadas en una respuesta inmunitaria o inflamatoria. Un anticuerpo puede actuar, por ejemplo, reduciendo la proliferación, activación, migración, flujo o acumulación de un tipo de célula particular, o inhibiendo una respuesta biológica directa o indirectamente atribuible a un tipo de célula particular. Los ejemplos de tipos de células particulares son fibroblastos, mastocitos y eosinófilos.

Como se analizó anteriormente, algunas afecciones pueden tratarse suprimiendo una respuesta inmunitaria de tipo TH2. La IL-4R se asocia con una respuesta TH2, y es una de las citocinas segregadas por los linfocitos T cooperadores de tipo 2 (células TH2). Un anticuerpo anti-IL-4R se puede administrar para reducir una respuesta inmunitaria de tipo TH2. Se puede decir que el anticuerpo IL-4R reduce la proliferación de células TH2, para suprimir una respuesta TH2, para desplazar la respuesta inmunitaria hacia una respuesta TH1, o para favorecer la respuesta de tipo TH1. Los antagonistas de otra citocina(s) de tipo TH2, como IL-5, IL-10 o IL-13, pueden administrarse adicionalmente a sujetos que tienen un trastorno que implica niveles elevados de dichas citocinas. Las técnicas para medir la cantidad de dichas citocinas en un sujeto, p. ej., en el suero de un sujeto, se conocen bien.

Una realización de la invención se refiere a un método para inhibir el daño al epitelio inducido por IL-4, que comprende administrar un anticuerpo anti-IL-4R a un sujeto que padece, o conlleva riesgo de padecer, una afección en la que la ruptura de la barrera epitelial mediada por IL-4 desempeña una función.

Las realizaciones particulares de los métodos provistos en la presente memoria comprenden administrar un anticuerpo anti-IL-4R para inhibir el daño al epitelio inducido por IL-4 en el tubo digestivo o el pulmón. Dichos métodos se pueden emplear para prevenir el daño epitelial, o para restaurar el funcionamiento de la barrera epitelial (es decir, promover la reparación o curación del epitelio). La capacidad de un anticuerpo anti-IL-4R de inhibir el daño al epitelio inducido por IL-4 se puede confirmar mediante cualquiera de una serie de ensayos adecuados, tales como aquellos descritos en la presente memoria.

Cualquier inflamación asociada con (o subsiguiente a) una infección puede también tratarse con un anticuerpo anti-IL-4R. El anticuerpo puede administrarse para inhibir cualquier componente inducido por IL-4 de una respuesta inflamatoria que resulta de una infección microbiana en el tubo digestivo, por ejemplo.

Las combinaciones de dos o más anticuerpos o derivados de anticuerpos, o de un anticuerpo o derivado de anticuerpo y uno o más de otros antagonistas de IL-4, IL-13, IL-4R y/o IL-13R (como se describe, por ejemplo, en las patentes estadounidenses 5,599,905, 5,840,869, 5,856,296, 5,767,065, 5,717,072, 6,391,581, 5,710,023, Idzerda et al., 1990, J. Exp. Med. 171:861-73 y Mosley *et al.*, 1989, Cell 59:335-48, se pueden emplear en los métodos y las composiciones.

Se pueden emplear procedimientos de mutagénesis específica del sitio dirigida a oligonucleótidos para proveer un gen alterado que tenga codones particulares alterados de acuerdo con la sustitución, eliminación o inserción requerida. Los ejemplos de técnicas para preparar dichas alteraciones se describen en Walder *et al.*, 1986, Gene 42:133; Bauer *et al.*, 1985, Gene 37:73; Craik, BioTechniques, enero 1985, 12-19; Smith *et al.*, 1981, *Genetic Engineering: Principles and Methods*, Plenum Press, y en las patentes estadounidenses núm. 4,518,584 y 4,737,462. Éstos y otros métodos se pueden utilizar para elaborar, por ejemplo, derivados de anticuerpos anti-IL-4R que tienen, por ejemplo, mayor afinidad, avidez o especificidad hacia IL-4R en comparación con el anticuerpo no derivatizado.

Otros derivados de anticuerpos anti-IL-4R dentro del alcance de la presente invención pueden incluir conjugados covalentes o agregados de anticuerpos anti-IL-4R o sus fragmentos, con otras proteínas o polipéptidos, tales como por expresión de proteínas de fusión recombinantes que comprenden polipéptidos heterólogos condensados al término N o al término C de un polipéptido de anticuerpos anti-IL-4R. Por ejemplo, el péptido conjugado puede ser un polipéptido de señal heteróloga (o inicial), p. ej., el polipéptido inicial del factor alfa de levadura, o un péptido tal como una marca de epítipo. Las proteínas de fusión que contienen el anticuerpo anti-IL-4R pueden comprender péptidos añadidos para facilitar la purificación o identificación del anticuerpo anti-IL-4R (p. ej., poly-His). Un polipéptido del anticuerpo anti-IL-4R también puede unirse al péptido FLAG Asp-Tyr-Lys-Asp-Asp-Asp-Lys (DYKDDDDK) (SEC ID NO:69) como se describe en Hopp *et al.*, *Bio/Technology* 6:1204, 1988, y en la patente estadounidense 5,011,912. El péptido FLAG es altamente antigénico y provee un epítipo reversiblemente unido por un anticuerpo monoclonal específico (mAb), que permite el ensayo rápido y la fácil purificación de la proteína recombinante expresada. Los reactivos útiles para preparar proteínas de fusión en las que el péptido FLAG se condensa a un polipéptido determinado se comercializan (Sigma, St. Louis, MO).

Los oligómeros que contienen uno o más polipéptidos de anticuerpo anti-IL-4R se pueden emplear como antagonistas de IL-4R. Los oligómeros pueden tener la forma de dímeros, trímeros u oligómeros superiores covalentemente unidos o no covalentemente unidos. Los oligómeros que comprenden dos o más polipéptidos de anticuerpo anti-IL-4R se contemplan para uso, donde un ejemplo es un homodímero. Otros oligómeros incluyen heterodímeros, heterotrímeros, etc.

Se pueden contemplar oligómeros que comprenden múltiples polipéptidos de anticuerpo anti-IL-4R unidos mediante interacciones covalentes o no covalentes entre los restos de péptidos condensados a polipéptidos del anticuerpo anti-IL-4R. Dichos péptidos pueden ser enlazadores (espaciadores) peptídicos, o péptidos que tienen la propiedad de promover la oligomerización. cremalleras de leucina y determinados polipéptidos derivados de anticuerpos están entre los péptidos que pueden promover la oligomerización de los polipéptidos de IL-4R unidos allí, como se describe en más detalle a continuación.

En realizaciones particulares, los oligómeros comprenden de dos a cuatro polipéptidos de anticuerpo anti-IL-4R. Los restos de anticuerpo anti-IL-4R del oligómero pueden tener cualquiera de las formas anteriormente descritas, p. ej., variantes o fragmentos. Preferiblemente, los oligómeros comprenden polipéptidos de anticuerpo anti-IL-4R que tienen actividad de unión a IL-4R.

Un oligómero se puede preparar usando polipéptidos derivados de inmunoglobulinas. La preparación de proteínas de fusión que comprenden ciertos polipéptidos heterólogos condensados a diversas porciones de polipéptidos derivados de anticuerpos (incluyendo el dominio Fc) se han descrito, p. ej., por Ashkenazi *et al.*, 1991, PNAS USA 88:10535; Byrn *et al.*, 1990, Nature 344:677; y Hollenbaugh *et al.*, 1992 "Construction of Immunoglobulin Fusion Proteins", en *Current Protocols in Immunology*, Supl. 4, páginas 10.19.1 - 10.19.11.

Se puede contemplar un dímero que comprende dos proteínas de fusión creadas condensando un fragmento de unión a IL-4R de un anticuerpo anti-IL-4R a la región Fc de un anticuerpo. El dímero puede estar hecho, por ejemplo, insertando una fusión génica que codifica la proteína de fusión en un vector de expresión apropiado, que expresa la fusión génica en células hospedantes transformadas con el vector de expresión recombinante, y permite que la proteína de fusión expresada se ensamble en gran parte como vector de expresión recombinante, y permite que la proteína de fusión expresada se ensamble en gran parte como moléculas de anticuerpo, donde se forman los enlaces disulfuro entre cadenas entre los restos Fc para producir el dímero. La expresión "polipéptido Fc", tal como se emplea en la presente memoria, incluye formas nativas y de luteína de los polipéptidos derivados de la región Fc de un anticuerpo. También se incluyen las formas truncadas de dichos polipéptidos que contienen la región bisagra que promueve la dimerización. Las proteínas de fusión que comprenden restos Fc (y oligómeros formados a partir de allí) ofrecen la ventaja de una fácil purificación por cromatografía de afinidad frente a las columnas de proteína A o proteína G.

Un polipéptido Fc adecuado, descrito en la solicitud PCT WO 93/10151, es un polipéptido monocatenario que se extiende desde la región bisagra N-terminal hacia el término C nativo de la región Fc de un anticuerpo IgG1 humano.

Otro polipéptido Fc útil es la muteína Fc descrita en la patente estadounidense 5,457,035 y en Baum *et al.*, 1994, EMBO J. 13:3992-4001. La secuencia de aminoácidos de esta muteína es idéntica a aquella de la secuencia Fc nativa presentada en el documento WO 93/10151, excepto que el aminoácido 19 ha sido modificado de Leu a Ala, el aminoácido 20 ha sido modificado de Leu a Glu y el aminoácido 22 ha sido modificado de Gly a Ala. La luteína exhibe menor afinidad hacia los receptores de Fc.

En otras realizaciones, se puede sustituir la porción variable de la cadena pesada y/o ligera de un anticuerpo por la porción variable de las cadenas pesada y/o ligera de un anticuerpo anti-IL-4R.

Alternativamente, el oligómero es una proteína de fusión que comprende múltiples polipéptidos del anticuerpo anti-IL-4R con o sin enlaces peptídicos (péptidos espaciadores). Entre los enlazadores peptídicos adecuados se encuentran aquellos descritos en las patentes estadounidenses 4,751,180 y 4,935,233.

Otro método para preparar derivados de anticuerpo anti-IL-4R oligoméricos implica el uso de una cremallera de leucina. Los dominios de cremalleras de leucina son péptidos que promueven la oligomerización de las proteínas en las que se hallan. Las cremalleras de leucina se identificaron originalmente en varias proteínas de unión a DNA (Landschulz *et al.*, 1988, Science 240:1759), y desde entonces se han hallado en una diversidad de proteínas diferentes. Entre las cremalleras de leucina conocidas se encuentran los péptidos naturales y sus derivados que se dimerizan o trimerizan. Los ejemplos de dominios de cremalleras de leucina adecuados para producir proteínas oligoméricas solubles se describen en la solicitud PCT WO 94/10308, y la cremallera de leucina derivada de la proteína D de tensioactivo pulmonar (SPD) se describe en Hoppe *et al.*, 1994, FEBS Letters 344:191, incorporado a la presente por referencia. El uso de una cremallera de leucina modificada que permite la trimerización estable de una proteína heteróloga condensada allí se describe en Fanslow *et al.*, 1994, Semin. Immunol. 6:267-78. En un planteamiento, las proteínas de fusión recombinantes que comprenden un fragmento o derivado de anticuerpo anti-IL-4R condensado a un péptido de cremallera de leucina se expresan en células hospedantes adecuadas, y los fragmentos o derivados de anticuerpo anti-IL-4R oligoméricos solubles que se forman, se recuperan del sobrenadante de cultivo.

Los polipéptidos de anticuerpo anti-IL-4R y las proteínas de fusión descritos se pueden preparar mediante una cantidad de técnicas convencionales. Por ejemplo, los polipéptidos de anticuerpo anti-IL-4R se pueden purificar de células que los expresan naturalmente, o se pueden producir en sistemas de expresión recombinante, usando cualquier técnica conocida en el campo.

Se puede usar cualquier sistema de expresión conocido en la técnica para preparar los polipéptidos recombinantes de la invención. En general, las células hospedantes se transforman con un vector de expresión recombinante que comprende DNA que codifica un polipéptido de anticuerpo anti-IL-4R deseado. Entre las células hospedantes que se pueden emplear se encuentran procariontes, células de levadura o eucarióticas superiores. Las procariontes incluyen organismos gramnegativos o grampositivos, por ejemplo *E. coli* o bacilli. Las células eucarióticas superiores incluyen células de insectos y líneas celulares consolidadas de origen mamífero.

Los ejemplos de líneas celulares hospedantes mamíferas adecuadas incluyen la línea COS-7 de células de riñón de mono (ATCC CRL 1651) (Gluzman *et al.*, 1981, Cell 23:175), células L, células 293, células C127, células 3T3 (ATCC CCL 163), células de ovario de hámster chino (CHO), células HeLa, líneas celulares BHK (ATCC CRL 10) y la línea celular CV1/EBNA derivada de riñón de mono verde africano CV1 (ATCC CCL 70) como se describen en McMahan *et al.*, 1991, EMBO J. 10: 2821. Los vectores de clonación y expresión apropiados para uso con hospedantes celulares bacterianos, fúngicos y mamíferos son descritos por *et al.* (*Cloning Vectors: A Laboratory Manual*, Elsevier, New York, 1985). Las células transformadas se cultivan bajo condiciones que promueven la expresión del polipéptido de anticuerpo anti-IL-4R, y el polipéptido se recupera por procedimientos de purificación de proteínas convencionales. Uno de dichos procedimientos de purificación incluye el uso de cromatografía de afinidad, p. ej., sobre una matriz que tiene todo o una porción (p. ej., el dominio extracelular) de IL-4R unida a ésta. Los polipéptidos contemplados para uso en la presente memoria incluyen polipéptidos del anticuerpo anti-IL-4R de mamíferos recombinantes sustancialmente homogéneos y polipéptidos de anticuerpo anti-IL-4R sustancialmente libres de materiales endógenos contaminantes.

En un aspecto, la presente invención provee anticuerpos que interfieren con la unión de IL-4 a un receptor de IL-4. Dichos anticuerpos, denominados en la presente memoria anticuerpos bloqueantes, se pueden dirigir contra IL-4R, o su fragmento, variante o derivado, y estudiar la capacidad de interferir con la unión de IL-4 a los receptores de IL-4 en ensayos convencionales. Los ejemplos de ensayos adecuados son ensayos que ensayan la capacidad de los anticuerpos de inhibir la unión de IL-4 a las células que expresan IL-4R, o que ensayan la capacidad de los anticuerpos de reducir una respuesta biológica o celular que resulta de la unión de IL-4 a los receptores de IL-4 de la superficie celular.

Se ha descrito que IL-4R alfa es un componente de ciertos complejos receptores de IL-13 de multi-subunidades (Zurawski *et al.*, 1995, J. Biol. Chem. 270:13869; de Vries, 1998, J. Allergy Clin. Immunol. 102:165; y Callard *et al.*, 1996, Immunology Today, 17:108, cada uno incorporado a la presente memoria por referencia). Por consiguiente, en una realización, se provee un anticuerpo que bloquea la unión de IL-4 y también de IL-13 a las células. Los anticuerpos inhiben la actividad biológica inducida por IL-4 y también inhiben la actividad inducida por IL-13, y por lo tanto se pueden emplear para tratar afecciones inducidas por una o ambas citocinas. Los ejemplos de dichas

afecciones incluyen, aunque sin limitarse a ello, afecciones mediadas por IgE, asma, afecciones alérgicas, rinitis alérgica y dermatitis, incluyendo dermatitis atópica.

Los anticuerpos que se unen a IL-4R alfa se pueden estudiar en diversos ensayos convencionales para determinar si interfieren con la unión de IL-13 a complejos receptores de IL-13 que contienen IL-4R. Los anticuerpos se pueden ensayar, por ejemplo, en ensayos de unión, o se puede ensayar su capacidad de inhibir una actividad biológica inducida por IL-13. Un ejemplo de un ensayo adecuado se ilustra en el Ejemplo 2 a continuación.

Los anticuerpos específicos para IL-4R alfa se pueden preparar usando cualquier técnica conocida en el campo. Véanse, por ejemplo, *Monoclonal Antibodies, Hybridomas: A New Dimension in Biological Analyses*, Kennet *et al.* (eds.), Plenum Press, New York (1980); y *Antibodies: A Laboratory Manual*, Harlow and Land (eds.), Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY, (1988).

Los fragmentos de anticuerpos de unión a antígenos de la invención se pueden producir por técnicas convencionales. Los ejemplos de dichos fragmentos incluyen, aunque sin limitarse a ello, fragmentos Fab y F(ab')₂. Los fragmentos y derivados de anticuerpos producidos por técnicas de modificación genética también se contemplan. A menos que se especifique otra cosa, el término "anticuerpo" y la expresión "anticuerpo monoclonal", tal como se emplean en la presente memoria, abarcan tanto anticuerpos enteros como sus fragmentos y/o derivados de unión a antígenos.

Las realizaciones adicionales incluyen anticuerpos quiméricos, p. ej., versiones humanizadas de anticuerpos monoclonales murinos. Dichos anticuerpos humanizados se pueden preparar por técnicas conocidas, y ofrecen la ventaja de menor inmunogenicidad cuando los anticuerpos se administran a seres humanos. En una realización, un anticuerpo monoclonal humanizado comprende el dominio variable de un anticuerpo murino (o todo o parte de su sitio de unión al antígeno) y un dominio constante derivado de un anticuerpo humano. Alternativamente, un fragmento de anticuerpo humanizado puede comprender el sitio de unión a antígeno de un anticuerpo monoclonal murino y un fragmento de dominio variable (que carece del sitio de unión a antígenos) derivado de un anticuerpo humano. Los procedimientos para la producción de anticuerpos monoclonales quiméricos y además genéticamente modificados incluyen aquellos descritos en Riechmann *et al.*, 1988, *Nature* 332:323, Liu *et al.*, 1987, *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 84:3439, Larrick *et al.*, 1989, *Biotechnology* 7:934, y Winter *et al.*, 1993, *TIPS* 14:139. El anticuerpo quimérico puede ser un anticuerpo injertado de CDR.

Se han desarrollado procedimientos para generar anticuerpos humanos o parcialmente humanos en animales no humanos. Por ejemplo, se han preparado ratones en los que uno o más genes de inmunoglobulina endógena han sido activados por diversos medios. Se han introducido genes de inmunoglobulina humana en los ratones para reemplazar los genes de ratón inactivados. Los anticuerpos producidos en el animal incorporan cadenas de polipéptidos de inmunoglobulina humana codificadas por el material genético humano introducido en el animal. Un animal no humano, tal como un ratón transgénico, se puede inmunizar con un polipéptido de IL-4R, de modo tal que los anticuerpos dirigidos contra el polipéptido de IL-4R se generan en dicho animal. Un ejemplo de un inmunógeno adecuado es una IL-4R soluble humana, tal como un polipéptido que comprende el dominio extracelular de la proteína de SEC ID NO:2, u otro fragmento inmunogénico de la proteína de SEC ID NO:2.

Los ejemplos de técnicas para producción y uso de animales transgénicos de anticuerpos humanos o parcialmente humanos se describen en las patentes estadounidenses 5,814,318, 5,569,825 y 5,545,806.

En otro aspecto, la presente invención provee anticuerpos monoclonales que se unen al receptor de IL-4. Los anticuerpos monoclonales pueden producirse usando cualquier técnica conocida en la materia, p. ej., inmortalizando células de bazo cosechadas del animal transgénico después de completar el esquema de inmunización. Las células de bazo se pueden inmortalizar usando cualquier técnica conocida en la materia, p. ej., condensándolas con células de mieloma para producir hibridomas. Las células de mieloma para uso en los procedimientos de fusión para producir hibridomas preferiblemente no producen anticuerpos, tienen alta eficiencia de fusión y deficiencias enzimáticas que las tornan incapaces de crecer en ciertos medios selectivos que soportan el crecimiento de las células condensadas deseadas únicamente (hibridomas). Los ejemplos de líneas celulares adecuadas para uso en fusiones de ratones incluyen Sp-20, P3-X63/Ag8, P3-X63-Ag8.653, NS1/1.Ag 4 1, Sp210-Ag14, FO, NSO/U, MPC-11, MPC11-X45-GTG 1.7 y S194/5XX0 Bui; los ejemplos de líneas celulares utilizadas en fusiones de ratas incluyen R210.RCY3, Y3-Ag 1.2.3, IR983F y 4B210. Otras líneas celulares útiles para fusiones celulares son U-266, GM1500-GRG2, LICR-LON-HMy2 y UC729-6.

Una línea celular de hibridoma se puede producir inmunizando un animal (p. ej., un animal transgénico que tiene secuencias de inmunoglobulina humana) con un inmunógeno de IL-4R; cosechando las células de bazo del animal inmunizado, condensando las células de bazo cosechadas a una línea celular de mieloma, generando así células de hibridoma, estableciendo líneas celulares de hibridoma de las células de hibridoma e identificando una línea celular de hibridoma que produce un anticuerpo que se une a un polipéptido de IL-4R. Dichas líneas celulares de hibridoma y los anticuerpos monoclonales anti-IL-4R producidos a partir de allí, están abarcados por la presente invención.

Los anticuerpos monoclonales segregados por una línea celular de hibridoma pueden purificarse usando cualquier técnica conocida en el campo. Los hibridomas o mAbs pueden además estudiarse para identificar mAbs con

propiedades particulares, tales como la capacidad de bloquear la actividad inducida por IL-4- y/o IL-13. Los ejemplos de dichos ensayos se proveen en los Ejemplos 2, 3 y 4.

Otros ejemplos de procedimientos para preparar anticuerpos dirigidos contra IL-4 humana (incluyendo anticuerpos monoclonales), ensayos mediante los cuales se identifican los anticuerpos bloqueantes y técnicas para generar derivados humanizados o genéticamente modificados de anticuerpos anti-IL-4 se describen en las patentes estadounidenses 5,041,381, 5,863,537, 5,928,904 y 5,676,940, incorporadas a la presente memoria por referencia. Otros ejemplos de anticuerpos que se pueden emplear como antagonistas de IL-4 se describen en el documento WO 91/09059, también incorporado a la presente memoria por referencia.

En otro aspecto, la presente invención provee anticuerpos humanos que se unen a IL-4R. En una realización de la invención, los anticuerpos humanos dirigidos contra IL-4R alfa y producidos por técnicas que implican el uso de ratones transgénicos, bloquean la unión de IL-4 y también de IL-13 a las células. Dichos anticuerpos son antagonistas de IL-4 y además funcionan como antagonistas de IL-13.

Los anticuerpos de la invención pueden comprender cualquier región constante conocida en la técnica. La región constante de cadena ligera puede ser, por ejemplo, una región constante de cadena ligera de tipo kappa o lambda, p. ej., una región constante de cadena ligera de tipo kappa o lambda humana. La región constante de cadena pesada puede ser, por ejemplo, una región constante de cadena pesada de tipo alfa-, delta-, épsilon-, gamma o mu, p. ej., una región constante de cadena pesada de tipo alfa-, delta-, épsilon-, gamma o mu humana. En una realización, la región constante de cadena ligera o pesada es un fragmento, derivado, variante o luteína de una región constante natural.

Los anticuerpos dirigidos contra un IL-4R se pueden utilizar, por ejemplo, en ensayos para detectar la presencia de polipéptidos de IL-4R, o bien *in vitro* o *in vivo*. Los anticuerpos pueden también emplearse para purificar proteínas IL-4R por cromatografía de inmunoafinidad. Esos anticuerpos que adicionalmente pueden bloquear la unión de IL-4 a IL-4R se pueden utilizar para inhibir una actividad biológica que resulta de dicha unión. El bloqueo de los anticuerpos es útil en los métodos de la presente invención. Dichos anticuerpos que funcionan como antagonistas de IL-4 se pueden emplear para tratar cualquier afección inducida por IL-4, incluyendo aunque sin limitación, asma y alergias, p. ej., rinitis alérgica, dermatitis de contacto y dermatitis atópica. En una realización, se emplea un anticuerpo monoclonal anti-IL-4R humano generado por procedimientos que implican inmunización de ratones transgénicos para tratar dichas afecciones.

Los anticuerpos se pueden emplear en un procedimiento *in vitro*, o se pueden administrar *in vivo* para inhibir una actividad biológica inducida por IL-4. Se pueden tratar así trastornos causados o exacerbados (directa o indirectamente) por la interacción de IL-4 con los receptores de IL-4 de la superficie celular, cuyos ejemplos se expusieron precedentemente en la memoria. En una realización, la presente invención proporciona un método terapéutico que comprende la administración *in vivo* de un anticuerpo bloqueante de IL-4 y/o IL-13 a un mamífero que lo necesita, en una cantidad eficaz para reducir una actividad biológica inducida por IL-4 y/o IL-13.

Los anticuerpos de la invención incluyen, aunque sin limitarse a ello, anticuerpos monoclonales parcialmente humanos y totalmente humanos que inhiben una actividad biológica de IL-4 y también inhiben una actividad biológica de IL-13. Una realización se refiere a un anticuerpo monoclonal humano que bloquea por lo menos parcialmente la unión de IL-4 a una célula, y por lo menos parcialmente la unión de IL-13 a una célula. En una realización, los anticuerpos se generan inmunizando un ratón transgénico con un inmunógeno del receptor de IL-4. En otra realización, el inmunógeno es un polipéptido del receptor de IL-4 humana. Las líneas celulares de hibridoma derivadas de ratones así inmunizados, donde el hibridoma segrega un anticuerpo monoclonal que se une a IL-4R, también se proveen en la presente memoria.

Si bien los anticuerpos humanos, parcialmente humanos o humanizados serán adecuados para muchas aplicaciones, particularmente aquellas que implican la administración del anticuerpo a un sujeto humano, otros tipos de anticuerpos serán adecuados para otras aplicaciones. Los anticuerpos no humanos de la invención pueden ser, por ejemplo, derivados de cualquier animal que produzca anticuerpos, tales como ratón, rata, cabra, mono o primates no humanos (como mono (p. ej., cynomologous o rhesus) o simios (p. ej., chimpancé)). Los anticuerpos no humanos de la invención se pueden utilizar, por ejemplo, en aplicaciones de cultivo celular *in vitro*, o en cualquier otra aplicación en la que una respuesta inmunitaria al anticuerpo de la invención no ocurre o es insignificante, puede prevenirse, no es una preocupación, o se desea. En una realización, un anticuerpo no humano de la invención se administra a un sujeto no humano. En otra realización, el anticuerpo no humano no produce una respuesta inmunitaria en el sujeto no humano. En otra realización, el anticuerpo no humano es de la misma especie que el sujeto no humano, p. ej., un anticuerpo de ratón de la invención se administra a un ratón. Un anticuerpo de una especie particular se puede preparar, por ejemplo, inmunizando a un animal de esa especie con el inmunógeno deseado (p. ej., un polipéptido del receptor de IL-4 soluble) o usando un sistema artificial para generar anticuerpos de esa especie (p. ej., un sistema a base de exhibición de fagos o bacterias para generar anticuerpos de una especie particular), o convertir un anticuerpo de una especie en un anticuerpo de otra especie, reemplazando, p. ej., la región constante del anticuerpo con una región constante de otra especie, o reemplazando uno o más residuos de aminoácidos del anticuerpo de modo que se asemeje más a la secuencia de un anticuerpo de la otra especie. En una realización, el anticuerpo es un anticuerpo quimérico que comprende secuencias de aminoácidos derivadas de

anticuerpos de dos o más especies diferentes. En otro aspecto, la presente invención provee anticuerpos que comprenden una región variable de la cadena ligera L2 y/o una región variable de la cadena pesada seleccionada del grupo que consiste en H1-H24 (excluyendo H5, H11, H14 a H16), y sus fragmentos, derivados, luteínas y variantes (véanse las Figuras 2 y 3). Dicho anticuerpo puede indicarse usando la nomenclatura "LxHy", en donde x corresponde al número de la región variable de la cadena ligera y y corresponde al número de la región variable de la cadena pesada tal como están marcados en la Figura 3. Por ejemplo, L4H17 se refiere a un anticuerpo con una región variable de la cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de L4 y una región variable de la cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de H17, como se muestra en la Figura 3. Las Figuras 2 y 3 también indican la ubicación de las regiones CDR y marco de cada una de estas secuencias de dominio variable. Los anticuerpos de la invención incluyen, por ejemplo, L2H1, L2H4, L2H12, L2H13, L2H2, L2H3, L2H6, L2H7, L2H8, L2H9 y L2H10. También se pueden usar secuencias variables adicionales de anticuerpos, p. ej., secuencias variables de anticuerpo humano. Véanse, p. ej., Sblattero *et al.*, 1998, *Immunotechnology* 3:271-78, de Haard *et al.*, 1999. *J. Biol. Chem.* 274:18218-30.

En otra realización, la presente invención provee un anticuerpo que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en: una región determinante de complementaridad de cadena ligera (CDR) 1 que consiste en los residuos 24-35 de SEC ID NO:6, una CDR2 de cadena ligera que consiste en los residuos 51-57 de SEC ID NO:6.

En otra realización, el anticuerpo inhibe la unión de IL-4 a un receptor de IL-4. El anticuerpo puede inhibir la unión de IL-13 a un receptor de IL-13. En otra realización, el anticuerpo inhibe la unión de IL-4 a un receptor de IL-4 y de IL-13 a un receptor de IL-13. En otra realización, el anticuerpo se une específicamente al receptor de IL-4 alfa.

El anticuerpo puede comprender un dominio variable de la cadena ligera que es por lo menos 80, 85, 90, 95 o 100% idéntico a una secuencia seleccionada del grupo que consiste en: SEC ID NO:6, con la salvedad que dicho dominio variable de la cadena ligera no comprende la secuencia de SEC ID NO:4.

En otra realización, la presente invención provee un fragmento de dicho anticuerpo, donde dicho fragmento se une al receptor de IL-4 alfa.

Los anticuerpos se pueden seleccionar del grupo que consiste en L2H1; un anticuerpo de L2H1 de reacción cruzada, un anticuerpo que se une al mismo epítipo que L2H1; un anticuerpo que compite con L2H1 para la unión a una célula que expresa IL-4R humano; un anticuerpo que posee una actividad biológica de L2H1 y un fragmento de unión a antígenos (incluyendo uno derivado por medios recombinantes) de L2H1. En una realización, el anticuerpo que tiene una afinidad de unión hacia IL-4R humano es sustancialmente equivalente a la afinidad de unión de L2H1 hacia IL-4R humano. Las líneas celulares de hibridoma que producen cualquiera de dichos anticuerpos también se proveen en la presente invención.

Un ejemplo de una actividad biológica de L2H1 es la capacidad de funcionar tanto como antagonista de IL-4 como antagonista de IL-13. El anticuerpo de la invención puede poseer actividad bloqueante de IL-4 sustancialmente equivalente a aquella de L2H1; y posee actividad bloqueante de IL-13 sustancialmente equivalente a aquella de L2H1. Dicha actividad puede medirse en cualquier ensayo convencional adecuado (p. ej., medirse en el ensayo de expresión de CD23 descrito en el Ejemplo 2).

Las regiones determinantes de complementaridad (CDR) de un anticuerpo determinado se pueden identificar usando el sistema descrito por Kabat *et al.* en *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, 5^{ta} Ed., US Dept. of Health and Human Services, PHS, NIH, NIH Publicación núm. 91-3242, 1991. Las realizaciones particulares de anticuerpos de la presente invención comprenden, dentro del dominio variable de su cadena ligera, por lo menos una de las regiones determinantes de complementaridad (CDR), o regiones hipervariables, que se hallan en la cadena ligera de L2H1. Las CDR de L2H1 se analizan en el Ejemplo 5. Por lo tanto, entre los anticuerpos provistos en la presente invención se encuentran aquellos que comprenden una a tres de las siguientes secuencias en el dominio variable de la cadena ligera de L2H1: residuos de aminoácidos 24-35; residuos 51-57; y residuos 90-99 de SEC ID NO:6. Los anticuerpos particulares provistos en la presente memoria comprenden, dentro del dominio variable de su cadena pesada, por lo menos una de las CDR halladas en la cadena pesada de L2H1. Por ende, entre los anticuerpos provistos en la presente invención se encuentran aquellos que comprenden una a tres de las siguientes secuencias en el dominio variable de la cadena pesada: residuos 31-35; residuos 50-65; y residuos 98-104 de la SEC ID NO: 16.

La secuencia de DNA del dominio variable de la cadena pesada de L2H1 se presenta en la SEC ID NO:5, y la secuencia de aminoácidos codificados se presenta en la SEC ID NO:6. La secuencia de DNA para el dominio variable de la cadena pesada de L2H1 se presenta como la SEC ID NO:15, y la secuencia de aminoácidos codificados se presenta en la SEC ID NO:16. Los anticuerpos de la presente invención incluyen, aunque sin limitarse a ello, anticuerpos que comprenden en su cadena ligera, la SEC, ID NO:6; y anticuerpos que además o alternativamente comprenden, en su cadena pesada, la SEC ID NO:16.

Por lo tanto, entre los anticuerpos provistos en la presente invención se encuentran aquellos que comprenden una a tres de las siguientes secuencias en el dominio variable de la cadena pesada: residuos 31-35; residuos 50-65; y residuos 98-104 de la SEC ID NO:16.

En otra realización, los anticuerpos particulares de la invención se seleccionan del grupo que consiste en L2H4; un anticuerpo de reacción cruzada con L2H4; un anticuerpo que se une al mismo epítipo que L2H4; un anticuerpo que compite con L2H4 para la unión a una célula que expresa IL-4R humano; un anticuerpo que posee una actividad biológica de L2H4; y un fragmento de unión a antígenos de cualquiera de los anticuerpos antedichos. En una
5 realización, el anticuerpo tiene una afinidad de unión hacia IL-4R humano que es sustancialmente equivalente a la afinidad de unión de L2H4 hacia IL-4R humano. Las líneas celulares de hibridoma que producen cualquiera de dichos anticuerpos se proveen en la presente invención.

Un ejemplo de una actividad biológica de L2H4 es la capacidad de funcionar tanto como antagonista de IL-4 como antagonista de IL-13. En una realización, un anticuerpo de la invención posee actividad bloqueante de IL-4
10 sustancialmente equivalente a aquella de L2H4; y posee actividad bloqueante de IL-13 sustancialmente equivalente a aquella de L2H4. Dicha actividad se puede medir con cualquier ensayo convencional adecuado (p. ej., medirse en el ensayo de expresión de CD23 descrito en el Ejemplo 2).

La secuencia de DNA del dominio variable de la cadena ligera de L2H4 se presenta en la SEC ID NO:5, y la secuencia de aminoácidos codificada se presenta en la SEC ID NO:6. La secuencia de DNA para el dominio variable
15 de la cadena pesada de L2H4 se presenta como la SEC ID NO:21, y la secuencia de aminoácidos codificada se presenta en la SEC ID NO:22. Los anticuerpos de la presente invención incluyen, aunque sin limitarse a ello, anticuerpos que comprenden, en su cadena ligera, los residuos 1 a 109 de la SEC ID NO:6; y anticuerpos que adicional o alternativamente comprenden, en su cadena pesada, los residuos 1 a 115 de la SEC ID NO:22.

Las realizaciones particulares de anticuerpos de la presente invención comprenden, dentro del dominio variable de
20 su cadena ligera, por lo menos una de las regiones determinantes de complementaridad (CDR), o regiones hipervariables, que se hallan en la cadena ligera de L2H4. Las CDR de L2H4 se analizan en el Ejemplo 5. Por lo tanto, entre los anticuerpos provistos en la presente memoria se encuentran aquellos que comprenden entre una y tres de las siguientes secuencias en el dominio variable de la cadena ligera: residuos de aminoácidos 24-35; residuos 51-57; y residuos 90-99 de la SEC ID NO:6. Los anticuerpos particulares provistos en la presente invención
25 comprenden, dentro del dominio variable de su cadena pesada, por lo menos una de las CDR que se hallan en la cadena pesada de L2H4. Por lo tanto, entre los anticuerpos provistos en la presente invención se encuentran aquellos que comprenden una a tres de las siguientes secuencias en el dominio variable de la cadena pesada: residuos 31-35; residuos 50-65; y residuos 98-104 de la SEC ID NO:22.

En otra realización, los anticuerpos particulares de la invención se seleccionan del grupo que consiste en L2H12; un anticuerpo de reacción cruzada con L2H12; un anticuerpo que se une al mismo epítipo que L2H12; un anticuerpo
30 que compite con L2H12 para la unión a una célula que expresa IL-4R humano; un anticuerpo que posee una actividad biológica de L2H12; y un fragmento de unión a antígenos de cualquiera de los anticuerpos antedichos. En una realización, el anticuerpo posee una afinidad de unión hacia IL-4R humano que es sustancialmente equivalente a la afinidad de unión de L2H12 hacia IL-4R humano. Las líneas celulares de hibridoma que producen cualquiera de dichos anticuerpos también se proveen en la presente invención.
35

Un ejemplo de una actividad biológica de L2H12 es la capacidad de funcionar tanto como antagonista de IL-4 como antagonista de IL-13. En una realización, un anticuerpo de la invención posee actividad bloqueante de IL-4
40 sustancialmente equivalente a aquella de L2H12; y posee actividad bloqueante de IL-13 sustancialmente equivalente a aquella de L2H12. Dicha actividad se puede medir en cualquier ensayo convencional adecuado (p. ej., medirse en el ensayo de expresión de CD23 descrito en el Ejemplo 2).

La secuencia de DNA del dominio variable de la cadena ligera de L2H12 se presenta en la SEC ID NO:5, y la secuencia de aminoácidos codificada se presenta en la SEC ID NO:6. La secuencia de DNA para el dominio variable
45 de la cadena pesada de L2H12 se presenta como la SEC ID NO:37, y la secuencia de aminoácidos codificada se presenta como la SEC ID NO:38. Los anticuerpos de la presente invención incluyen, aunque sin limitarse a ello, anticuerpos que comprenden, en su cadena ligera, los residuos 1 a 109 de la SEC ID NO:6; y anticuerpos que adicional o alternativamente comprenden, en su cadena pesada, los residuos 1 a 115 de la SEC ID NO:38.

Las realizaciones particulares de anticuerpos de la presente invención comprenden, dentro del dominio variable de
50 su cadena ligera, por lo menos una de las regiones determinantes de complementaridad (CDR), o regiones hipervariables que se hallan en la cadena ligera de L2H12. Las CDR de L2H12 se analizan en el Ejemplo 5. Por lo tanto, entre los anticuerpos provistos en la presente memoria se encuentran aquellos que comprenden entre una y tres de las siguientes secuencias en el dominio variable de la cadena ligera: residuos de aminoácidos 24-35; residuos 51-57; y residuos 90-99 de la SEC ID NO:6. Los anticuerpos particulares provistos en la presente memoria comprenden, dentro del dominio variable de su cadena pesada, por lo menos una de las CDR que se hallan en la
55 cadena pesada de L2H12. Por ende, entre los anticuerpos provistos en la presente invención se encuentran aquellos que comprenden entre una y tres de las siguientes secuencias en el dominio variable de la cadena pesada: residuos 31-35; residuos 50-65; y residuos 98-104 de la SEC ID NO:38.

En otra realización, los anticuerpos particulares de la invención se seleccionan del grupo que consiste en L2H13; un anticuerpo de reacción cruzada con L2H13; un anticuerpo que se une al mismo epítipo que L2H13; un anticuerpo
60 que compite con L2H13 para la unión a una célula que expresa IL-4R humano; un anticuerpo que posee una actividad biológica de L2H13; y un fragmento de unión a antígenos de cualquiera de los anticuerpos antedichos. En

una realización, el anticuerpo posee una afinidad de unión hacia IL-4R humano que es sustancialmente equivalente a la afinidad de unión de L2H13 hacia IL-4R humano. Las líneas celulares de hibridoma que producen cualquiera de dichos anticuerpos también se proveen en la presente invención.

5 Un ejemplo de una actividad biológica de L2H13 es la capacidad de funcionar tanto como antagonista de IL-4 como antagonista de IL-13. En una realización, un anticuerpo de la invención posee actividad bloqueante de IL-4 sustancialmente equivalente a aquella de L2H13; y posee actividad bloqueante de IL-13 sustancialmente equivalente a aquella de L2H13. Dicha actividad se puede medir en cualquier ensayo convencional adecuado (p. ej., medirse en el ensayo de expresión de CD23 descrito en el Ejemplo 2).

10 La secuencia de DNA del dominio variable de la cadena ligera de L2H13 se presenta en la SEC ID NO:5, y la secuencia de aminoácidos codificada se presenta en la SEC ID NO:6. La secuencia de DNA para el dominio variable de la cadena pesada de L2H13 se presenta como la SEC ID NO:39, y la secuencia de aminoácidos codificada se presenta en la SEC ID NO:40. Los anticuerpos de la presente invención incluyen, aunque sin limitarse a ello, anticuerpos que comprenden, en su cadena ligera, los residuos 1 a 109 de la SEC ID NO:6; y anticuerpos que adicional o alternativamente comprenden, en su cadena pesada, los residuos 1 a 115 de la SEC ID NO:40.

15 Las realizaciones particulares de anticuerpos de la presente invención comprenden, dentro del dominio variable de su cadena ligera, por lo menos una de las regiones determinantes de complementaridad (CDR), o sus regiones hipervariables en la cadena ligera de L2H13. Las CDR de L2H13 se analizan en el Ejemplo 5. Por lo tanto, entre los anticuerpos provistos en la presente invención se encuentran aquellos que comprenden entre una y tres de las siguientes secuencias en el dominio variable de la cadena ligera: residuos de aminoácidos 24-35; residuos 51-57; y
20 residuos 90-99 de la SEC ID NO:6. Los anticuerpos particulares provistos en la presente invención comprenden, dentro del dominio variable de su cadena pesada, por lo menos una de las CDR que se hallan en la cadena pesada de L2H13. Por ende, entre los anticuerpos provistos en la presente memoria se encuentran aquellos que comprenden entre una y tres de las siguientes secuencias en el dominio variable de la cadena pesada; residuos 31-35; residuos 50-65; y residuos 98-104 de la SEC ID NO:40.

25 En otra realización, los anticuerpos particulares de la invención se seleccionan del grupo que consiste en L2H2; un anticuerpo de reacción cruzada con L2H2; un anticuerpo que se une al mismo epítipo que L2H2; un anticuerpo que compite con L2H2 para la unión a una célula que expresa IL-4R humano; un anticuerpo que posee actividad biológica de L2H2; y un fragmento de unión a antígenos de cualquiera de los anticuerpos antedichos. En una
30 realización, el anticuerpo posee una afinidad de unión hacia IL-4R humano que es sustancialmente equivalente a la afinidad de unión de L2H2 hacia IL-4R humano. Las líneas celulares de hibridoma que producen cualquiera de dichos anticuerpos también se proveen en la presente invención.

Un ejemplo de una actividad biológica de L2H2 es la capacidad de funcionar tanto como antagonista de IL-4 como antagonista de IL-13. En una realización, un anticuerpo de la invención posee actividad bloqueante de IL-4
35 sustancialmente equivalente a aquella de L2H2; y posee actividad bloqueante de IL-13 sustancialmente equivalente a aquella de L2H2. Dicha actividad se puede medir en cualquier ensayo convencional adecuado (p. ej., medirse en el ensayo de expresión de CD23 descrito en el Ejemplo 2).

La secuencia de DNA del dominio variable de la cadena ligera de L2H2 se presenta en la SEC ID NO:5, y la secuencia de aminoácidos codificada se presenta en la SEC ID NO:6. La secuencia de DNA para el dominio variable de la cadena pesada de L2H2 se presenta como la SEC ID NO:17, y la secuencia de aminoácidos codificada se
40 presenta en la SEC ID NO:18. Los anticuerpos de la presente invención incluyen, aunque sin limitarse a ello, anticuerpos que comprenden, en su cadena ligera, los residuos 1 a 109 de la SEC ID NO:6; y anticuerpos que adicional o alternativamente comprenden, en su cadena pesada, los residuos 1 a 115 de la SEC ID NO: 18.

Las realizaciones particulares de anticuerpos de la presente invención comprenden, dentro del dominio variable de su cadena ligera, por lo menos una de las regiones determinantes de complementaridad (CDR), o sus regiones hipervariables, que se hallan en la cadena ligera de L2H2. Las CDR de L2H2 se analizan en el Ejemplo 5. Por lo tanto, entre los anticuerpos provistos en la presente invención se encuentran aquellos que comprenden una a tres de las siguientes secuencias en el dominio variable de la cadena ligera: residuos de aminoácidos 24-35; residuos 51-57; y residuos 90-99 de la SEC ID NO:6. Los anticuerpos particulares provistos en la presente invención comprenden, dentro del dominio variable de su cadena pesada, por lo menos una de las CDR que se hallan en la
45 cadena pesada de L2H2. Por ende, entre los anticuerpos provistos en la presente invención se encuentran aquellos que comprenden entre una y tres de las siguientes secuencias en el dominio variable de la cadena pesada: residuos 31-35; residuos 50-65; y residuos 98-104 de la SEC ID NO:18.

En otra realización, los anticuerpos particulares de la invención se seleccionan del grupo que consiste en L2H3; un anticuerpo de reacción cruzada con L2H3; un anticuerpo que se une al mismo epítipo que L2H3; un anticuerpo que compite con L2H3 para unión a la célula que expresa IL-4R humano; un anticuerpo que posee una actividad biológica de L2H3; y un fragmento de unión a antígenos de cualquiera de los anticuerpos antedichos. En una
55 realización, el anticuerpo posee una afinidad de unión hacia IL-4R humano que es sustancialmente equivalente a la afinidad de unión de L2H3 hacia IL-4R humano. Las líneas celulares de hibridoma que producen cualquiera de dichos anticuerpos se proveen en la presente invención.

Un ejemplo de una actividad biológica de L2H3 es la capacidad de funcionar tanto como antagonista de IL-4 como antagonista de IL-13. En una realización, un anticuerpo de la invención posee actividad bloqueante de IL-4 sustancialmente equivalente a aquella de L2H3; y posee actividad bloqueante de IL-13 sustancialmente equivalente a aquella de L2H3. Dicha actividad se puede medir en cualquier ensayo convencional adecuado (p. ej., medirse en el ensayo de expresión de CD23 descrito en el Ejemplo 2).

La secuencia de DNA del dominio variable de la cadena ligera de L2H3 se presenta en la SEC ID NO:5, y la secuencia de aminoácidos codificada se presenta en la SEC ID NO:6. La secuencia de DNA para el dominio variable de la cadena pesada de L2H3 se presenta como SEC ID NO:19, y la secuencia de aminoácidos codificada se presenta en la SEC ID NO:20. Los anticuerpos de la presente invención incluyen, aunque sin limitarse a ello, anticuerpos que comprenden, en su cadena ligera, los residuos 1 a 109 de la SEC ID NO:6; y anticuerpos que adicional o alternativamente comprenden, en su cadena pesada, los residuos 1 a 115 de la SEC ID NO:20.

Las realizaciones particulares de anticuerpos de la presente invención comprenden, dentro del dominio variable de su cadena ligera, por lo menos una de las regiones determinantes de complementaridad (CDR), o regiones hipervariables, que se hallan en la cadena ligera de L2H3. Las CDR de L2H3 se analizan en el Ejemplo 5. Por consiguiente, entre los anticuerpos provistos en la presente memoria se encuentran aquellos que comprenden entre una y tres de las siguientes secuencias en el dominio variable de la cadena ligera: residuos de aminoácidos 24-35; residuos 51-57; y residuos 90-99 de la SEC ID NO:6. Los anticuerpos particulares provistos en la presente invención comprenden, dentro del dominio variable de su cadena pesada, por lo menos una de las CDR que se hallan en la cadena pesada de L2H3. Por lo tanto, entre los anticuerpos provistos en la presente memoria se encuentran aquellos que comprenden entre una y tres de las siguientes secuencias en el dominio variable de la cadena pesada: residuos 31-35; residuos 50-65; y residuos 98-104 de la SEC ID NO:20.

En otra realización, los anticuerpos particulares de la invención se seleccionan del grupo que consiste en L2H6; un anticuerpo de reacción cruzada con L2H6; un anticuerpo que se une al mismo epítipo que L2H6; un anticuerpo que compite con L2H6 para la unión a una célula que expresa IL-4R humano; un anticuerpo que posee una actividad biológica de L2H6; y un fragmento de unión a antígenos de cualquiera de los anticuerpos antedichos. En una realización, el anticuerpo tiene una afinidad de unión hacia IL-4R humano que es sustancialmente equivalente a la afinidad de unión de L2H6 hacia IL-4R humano. Las líneas celulares de hibridoma que producen cualquiera de dichos anticuerpos también se proveen en la presente invención.

Un ejemplo de una actividad biológica de L2H6 es la capacidad de funcionar tanto como antagonista de IL-4 como antagonista de IL-13. En una realización, un anticuerpo de la invención posee actividad bloqueante de IL-4 sustancialmente equivalente a aquella de L2H6; y posee actividad bloqueante de IL-13 sustancialmente equivalente a aquella de L2H6. Dicha actividad se puede medir en cualquier ensayo convencional adecuado (p. ej., medirse en el ensayo de expresión de CD23 descrito en el Ejemplo 2).

La secuencia de DNA del dominio variable de la cadena ligera de L2H6 se presenta en la SEC ID NO:5, y la secuencia de aminoácidos codificada se presenta en la SEC ID NO:6. La secuencia de DNA para el dominio variable de la cadena pesada de L2H6 se presenta como la SEC ID NO:25, y la secuencia de aminoácidos codificada se presenta en la SEC ID NO:26. Los anticuerpos de la presente invención incluyen, aunque sin limitarse a ello, anticuerpos que comprenden, en su cadena ligera, los residuos 1 a 109 de la SEC ID NO:6; y anticuerpos que adicional o alternativamente comprenden, en su cadena pesada, los residuos 1 a 115 de la SEC ID NO:26.

Las realizaciones particulares de anticuerpos de la presente invención comprenden, dentro del dominio variable de su cadena ligera, por lo menos una de las regiones determinantes de complementaridad (CDR), o regiones hipervariables, que se hallan en la cadena ligera de L2H6. Las CDR de L2H6 se analizan en el Ejemplo 5. Por lo tanto, entre los anticuerpos provistos en la presente invención se encuentran aquellos que comprenden de una a tres de las siguientes secuencias en el dominio variable de la cadena ligera: residuos de aminoácidos 24-35; residuos 51-57; y residuos 90-99 de la SEC ID NO:6. Los anticuerpos particulares provistos en la presente invención comprenden, dentro del dominio variable de su cadena pesada, por lo menos una de las CDR que se hallan en la cadena pesada de L2H6. Por ende, entre los anticuerpos provistos en la presente invención se encuentran aquellos que comprenden de una a tres de las siguientes secuencias en el dominio variable de la cadena pesada: residuos 31-35; residuos 50-65; y residuos 98-104 de la SEC ID NO:26.

En otra realización, los anticuerpos particulares de la invención se seleccionan del grupo que consiste en L2H7; un anticuerpo de reacción cruzada con L2H7; un anticuerpo que se une al mismo epítipo que L2H7; un anticuerpo que compite con L2H7 para la unión a una célula que expresa IL-4R humano; un anticuerpo que posee una actividad biológica de L2H7; y un fragmento de unión a antígenos de cualquiera de los anticuerpos antedichos. En una realización, el anticuerpo tiene una afinidad de unión hacia IL-4R humano que es sustancialmente equivalente a la afinidad de unión de L2H7 hacia IL-4R humano. Las líneas celulares de hibridoma que producen cualquiera de dichos anticuerpos también se proveen en la presente invención.

Un ejemplo de una actividad biológica de L2H7 es la capacidad de funcionar tanto como antagonista de IL-4 como antagonista de IL-13. En una realización, un anticuerpo de la invención posee actividad bloqueante de IL-4 sustancialmente equivalente a aquella de L2H7; y posee actividad bloqueante de IL-13 sustancialmente equivalente

a aquella de L2H7. Dicha actividad se puede medir en cualquier ensayo convencional adecuado (p. ej., medirse en el ensayo de expresión de CD23 descrito en el Ejemplo 2).

La secuencia de DNA del dominio variable de la cadena ligera de L2H7 se presenta en la SEC ID NO:5, y la secuencia de aminoácidos codificada se presenta en la SEC ID NO:6. La secuencia de DNA para el dominio variable de la cadena pesada de L2H7 se presenta como SEC ID NO:27, y la secuencia de aminoácidos codificada se presenta en la SEC ID NO:28. Los anticuerpos de la presente invención incluyen, aunque sin limitarse a ello, anticuerpos que comprenden, en su cadena ligera, los residuos 1 a 109 de la SEC ID NO:6; y anticuerpos que adicional o alternativamente comprenden, en su cadena pesada, los residuos 1 a 115 de la SEC ID NO:28.

Las realizaciones particulares de anticuerpos de la presente invención comprenden, dentro del dominio variable de su cadena ligera, por lo menos una de las regiones determinantes de complementaridad (CDR), o regiones hipervariables, que se hallan en la cadena ligera de L2H7. Las CDR de L2H7 se analizan en el Ejemplo 5. Por lo tanto, entre los anticuerpos provistos en la presente invención se encuentran aquellos que comprenden entre una y tres de las siguientes secuencias en el dominio variable de la cadena ligera: residuos de aminoácidos 24-35; residuos 51-57; y residuos 90-99 de la SEC ID NO:6. Los anticuerpos particulares provistos en la presente invención comprenden, dentro del dominio variable de su cadena pesada, por lo menos una de las CDR que se hallan en la cadena pesada de L2H7. Por lo tanto, entre los anticuerpos provistos en la presente invención se encuentran aquellos que comprenden entre una y tres de las siguientes secuencias en el dominio variable de la cadena pesada: residuos 31-35; residuos 50-65; y residuos 98-104 de la SEC ID NO:28.

En otra realización, los anticuerpos particulares de la invención se seleccionan del grupo que consiste en L2H8; un anticuerpo de reacción cruzada con L2H8; un anticuerpo que se une al mismo epítipo que L2H8; un anticuerpo que compite con L2H8 para la unión a una célula que expresa IL-4R humano; un anticuerpo que posee una actividad biológica de L2H8; y un fragmento de unión a antígenos de cualquiera de los anticuerpos antedichos. En una realización, el anticuerpo posee una afinidad de unión hacia IL-4R humano que es sustancialmente equivalente a la afinidad e unión de L2H8 hacia IL-4R humano. Las líneas celulares de hibridoma que producen cualquiera de dichos anticuerpos también se proveen en la presente invención.

Un ejemplo de dicha actividad biológica de L2H8 es la capacidad de funcionar tanto como antagonista de IL-4 como antagonista de IL-13. En una realización, un anticuerpo de la invención posee actividad bloqueante de IL-4 sustancialmente equivalente a aquella de L2H8; y posee actividad bloqueante de IL-13 sustancialmente equivalente a aquella de L2H8. Dicha actividad puede medirse en cualquier ensayo convencional adecuado (p. ej., medirse en el ensayo de expresión de CD23 descrito en el Ejemplo 2).

La secuencia de DNA del dominio variable de la cadena ligera de L2H8 se presenta en la SEC ID NO:5, y la secuencia de aminoácidos codificada se presenta en la SEC ID NO:6. La secuencia de DNA para el dominio variable de la cadena pesada de L2H8 se presenta como la SEC ID NO:29, y la secuencia de aminoácidos codificada se presenta en la SEC ID NO:30. Los anticuerpos de la presente invención incluyen, aunque sin limitarse a ello, anticuerpos que comprenden, en su cadena ligera, los residuos 1 a 109 de la SEC ID NO:6; y anticuerpos que adicional o alternativamente comprenden, en su cadena ligera, los residuos 1 a 115 de la SEC ID NO:30.

Las realizaciones particulares de los anticuerpos de la presente invención comprenden, dentro del dominio variable de su cadena ligera, por lo menos una de las regiones determinantes de complementaridad (CDR), o regiones hipervariables, que se hallan en la cadena ligera de L2H8. Las CDR de L2H8 se analizan en el Ejemplo 5. Por lo tanto, entre los anticuerpos provistos en la presente invención se encuentran aquellos que comprenden entre una y tres de las siguientes secuencias en el dominio variable de la cadena ligera: residuos de aminoácidos 24-35; residuos 51-57; y residuos 90-99 de la SEC ID NO:6. Los anticuerpos particulares provistos en la presente invención comprenden, dentro del dominio variable de su cadena pesada, por lo menos una de las CDR que se hallan en la cadena pesada de L2H8. Por lo tanto, entre los anticuerpos provistos en la presente invención se encuentran aquellos que comprenden entre una y tres de las siguientes secuencias en el dominio variable de la cadena pesada: residuos 31-35; residuos 50-65; y residuos 98-104 de la SEC ID NO:30.

En otra realización, los anticuerpos particulares de la invención se seleccionan del grupo que consiste en L2H9; un anticuerpo de reacción cruzada con L2H9; un anticuerpo que se une al mismo epítipo que L2H9; un anticuerpo que compite con L2H9 para la unión a una célula que expresa IL-4R humano; un anticuerpo que posee una actividad biológica de L2H9; y un fragmento de unión a antígenos de cualquiera de los anticuerpos antedichos. En una realización, el anticuerpo tiene una afinidad de unión hacia IL-4R humano que es sustancialmente equivalente a la afinidad de unión de L2H9 hacia IL-4R humano. Las líneas celulares de hibridoma que producen cualquiera de dichos anticuerpos también se proveen en la presente invención.

Un ejemplo de una actividad biológica de L2H9 es la capacidad de funcionar tanto como antagonista de IL-4 como antagonista de IL-13. En una realización, un anticuerpo de la invención posee actividad bloqueante de IL-4 sustancialmente equivalente a aquella de L2H9; y posee actividad bloqueante de IL-13 sustancialmente equivalente a aquella de L2H9. Dicha actividad puede medirse en cualquier ensayo convencional adecuado (p. ej., medirse en el ensayo de expresión de CD23 descrito en el Ejemplo 2). La secuencia de DNA del dominio variable de la cadena ligera de L2H9 se presenta en la SEC ID NO:5, y la secuencia de aminoácidos codificada se presenta en la SEC ID NO:6. La secuencia de DNA para el dominio variable de la cadena pesada de L2H9 se presenta como la SEC ID

NO:31, y la secuencia de aminoácidos codificada se presenta en la SEC ID NO:32. Los anticuerpos de la presente invención incluyen, aunque sin limitarse a ello, anticuerpos que comprenden, en su cadena ligera, los residuos 1 a 109 de la SEC ID NO:6; y anticuerpos que adicional o alternativamente comprenden, en su cadena ligera, los residuos 1 a 115 de la SEC ID NO:32.

5 Las realizaciones particulares de los anticuerpos de la presente invención comprenden, dentro del dominio variable de su cadena ligera, por lo menos una de las regiones determinantes de complementaridad (CDR), o regiones hipervariables, que se hallan en la cadena ligera de L2H9. Las CDR de L2H9 se analizan en el Ejemplo 5. Por lo tanto, entre los anticuerpos provistos en la presente invención se encuentran aquellos que comprenden entre una y tres de las siguientes secuencias en el dominio variable de la cadena ligera: residuos de aminoácidos 24-35; 10 residuos 51-57; y residuos 90-99 de la SEC NO:6. Las realizaciones particulares de los anticuerpos de la presente invención comprenden, dentro del dominio variable de su cadena ligera, por lo menos una de las CDR que se hallan en la cadena pesada de L2H9. Por ende, entre los anticuerpos provistos en la presente invención se encuentran aquellos que comprenden entre una y tres de las siguientes secuencias en el dominio variable de la cadena pesada: residuos 31-35; residuos 50-65; y residuos 98-104 de la SEC ID NO:32.

15 En otra realización, los anticuerpos particulares de la invención se seleccionan del grupo que consiste en L2H10; un anticuerpo de reacción cruzada con L2H10; un anticuerpo que se une al mismo epítipo que L2H10; un anticuerpo que compite con L2H10 para la unión a una célula que expresa IL-4R humano; un anticuerpo que posee una actividad biológica de L2H10; y un fragmento de unión a antígenos de cualquiera de los anticuerpos antedichos. En una realización, el anticuerpo posee una afinidad de unión hacia IL-4R humano que es sustancialmente equivalente a la afinidad de unión de L2H10 hacia IL-4R humano. Las líneas celulares de hibridoma que producen cualquiera de dichos anticuerpos también se proveen en la presente invención. Un ejemplo de una actividad biológica de L2H10 es la capacidad de funcionar tanto como antagonista de IL-4 como antagonista de IL-13. En una realización, un anticuerpo de la invención posee actividad bloqueante de IL-4 sustancialmente equivalente a aquella de L2H10; y posee actividad bloqueante de IL-13 sustancialmente equivalente a aquella de L2H10. Dicha actividad puede 20 medirse en cualquier ensayo convencional adecuado (p. ej., medirse en el ensayo de expresión de CD23 descrito en el Ejemplo 2).

La secuencia de DNA del dominio variable de la cadena ligera de L2H10 se presenta en la SEC ID NO:5, y la secuencia de aminoácidos codificada se presenta en la SEC ID NO:6. La secuencia de DNA para el dominio variable de la cadena pesada de L2H10 se presenta como la SEC ID NO:33, y la secuencia de aminoácidos codificada se 30 presenta en la SEC ID NO:34. Los anticuerpos de la presente invención incluyen, aunque sin limitarse a ello, anticuerpos que comprenden, en su cadena ligera, los residuos 1 a 109 de la SEC ID NO:6; y anticuerpos que adicional o alternativamente comprenden, en su cadena pesada, la SEC ID NO:34.

Las realizaciones particulares de los anticuerpos de la presente invención comprenden, dentro del dominio variable de su cadena ligera, por lo menos una de las regiones determinantes de complementaridad (CDR), o regiones hipervariables, que se hallan en la cadena ligera de L2H10. Las CDR de L2H10 se analizan en el Ejemplo 5. Por lo tanto, entre los anticuerpos provistos en la presente invención se encuentran aquellos que comprenden entre una y tres de las siguientes secuencias en el dominio variable de la cadena ligera: residuos de aminoácidos 24-35; 35 residuos 51-57; y residuos 90-99 de la SEC ID NO:6. Los anticuerpos particulares provistos en la presente invención comprenden, dentro del dominio variable de su cadena pesada, por lo menos una de las CDR que se hallan en la cadena pesada de L2H10. Por ende, entre los anticuerpos provistos en la presente invención se encuentran aquellos que comprenden entre una y tres de las siguientes secuencias en el dominio variable de la cadena pesada: residuos 31-35; residuos 50-65; y residuos 98-104 de la SEC ID NO:34.

Ácidos nucleicos

45 En un aspecto, la presente invención provee moléculas aisladas de ácido nucleico. Los ácidos nucleicos comprenden, por ejemplo, polinucleótidos que codifican un anticuerpo de la invención, o sus fragmentos, derivados, muteínas o variantes, polinucleótidos suficientes para usar como sondas de hibridación, cebadores PCR o cebadores de secuenciación para identificar, analizar, mutar o ampliar un polinucleótido que codifica un polipéptido, ácidos nucleicos antisentido para inhibir la expresión de un polinucleótido, y secuencias complementarias de lo antedicho. Los ácidos nucleicos pueden tener cualquier longitud. Pueden, por ejemplo, tener 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 75, 100, 125, 150, 175, 200, 250, 300, 350, 400, 450, 500, 750, 1,000, 1,500, 3,000, 5,000 o más 50 nucleótidos de longitud, y/o pueden comprender una o más secuencias adicionales, por ejemplo, secuencias reguladoras, y/o se parte de un ácido nucleico más grande, por ejemplo un vector. Los ácidos nucleicos pueden ser monocatenarios o bicatenarios y pueden comprender nucleótidos de RNA y/o DNA, y sus variantes artificiales (p. ej., ácidos nucleicos de péptidos).

55 Los polipéptidos de anticuerpos que codifican DNA (p. ej., de cadena pesada o ligera, de dominio variable solamente o de longitud total) se pueden aislar de células B de ratones que han sido inmunizados con IL-4R. El DNA se puede aislar por procedimientos convencionales tales como reacción en cadena de la polimerasa (PCR). La exhibición de fagos es otro ejemplo de una técnica conocida, mediante la cual se pueden preparar derivados de anticuerpos. En un planteamiento, los polipéptidos que son componentes de un anticuerpo de interés se expresan en cualquier

sistema de expresión recombinante adecuado, y se permite que los polipéptidos expresados se ensamblen para formar moléculas de anticuerpo.

La Figura 2 proporciona secuencias de ácidos nucleicos que codifican regiones variables de las regiones variables de las cadenas pesada y ligera que se muestran en la Figura 3. Debido a la degeneración del código genético, cada una de las secuencias de polipéptidos de la Figura 3 también está codificada por un gran número de otras secuencias de ácidos nucleicos. La presente invención provee cada secuencia nucleotídica degenerada que codifica cada anticuerpo de la invención.

La invención provee también ácidos nucleicos que se hibridan a otros ácidos nucleicos (p. ej., ácidos nucleicos que comprenden una secuencia de nucleótidos de la Figura 2) bajo condiciones de hibridación particulares. Los métodos para hibridar ácidos nucleicos se conocen en la técnica, véase p. ej., *Current Protocols in Molecular Biology*, John Wiley & Sons, N.Y. (1989), 6.3.1-6.3.6. Como se define en la presente memoria, una condición de hibridación moderadamente rigurosa utiliza una disolución de prelavado que contiene 5X cloruro de sodio/citrato de sodio (SSC), SDS al 0,5%, EDTA 1,0 mM (pH 8,0), tampón de hibridación de aproximadamente 50% formamida, 6X SSC, y una temperatura de hibridación de 55° C (u otras disoluciones de hibridación similares, tal como una que contenga aproximadamente 50% formamida, con una temperatura de hibridación de 42° C), y condiciones de lavado de 60° C, en 0,5X SSC, SDS al 0,1%. Una condición de hibridación rigurosa 6X SSC a 45° C, seguida de uno o más lavados en 0,1X SSC, SDS al 0,2% a 68° C. Asimismo, el experto en la técnica puede manipular la hibridación y/o las condiciones de lavado para aumentar o reducir la rigurosidad de la hibridación, de modo tal que los ácidos nucleicos que comprendan secuencias nucleotídicas por lo menos 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 98 o 99% idénticas entre sí típicamente permanezcan hibridadas entre sí. Los parámetros básicos que afectan la elección de las condiciones de hibridación y los lineamientos para idear condiciones adecuadas se exponen en Sambrook, Fritsch, and Maniatis (1989, *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y., capítulos 9 y 11; y en *Current Protocols in Molecular Biology*, 1995, Ausubel *et al.*, eds., John Wiley & Sons, Inc., secciones 2.10 y 6.3-6.4), y pueden determinarse fácilmente por aquellos que tengan experiencia ordinaria en la técnica basados, por ejemplo, en la longitud y/o composición base del DNA.

Los cambios se pueden introducir por mutación en un ácido nucleico, conduciendo así a cambios en la secuencia de aminoácidos de un polipéptido (p. ej., un anticuerpo) al que codifica. Las mutaciones se pueden introducir por técnicas estándar, tales como mutagénesis dirigida al sitio y mutagénesis mediada por PCR. Preferiblemente, las sustituciones de aminoácidos conservadoras se realizan en uno o más residuos de aminoácidos no esenciales. Alternativamente, las mutaciones pueden introducirse aleatoriamente en todo o parte de la secuencia codificante, tal como por mutagénesis de saturación, y puede estudiarse la actividad biológica de los mutantes resultantes para identificar mutantes que retengan actividad (p. ej., unión al receptor de IL-4). Después de la mutagénesis, la proteína codificada puede expresarse de manera recombinante, y puede determinarse la actividad de la proteína. Las mutaciones pueden introducirse en un ácido nucleico sin alterar significativamente la actividad biológica de un péptido al que codifica. Por ejemplo, se pueden realizar sustituciones de nucleótidos que conduzcan a las sustituciones de aminoácidos en residuos de aminoácidos no esenciales. En una realización, una secuencia de nucleótidos provista en la Figura 2, o su fragmento, variante o derivado deseado, se muta de forma tal que codifique una secuencia de aminoácidos que comprenda una o más eliminaciones o sustituciones de los residuos de aminoácidos que se muestran en la Figura 3 para que sean residuos en los que difieran dos o más secuencias. En otra realización, la mutagénesis inserta un aminoácido adyacente a uno o más residuos de aminoácidos que se muestran en la Figura 3 para que sean residuos en los que difieran dos o más secuencias. Alternativamente, pueden introducirse mutaciones en un ácido nucleico que cambian selectivamente la actividad biológica (p. ej., unión al receptor de IL-4, inhibiendo la IL-4 y/o IL-13, etc.) de un polipéptido al que codifica. Por ejemplo, la mutación puede cambiar cuantitativa o cualitativamente la actividad biológica. Los ejemplos de cambios cuantitativos incluyen aumentar, reducir, o eliminar la actividad. Los ejemplos de cambios cualitativos incluyen cambiar la especificidad antigénica de un anticuerpo.

En otro aspecto, la presente invención provee moléculas de ácidos nucleicos que son adecuadas para uso como cebadores o sondas de hibridación para la detección de secuencias de ácidos nucleicos de la invención. Una molécula de ácido nucleico de la invención puede comprender solamente una porción de una secuencia de ácido nucleico que codifica un polipéptido de longitud total de la invención, por ejemplo, un fragmento que se puede utilizar como sonda o cebador, o un fragmento que codifica una porción activa (p. ej., una porción de unión al receptor de IL-4) de un polipéptido de la invención.

Las sondas basadas en la secuencia de un ácido nucleico de la invención se pueden utilizar para detectar el ácido nucleico o ácidos nucleicos similares, por ejemplo, transcritos que codifican un polipéptido de la invención. La sonda puede comprender un grupo de etiquetas, p. ej., un radioisótopo, un compuesto fluorescente, una enzima o un co-factor enzimático. Dichas sondas se pueden usar para identificar una célula que expresa el polipéptido.

En otro aspecto, la presente invención provee vectores que comprenden un ácido nucleico que codifica un polipéptido de la invención o su porción. Los ejemplos de vectores incluyen, aunque sin limitarse a ello, plásmidos, vectores víricos, vectores mamíferos no episomales y vectores de expresión, por ejemplo, vectores de expresión recombinantes.

Los vectores de expresión recombinantes de la invención pueden comprender un ácido nucleico de la invención en una forma adecuada para expresión del ácido nucleico en una célula hospedante. Los vectores de expresión recombinantes incluyen una o más secuencias reguladoras, seleccionadas en base a las células hospedantes que se han de utilizar para expresión, operativamente unidas a la secuencia de ácido nucleico que se ha de expresar.

5 Las secuencias reguladoras incluyen aquellas que dirigen la expresión constitutiva de una secuencia de nucleótidos en muchos tipos de células hospedantes (p. ej., el potenciador de genes temprano SV40, el promotor de sarcoma virus Rous y el promotor de cytomegalovirus), aquellas que dirigen la expresión de la secuencia de nucleótidos solamente en ciertas células hospedantes (p. ej., secuencias reguladoras específicas de tejido, véanse Voss *et al.*, 1986, Trends Biochem. Sci. 11:287, Maniatis *et al.*, 1987, Science 236:1237, incorporados por referencia a la presente memoria en su totalidad), y aquellas que dirigen la expresión inducible de una secuencia de nucleótidos en respuesta a un tratamiento o condición particular (p. ej., el promotor de metalotionina en células mamíferas y el promotor sensible a tet y/o sensible a estreptomycin, tanto en sistemas procarióticos como eucarióticos (véase *id.*)).

10 Los expertos en la técnica apreciarán que el diseño del vector de expresión puede depender de dichos factores como la elección de la célula hospedante que se va a transformar, el nivel de expresión de la proteína deseada, etc.

15 Los vectores de expresión de la invención se pueden introducir en las células hospedantes para producir así proteínas o péptidos, incluyendo proteínas o péptidos de fusión, codificados por ácidos nucleicos, como se describe en la presente memoria.

En otro aspecto, la presente invención provee células hospedantes en las que se ha introducido un vector de expresión recombinante de la invención. Una célula hospedante puede ser cualquier célula procariótica (por ejemplo, *E. coli*) o célula eucariótica (por ejemplo, células de levadura, insecto o mamífero (p. ej., células CHO)). El DNA del vector puede introducirse en las células procarióticas o eucarióticas mediante técnicas de transfección o transformación convencionales. Para transfección estable de células mamíferas, se sabe que, dependiendo del vector de expresión y la técnica de transfección utilizada, solamente una pequeña fracción de células puede integrar el DNA exógeno en su genoma. Con el fin de identificar y seleccionar estos integrantes, en general se introduce un gen que codifica un marcador seleccionable (p. ej., para resistencia a antibióticos) en las células hospedantes, junto con el gen de interés. Los marcadores seleccionables preferidos incluyen aquellos que confieren resistencia a los fármacos, tales como G418, higromicina y metotrexato. Las células establemente transfectadas con el ácido nucleico introducido pueden identificarse por selección de fármacos (p. ej., las células que han incorporado el gen marcador seleccionable sobrevivirán, mientras que las otras células morirán), entre otros métodos.

30 Derivados, fragmentos y muteínas de anticuerpos

Se pueden preparar derivados de anticuerpos dirigidos contra IL-4R, y se pueden ensayar sus propiedades deseadas mediante cualquiera de una serie de técnicas conocidas. Ciertas de estas técnicas implican aislar DNA que codifica una cadena de polipéptidos (o su porción) de un anticuerpo de interés, y manipular el DNA a través de tecnología de DNA recombinante. El DNA se puede condensar a otro DNA de interés, o alterarse (p. ej., por mutagénesis u otras técnicas convencionales) para añadir, eliminar o sustituir uno o más residuos de aminoácidos, por ejemplo.

35

En un aspecto, la presente invención provee fragmentos de unión a antígenos de los anticuerpos de la invención. Dichos fragmentos pueden consistir completamente en secuencias derivadas de anticuerpos o pueden comprender secuencias adicionales. Los ejemplos de fragmentos de unión a antígenos incluyen Fab y F(ab')₂. Otros ejemplos se proveen en Lunde *et al.*, 2002, Biochem. Soc. Trans. 30:500-06.

40

Los anticuerpos monocatenarios pueden formarse enlazando fragmentos de dominio variable de cadena pesada y ligera (región Fv) mediante un puente de aminoácidos (enlazador peptídico corto), lo que resulta en una cadena de polipéptidos sencilla. Dicha cadena sencilla Fvs (scFvs) ha sido preparada condensando DNA que codifica un enlazador peptídico entre los DNA que codifican dos polipéptidos de dominio variable (V_L y V_H). Los polipéptidos resultantes pueden volver a plegarse en sí mismos para formar los monómeros de unión a antígenos, o pueden formar multímeros (p. ej., dímeros, trímeros o tetrámeros), dependiendo de la longitud de un enlazador flexible entre los dos dominios variables (Kortl *et al.*, 1997, Prot. Eng. 10:423; Kortl *et al.*, 2001, Biomol. Eng. 18:95-108). Al combinar diferentes polipéptidos que comprenden V_L y V_H, se pueden formar scFvs multiméricos que se unen a diferentes epitopos (Kriangkum *et al.*, 2001, Biomol. Eng. 18:31-40). Las técnicas desarrolladas para la producción de anticuerpos monocatenarios incluyen aquellas descritas en la patente estadounidense núm. 4,946,778; Bird, 1988, Science 242:423; Huston *et al.*, 1988, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85:5879; Ward *et al.*, 1989, Nature 334:544, de Graaf *et al.*, 2002, Methods Mol Biol. 178:379-87. Los anticuerpos monocatenarios derivados de los anticuerpos provistos en la presente invención (incluyendo sin limitación scFvs que comprenden las combinaciones de dominio variable L2H1, L2H4, L2H12, L2H13, L2H2, L2H3, L2H6, L2H7, L2H8, L2H9 y L2H10) se contemplan en la presente invención.

45

50

55

Se conocen las técnicas que derivan un anticuerpo de una subclase diferente o isotipo de un anticuerpo de interés, es decir cambio de subclase. Por lo tanto, los anticuerpos IgG pueden derivar de un anticuerpo IgM, por ejemplo, y viceversa. Dichas técnicas permiten la preparación de nuevos anticuerpos que poseen las propiedades de unión a antígenos de un anticuerpo determinado (el anticuerpo parental), pero también exhiben propiedades biológicas asociadas con un isotipo de anticuerpo o subclase diferente de aquella del anticuerpo parental. Se pueden emplear técnicas de DNA recombinante. El DNA clonado que codifica polipéptidos de anticuerpo particulares se puede

60

emplear en dichos procedimientos, p. ej., DNA que codifica el dominio constante de un anticuerpo del isotipo deseado. Véase también Lantto *et al.*, 2002, *Methods Mol. Biol.* 178:303-16.

Por consiguiente, los anticuerpos de la presente invención incluyen aquellos que comprenden, por ejemplo, las combinaciones de dominio variable L2H1, L2H4, L2H12, L2H13, L2H2, L2H3, L2H6, L2H7, L2H8, L2H9 y L2H10, que tienen un isotipo deseado (por ejemplo, IgA, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgM, IgE y IgD) como también sus fragmentos Fab o F(ab')₂. Además, si se desea un IgG4, puede también desearse introducir una mutación de punto (CPSCP -> CPPCP) en la región bisagra, como se describe en Bloom *et al.*, 1997, *Protein Science* 6:407, incorporado a la presente memoria por referencia) para aliviar una tendencia a formar enlaces disulfuro intracatenarios H que pueden conducir a heterogeneidad en los anticuerpos IgG4.

A su vez, también se conocen las técnicas para derivar anticuerpos que tengan diferentes propiedades (es decir, afinidades variables para el antígeno al que se unen). Una de dichas técnicas, denominada transposición de cadenas, implica exhibir repertorios génicos de dominio variable de inmunoglobulina en la superficie del bacteriófago filamentoso, a menudo denominada exhibición de fagos. La transposición de cadenas se ha utilizado para preparar anticuerpos de gran afinidad al hapteno 2-feniloxazol-5-ona, como lo describen Marks *et al.*, 1992, *BioTechnology*, 10:779.

La evolución molecular de las regiones determinantes de complementaridad (CDR) en el centro del sitio de unión al anticuerpo también se ha utilizado para aislar anticuerpos con mayor afinidad, por ejemplo, anticuerpos que tienen mayor afinidad hacia c-erbB-2, como lo describen Schier *et al.*, 1996, *J. Mol. Biol.* 263:551. Por consiguiente, dichas técnicas son útiles para preparar anticuerpos a IL-4R.

En realizaciones particulares, los anticuerpos de la presente invención poseen afinidad de unión (K_a) hacia IL-4R de por lo menos 1×10^8 . En otras realizaciones, los anticuerpos exhiben una K_a de por lo menos 1×10^9 , por lo menos 1×10^{10} o por lo menos 1×10^{11} .

La presente invención incluye además anticuerpos multiespecíficos, por ejemplo, anticuerpos biespecíficos, p. ej., dos epítomos distintos de IL-4R, o un epítomo de IL-4R y un epítomo de IL-13R, mediante dos sitios o regiones de unión a antígenos diferentes. Además, los anticuerpos biespecíficos descritos en la presente memoria pueden comprender un sitio de unión a antígenos de uno de los anticuerpos descritos en la presente invención y una segunda región de unión a antígenos de otro de los anticuerpos descritos en la presente invención. Alternativamente, un anticuerpo biespecífico puede comprender un sitio de unión a antígenos de uno de los anticuerpos aquí descritos y un segundo sitio de unión a antígenos de otro anticuerpo IL-4R conocido en la técnica (o uno que pueda prepararse por métodos conocidos).

Se conocen en la técnica numerosos métodos para preparar anticuerpos específicos, y se analizan en la solicitud de patente estadounidense 09/839.632, presentada el 20 de abril de 2001 (incorporada a la presente memoria por referencia). Dichos métodos incluyen el uso de híbridos-hibridomas descritos por Milstein *et al.*, 1983, *Nature* 305:537, y otros (patente estadounidense 4,474,893, patente estadounidense 6,106,833) y acoplamiento químico de fragmentos de anticuerpos (Brennan *et al.*, 1985, *Science* 229:81; Glennie *et al.*, 1987, *J. Immunol.* 139:2367; patente estadounidense 6,010,902). Además, los anticuerpos biespecíficos pueden producirse a través de medios recombinantes, por ejemplo, usando restos de cremallera de leucina (es decir, a partir de proteínas *Fos* y *Jun*, que preferiblemente forman heterodímeros; Kostelny *et al.*, 1992, *J. Immunol.* 148:1547) u otras estructuras de dominio interactivo *lock and key*, como se describe en la patente estadounidense 5,582,996. Otras técnicas útiles adicionales incluyen aquellas descritas en Kortt *et al.*, 1997, más arriba; patente estadounidense 5,959,083; y patente estadounidense 5,807,706.

En otro aspecto, la presente invención provee un derivado de un anticuerpo. El anticuerpo derivatizado puede comprender cualquier molécula o sustancia que imparta una propiedad deseada al anticuerpo, tal como mayor semivida en un uso particular. El anticuerpo derivatizado puede comprender, por ejemplo, un resto detectable (o de etiquetado) (p. ej., una molécula radiactiva, colorimétrica, antigénica o enzimática, una esfera detectable (tal como una esfera magnética o de oro), o una molécula que se une a otra molécula (p. ej., biotina)), un resto terapéutico o diagnóstico (p. ej., un resto activo radiactivo, citotóxico o farmacéutico), o una molécula que aumente la adecuación del anticuerpo para un uso particular (p. ej., administración a un sujeto, tal como un ser humano, u otros usos *in vivo* o *in vitro*). Los ejemplos de moléculas que se pueden usar para derivatizar un anticuerpo son albúmina (p. ej., albúmina de suero humano) y polietilenglicol (PEG). Los derivados unidos a albúmina y PEGilados de los anticuerpos se pueden preparar empleando técnicas conocidas en el campo. En una realización, el anticuerpo se conjuga o se une a transtretina (TTR) o una variante de TTR. La TTR o variante de TTR puede modificarse químicamente con, por ejemplo, una sustancia química seleccionada del grupo que consiste en dextrano, poli(n-vinil pirrolidona), polietilenglicoles, homopolímeros de propilenglicol, copolímeros de óxido de polipropileno/óxido de etileno, polioles polietoxilados y alcoholes polivinílicos. Solicitud de patente estadounidense núm. 20030195154.

Métodos terapéuticos y administración de anticuerpos

Se provee un anticuerpo anti-IL-4R para uso en medicina, reduciendo de este modo una respuesta biológica inducida por IL-4 que desempeña una función en una afección particular. En realizaciones particulares, los métodos

de la invención implican poner en contacto IL-4R endógena con un anticuerpo anti-IL-4R, p. ej., en un procedimiento *ex vivo*.

5 El tratamiento abarca el alivio o la prevención de por lo menos un síntoma de un trastorno, o la reducción de la gravedad de una enfermedad, y similares. No es necesario que un anticuerpo realice una "cura" completa, ni que erradique cada síntoma o manifestación de una enfermedad para constituir un agente terapéutico viable. Como se reconoce en el campo pertinente, los fármacos empleados como agentes terapéuticos pueden reducir la gravedad de un estado de enfermedad determinado, pero no necesariamente deben abolir cada manifestación de la enfermedad para considerarse útiles como agentes terapéuticos. Una realización de la invención se refiere a un método que comprende administrar a un paciente un antagonista de IL-4R en una cantidad y por un periodo
10 suficiente para inducir una mejora sostenida en comparación con la situación inicial de un indicador que refleja la gravedad del trastorno particular.

Los anticuerpos que inhiben la unión tanto de IL-4 como de IL-13 a las células se analizan en la presente memoria. Un método para suprimir las actividades inducidas por IL-4 y por IL-13 en seres humanos comprende administrar una cantidad eficaz de dicho anticuerpo. Se pueden tratar así afecciones inducidas por IL-4 o por IL-13, o por ambas
15 citocinas.

Como se entiende en el campo pertinente, los anticuerpos se administran a un sujeto en un modo apropiado a la indicación. Los anticuerpos pueden administrarse mediante cualquier técnica adecuada, incluyendo sin limitación, la vía parenteral, tópica o por inhalación. Si se inyecta, el anticuerpo puede administrarse, por ejemplo, por las rutas intra-articular, intravenosa, intramuscular, intralesional, intraperitoneal o subcutánea, por inyección intravenosa
20 rápida o por infusión continua. Se contempla la administración localizada, p. ej., en un sitio de enfermedad o lesión, como también la administración transdérmica y la liberación sostenida desde implantes. La administración por inhalación incluye, por ejemplo, inhalación nasal u oral, el uso de un nebulizador, inhalación del antagonista en forma de aerosol y similares. Otras alternativas incluyen gotas oculares; preparaciones orales que incluyen píldoras, jarabes, pastillas o gomas de mascar; y preparaciones tópicas tales como lociones, geles, pulverizaciones y ungüentos.
25

También se contempla el uso de anticuerpos anti-IL-4R en procedimientos *ex vivo*. Por ejemplo, se puede contactar la sangre u otro fluido corporal de un paciente con un anticuerpo que se una a IL-4R *ex vivo*. El anticuerpo se puede unir a una matriz insoluble o a un material de soporte sólido adecuado.

Ventajosamente, los anticuerpos se administran en la forma de una composición que comprende por lo menos un anticuerpo anti-IL-4R y uno o más componentes adicionales tales como un vehículo, excipiente o diluyente fisiológicamente aceptable. La presente invención proporciona dichas composiciones que comprenden una cantidad eficaz de un anticuerpo anti-IL-4R para uso en los métodos provistos en la presente memoria.
30

Las composiciones contienen anticuerpo(s) anti-IL-4R en, por ejemplo, cualquiera de las formas aquí descritas. El anticuerpo puede ser un anticuerpo entero o su fragmento de unión al antígeno o derivado genéticamente modificado, por ejemplo.
35

Las composiciones pueden, por ejemplo, comprender un anticuerpo junto con un tampón, antioxidante tal como ácido ascórbico, polipéptido de bajo peso molecular (tal como aquellos que tienen menos de 10 aminoácidos), proteína, aminoácido, carbohidrato tal como glucosa, sacarosa o dextrinas, agentes quelantes tales como EDTA, glutatión, y otros estabilizantes y excipientes. La solución salina tamponada neutra o la solución salina mixta con albúmina de suero co-específica son ejemplos de diluyentes apropiados. De acuerdo con los estándares de la industria apropiada, también pueden añadirse conservantes tales como alcohol benicólico. La composición se puede formular como un liofilizado, utilizando disoluciones excipientes apropiadas (p. ej., sacarosa) como diluyentes. Los componentes adecuados no son tóxicos para los receptores en las dosis y concentraciones empleadas. Otros ejemplos de componentes que pueden emplearse en las formulaciones farmacéuticas se presentan en *Remington's
40 Pharmaceutical Sciences*, 16^{ta} Ed., Mack Publishing Company, Easton, PA, 1980.
45

Los kits para uso por parte de profesionales médicos incluyen un anticuerpo anti-IL-4R y una etiqueta u otras instrucciones para usar en el tratamiento de cualquiera de las afecciones anteriormente analizadas. El kit preferiblemente incluye una preparación estéril de uno o más anticuerpos anti-IL-4R, que puede tener la forma de una composición tal como se analizó anteriormente, y puede estar en uno o más viales.

50 La dosis y frecuencia de administración pueden variar de acuerdo con factores tales como la ruta de administración, el anticuerpo particular empleado, la naturaleza y la gravedad de la enfermedad que se ha de tratar, si la afección es aguda o crónica y la contextura y el estado general del sujeto. La dosis apropiada puede determinarse por procedimientos conocidos en la técnica, p. ej., en ensayos clínicos que pueden implicar estudios de aumento de la dosis.

55 Un anticuerpo se puede administrar, por ejemplo, una vez o más, en intervalos regulares durante un periodo de tiempo. En realizaciones particulares, el anticuerpo se administra durante un periodo de tiempo de por lo menos un mes o más, p. ej., uno, dos o tres meses, o incluso indefinidamente. Para tratar afecciones crónicas, el tratamiento a largo plazo en general es el más eficaz. No obstante, para tratar afecciones agudas, la administración durante

periodos más cortos, p. ej., entre una y seis semanas, puede ser suficiente. En general, el anticuerpo se administra hasta que el paciente manifiesta un grado relevante de mejoría desde el punto de vista médico en comparación con la situación inicial para el indicador o los indicadores elegidos.

5 Las realizaciones particulares de la presente invención comprenden administrar un anticuerpo en una dosis de aproximadamente 1 ng de anticuerpo por kg de peso del sujeto por día ("1ng/kg/día") a aproximadamente 10 mg/kg/día, más preferiblemente de aproximadamente 500 ng/kg/día a aproximadamente 5 mg/kg/día, y lo más preferiblemente de aproximadamente 5 ug/kg/día a aproximadamente 2 mg/kg/día, a un sujeto. En realizaciones adicionales, un anticuerpo se administra a adultos una vez por semana, dos veces por semana o tres o más veces por semana, para tratar una enfermedad, afección o trastorno mediado por IL-4 y/o IL-13, p. ej., un trastorno médico descrito en la presente memoria. Si se inyecta, la cantidad eficaz de anticuerpo por dosis de adulto puede oscilar entre 1-20 mg/m², y preferiblemente es de aproximadamente 5-12 mg/m². Alternativamente, se puede administrar una dosis plana, la cantidad puede oscilar entre 5-100 mg/dosis. Un intervalo para una dosis plana es aproximadamente 20-30 mg por dosis. En una realización de la invención, una dosis plana de 25 mg/dosis se administra repetidamente por inyección. Si se emplea una ruta de administración que no sea una inyección, la dosis se ajusta apropiadamente de acuerdo con prácticas médicas estándar. Un ejemplo de un régimen terapéutico comprende inyectar una dosis de aproximadamente 20-30 mg de anticuerpo anti-IL-4R una a tres veces por semana durante un periodo de por lo menos tres semanas, aunque puede ser necesario el tratamiento por periodos más prolongados para inducir el grado deseado de mejoría. Para sujetos pediátricos (edad 4-17), un régimen adecuado ilustrativo implica la inyección subcutánea de 0,4 mg/kg, hasta una dosis máxima de 25 mg de anticuerpo administrada dos o tres veces por semana.

Las realizaciones particulares de los métodos provistos en la presente memoria implica la administración subcutánea de 0,5 mg a 10 mg, preferiblemente de 3 a 5 mg, de un anticuerpo anti-IL-4R, una o dos veces por semanas. Otra realización se refiere a la administración pulmonar (p. ej., con nebulizador) de 3 o más mg de anticuerpo una vez por semana.

25 Los ejemplos de regímenes terapéuticos provistos en la presente memoria comprenden la inyección subcutánea de un anticuerpo anti-IL-4R una vez por semana, en una dosis de 1,5 a 3 mg, para tratar asma, sarcoidosis pulmonar, nefrosis con cambio mínimo, uveítis autoinmunitaria, crisis drepanocítica, síndrome de Churg-Strauss, síndrome de Sjogren, síndrome linfoproliferativo autoinmunitario, preclampsia, anemia hemolítica autoinmunitaria, esófago de Barrett, enfermedad de Grave, enfermedad de Kawasaki y tuberculosis cavitaria. La administración semanal de anticuerpo anti-IL-4R continúa hasta que se obtiene un resultado deseado, p. ej., seden los síntomas del sujeto. El tratamiento se puede retomar según sea necesario o, alternativamente se pueden administrar dosis de mantenimiento.

35 En otra realización, un anticuerpo se administra al sujeto en una cantidad y durante un tiempo suficiente para inducir una mejoría, preferiblemente una mejoría sostenida, en por lo menos un indicador que refleja la gravedad del trastorno que se está tratando. Se pueden evaluar diversos indicadores que reflejan el grado de enfermedad, trastorno o afección del sujeto, para determinar si la cantidad y el tiempo del tratamiento son suficientes. Dichos indicadores incluyen, por ejemplo, indicadores clínicamente conocidos de gravedad de la enfermedad, síntomas o manifestaciones del trastorno en cuestión. En la mayoría de los casos, se considera que una mejoría es sostenida si el sujeto exhibe la mejoría en por lo menos dos ocasiones separadas por dos a cuatro semanas. El grado de mejoría en general es determinado por un médico, quien puede realizar su determinación en base a signos y síntomas, y puede también emplear cuestionarios que se administran al sujeto, tales como cuestionarios de calidad de vida creados para una enfermedad determinada.

40 Como ejemplo, en el tratamiento de hiperplasia prostática benigna, se administra un anticuerpo anti-IL-4R al sujeto en una cantidad y durante un tiempo eficaz en la regresión de cicatrices o la curación completa. Se pueden administrar dosis de mantenimiento o retomar el tratamiento según sea necesario.

45 Los niveles elevados de IL-4 se asocian con una serie de trastornos, como se analizó anteriormente. Se pueden estudiar sujetos con un trastorno determinado para identificar a aquellos individuos que tengan niveles elevados de IL-4, o para identificar a aquellos con una respuesta inmunitaria de tipo TH2 elevada, identificando de esta forma a los sujetos que pueden beneficiarse más a partir del tratamiento con un anticuerpo anti-IL-4R. Por consiguiente, los métodos de tratamiento provistos en la presente memoria comprenden opcionalmente una primera etapa de medir el nivel de IL-4 de un sujeto. Un anticuerpo anti-IL-4R puede administrarse a un sujeto en quien los niveles de IL-4 están elevados por encima de lo normal. Alternativa o adicionalmente, se puede pre-estudiar a un sujeto para determinar si el sujeto tiene una respuesta inmunitaria de tipo TH2 elevada, antes de la administración de un anticuerpo o anticuerpos y/o un antagonista o antagonistas contra una o más citocinas de tipo TH2.

55 Los niveles de IL-4 de un sujeto (y opcionalmente de otras citocinas de tipo TH2) pueden monitorearse durante y/o después del tratamiento con un anticuerpo anti-IL-4R, para detectar la reducción en los niveles de las citocinas. Para algunos trastornos, la incidencia de niveles elevados de IL-4, y el equilibrio entre respuestas inmunitarias de tipo TH1 y de tipo TH2 pueden variar de acuerdo con factores tales como la etapa de la enfermedad o la forma particular de la enfermedad. Se pueden emplear técnicas conocidas para medir los niveles de IL-4, p. ej., en el suero de un sujeto, y para evaluar las respuestas inmunitarias de tipo TH2. Los niveles de citocina en las muestras de sangre se

pueden medir por ELISA, o por un ensayo de citocinas múltiple LUMINEX™ (Luminex Corporation, Austin, TX) o DELFIA® (PerkinElmer LifeSciences, Wallac Oy., Turku, Finlandia), por ejemplo.

Las realizaciones particulares de los métodos y composiciones de la invención implican el uso de un anticuerpo anti-IL4R y uno o más antagonistas de IL-4R adicionales, por ejemplo, dos o más anticuerpos o derivados de anticuerpos de la invención, o un anticuerpo o derivado de anticuerpo de la invención y uno o más de otros antagonistas de IL-4R. En otras realizaciones, los anticuerpos anti-IL-4R se administran solos o combinados con otros agentes útiles para tratar la afección con la que está afectado el paciente. Los ejemplos de dichos agentes incluyen tanto fármacos proteináceos como no proteináceos. Cuando se co-administran múltiples agentes terapéuticos, las dosis se pueden ajustar de manera acorde, como se reconoce en la técnica pertinente. La "co-administración" y la terapia de combinación no se limitan a la administración simultánea, pero incluyen regímenes de tratamiento en los que se administra un anticuerpo IL-4R por lo menos una vez durante el curso del tratamiento que implica administrar por lo menos otro agente terapéutico al paciente.

Los ejemplos de otros agentes que se pueden co-administrar con los anticuerpos IL-4R son otros anticuerpos, citocinas o receptores de citocinas, que se escogen de acuerdo a la afección particular que se ha de tratar. Alternativamente, los fármacos no proteináceos que son útiles para tratar una de las afecciones particulares analizadas previamente se pueden co-administrar con un antagonista de IL-4R.

Para tratar afecciones mediadas por IgE, se puede co-administrar un anticuerpo anti-IL-4R con un antagonista de IgE. Un ejemplo es un anticuerpo anti-IgE, p. ej., XOLAIR® (Genentech, South San Francisco, CA). Los anticuerpos monoclonales de anti-IgE humanizados se describen, por ejemplo, en Presta *et al.*, 1993, J. Immunol. 151:2623-32 y en Adelroth *et al.*, 2000, J. Allergy Clin. Immunol. 106:253-59.

Los anticuerpos anti-IL-4R se pueden co-administrar con un antagonista de IL-5, que puede ser una molécula que interfiere con la unión de IL-5 a un receptor de IL-5, tal como un anticuerpo anti-IL-5R o anti-IL-5 (p. ej., un anticuerpo monoclonal anti-IL-5 o anti-IL-5R humano o humanizado), o un receptor tal como un polipéptido del receptor de IL-5 soluble humano. La IL-5 ha desempeñado una función en mediar respuestas alérgicas. Por lo tanto, se contempla la administración de un antagonista(s) de IL-4R e IL-5 para el tratamiento de reacciones alérgicas, incluyendo sin limitación, asma alérgica.

Otros ejemplos de agentes que se pueden utilizar junto con los anticuerpos de IL-4R incluyen anticuerpos anti-IL-4, muteínas de IL-4, derivados de unión a IL-4 de IL-4R (como se describe, p. ej., en las patentes estadounidenses 5,840,869; 5,599,905, 5,856,296, 5,767,065, 5,717,072, 6,391,581, 6,548,655, 6,472,179 y 5,844,099), derivados de unión a IL-13 de IL-13, derivados quiméricos de unión a IL-4 y/o IL-13 de IL-4R y IL-13R, luteínas de IL-13 y antagonistas de CD23 (p. ej., anticuerpos anti-CD23 tales como IDEC-152™ (IDEC Pharmaceuticals, San Diego, CA), Fosfodiesterasa 4 (p. ej., ROFLUMILAST®, Byk Gulden Pharmaceuticals, Konstanz, Alemania), integrinas (p. ej., R411™, Roche, Nutley, NJ), TIMs, Gob5, STAT6 y leucotrienos.

Para tratar el asma, un anticuerpo IL-4R puede co-administrarse con otros medicamentos antiasmáticos, tales como corticosteroides inhalados, beta agonistas, antagonistas de leucotrienos, xantinas, fluticasona, salmeterol, albuterol, agentes no esteroideos tales como cromolina, y similares. Los anticuerpos IL-4R pueden co-administrarse con otros antialérgicos para tratar reacciones alérgicas.

Una realización de la presente invención se refiere a la co-administración de un anticuerpo o derivado de anticuerpo de la invención y fluticasona y/o salmeterol para tratar un trastorno tal como asma. Las composiciones que comprenden un anticuerpo o derivado de anticuerpo de la invención, fluticasona, y salmeterol se proveen en la presente memoria. ADVAIR DISKUS® (GlaxoSmithKline, Research Triangle Park, NC) comprende fluticasona propionato y salmeterol xinafoato. ADVAIR DISKUS® y el anticuerpo o derivado de anticuerpo se pueden administrar por cualquier ruta de administración eficaz para tratar o prevenir una enfermedad, trastorno, lesión o afección particular, p. ej., por inhalación para tratar el asma.

Otro ejemplo de terapia combinada comprende la co-administración de un anticuerpo o derivados de anticuerpo de la invención y un antagonista de IL-9 a un paciente que padece asma. Se puede emplear cualquier antagonista de IL-9 adecuado, tal como un receptor de IL-9 (p. ej., su forma soluble), un anticuerpo que interfiere con la unión de IL-9 a un receptor de superficie celular (p. ej., un anticuerpo que se une a IL-9 o a un polipéptido del receptor de IL-9), u otro compuesto que inhibe la actividad biológica inducida por IL-9. Los receptores de IL-9 incluyen aquellos descritos en el documento WO 93/18047 y en las patentes estadounidenses 5,789,237 y 5,962,269, que se incorporan a la presente memoria por referencia.

En una realización adicional de una terapia combinada, un método para tratar colitis ulcerosa comprende la co-administración de un anticuerpo o derivado de anticuerpo de la invención y por lo menos un antagonista de IL-1. Los ejemplos de antagonistas de IL-1 incluyen el receptor de IL-1 de tipo I, el receptor de IL-1 de tipo II, un antagonista del receptor de IL-1 (IL-1Ra), anticuerpos antagonistas (bloqueantes) dirigidos contra IL-1, y anticuerpos antagonistas dirigidos contra un receptor de IL-1. Se pueden emplear diversas formas de los receptores, tales como fragmentos, variantes y fusiones, por ejemplo, una forma soluble del receptor de IL-1 de tipo II, p. ej., como se describe en la patente estadounidense 5,350,683, incorporada a la presente memoria por referencia.

Un método de la presente invención comprende co-administrar un anticuerpo o derivado de anticuerpo de la presente invención, solo o combinado con un antagonista(s) de IL-13, a un paciente que padece nefrosis con cambio mínimo, p. ej., para reducir la gravedad de la enfermedad.

5 Otro método provisto en la presente invención es un método para tratar diversas afecciones inflamatorias alérgicas, que comprende co-administrar un anticuerpo o derivado de anticuerpo de la invención y un antagonista(s) de IL-13. Las afecciones tales como asma, alergias y enfermedades pulmonares crónicas tales como fibrosis quística y enfermedad pulmonar obstructiva crónica se tratan con dicho método.

10 Se puede emplear cualquier antagonista de IL-13 adecuado, incluyendo sin limitación, receptores de IL-13 (preferiblemente sus formas solubles), antagonistas del receptor de IL-13, anticuerpos dirigidos contra IL-13 o IL-13R, otras proteínas que interfieren con la unión de IL-13 a una IL-13R, y compuestos que inhiben la transducción de señales mediada por IL-13. Los receptores de IL-13 y los heterodímeros que comprenden polipéptidos de IL-13R como sus componentes se han descrito anteriormente en la presente memoria. Se puede estudiar la capacidad de los anticuerpos que se dirigen contra IL-4R de funcionar como antagonistas de IL-13, como se analizó previamente en este documento.

15 Un método para tratar o prevenir una afección caracterizada por una reducción del funcionamiento de la barrera epitelial comprende co-administrar un anticuerpo o derivado de anticuerpo de la invención y uno o más antagonistas de IL-13. Dichas afecciones se analizaron anteriormente en la presente memoria. En una realización, la afección es asma. Las realizaciones particulares se refieren a co-administrar uno o más anticuerpos o derivados de anticuerpos de la invención y uno o más antagonistas de IL-13 a un paciente que padece una afección que implica la reducción del funcionamiento de la barrera epitelial o del funcionamiento de la barrera epitelial intestinal, donde tanto la IL-4 como la IL-13 desempeñan una función en la reducción del funcionamiento de la barrera. El efecto adverso de IL-13 en el funcionamiento de la barrera epitelial pulmonar e intestinal puede confirmarse usando técnicas de ensayos tales como aquellas descritas en el Ejemplo 3. Véase también Zund *et al.*, 1996, J. Biol. Chem. 271:7460-64.

25 Otro método provisto en la presente invención comprende co-administrar un anticuerpo o derivados de anticuerpo de la invención e interferón- γ (IFN- γ) a un paciente que tiene una afección que implica la reducción del funcionamiento de la barrera epitelial. Opcionalmente, dicho método comprende además co-administrar uno o más antagonistas de IL-13 al paciente (es decir, co-administrar un anticuerpo o derivado de anticuerpo de la invención, IFN- γ , y un antagonista de IL-13). En una realización, el paciente padece asma. El anticuerpo o derivado de anticuerpo de la invención, IFN- γ y/o antagonista de IL-13 se puede administrar a través de cualquier método de administración eficaz para tratar o prevenir una enfermedad, trastorno, afección o lesión particular, p. ej., para tratar asma, mediante inhalación o inyección.

30 Un método provisto en la presente memoria para tratar asma comprende administrar un anticuerpo o derivado de anticuerpo de la invención e interferón- γ a un ser humano que padece asma. Otro método para tratar asma comprende co-administrar un anticuerpo o derivado de anticuerpo de la invención, IFN- γ y un antagonista de IL-13 a un ser humano que padece asma. En una realización, el IFN- γ se co-administra a un paciente asmático, junto con un anticuerpo que funciona como antagonista tanto de IL-4 como de IL-13. Los ejemplos de dichos anticuerpos se describen en la presente memoria.

35 Un anticuerpo o derivado de anticuerpo de la invención solo puede funcionar como antagonista de IL-4 y antagonista de IL-13, como se analizó anteriormente. Como ejemplo de dicho agente, algunos anticuerpos dirigidos contra IL-4Ra pueden interferir con la unión tanto de complejos del receptor de IL-4 como de IL-13, debido al componente de IL-4R α compartido en dichos complejos de receptores de múltiples subunidades (anteriormente analizados). Por lo tanto, un anticuerpo o derivado de anticuerpo de la invención solo puede emplearse en un método para inhibir la reducción del funcionamiento de la barrera.

40 Un anticuerpo o derivado de anticuerpo de la invención puede co-administrarse con uno o más antagonistas de los receptores de leucotrienos para tratar trastornos tales como enfermedades inflamatorias alérgicas, p. ej., asma y alergias. Los ejemplos de antagonistas de los receptores de leucotrieno incluyen, aunque sin limitarse a ello, montelukast (p. ej., SINGULAR®, Merck & Co., Whitehouse, NJ), pranlukast (p. ej., ONON®, Ono Pharmaceuticals, Osaka, Japón) y zafirlukast (p. ej., ACCOLATE®, AstraZeneca, Wilmington, DE). Los fármacos que funcionan como inhibidores de 5-lipoxigenasa se pueden co-administrar con un antagonista de IL-4R para tratar el asma.

45 Los métodos provistos en la presente memoria comprenden administrar un anticuerpo o derivado de anticuerpo de la invención y uno o más de los siguientes a pacientes que padecen el síndrome de Churg-Strauss: antagonista(s) de IL-4R, antagonista(s) de IL-5, antagonista(s) de IL-13 y antagonista(s) de IgE. Un ejemplo de dicho método implica co-administrar un anticuerpo o derivado de anticuerpo de la invención y un antagonista(s) de IL-5 a un paciente que padece síndrome de Churg-Strauss. En otra realización, un anticuerpo o derivado de anticuerpo de la invención y un antagonista(s) de IgE se co-administran al paciente. Incluso en otra realización, un anticuerpo o derivado de anticuerpo y un antagonista(s) de IL-13 se co-administran al paciente.

55 La hormona relaxina se puede co-administrar con un anticuerpo o derivado de anticuerpo de la invención para tratar esclerodermia (esclerosis sistémica), fibrosis pulmonar idiopática o cualquier otro trastorno caracterizado por fibrosis

pulmonar idiopática, tal como afecciones que implican fibrosis del pulmón anteriormente analizadas en este documento. Se prefiere la relaxina humana recombinante para uso en el tratamiento de seres humanos.

Un método para tratar hiperplasia prostática benigna comprende co-administrar un anticuerpo o derivado de anticuerpo de la invención y uno o más agentes anti-inflamatorios adicionales.

- 5 Los ejemplos de agentes que inhiben la inflamación incluyen antagonistas del factor de necrosis tumoral (TNF) y antagonistas de IL-17.

Se puede emplear cualquier antagonista de IL-17 adecuado, incluyendo sin limitación, un receptor de IL-17 (p. ej., sus formas solubles), antagonistas del receptor de IL-17, anticuerpos dirigidos contra IL-17 o un receptor de IL-17, otras proteínas que interfieren con la unión de IL-17 a un receptor de IL-17, y compuestos que inhiben la transducción de señales mediada por IL-17. Un receptor de IL-17, incluyendo sus formas solubles y sus oligómeros, se describe en el documento WO 96/29408, incorporado a la presente memoria por referencia. Una alternativa provista en la presente invención comprende administrar un antagonista de IL-17 para tratar a un paciente con hiperplasia prostática benigna.

Asimismo, se puede emplear cualquier antagonista de TNF adecuado, incluyendo sin limitación, un receptor de TNF (preferiblemente sus formas solubles), proteínas de fusión que comprenden un receptor de TNF (o que comprenden la porción de unión a TNF de un receptor de TNF), antagonistas del receptor de TNF, anticuerpos dirigidos contra TNF o un receptor de TNF, otras proteínas que interfieren con la unión de TNF al receptor de TNF, y compuestos que inhiben la transducción de señales mediada por TNF. Otros ejemplos de inhibidores de TNF son los fármacos talidomida y pentoxifilina. Preferiblemente, se emplea la proteína del receptor de TNF conocida como p75 o p80 TNF-R. Un antagonista de TNF preferido es un receptor de TNF humano soluble (sTNF-R) en forma dimerica, tal como dímeros de proteínas de fusión sTNF-R/Fc. Uno de dichos dímeros es etanercept (ENBREL®, Immunex Corporation, Seattle, WA). La proteína p75/p80 TNF-R, incluyendo sus fragmentos solubles y otras formas, se describe en el documento WO 91/03553, incorporado a la presente memoria por referencia.

Por consiguiente, en una realización de la presente invención, un anticuerpo o derivado de anticuerpo de la invención se co-administra con un antagonista de TNF para tratar cualquier afección en la que las respuestas inmunitarias mediadas por IL-4R o inducidas por TNF desempeñan una función, tal como inflamación. Un método provisto en la presente invención comprende co-administrar un anticuerpo o derivado de anticuerpo de la invención y un antagonista de TNF a un paciente con enfermedad inflamatoria de los intestinos, enfermedad de Crohn o colitis ulcerosa. Otras realizaciones se refieren a un método que comprende co-administrar un anticuerpo o derivado de anticuerpo de la invención y un antagonista de TNF a un paciente que padece enfermedad de Kawasaki, anemia hemolítica autoinmunitaria, uveoretinitis autoinmunitaria, síndrome linfoproliferativo autoinmunitario, síndrome de Sjogren, síndrome de fatiga crónica o hepatotoxicidad inducida por un fármaco tal como diclofenac.

Otro método provisto en la presente invención comprende co-administrar un anticuerpo o derivado de anticuerpo de la invención y un antagonista de TNF a una mujer embarazada que experimenta preclampsia. En una realización, la administración del anticuerpo o derivado de anticuerpo de la invención con el antagonista de TNF continúa durante todo el embarazo.

Las dosis adecuadas de etanercept variarán de acuerdo con la naturaleza de la enfermedad que se ha de tratar, la gravedad de la enfermedad, el tamaño del paciente (p. ej., adulto o niño) y otros factores, como se reconoce en el campo correspondiente. En una realización de los métodos provistos en la presente invención, ENBREL® se administra dos veces por semana por inyección subcutánea en una dosis de 1 a 25 mg. Una realización de una dosis pediátrica es 0,4 mg/kg. Los métodos particulares provistos en la presente memoria comprenden co-administrar un anticuerpo o derivado de anticuerpo de la invención y ENBREL® a un paciente que padece el síndrome linfoproliferativo autoinmunitario, o el síndrome de Sjogren, donde ENBREL® se administra por inyección subcutánea en una dosis de 1 a 25 mg.

Para tratar la enfermedad de injerto contra hospedante ("GVHD"), un anticuerpo o derivado de anticuerpo de la invención se administra con por lo menos uno de los siguientes agentes: un antagonista de TNF, un antagonista de IL-1, esteroides o corticosteroides. En una realización, el inhibidor de TNF es ENBREL®. En otra realización, el antagonista de IL-1 es una forma soluble del receptor de IL-1 de tipo II, p. ej., como se describe en la patente estadounidense 5,350,683. En otra realización, la GVHD se asocia con (p. ej., se desarrolla con posterioridad a) trasplante de médula ósea. Un anticuerpo o derivado de anticuerpo de la invención se puede emplear combinado con por lo menos uno de los agentes anteriormente enumerados, en métodos para suprimir una respuesta inmunitaria dirigida contra células, tejido y/o aloantígeno trasplantados.

Se describe en la presente memoria una serie de antagonistas de citocinas y otros agentes/fármacos como útiles para la terapia combinada (p. ej., co-administración con un anticuerpo o derivado de anticuerpo de la invención) en el tratamiento de enfermedades particulares. Se ha de entender que dichos antagonistas, agentes o fármacos también pueden encontrar utilidad como agentes individuales en el tratamiento de esas enfermedades. También se ha de entender que la descripción de los métodos que implican la administración de un antagonista a una citosina particular, para tratar una enfermedad, abarca la administración de un tipo de antagonista para esa citosina, a menos que se especifique otra cosa.

EJEMPLO 1: Preparación de anticuerpos monoclonales

Este ejemplo demuestra un método para preparar anticuerpos monoclonales que reconocen el receptor de IL-4 humano.

5 Los polipéptidos del receptor de IL-4 pueden emplearse como inmunógenos en la generación de anticuerpos monoclonales por técnicas convencionales, p. ej., las técnicas descritas en la patente estadounidense 5,599,905, incorporada a la presente memoria por referencia en su totalidad. Se reconoce que se pueden emplear polipéptidos en diversas formas como inmunógenos, p. ej., proteínas de longitud total, sus fragmentos, sus proteínas de fusión tales como fusiones Fc, células que expresan la proteína recombinante en la superficie celular, etc.

10 Para resumir un ejemplo de dicho procedimiento, se inyecta subcutáneamente a ratas Lewis un inmunógeno de IL-4R emulsionado en adyuvante de Freund completo, en cantidades que oscilan entre 10-100 µl. Tres semanas después, los animales inmunizados reciben un refuerzo de inmunógeno adicional emulsionado en adyuvante de Freund incompleto y otro refuerzo cada tres semanas de allí en más. Se toman periódicamente muestras séricas por sangrado retro-orbital o extirpación de la punta del rabo para ensayar por inmunotransferencia, ELISA (enzimoinmunoanálisis de adsorción), o inhibición de unión de ¹²⁵I-IL-4 a extractos de células que expresan IL-4R.

15 Tras la detección de una titulación de anticuerpos apropiada, los animales positivos reciben una inyección intravenosa final de antígeno en solución salina. Tres o cuatro días después, los animales son sacrificados, se cosechan los esplenocitos y se condensan a la línea celular de mieloma murino AG8653. Las líneas celulares de hibridoma resultantes se disponen en múltiples placas de microtitulación en un medio selectivo HAT (hipoxantina, aminopterina y timidina) para inhibir la proliferación de células no condensadas, híbridos de mieloma e híbridos de células de bazo.

20

Se detecta la reactividad con IL-4R de los clones de hibridoma así generados. La detección inicial de los sobrenadantes de hibridoma utiliza una captura de anticuerpos y la unión al receptor de ¹²⁵I-IL-4 parcialmente purificado. Los hibridomas que son positivos en el método de detección se ensayan con una captura de anticuerpos modificada para detectar células de hibridoma que están produciendo anticuerpo bloqueante. Se detectan, por lo tanto, hibridomas que segregan un anticuerpo monoclonal capaz de inhibir la unión de ¹²⁵I-IL-4 a las células que expresan IL-4R. Dichos hibridomas luego se inyectan en las cavidades peritoneales de ratones atímicos para producir ascitis que contiene altas concentraciones (>1 mg/ml) de anticuerpo monoclonal anti-IL-4R. Los anticuerpos monoclonales resultantes se pueden purificar por precipitación de sulfato de amonio seguida por cromatografía de exclusión en gel, y/o cromatografía de afinidad en base a la unión de anticuerpo a la proteína G.

25

30 Los métodos para generar anticuerpos humanos en ratones transgénicos se han descrito y se conocen en la técnica. Véanse, p. ej., Chen *et al.*, 1993, *Internal Immunol.* 5: 647-56; Chen *et al.*, 1993, *EMBO J.* 12: 821-30; Choi *et al.*, 1993, *Nature Genetics* 4: 117-23; Fishwild *et al.*, 1996, *Nature Biotech.* 14: 845-51; Harding *et al.*, 1995, *Annals New York Acad. Sci.*; Lonberg *et al.*, 1994, *Nature* 368: 856-59; Lonberg, 1994, *Handbook Exper. Pharmacol.* 113: 49-101; Lonberg *et al.*, 1995, *Internal Rev. Immunol.* 13: 65-93; Morrison, S, 1994, *Nature* 368: 812-13; Neuberger, 1996, *Nature Biotech.* 14: 826; Taylor *et al.*, 1992, *Nuc. Acids Res.* 20: 6287-95; Taylor *et al.*, 1994, *Internal Immunol.* 6: 579-91; Tomizuka *et al.*, 1997, *Nature Genetics* 16:133-43; Tomizuka *et al.*, 2000, *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 97: 722-27; Tuailon *et al.*, 1993, *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 90: 3720-24; Tuailon *et al.*, 1994, *J. Immunol.* 152: 2912-20; Russel *et al.*, 2000, *Infection and Immunity* abril 2000:1820-26; Gallo *et al.*, 2000, *Eur. J. Immunol.* 30: 534-40; Davis *et al.*, 1999, *Cancer Metastasis Rev.* 18:421-25; Green, 1999, *J. Immunol. Methods* 231:11-23; Jakobovits, 1998, *Advanced Drug Delivery Rev.* 31:33-42; Green *et al.*, 1998, *J. Exp. Med.* 188: 483-95; Jakobovits, 1998, *Exp. Opin. Invest. Drugs* 7: 607-14; Tsuda *et al.*, 1997, *Genomics* 42: 413-21; Mendez *et al.*, 1997, *Nature Genetics* 15:146-56; Jakobovits, 1996, *Weir's Handbook of Experimental Immunology, The Integrated Immune System Vol. IV*, 194.1-194.7; Mendez *et al.*, 1995, *Genomics* 26: 294-307; Jakobovits, 1994, *Current Biol.* 4: 761-63; Arbones, 1994, *Immunity* 1: 247-60; Green *et al.*, 1994, *Nature Genetics* 7: 13-21; Jakobovits *et al.*, 1993, *Nature* 362: 255-58;

35

40

45 Jakobovits *et al.*, 1993, *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 90: 2551-55.

EJEMPLO 2: Ensayo para evaluar la actividad bloqueante

Este ejemplo demuestra un ensayo que se puede utilizar para identificar anticuerpos que reducen la IL-4 y/o la expresión de CD23 dependiente de IL-13. El ensayo se basa en la capacidad tanto de IL-4 como de IL-13 de potenciar la expresión del antígeno de superficie asociado con la activación de CD23 en células B humanas.

50 Se ensayan anticuerpos dirigidos contra IL-4R humano (huIL-4R) o bien en la forma de sobrenadantes de hibridoma o proteína purificada. Antes de la adición a cultivos, los anticuerpos se intercambian de tampón contra el medio de cultivo (RPM11640 más 10% suero bovino fetal inactivado por calor) por centrifugación, usando dispositivos de filtro Centricon (Amicon) con un valor de corte de 10kDa.

55 Se purifican células B de sangre periférica humana como se describió previamente (Morris *et al.*, 1999, *J. Biol. Chem.* 274:418-23). Las células B (3x10⁵/pocillo) en medio de cultivo se disponen en placas de microtitulación con fondo redondo de 96 pocillos y se preincuban a temperatura ambiente durante 30 min con los anticuerpos de ensayo en la concentración final indicada. Luego se añade IL-4 o IL-13 humana recombinante a los cultivos en las concentraciones indicadas, y las células se cultivan durante 20-24 horas a 37° C en una atmósfera humidificada de 5% CO₂. Al final del periodo de cultivo, las células se lavan una vez en PBS + 0,02% NaN₃ en la placa de cultivo de

96 pocillos y se resuspenden en tampón bloqueante (2% suero de conejo normal + 1 % suero de cabra normal en PBS + NaN₃). Se añaden luego anticuerpo monoclonal (mAb) CD23 conjugado a ficoeritrina (PE) o mAb control de isotopo conjugado a PE (ambos de Pharmingen) a las células a una dilución final de 1:10. Las células se incuban durante 30 minutos a 4° C, se lavan x3 en PBS + NaN₃ y se analizan en FacScan (Becton Dickinson) para expresión de CD23.

Las células cultivadas con medio de crecimiento de hibridoma o anticuerpo anti-hIL-4R humano no bloqueante aparejado al isotopo se incluyen como controles negativos. Se utiliza un mAb murino anti-huIL-4R (MAB 230, R&D Systems, Minneapolis, MN), que previamente se demostró que bloquea la unión y el funcionamiento tanto de hIL-4 como de hIL-13, como control positivo para neutralización de inducción de CD23 por parte de IL-4 e IL-13.

EJEMPLO 3: Ensayos para medir la pérdida del funcionamiento de la barrera

Este ejemplo provee métodos para evaluar la capacidad de un antagonista de IL-4 de inhibir el daño inducido por IL-4 al tejido epitelial y la pérdida del funcionamiento de la barrera epitelial.

En un aspecto, la presente invención provee un método para usar un antagonista de IL-4 a fin de inhibir el daño inducido por IL-4 al epitelio, incluyendo sin limitación el epitelio pulmonar o el epitelio intestinal. El daño al epitelio puede producir la pérdida del funcionamiento de la barrera. Los siguientes son ejemplos no limitativos de técnicas que se pueden emplear para evaluar la capacidad de un antagonista de IL-4 de inhibir el daño inducido por IL-4 al epitelio y la pérdida del funcionamiento de la barrera epitelial.

Se conocen las células que se pueden emplear en la preparación de modelos *in vitro* de epitelio (barreras epiteliales). Por ejemplo, las células epiteliales de pulmón humano Calu-3 son adecuadas para uso en estudios del funcionamiento de la barrera epitelial (Ahdieh *et al.*, 2001, Am. J. Physiol. Cell Physiol. 281:C2029-38). Otra línea celular adecuada es la línea celular epitelial intestinal humana designada T84. Las células T84 se cultivan bajo condiciones que producen la formación de una monocapa de células epiteliales en un soporte permeable, como se describe en Madara *et al.*, 1985, J. Cell Biol., 101:2124-33, Madara *et al.*, 1989, J. Clin. Invest. 83:724-27 y Youakim *et al.*, 1999, Am. J. Physiol. 276 (Gastrointest. Liver Physiol. 39):G1279-88. La monocapa epitelial así generada simula la barrera epitelial intestinal.

Se ensaya una propiedad de las monocapas cultivadas (p. ej., resistencia a flujo iónico transepitelial pasivo) que puede distinguir un epitelio intacto de un epitelio dañado. Dicho ensayo determina si un compuesto radiomarcado particular es capaz de atravesar una monocapa epitelial. La fuga del compuesto radiomarcado a través de la monocapa indica que la barrera es permeable en lugar de intacta. Por ejemplo, el análisis de flujo de manitol se puede usar para detectar daño epitelial, evaluando el movimiento del manitol radiomarcado (p. ej., ³H manitol) a través de una monocapa (véase Madara and Stafford, más arriba).

Otros ejemplos de métodos para evaluar la condición de un epitelio incluyen métodos de diagnóstico por imágenes (p. ej., aquellos analizados en Madara and Stafford, más arriba) y mediciones de resistencia eléctrica transepitelial (p. ej., aquellas analizadas en Youakim and Ahdieh, más arriba).

La patente estadounidense 6,033,688 ("la patente '688"), incorporada a la presente memoria por referencia en su totalidad, también describe procedimientos que se pueden emplear en estudios de permeabilidad de barreras, véase, p. ej., los Ejemplos 1 y 4 de la patente. Las células epiteliales de tráquea humana se cultivan bajo condiciones que producen una monocapa que exhibe resistencia eléctrica transepitelial. La resistencia transepitelial (que indica una barrera intacta) se determina usando un voltímetro. El efecto de una sustancia o tratamiento en la monocapa epitelial se evalúa exponiendo la monocapa a la sustancia o tratamiento, y luego midiendo las actividades de transporte iónico en Ussing chambers (columna 8, líneas 40-56).

Se pueden llevar a cabo procedimientos similares utilizando monocapas generadas a partir de otros tipos de células, p. ej., células epiteliales bronquiales de un paciente con fibrosis quística humana (véase la patente '688, ejemplo 4, columna 11).

Por consiguiente, la capacidad de una sustancia o tratamiento de inhibir la reducción inducida por IL-4 en el funcionamiento de la barrera de una capa epitelial se puede evaluar exponiendo la capa epitelial a IL-4 y a la sustancia o tratamiento, ensayando el estado de la capa epitelial y comparando el estado de la capa epitelial con el estado de una capa epitelial que ha sido expuesta a IL-4 en ausencia de la sustancia. Una mejoría en el estado de la capa epitelial expuesta a la sustancia o tratamiento en relación con una capa epitelial no expuesta a la sustancia o tratamiento indica que la sustancia o tratamiento inhibe el daño inducido por IL-4 al tejido epitelial y la pérdida de funcionamiento de la barrera epitelial.

En dicho ensayo, una monocapa de células T84 se usó como modelo *in vitro* de una barrera epitelial intestinal, como se analizó anteriormente. Se descubrió que la IL-4 añadida al lado basolateral de células epiteliales polarizadas reduce el funcionamiento de la barrera en 70% dentro de 48-72 horas de tratamiento. Cuando se añadió un polipéptido del receptor de IL-4 soluble, que consistía en el dominio extracelular, simultáneamente con IL-4, se evitó la reducción del funcionamiento de la barrera, y la barrera se mantuvo en el mismo nivel que las células no tratadas (control).

El procedimiento de ensayo también se llevó a cabo en una monocapa derivada de células epiteliales de pulmón, que sirvió como modelo *in vitro* de una barrera epitelial pulmonar. Se descubrió que la IL-4 añadida al lado basolateral de las células epiteliales polarizadas reduce el funcionamiento de la barrera en 50% dentro de 48-72 horas de tratamiento. Cuando se añadió el polipéptido del receptor de IL-4 simultáneamente con IL-4, se evitó la reducción del funcionamiento de la barrera, y la barrera se mantuvo en el mismo nivel que las células no tratadas (control).

EJEMPLO 4: Ensayos para medir la actividad de unión

Este ejemplo provee métodos para evaluar la actividad de unión de un anticuerpo anti-IL-4R.

Anti-huIL-4R (o su variante, derivado o fragmento), se radiomarca con ^{125}I usando un análogo de cloramina T en fase sólida (IODOGEN®, Pierce, St. Louis, MO) u otra técnica de radiomarcado adecuada, hasta una actividad específica de aproximadamente 3×10^{16} cpm/mmol. La pérdida de bioactividad se evalúa comparando la inhibición de la unión u otro ensayo de inhibición biológica con la correspondiente proteína no marcada. Alternativamente, se puede medir la inhibición de la unión de IL-4 radiomarcada por anti-huIL-4R (o su variante o fragmento). Los ensayos de unión de equilibrio en células que expresan IL-4R se realizan en bandejas de microtitulación de 96 pocillos sustancialmente como se describe en Idzerda, *et al.*, 1990, J. Exp. Med. 171:3 861-73. En síntesis, diluciones en serie de proteína radiomarcada en medio de unión (RPMI 1640, 2,5% BSA, HEPES 20 mM, 0,02% azida de sodio, pH 7,2), enriquecido con 0,5 mg/ml de IgG humana y 5% de suero humano), se incuban con células ($2,5 \times 10^6$ /pocillo) durante 2 horas a 4° C en un volumen total de 150 microlitros. Sondas radiomarcadas libres y ligadas se separan por microcentrifugación a través de una mezcla de ftalato-aceite de separación, y se cuentan en un contador gamma. Los ensayos de inhibición utilizan proteína radiomarcada a una concentración constante de 0,5 nM en presencia o ausencia de inhibidores potenciales. La unión no específica se determina en presencia de un exceso de 100 veces proteína no marcada. Las curvas teóricas basadas en el modelo de inhibición competitiva de un solo sitio se ajustan a los datos descritos en Dower *et al.*, 1984, J Immunol. 132:751.

El porcentaje de inhibición se calcula de acuerdo con la ecuación $I(\%) = [100 \text{ Ki}(I)/[1 + \text{Ka}(L) + \text{Ki}(I)]]$, donde I es la concentración molar de inhibidor, L es la concentración molar de proteína radiomarcada y Ki y Ka son las constantes de afinidad del inhibidor y la proteína, respectivamente.

Los isoterms de unión de equilibrio e inhibición competitiva pueden también determinarse en placas de microtitulación de 96 pocillos revestidas con IL-4R/Fc o una proteína Fc control, capturada a través de anticuerpo policlonal Fc anti-humano de cabra (u otro anticuerpo Fc anti-humano adecuado). En síntesis, las placas se incuban con 5 microgramos/ml de Fc anti-humano en PBS a 4° C, se lavan dos veces con PBS y luego se incuban con IL-4R/Fc o una proteína Fc control en PBS/0,01% Tween 20 durante aproximadamente 12 horas a 4° C y se lavan nuevamente dos veces con PBS. Los isoterms de unión de equilibrio utilizan diluciones en serie de proteína de unión marcada con ^{125}I en medio de unión, y los ensayos de inhibición utilizan una constante de 0,5 nM de anti-huIL-4R marcado con ^{125}I en presencia o ausencia de inhibidores competitivos no marcados, potenciales, como se describió más arriba. Después de 2 horas a 4° C, las placas se lavan dos veces en PBS, y la proteína específicamente unida se libera con citrato 50 mM (pH 3,0), o tratamiento de SDS, y se mide la anti-huIL-4R marcada con ^{125}I liberada en un contador gamma. Los datos se procesan como se describe en Dower *et al.*, más arriba.

La actividad de unión se puede evaluar también por resonancia de plasmones superficiales, utilizando un biosensor BIACORE® (BIAcore International AB, Uppsala, Suecia). En síntesis, se acopla covalentemente anticuerpo específico de cadena gamma, IgG antihumano de cabra (u otro anticuerpo específico de cadena gamma adecuado; GHFC) a chips de un biosensor usando un procedimiento estándar de acoplamiento de amina y reactivos de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Se inyecta anti-huIL-4R o un anticuerpo control en GHFC inmovilizado, y se pasan cantidades variables de IL-4R independientemente sobre un chip recubierto con GHFC (control negativo) como también chip recubierto con anti-huIL-4R. La regeneración del chip se logra con un pulso de 10 microlitros de ácido fosfórico 100 mM a 10 microlitros/minuto. Toda la unión se efectúa en HBS (HEPES 10 mM, NaCl 0,15 M, EDTA 3,4 mM, 0,02% NaN₃, 0,005% tensoactivo P20, pH 7,4).

EJEMPLO 5: Anticuerpos de unión al receptor de IL-4

Este ejemplo proporciona las secuencias de aminoácidos, y las secuencias de nucleótidos que los codifican, de los dominios variables de las cadenas pesada y ligera de los anticuerpos y derivados de anticuerpos que se unen a huIL-4R.

Se aisló un anticuerpo IgG4 totalmente humano que comprendía la región variable de la cadena ligera de L1 y la región variable de la cadena pesada de H1, tal como se describe en el Ejemplo 8 del documento WO 01/92340 (publicado el 6 de diciembre de 2001), incorporado a la presente memoria por referencia en su totalidad.

La región variable de la cadena pesada H1 se aisló por clonación de cDNA de la línea celular de hibridoma que produjo el anticuerpo L1H1 mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) usando los siguientes oligonucleótidos como cebadores:

GTCGACGCCGCCACCATGGA(A/G)TT(G/T)GGGCTGAGCTGG (SEC ID NO:70)

Sal I

Degenerado; complementario a VH3030

CTTGACCAGGCAGCCCAGGGC (SEC ID NO:71)

5 *Complementario a hulgG, 3'de Apa sitio I*

El producto de ampliación se insertó como un fragmento *Sal* I/*Apa* I en pGem-T easy (Promega, Madison, WI). Con el fin de mejorar la escisión, la secuencia inicial H1 nativa se reemplazó con la secuencia inicial H1 VH3-30 (Matsuda *et al.*, 1993, Nature Genetics 3:88-94).

10 La mutagénesis basada en oligonucleótidos del dominio variable de la cadena pesada de H1 se usó para crear las secuencias de domino variable de la cadena pesada H2-H14, que se muestran en la Figura 3. Se demostró que cada una de estas secuencias de dominio variable de la cadena pesada se une, en combinación con la secuencia de dominio variable de la cadena ligera de L1, al receptor de IL-4 alfa, usando un enzimoimmunoanálisis de adsorción (ELISA).

15 Se generaron genes de cadena variable ligera humana virgen por PCR a partir de células B humanas y se utilizaron para construir una genoteca de cDNA de región variable. Éstos se estudiaron en combinación con la región variable de la cadena pesada H1 para unión al receptor de IL-4 humana. Las regiones variables de la cadena ligera L2-L6 se identificaron usando este método. Sus secuencias de nucleótidos y aminoácidos se muestran en las Figuras 2 y 3, respectivamente, donde las regiones CDR de cada cadena se indican en negrita y subrayadas en L1. También se indican las regiones marco (FR).

20 Para clonar la región constante kappa humana, se aisló RNA de una línea celular de hibridoma murino que expresa una cadena ligera kappa humana usando el RNeasy Mini Kit (Qiagen, Valencia, CA). El RNA se transcribió inversamente usando un kit de síntesis de cDNA de primera cadena (*First-Strand cDNA Synthesis Kit*) (Amersham Pharmacia Biotech, Piscataway, NJ). El ácido nucleico de la cadena ligera kappa humana se amplió por PCR a partir del cDNA como un casete *Bsw* I/*Not* I usando los cebadores:

25 ATCAAACGTCACGGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATC (SEC ID NO:72)

*Bsi*W I

GTTTAAACGCGCGCGGATCCTAACACTCTCCCCTGTTGAAGCTCTTT (SEC ID NO:73) *Not* I

30 Las regiones de la cadena variable ligera L1 y L2 se unieron independientemente a la región constante de la cadena ligera kappa humana de la siguiente manera: un fragmento de DNA de *Nhe* I/*Bsi* WI que codifica la región variable de la cadena ligera de L1 y el fragmento de *Bsi* WI/*Not* I que codifica el fragmento de DNA de región constante kappa humana se subclonaron simultáneamente en un vector de expresión mamífero pDC409 (descrito en Giri *et al.*, 1994, EMBO J. 13:2822-30 y en la patente estadounidense núm. 6,642,358, incorporadas a la presente memoria por referencia en su totalidad) utilizando una secuencia inicial VklII. La secuencia inicial VklII se construyó como un casete *Sal* I/*Nhe* I por ampliación PCR de Kozak (Kozak, 1989, J Cell Biol. 108:229-41) y las secuencias iniciales VklII A27 (Straubinger *et al.*, 1988, J Mol Biol. 199:23-34) utilizando los siguientes oligonucleótidos como cebadores:

35 GTCGACGCCGCCACCATGGAAACCCAGCGCAGCTTCTCTTCTCCTGCTACTCTGGCTCCCAGA

Sal I

TACCGCTAGCGAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCA (SEC ID NO:74)

40 TGGAGACTGCGTCAACACAATTTGCTAGCGGTATCTGGGAGCCAGAGTAGCAGGAGGAAGAGAAG
CTGCGCTGGGGTTTCCATGGTGGCGGCGTCGAC (SEC ID NO:75)

Sal I

Los últimos seis nucleótidos en la secuencia inicial natural VklII A27 se reemplazaron con los nucleótidos que codifican un sitio *Nhe* I. Esto produjo cambios de aminoácidos de treonina a glicina y alanina a serina, pero no afectó el sitio de escisión.

45 Cada región variable de la cadena pesada H1, H4 y H14 se unió a la región constante de IgG4 humana de la siguiente manera: un fragmento de DNA *Sal* I/*Apa* I que codifica la región variable de la cadena pesada de H1 y un fragmento de DNA *Apa* I/*Not* I que codifica la región constante de IgG4 humana (SEC ID NO:77) se insertaron simultáneamente en el vector de expresión mamífera digerido *Sal* I/*Not* I pDC409 (descrito en Giri *et al.*, 1994, EMBO J. 13:2822-30) empleando una secuencia inicial VH5a que se modificó en su extremo 3' para codificar el sitio *Nhe* I:

ATGGGGTCAACCGCCATCCTTGGCCTCCTCCTGGCTGTTCTCCAAGGAGTCGCTAGC_____(SEC ID NO:76)
 Nhe I

5 Como consecuencia de este cambio, los últimos dos aminoácidos son alanina y serina, mientras que los últimos dos aminoácidos del tipo silvestre VH5a son cisteína y alanina. Se usó mutagénesis dirigida al sitio en el constructo que codifica H4-IgG4 para realizar los constructos que comprenden las regiones variables de las cadenas pesadas H12 y H13. Las secuencias de nucleótidos y aminoácidos de H1-H14 se muestran en las Figuras 2 y 3, respectivamente, donde las regiones CDR de cada cadena se indican en negrita y subrayadas en H1. También se indican las regiones marco (FR).

10 Los anticuerpos y/o derivados de anticuerpos que comprenden las combinaciones de dominio variable L1H1, L1H2, L1H3, L1H4, L1H5, L1H6, L1H7, L1H8, L1H9, L1H10, L1H11, L2H1, L2H2, L2H3, L2H4, L2H5, L2H6, L2H7, L2H8, L2H9, L2H10, L2H11, L2H12, L2H13, L2H14, L3H1, L4H1, L5H1 y L6H1 se ensayaron usando un ensayo de unión bioquímica y/o el método del Ejemplo 2, y se halló que se unen al receptor de IL-4.

EJEMPLO 6: Especies y especificidad de secuencias a los anticuerpos

15 Este ejemplo provee un método para determinar la especie y la especificidad de secuencia de un anticuerpo que se une al receptor de IL-4.

Se puede usar un ensayo de unión con clasificador celular activado por fluorescencia (FACS) para evaluar la especie y/o la especificidad de secuencia de un anticuerpo anti-IL-4. El dominio extracelular del receptor de IL-4 comprende un dominio del receptor de citocinas (dominio I) y un dominio de fibronectina de tipo III (dominio II) (Hage *et al.*, 1999, *Cell* 97:271-81). Los constructos que comprenden los dominios del receptor de IL-4 humano I y/o II, dominios del receptor de IL-4 murino I y/o II, combinaciones de dominios del receptor de IL-4 humano y murino I y II, fragmentos de dominios del receptor de IL-4 humano y murino I y/o II se expresan como fusiones dentro del marco C-terminal con avidina de pollo. (Las secuencias del receptor de IL-4 murino se proveen, por ejemplo, en Schulte *et al.*, 1997, *J. Exp. Med.* 186:1419-29, Wrighton *et al.*, 1992, *Growth Factors* 6:103-18, Harada *et al.*, 1990, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 87:857-61, Mosley *et al.*, 1989, *Cell* 59:335-48.) Los vectores de expresión de la proteína de fusión se transfectan transitoriamente en forma individual en células 293T. Los medios condicionados se utilizan como la fuente de proteína de fusión sin purificación. La etiqueta de avidina del constructo del receptor de IL-4 es capturada a partir de una disolución por una esfera recubierta con biotina. Se emplea un anticuerpo anti-avidina FITC para detectar la porción de avidina del constructo de fusión. Se incuban un anticuerpo del receptor anti-IL-4 con el constructo del receptor de IL-4 capturado por biotina. Se utiliza IgG anti-humana de ratón marcada con FITC F(ab')₂ como anticuerpo secundario para detección. La mezcla de esfera-anticuerpo se somete a análisis FACS en Becton Dickinson Bioscience FACScan (BD, Franklin Lakes, NJ).

35 Utilizando el método anterior, se halló que varios anticuerpos del receptor anti-IL-4 descritos en la presente memoria se unieron bien a un constructo que comprende los dominios I y II del receptor de IL-4 humano, pero no se unieron a un constructo que comprende los dominios I y II del receptor de IL-4 murino. Los anticuerpos se unieron débilmente a un constructo que comprende el dominio I del receptor de IL-4 humano (pero no comprende el dominio II) y no todos a un constructo que comprende el dominio del receptor de IL-4 humano II (pero que no comprende el dominio I). Se descubrió además que los anticuerpos se unieron bien a un constructo que comprende el dominio I del receptor de IL-4 humano y el dominio II del receptor de IL-4 murino.

40 Los ejemplos anteriores, tanto prácticos como teóricos, no son limitativos y se proveen para ilustrar las realizaciones particulares de la presente invención. Todas las referencias citadas en la presente memoria se incorporan por referencia en su totalidad.

ES 2 383 809 T3

ggc tcc ttc aag ccc agc gag cat gtg aaa ccc agg gcc cca gga aac	384
Gly Ser Phe Lys Pro Ser Glu His Val Lys Pro Arg Ala Pro Gly Asn	
115 120 125	
ctg aca gtt cac acc aat gtc tcc gac act ctg ctg ctg acc tgg agc	432
Leu Thr Val His Thr Asn Val Ser Asp Thr Leu Leu Leu Thr Trp Ser	
130 135 140	
aac ccg tat ccc cct gac aat tac ctg tat aat cat ctc acc tat gca	480
Asn Pro Tyr Pro Pro Asp Asn Tyr Leu Tyr Asn His Leu Thr Tyr Ala	
145 150 155 160	
gtc aac att tgg agt gaa aac gac ccg gca gat ttc aga atc tat aac	528
Val Asn Ile Trp Ser Glu Asn Asp Pro Ala Asp Phe Arg Ile Tyr Asn	
165 170 175	
gtg acc tac cta gaa ccc tcc ctc cgc atc gca gcc agc acc ctg aag	576
Val Thr Tyr Leu Glu Pro Ser Leu Arg Ile Ala Ala Ser Thr Leu Lys	
180 185 190	
tct ggg att tcc tac agg gca cgg gtg agg gcc tgg gct cag tgc tat	624
Ser Gly Ile Ser Tyr Arg Ala Arg Val Arg Ala Trp Ala Gln Cys Tyr	
195 200 205	
aac acc acc tgg agt gag tgg agc ccc agc acc aag tgg cac aac tcc	672
Asn Thr Thr Trp Ser Glu Trp Ser Pro Ser Thr Lys Trp His Asn Ser	
210 215 220	
tac agg gag ccc ttc gag cag cac ctc ctg ctg ggc gtc agc gtt tcc	720
Tyr Arg Glu Pro Phe Glu Gln His Leu Leu Leu Gly Val Ser Val Ser	
225 230 235 240	
tgc att gtc atc ctg gcc gtc tgc ctg ttg tgc tat gtc agc atc acc	768
Cys Ile Val Ile Leu Ala Val Cys Leu Leu Cys Tyr Val Ser Ile Thr	
245 250 255	
aag att aag aaa gaa tgg tgg gat cag att ccc aac cca gcc cgc agc	816
Lys Ile Lys Lys Glu Trp Trp Asp Gln Ile Pro Asn Pro Ala Arg Ser	
260 265 270	
cgc ctc gtg gct ata ata atc cag gat gct cag ggg tca cag tgg gag	864
Arg Leu Val Ala Ile Ile Ile Gln Asp Ala Gln Gly Ser Gln Trp Glu	
275 280 285	
aag cgg tcc cga gcc cag gaa cca gcc aag tgc cca cac tgg aag aat	912
Lys Arg Ser Arg Gly Gln Glu Pro Ala Lys Cys Pro His Trp Lys Asn	
290 295 300	
tgt ctt acc aag ctc ttg ccc tgt ttt ctg gag cac aac atg aaa agg	960
Cys Leu Thr Lys Leu Leu Pro Cys Phe Leu Glu His Asn Met Lys Arg	
305 310 315 320	
gat gaa gat cct cac aag gct gcc aaa gag atg cct ttc cag ggc tct	1008
Asp Glu Asp Pro His Lys Ala Ala Lys Glu Met Pro Phe Gln Gly Ser	
325 330 335	
gga aaa tca gca tgg tgc cca gtg gag atc agc aag aca gtc ctc tgg	1056
Gly Lys Ser Ala Trp Cys Pro Val Glu Ile Ser Lys Thr Val Leu Trp	
340 345 350	

ES 2 383 809 T3

cca gag agc atc agc gtg gtg cga tgt gtg gag ttg ttt gag gcc ccg	1104
Pro Glu Ser Ile Ser Val Val Arg Cys Val Glu Leu Phe Glu Ala Pro	
355 360 365	
gtg gag tgt gag gag gag gag gag gta gag gaa gaa aaa ggg agc ttc	1152
Val Glu Cys Glu Glu Glu Glu Glu Val Glu Glu Glu Lys Gly Ser Phe	
370 375 380	
tgt gca tcg cct gag agc agc agg gat gac ttc cag gag gga agg gag	1200
Cys Ala Ser Pro Glu Ser Ser Arg Asp Asp Phe Gln Glu Gly Arg Glu	
385 390 395 400	
ggc att gtg gcc cgg cta aca gag agc ctg ttc ctg gac ctg ctc gga	1248
Gly Ile Val Ala Arg Leu Thr Glu Ser Leu Phe Leu Asp Leu Leu Gly	
405 410 415	
gag gag aat ggg ggc ttt tgc cag cag gac atg ggg gag tca tgc ctt	1296
Glu Glu Asn Gly Phe Cys Gln Gln Asp Met Gly Glu Ser Cys Leu	
420 425 430	
ctt cca cct tcg gga agt acg agt gct cac atg ccc tgg gat gag ttc	1344
Leu Pro Pro Ser Gly Ser Thr Ser Ala His Met Pro Trp Asp Glu Phe	
435 440 445	
cca agt gca ggg ccc aag gag gca cct ccc tgg ggc aag gag cag cct	1392
Pro Ser Ala Gly Pro Lys Glu Ala Pro Pro Trp Gly Lys Glu Gln Pro	
450 455 460	
ctc cac ctg gag cca agt cct cct gcc agc ccg acc cag agt cca gac	1440
Leu His Leu Glu Pro Ser Pro Pro Ala Ser Pro Thr Gln Ser Pro Asp	
465 470 475 480	
aac ctg act tgc aca gag acg ccc ctc gtc atc gca ggc aac cct gct	1488
Asn Leu Thr Cys Thr Glu Thr Pro Leu Val Ile Ala Gly Asn Pro Ala	
485 490 495	
tac cgc agc ttc agc aac tcc ctg agc cag tca ccg tgt ccc aga gag	1536
Tyr Arg Ser Phe Ser Asn Ser Leu Ser Gln Ser Pro Cys Pro Arg Glu	
500 505 510	
ctg ggt cca gac cca ctg ctg gcc aga cac ctg gag gaa gta gaa ccc	1584
Leu Gly Pro Asp Pro Leu Leu Ala Arg His Leu Glu Glu Val Glu Pro	
515 520 525	
gag atg ccc tgt gtc ccc cag ctc tct gag cca acc act gtg ccc caa	1632
Glu Met Pro Cys Val Pro Gln Leu Ser Glu Pro Thr Thr Val Pro Gln	
530 535 540	
cct gag cca gaa acc tgg gag cag atc ctc cgc cga aat gtc ctc cag	1680
Pro Glu Pro Glu Thr Trp Glu Gln Ile Leu Arg Arg Asn Val Leu Gln	
545 550 555 560	
cat ggg gca gct gca gcc ccc gtc tcg gcc ccc acc agt ggc tat cag	1728
His Gly Ala Ala Ala Pro Val Ser Ala Pro Thr Ser Gly Tyr Gln	
565 570 575	
gag ttt gta cat gcg gtg gag cag ggt gcc acc cag gcc agt gcg gtg	1776
Glu Phe Val His Ala Val Glu Gln Gly Gly Thr Gln Ala Ser Ala Val	
580 585 590	

ES 2 383 809 T3

gtg ggc ttg ggt ccc cca gga gag gct ggt tac aag gcc ttc tca agc 1824
Val Gly Leu Gly Pro Pro Gly Glu Ala Gly Tyr Lys Ala Phe Ser Ser
595 600 605

ctg ctt gcc agc agt gct gtg tcc cca gag aaa tgt ggg ttt ggg gct 1872
Leu Leu Ala Ser Ser Ala Val Ser Pro Glu Lys Cys Gly Phe Gly Ala
610 615 620

agc agt ggg gaa gag ggg tat aag cct ttc caa gac ctc att cct ggc 1920
Ser Ser Gly Glu Glu Gly Tyr Lys Pro Phe Gln Asp Leu Ile Pro Gly
625 630 635 640

tgc cct ggg gac cct gcc cca gtc cct gtc ccc ttg ttc acc ttt gga 1968
Cys Pro Gly Asp Pro Ala Pro Val Pro Val Pro Leu Phe Thr Phe Gly
645 650 655

ctg gac agg gag cca cct cgc agt ccg cag agc tca cat ctc cca agc 2016
Leu Asp Arg Glu Pro Pro Arg Ser Pro Gln Ser Ser His Leu Pro Ser
660 665 670

agc tcc cca gag cac ctg ggt ctg gag ccg ggg gaa aag gta gag gac 2064
Ser Ser Pro Glu His Leu Gly Leu Glu Pro Gly Glu Lys Val Glu Asp
675 680 685

atg cca aag ccc cca ctt ccc cag gag cag gcc aca gac ccc ctt gtg 2112
Met Pro Lys Pro Pro Leu Pro Gln Glu Gln Ala Thr Asp Pro Leu Val
690 695 700

gac agc ctg ggc agt ggc att gtc tac tca gcc ctt acc tgc cac ctg 2160
Asp Ser Leu Gly Ser Gly Ile Val Tyr Ser Ala Leu Thr Cys His Leu
705 710 715 720

tgc ggc cac ctg aaa cag tgt cat ggc cag gag gat ggt ggc cag acc 2208
Cys Gly His Leu Lys Gln Cys His Gly Gln Glu Asp Gly Gly Gln Thr
725 730 735

cct gtc atg gcc agt cct tgc tgt ggc tgc tgc tgt gga gac agg tcc 2256
Pro Val Met Ala Ser Pro Cys Cys Gly Cys Cys Cys Gly Asp Arg Ser
740 745 750

tcg ccc cct aca acc ccc ctg agg gcc cca gac ccc tct cca ggt ggg 2304
Ser Pro Pro Thr Thr Pro Leu Arg Ala Pro Asp Pro Ser Pro Gly Gly
755 760 765

gtt cca ctg gag gcc agt ctg tgt ccg gcc tcc ctg gca ccc tcg ggc 2352
Val Pro Leu Glu Ala Ser Leu Cys Pro Ala Ser Leu Ala Pro Ser Gly
770 775 780

atc tca gag aag agt aaa tcc tca tca tcc ttc cat cct gcc cct ggc 2400
Ile Ser Glu Lys Ser Lys Ser Ser Ser Ser Phe His Pro Ala Pro Gly
785 790 795 800

aat gct cag agc tca agc cag acc ccc aaa atc gtg aac ttt gtc tcc 2448
Asn Ala Gln Ser Ser Ser Gln Thr Pro Lys Ile Val Asn Phe Val Ser
805 810 815

gtg gga ccc aca tac atg agg gtc tct 2475
Val Gly Pro Thr Tyr Met Arg Val Ser
820 825

<210> 2
<211> 825
<212> PRT
5 <213> Homo sapien
<400> 2

ES 2 383 809 T3

Met Gly Trp Leu Cys Ser Gly Leu Leu Phe Pro Val Ser Cys Leu Val
1 5 10 15

Leu Leu Gln Val Ala Ser Ser Gly Asn Met Lys Val Leu Gln Glu Pro
20 25 30

Thr Cys Val Ser Asp Tyr Met Ser Ile Ser Thr Cys Glu Trp Lys Met
35 40 45

Asn Gly Pro Thr Asn Cys Ser Thr Glu Leu Arg Leu Leu Tyr Gln Leu
50 55 60

Val Phe Leu Leu Ser Glu Ala His Thr Cys Ile Pro Glu Asn Asn Gly
65 70 75 80

Gly Ala Gly Cys Val Cys His Leu Leu Met Asp Asp Val Val Ser Ala
85 90 95

Asp Asn Tyr Thr Leu Asp Leu Trp Ala Gly Gln Gln Leu Leu Trp Lys
100 105 110

Gly Ser Phe Lys Pro Ser Glu His Val Lys Pro Arg Ala Pro Gly Asn
115 120 125

Leu Thr Val His Thr Asn Val Ser Asp Thr Leu Leu Leu Thr Trp Ser
130 135 140

Asn Pro Tyr Pro Pro Asp Asn Tyr Leu Tyr Asn His Leu Thr Tyr Ala
145 150 155 160

Val Asn Ile Trp Ser Glu Asn Asp Pro Ala Asp Phe Arg Ile Tyr Asn
165 170 175

Val Thr Tyr Leu Glu Pro Ser Leu Arg Ile Ala Ala Ser Thr Leu Lys
180 185 190

Ser Gly Ile Ser Tyr Arg Ala Arg Val Arg Ala Trp Ala Gln Cys Tyr
195 200 205

Asn Thr Thr Trp Ser Glu Trp Ser Pro Ser Thr Lys Trp His Asn Ser
210 215 220

ES 2 383 809 T3

Tyr Arg Glu Pro Phe Glu Gln His Leu Leu Leu Gly Val Ser Val Ser
 225 230 235 240
 Cys Ile Val Ile Leu Ala Val Cys Leu Leu Cys Tyr Val Ser Ile Thr
 245 250 255
 Lys Ile Lys Lys Glu Trp Trp Asp Gln Ile Pro Asn Pro Ala Arg Ser
 260 265 270
 Arg Leu Val Ala Ile Ile Ile Gln Asp Ala Gln Gly Ser Gln Trp Glu
 275 280 285
 Lys Arg Ser Arg Gly Gln Glu Pro Ala Lys Cys Pro His Trp Lys Asn
 290 295 300
 Cys Leu Thr Lys Leu Leu Pro Cys Phe Leu Glu His Asn Met Lys Arg
 305 310 315 320
 Asp Glu Asp Pro His Lys Ala Ala Lys Glu Met Pro Phe Gln Gly Ser
 325 330 335
 Gly Lys Ser Ala Trp Cys Pro Val Glu Ile Ser Lys Thr Val Leu Trp
 340 345 350
 Pro Glu Ser Ile Ser Val Val Arg Cys Val Glu Leu Phe Glu Ala Pro
 355 360 365
 Val Glu Cys Glu Glu Glu Glu Glu Val Glu Glu Glu Lys Gly Ser Phe
 370 375 380
 Cys Ala Ser Pro Glu Ser Ser Arg Asp Asp Phe Gln Glu Gly Arg Glu
 385 390 395 400
 Gly Ile Val Ala Arg Leu Thr Glu Ser Leu Phe Leu Asp Leu Leu Gly
 405 410 415
 Glu Glu Asn Gly Gly Phe Cys Gln Gln Asp Met Gly Glu Ser Cys Leu
 420 425 430
 Leu Pro Pro Ser Gly Ser Thr Ser Ala His Met Pro Trp Asp Glu Phe
 435 440 445
 Pro Ser Ala Gly Pro Lys Glu Ala Pro Pro Trp Gly Lys Glu Gln Pro
 450 455 460

ES 2 383 809 T3

Leu His Leu Glu Pro Ser Pro Pro Ala Ser Pro Thr Gln Ser Pro Asp
 465 470 475 480
 Asn Leu Thr Cys Thr Glu Thr Pro Leu Val Ile Ala Gly Asn Pro Ala
 485 490 495
 Tyr Arg Ser Phe Ser Asn Ser Leu Ser Gln Ser Pro Cys Pro Arg Glu
 500 505 510
 Leu Gly Pro Asp Pro Leu Leu Ala Arg His Leu Glu Glu Val Glu Pro
 515 520 525
 Glu Met Pro Cys Val Pro Gln Leu Ser Glu Pro Thr Thr Val Pro Gln
 530 535 540
 Pro Glu Pro Glu Thr Trp Glu Gln Ile Leu Arg Arg Asn Val Leu Gln
 545 550 555 560
 His Gly Ala Ala Ala Ala Pro Val Ser Ala Pro Thr Ser Gly Tyr Gln
 565 570 575
 Glu Phe Val His Ala Val Glu Gln Gly Gly Thr Gln Ala Ser Ala Val
 580 585 590
 Val Gly Leu Gly Pro Pro Gly Glu Ala Gly Tyr Lys Ala Phe Ser Ser
 595 600 605
 Leu Leu Ala Ser Ser Ala Val Ser Pro Glu Lys Cys Gly Phe Gly Ala
 610 615 620
 Ser Ser Gly Glu Glu Gly Tyr Lys Pro Phe Gln Asp Leu Ile Pro Gly
 625 630 635 640
 Cys Pro Gly Asp Pro Ala Pro Val Pro Val Pro Leu Phe Thr Phe Gly
 645 650 655
 Leu Asp Arg Glu Pro Pro Arg Ser Pro Gln Ser Ser His Leu Pro Ser
 660 665 670
 Ser Ser Pro Glu His Leu Gly Leu Glu Pro Gly Glu Lys Val Glu Asp
 675 680 685
 Met Pro Lys Pro Pro Leu Pro Gln Glu Gln Ala Thr Asp Pro Leu Val
 690 695 700

ES 2 383 809 T3

Asp Ser Leu Gly Ser Gly Ile Val Tyr Ser Ala Leu Thr Cys His Leu
705 710 715 720

Cys Gly His Leu Lys Gln Cys His Gly Gln Glu Asp Gly Gly Gln Thr
725 730 735

Pro Val Met Ala Ser Pro Cys Cys Gly Cys Cys Cys Gly Asp Arg Ser
740 745 750

Ser Pro Pro Thr Thr Pro Leu Arg Ala Pro Asp Pro Ser Pro Gly Gly
755 760 765

Val Pro Leu Glu Ala Ser Leu Cys Pro Ala Ser Leu Ala Pro Ser Gly
770 775 780

Ile Ser Glu Lys Ser Lys Ser Ser Ser Ser Phe His Pro Ala Pro Gly
785 790 795 800

Asn Ala Gln Ser Ser Ser Gln Thr Pro Lys Ile Val Asn Phe Val Ser
805 810 815

Val Gly Pro Thr Tyr Met Arg Val Ser
820 825

<210> 3
<211> 327
<212> DNA
5 <213> Artificial

<220>
<223> Secuencia variable de la cadena ligera

<220>
10 <221> CDS
<222> (1)..(327)

<400> 3

gaa att gtg ttg acg cag tct cca ggc acc ctg tct ttg tct cca ggg 48
Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15

gaa aga gcc acc ctc tcc tgc agg gcc agt cag agt gtt agc agc agc 96
Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser
20 25 30

tac tta gcc tgg tac cag cag aaa cct ggc cag gct ccc agg ctc ctc 144
Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
35 40 45

atc ttt ggt gca tcc agc agg gcc act ggc atc cca gac agg ttc agt 192
Ile Phe Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60

ES 2 383 809 T3

ggc agt ggg tct ggg aca gac ttc act ctc acc atc agc aga ctg gag 240
 Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu
 65 70 75 80

cct gaa gat ttt gca gtg tat tac tgt cag cag tat ggt agc tca cct 288
 Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Gly Ser Ser Pro
 85 90 95

ccg tgg acg ttc ggc caa ggg acc aag gtg gaa atc aaa 327
 Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105

<210> 4
 <211> 109
 <212> PRT
 5 <213> Artificial

<220>
 <223> Constructo Sintético

<400> 4

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

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser
 20 25 30

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

Ile Phe Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
 50 55 60

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

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

Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105

10 <210> 5
 <211> 327
 <212> DNA
 <213> Artificial

<220>
 15 <223> Secuencia variable de la cadena ligera

<220>
 <221> CDS
 <222> (1)..(327)

<400> 5

ES 2 383 809 T3

gaa att gtg ttg acg cag tct cca ggc acc ctg tct ttg tct cca ggg 48
 Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 1 5 10 15

gaa aga gcc acc ctc tcc tgc agg gcc agt cag agt gtt agc aac agc 96
 Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Asn Ser
 20 25 30

tac tta gcc tgg tac cag cag aaa cct ggc cag gct ccc agg ctc ctc 144
 Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
 35 40 45

atc tat ggt gca tcc agc agg gcc cct ggc atc cca gac agg ttc agt 192
 Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Pro Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
 50 55 60

ggc agt ggg tct ggg aca gac ttc act ctc acc atc agc aga ctg gag 240
 Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu
 65 70 75 80

cct gaa gat ttt gca gtg tat tac tgt cag cag tat gat cac tca gca 288
 Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asp His Ser Ala
 85 90 95

ggg tgg acg ttc ggc caa ggg acc aag gtg gag atc aaa 327
 Gly Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105

<210> 6
 <211> 109
 <212> PRT
 <213> Artificial

5

<220>
 <223> Constructo Sintético
 <400> 6

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

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Asn Ser
 20 25 30

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

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

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

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

Gly Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105

10

ES 2 383 809 T3

<210> 7
 <211> 327
 <212> DNA
 <213> Artificial

5 <220>
 <223> Secuencia variable de la cadena ligera

<220>
 <221> CDS
 <222> (1)..(327)

10 <400> 7

```

gaa att gtg ttg acg cag tct cca ggc acc ctg tct ttg tct ccg ggg      48
Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1           5           10           15

gaa aga gcc acc ctc tcc tgc agg gcc agt cag act gtt aac agc gac      96
Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Thr Val Asn Ser Asp
           20           25           30

tac tta gcc tgg tac cag cag aaa ccg ggc cag gct ccc agg ctc ctc     144
Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
           35           40           45

atc tat ggt gca tcc agc agg gcc act ggc atc cca gac agg ttc agt     192
Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
           50           55           60

ggc agt ggg tct ggg aca gac ttc act ctc acc atc agc aga ctg gag     240
Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu
65           70           75           80

cct gaa gat ttt gca gtc tat tac tgt cag cag tat ggt agg tca cct     288
Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Gly Arg Ser Pro
           85           90           95

ccg tgg acg ttc ggc caa ggg acc aaa gtg gat atc aaa                 327
Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Asp Ile Lys
           100           105
  
```

<210> 8
 <211> 109
 <212> PRT
 <213> Artificial

15 <220>
 <223> Constructo Sintético

<400> 8

ES 2 383 809 T3

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

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Thr Val Asn Ser Asp
 20 25 30

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

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

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

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

Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Asp Ile Lys
 100 105

<210> 9
 <211> 327
 <212> DNA
 5 <213> Artificial

<220>
 <223> Secuencia variable de la cadena ligera

<220>
 <221> CDS
 10 <222> (1)..(327)

<400> 9

gaa att gtg atg acg cag tct cca ggc acc ctg tct ttg tct cca ggg 48
 Glu Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 1 5 10 15

gaa aga gcc acc ctc tcc tgc agg gcc agt cag agt gtt agc agc gac 96
 Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Asp
 20 25 30

tac tta gcc tgg tac cag cag aaa cct ggc cag gct ccc agg ctc ctc 144
 Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
 35 40 45

ES 2 383 809 T3

```

atc tat ggt gca tct agc agg gcc tct ggc atc cca gac agg ttc agt      192
Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
   50                               55                               60

ggc agt ggg ttt ggg aca gac ttc act ctc acc atc agc aga ctg gag      240
Gly Ser Gly Phe Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu
   65                               70                               75                               80

cct gaa gat ttt gca ata tat tac tgt cag cag tat ggt agc tca cct      288
Pro Glu Asp Phe Ala Ile Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Gly Ser Ser Pro
           85                               90                               95

ccg tgg acg ttc ggc caa ggg acc aag gtg gaa atc aaa      327
Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
           100                               105

```

5 <210> 10
 <211> 109
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> Constructo Sintético
 <400> 10

```

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

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

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

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

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

Pro Glu Asp Phe Ala Ile Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Gly Ser Ser Pro
           85                               90                               95

Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
           100                               105

```

10 <210> 11
 <211> 327
 <212> DNA
 <213> Artificial

15 <220>
 <223> Secuencia variable de la cadena ligera
 <220>
 <221> CDS
 <222> (1)..(327)

ES 2 383 809 T3

<400> 11

gat att gtg ctg acc cag tct cca gcc acc ctg tct ttg tct cca ggg 48
 Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 1 5 10 15

gaa aga gcc acc ctc tcc tgc agg gcc agt cag agt gtt aac agc aac 96
 Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Asn Ser Asn
 20 25 30

tac tta gcc tgg tac cag cag aaa cct ggc cag gct ccc agg ctc ctc 144
 Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
 35 40 45

atc tat ggt aca tcc tac agg gcc act ggc atc cca gac agg ttc agt 192
 Ile Tyr Gly Thr Ser Tyr Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
 50 55 60

ggc agt ggg tct ggg aca gac ttc act ctc acc atc acc aga ctg gag 240
 Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Thr Arg Leu Glu
 65 70 75 80

cct gaa gat ttt gca gtg tat tac tgt cag cag tat ggt agc tca cca 288
 Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Gly Ser Ser Pro
 85 90 95

ccg tgg acg ttc ggc caa ggg aca cga ctg gag att aaa 327
 Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys
 100 105

<210> 12

<211> 109

5 <212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Constructo Sintético

<400> 12

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

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Asn Ser Asn
 20 25 30

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

10

ES 2 383 809 T3

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

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

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

Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 13

<211> 327

<212> DNA

5 <213> Artificial

<220>

<223> Secuencia variable de la cadena ligera

<220>

<221> CDS

10 <222> (1)..(327)

<400> 13

gat att gtg ctg acg cag act cca gcc acc ctg tct ttg tct cca ggg 48
Asp Ile Val Leu Thr Gln Thr Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15

gaa aga gcc acc ctc tcc tgc agg gcc agt cag agt gtt ggc agc agc 96
Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Gly Ser Ser
20 25 30

tac tta gcc tgg tac cag cag aga cct ggc cag gct ccc agg ctc ctc 144
Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Arg Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
35 40 45

atc tat ggt gca tcc agc agg gcc act ggc atc ccg gac agg ttc agt 192
Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60

ggc agt ggg tct ggg aca gac ttc act ctc acg atc agc aga ctg gag 240
Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu
65 70 75 80

cct gaa gat ttt gca gtg tat tat tgt cag cag tat gga agt tca cct 288
Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Gly Ser Ser Pro
85 90 95

ccg tgg atg ttc ggc caa ggg acc aag gtg gag atc aaa 327
Pro Trp Met Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 14

<211> 109

15 <212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Constructo Sintético

ES 2 383 809 T3

<400> 14

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

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

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Arg Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
35 40 45

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

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

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

Pro Trp Met Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 15
<211> 345
5 <212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> Secuencia variable de la cadena pesada

10 <220>
<221> CDS
<222> (1)..(345)

<400> 15

gag gtt cag ctg gtg cag tct ggg gga ggc ttg gta cat cct ggg ggg 48
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Gly Gly Leu Val His Pro Gly Gly
1 5 10 15

tcc ctg aga ctc tcc tgt gca ggc tct gga ttc acc ttc agt aga aat 96
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Gly Ser Gly Phe Thr Phe Ser Arg Asn
20 25 30

gct atg ttc tgg gtt cgc cag gct cca gga aaa ggt ctg gag tgg gta 144
Ala Met Phe Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

ES 2 383 809 T3

tca ggt att ggt act ggt ggt gcc aca aac tat gca gac tcc gtg aag 192
 Ser Gly Ile Gly Thr Gly Gly Ala Thr Asn Tyr Ala Asp Ser Val Lys
 50 55 60

ggc cga ttc acc atc tcc aga gac aat gcc aag aac tcc ttg tat ctt 240
 Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr Leu
 65 70 75 80

caa atg aac agc ctg aga gcc gag gac atg gct gtg tat tac tgt gca 288
 Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Met Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
 85 90 95

aga ggg agg tac tac ttt gac tac tgg gcc cag gga acc ctg gtc acc 336
 Arg Gly Arg Tyr Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
 100 105 110

gtc tcc tca 345
 Val Ser Ser
 115

- <210> 16
- <211> 115
- <212> PRT
- 5 <213> Artificial
- <220>
- <223> Constructo Sintético
- <400> 16

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Gly Ser Gly Phe Thr Phe Ser Arg Asn
 20 25 30

Ala Met Phe Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45

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

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

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

Arg Gly Arg Tyr Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
 100 105 110

Val Ser Ser
 115

- 10 <210> 17

ES 2 383 809 T3

<211> 345
 <212> DNA
 <213> Artificial

<220>
 5 <223> Secuencia variable de la cadena pesada

<220>
 <221> CDS
 <222> (1)..(345)

<400> 17

gag gtt cag ctg gtg cag tct ggg gga ggc ttg gta cat cct ggg ggg	48
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Gly Gly Leu Val His Pro Gly Gly	
1 5 10 15	
tcc ctg aga ctc tcc tgt gca ggc tct gga ttc acc ttc agt aga aat	96
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Gly Ser Gly Phe Thr Phe Ser Arg Asn	
20 25 30	
gct atg ttc tgg gtt cgc cag gct cca gga aaa ggt ctg gag tgg gta	144
Ala Met Phe Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val	
35 40 45	
tca ggt att ggt act ggt ggt gcc aca agc tat gca gac tcc gtg aag	192
Ser Gly Ile Gly Thr Gly Gly Ala Thr Ser Tyr Ala Asp Ser Val Lys	
50 55 60	
ggc cga ttc acc atc tcc aga gac aat gcc aag aac tcc ttg tat ctt	240
Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr Leu	
65 70 75 80	
caa atg aac agc ctg agt gcc gag gac atg gct gtg tat tac tgt gca	288
Gln Met Asn Ser Leu Ser Ala Glu Asp Met Ala Val Tyr Tyr Cys Ala	
85 90 95	
aga ggg agg tac tac ttc acc cac tgg ggc cag gga acc ctg gtc acc	336
Arg Gly Arg Tyr Tyr Phe Thr His Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr	
100 105 110	
gtc tcc tca	345
Val Ser Ser	
115	

10

<210> 18
 <211> 115
 <212> PRT
 <213> Artificial

15 <220>
 <223> Constructo Sintético

<400> 18

ES 2 383 809 T3

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Gly Ser Gly Phe Thr Phe Ser Arg Asn
20 25 30

Ala Met Phe Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

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

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

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

Arg Gly Arg Tyr Tyr Phe Thr His Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
100 105 110

Val Ser Ser
115

<210> 19
<211> 345
<212> DNA
5 <213> Artificial

<220>
<223> Secuencia variable de la cadena pesada

<220>
10 <221> CDS
<222> (1)..(345)

<400> 19

gag gtt cag ctg gtg cag tct ggg gga ggc ttg gta cat cct ggg ggg 48
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Gly Gly Leu Val His Pro Gly Gly
1 5 10 15

tcc ctg aga ctc tcc tgt gca ggc tct gga ttc acc ttc agt aga aat 96
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Gly Ser Gly Phe Thr Phe Ser Arg Asn
20 25 30

gct atg ttc tgg gtt cgc cag gct cca gga aaa ggt ctg gag tgg gta 144
Ala Met Phe Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

tca ggt att ggt act ggt ggt gcc aca agc tat gca gac tcc gtg aag 192
Ser Gly Ile Gly Thr Gly Gly Ala Thr Ser Tyr Ala Asp Ser Val Lys
50 55 60

ES 2 383 809 T3

ggc cga ttc acc atc tcc aga gac aat gcc aag aac tcc ttg tat ctt 240
 Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr Leu
 65 70 75 80

caa atg aac agc ctg aga gcc gag gac atg gct gtg tat tac tgt gca 288
 Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Met Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
 85 90 95

aga ggg agg tac tgg tac aac aac tgg ggc cag gga acc ctg gtc acc 336
 Arg Gly Arg Tyr Trp Tyr Asn Asn Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
 100 105 110

gtc tcc tca 345
 Val Ser Ser
 115

- <210> 20
- <211> 115
- <212> PRT
- 5 <213> Artificial

- <220>
- <223> Constructo Sintético
- <400> 20

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Gly Ser Gly Phe Thr Phe Ser Arg Asn
 20 25 30

Ala Met Phe Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45

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

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

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

Arg Gly Arg Tyr Trp Tyr Asn Asn Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
 100 105 110

Val Ser Ser
 115

- 10 <210> 21
- <211> 345
- <212> DNA
- <213> Artificial

- <220>
- 15 <223> Secuencia variable de la cadena pesada

ES 2 383 809 T3

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(345)

<400> 21

```

gag gtt cag ttg gtg cag tct ggg gga ggc ttg gta cat cct ggg ggg      48
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Gly Gly Leu Val His Pro Gly Gly
1          5          10          15

tcc ctg aga ctc tcc tgt gca ggc tct gga ttc acc ttc agt aga aat      96
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Gly Ser Gly Phe Thr Phe Ser Arg Asn
          20          25          30

gct atg ttc tgg gtt cgc cag gct cca gga aaa ggt ctg gag tgg gta     144
Ala Met Phe Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
          35          40          45

tca ggt att ggt act ggt ggt gcc aca aac tat gca gac tcc gtg aag     192
Ser Gly Ile Gly Thr Gly Gly Ala Thr Asn Tyr Ala Asp Ser Val Lys
          50          55          60

ggc cga ttc acc atc tcc aga gac aat gcc aag aac tcc ttg tat ctt     240
Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr Leu
65          70          75          80

caa atg aac agc ctg aga gcc gag gac atg gct gtg tat tac tgt gca     288
Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Met Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
          85          90          95

aga ggg agg tac tac ttc ccg tgg tgg ggc cag gga acc ctg gtc acc     336
Arg Gly Arg Tyr Tyr Phe Pro Trp Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
          100          105          110

gtc tcc tca      345
Val Ser Ser
          115

```

5

<210> 22

<211> 115

<212> PRT

<213> Artificial

10

<220>

<223> Constructo Sintético

<400> 22

```

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

```

ES 2 383 809 T3

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Gly Ser Gly Phe Thr Phe Ser Arg Asn
 20 25 30

Ala Met Phe Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45

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

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

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

Arg Gly Arg Tyr Tyr Phe Pro Trp Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
 100 105 110

Val Ser Ser
 115

<210> 23
 <211> 345
 <212> DNA
 5 <213> Artificial'

<220>
 <223> Secuencia variable de la cadena pesada

<220>
 10 <221> CDS
 <222> (1)..(345)

<400> 23

gag gtt cag ctg gtg cag tct ggg gga ggc ttg gta cat cct ggg ggg 48
 Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Gly Gly Leu Val His Pro Gly Gly
 1 5 10 15

tcc ctg aga ctc tcc tgt gca ggc tct gga ttc acc ttc agt aga aat 96
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Gly Ser Gly Phe Thr Phe Ser Arg Asn
 20 25 30

gct atg ttc tgg gtt cgc cag gct cca gga aaa ggt ctg gag tgg gta 144
 Ala Met Phe Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45

tca ggt att ggt act ggt ggt gcc aca aac tat gca gac tcc gtg aag 192
 Ser Gly Ile Gly Thr Gly Gly Ala Thr Asn Tyr Ala Asp Ser Val Lys
 50 55 60

ggc cga ttc acc atc tcc aga gac aat gcc aag aac tcc ttg tat ctt 240
 Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr Leu
 65 70 75 80

ES 2 383 809 T3

<400> 25

gag gtt cag ttg gtg cag tct ggg gga ggc ttg gta cat cct ggg ggg	48
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Gly Gly Leu Val His Pro Gly Gly	
1 5 10 15	
tcc ctg aga ctc tcc tgt gca ggc tct gga ttc acc ttc agt aga aat	96
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Gly Ser Gly Phe Thr Phe Ser Arg Asn	
20 25 30	
gct atg ttc tgg gtt cgc cag gct cca gga aaa ggt ctg gag tgg gta	144
Ala Met Phe Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val	
35 40 45	
tca ggt att ggt act ggt ggt gcc aca aac tat gca gac tcc gtg aag	192
Ser Gly Ile Gly Thr Gly Gly Ala Thr Asn Tyr Ala Asp Ser Val Lys	
50 55 60	
ggc cga ttc acc atc tcc aga gac aat gcc aag aac tcc ttg tat ctt	240
Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr Leu	
65 70 75 80	
caa atg aac agc ctg aga gcc gag gac atg gct gtg tat tac tgt gca	288
Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Met Ala Val Tyr Tyr Cys Ala	
85 90 95	
aga ggg agg tac tgg tac ccg tgg tgg gcc cag gga acc ctg gtc acc	336
Arg Gly Arg Tyr Trp Tyr Pro Trp Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr	
100 105 110	
gtc tcc tca	345
Val Ser Ser	
115	

<210> 26

<211> 115

5 <212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Constructo Sintético

<400> 26

Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Gly Gly Leu Val His Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Gly Ser Gly Phe Thr Phe Ser Arg Asn
20 25 30

10

ES 2 383 809 T3

Ala Met Phe Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45

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

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

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

Arg Gly Arg Tyr Trp Tyr Pro Trp Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
 100 105 110

Val Ser Ser
 115

<210> 27

<211> 345

<212> DNA

5 <213> Artificial

<220>

<223> Secuencia variable de la cadena pesada

<220>

<221> CDS

10 <222> (1)..(345)

<400> 27

gag gtt cag ctg gtg cag tct ggg gga ggc ttg gta cat cct ggg ggg 48
 Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Gly Gly Leu Val His Pro Gly Gly
 1 5 10 15

tcc ctg aga ctc tcc tgt gca ggc tct gga ttc acc ttc agt aga aat 96
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Gly Ser Gly Phe Thr Phe Ser Arg Asn
 20 25 30

gct atg ttc tgg gtt cgc cag gct cca gga aaa ggt ctg gag tgg gta 144
 Ala Met Phe Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45

tca ggt att ggt act ggt ggt gcc aca agc tat gca gac tcc gtg aag 192
 Ser Gly Ile Gly Thr Gly Gly Ala Thr Ser Tyr Ala Asp Ser Val Lys
 50 55 60

ggc cga ttc acc atc tcc aga gac aat gcc aag aac tcc ttg tat ctt 240
 Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr Leu
 65 70 75 80

caa atg aac agc ctg aga gcc gag gac atg gct gtg tat tac tgt gca 288
 Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Met Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
 85 90 95

ES 2 383 809 T3

gag gtt cag ttg gtg cag tct ggg gga ggc ttg gta cat cct ggg ggg 48
 Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Gly Gly Leu Val His Pro Gly Gly
 1 5 10 15

tcc ctg aga ctc tcc tgt gca ggc tct gga ttc acc ttc agt aga aat 96
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Gly Ser Gly Phe Thr Phe Ser Arg Asn
 20 25 30

gct atg ttc tgg gtt cgc cag gct cca gga aaa ggt ctg gag tgg gta 144
 Ala Met Phe Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45

tca ggt att ggt act ggt ggt gcc aca aac tat gca gac tcc gtg aag 192
 Ser Gly Ile Gly Thr Gly Gly Ala Thr Asn Tyr Ala Asp Ser Val Lys
 50 55 60

ggc cga ttc acc atc tcc aga gac aat gcc aag aac tcc ttg tat ctt 240
 Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr Leu
 65 70 75 80

caa atg aac agc ctg aga gcc gag gac atg gct gtg tat tac tgt gca 288
 Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Met Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
 85 90 95

aga ggg agg tac tgg ttc ccg tgg tgg ggc cag gga acc ctg gtc acc 336
 Arg Gly Arg Tyr Trp Phe Pro Trp Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
 100 105 110

gtc tcc tca 345
 Val Ser Ser
 115

- <210> 30
- <211> 115
- <212> PRT
- 5 <213> Artificial

- <220>
- <223> Constructo Sintético

<400> 30

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Gly Ser Gly Phe Thr Phe Ser Arg Asn
 20 25 30

Ala Met Phe Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45

ES 2 383 809 T3

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

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

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

Arg Gly Arg Tyr Trp Phe Pro Trp Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
100 105 110

Val Ser Ser
115

<210> 31
<211> 345
<212> DNA
5 <213> Artificial

<220>
<223> Secuencia variable de la cadena pesada

<220>
10 <221> CDS
<222> (1)..(345)

<400> 31

gag gtt cag ctg gtg cag tct ggg gga ggc ttg gta cat cct ggg ggg 48
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Gly Gly Leu Val His Pro Gly Gly
1 5 10 15

tcc ctg aga ctc tcc tgt gca ggc tct gga ttc acc ttc agt aga aat 96
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Gly Ser Gly Phe Thr Phe Ser Arg Asn
20 25 30

gct atg ttc tgg gtt cgc cag gct cca gga aaa ggt ctg gag tgg gta 144
Ala Met Phe Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

tca ggt att ggt act ggt ggt gcc aca agc tat gca gac tcc gtg aag 192
Ser Gly Ile Gly Thr Gly Gly Ala Thr Ser Tyr Ala Asp Ser Val Lys
50 55 60

ggc cga ttc acc atc tcc aga gac aat gcc aag aac tcc ttg tat ctt 240
Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr Leu
65 70 75 80

caa atg aac agc ctg aga gcc gag gac atg gct gtg tat tac tgt gca 288
Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Met Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

aga ggg agg tac tgg ttc ccg tgg tgg ggc cag gga acc ctg gtc acc 336
Arg Gly Arg Tyr Trp Phe Pro Trp Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
100 105 110

gtc tcc tca 345
Val Ser Ser
115

ES 2 383 809 T3

<210> 32
 <211> 115
 <212> PRT
 <213> Artificial

5 <220>
 <223> Constructo Sintético
 <400> 32

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Gly Ser Gly Phe Thr Phe Ser Arg Asn
 20 25 30

Ala Met Phe Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45

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

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

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

Arg Gly Arg Tyr Trp Phe Pro Trp Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
 100 105 110

Val Ser Ser
 115

10 <210> 33
 <211> 345
 <212> DNA
 <213> Artificial

<220>
 <223> Secuencia variable de la cadena pesada

15 <220>
 <221> CDS
 <222> (1)..(345)
 <400> 33

ES 2 383 809 T3

gag gtt cag ttg gtg cag tct ggg gga ggc ttg gta cat cct ggg ggg 48
 Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Gly Gly Leu Val His Pro Gly Gly
 1 5 10 15

tcc ctg aga ctc tcc tgt gca ggc tct gga ttc acc ttc agt aga aat 96
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Gly Ser Gly Phe Thr Phe Ser Arg Asn
 20 25 30

gct atg ttc tgg gtt cgc cag gct cca gga aaa ggt ctg gag tgg gta 144
 Ala Met Phe Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45

tca ggt att ggt act ggt ggt gcc aca aac tat gca gac tcc gtg aag 192
 Ser Gly Ile Gly Thr Gly Gly Ala Thr Asn Tyr Ala Asp Ser Val Lys
 50 55 60

ggc cga ttc acc atc tcc aga gac aat gcc aag aac tcc ttg tat ctt 240
 Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr Leu
 65 70 75 80

caa atg aac agc ctg aga gcc gag gac atg gct gtg tat tac tgt gca 288
 Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Met Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
 85 90 95

aga ggg agg tac tgg tac ccg tgg tgg ggc cag gga acc ctg gtc acc 336
 Arg Gly Arg Tyr Trp Tyr Pro Trp Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
 100 105 110

gtc tcc tca 345
 Val Ser Ser
 115

<210> 34
 <211> 115
 <212> PRT
 <213> Artificial

5

<220>
 <223> Construacto Sintético
 <400> 34

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Gly Ser Gly Phe Thr Phe Ser Arg Asn
 20 25 30

Ala Met Phe Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45

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

ES 2 383 809 T3

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

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

Arg Gly Arg Tyr Trp Tyr Pro Trp Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
100 105 110

Val Ser Ser
115

<210> 35
<211> 345
<212> DNA
5 <213> Artificial

<220>
<223> Secuencia variable de la cadena pesada

<220>
10 <221> CDS
<222> (1)..(345)

<400> 35

gag gtt cag ctg gtg cag tct ggg gga ggc ttg gta cat cct ggg ggg 48
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Gly Gly Leu Val His Pro Gly Gly
1 5 10 15

tcc ctg aga ctc tcc tgt gca ggc tct gga ttc acc ttc agt aga aat 96
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Gly Ser Gly Phe Thr Phe Ser Arg Asn
20 25 30

gct atg ttc tgg gtt cgc cag gct cca gga aaa ggt ctg gag tgg gta 144
Ala Met Phe Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

tca ggt att ggt act ggt ggt gcc aca agc tat gca gac tcc gtg aag 192
Ser Gly Ile Gly Thr Gly Gly Ala Thr Ser Tyr Ala Asp Ser Val Lys
50 55 60

ggc cga ttc acc atc tcc aga gac aat gcc aag aac tcc ttg tat ctt 240
Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr Leu
65 70 75 80

caa atg aac agc ctg aga gcc gag gac atg gct gtg tat tac tgt gca 288
Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Met Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

aga ggg agg tac tgg tac ccg tgg tgg ggc cag gga acc ctg gtc acc 336
Arg Gly Arg Tyr Trp Tyr Pro Trp Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
100 105 110

gtc tcc tca 345
Val Ser Ser
115

<210> 36
15 <211> 115
<212> PRT
<213> Artificial

ES 2 383 809 T3

<220>

<223> Constructo Sintético

<400> 36

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Gly Ser Gly Phe Thr Phe Ser Arg Asn
20 25 30

Ala Met Phe Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

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

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

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

Arg Gly Arg Tyr Trp Tyr Pro Trp Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
100 105 110

Val Ser Ser
115

- 5 <210> 37
- <211> 345
- <212> DNA
- <213> Artificial

- 10 <220>
- <223> Secuencia variable de la cadena pesada

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(345)

<400> 37

gag gtt cag ctg gtg cag tct ggg gga ggc ttg gta cat cct ggg ggg
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Gly Gly Leu Val His Pro Gly Gly
1 5 10 15

48

15

ES 2 383 809 T3

tcc ctg aga ctc tcc tgt gca ggc tct gga ttc acc ttc agt aga aat 96
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Gly Ser Gly Phe Thr Phe Ser Arg Asn
 20 25 30

gct atg ttc tgg gtt cgc cag gct cca gga aaa ggt ctg gag tgg gta 144
 Ala Met Phe Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45

tca ggt att ggt act ggt ggt gcc aca agc tat gca gac tcc gtg aag 192
 Ser Gly Ile Gly Thr Gly Gly Ala Thr Ser Tyr Ala Asp Ser Val Lys
 50 55 60

ggc cga ttc acc atc tcc aga gac aat gcc aag aac tcc ttg tat ctt 240
 Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr Leu
 65 70 75 80

caa atg aac agc ctg aga gcc gag gac atg gct gtg tat tac tgt gca 288
 Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Met Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
 85 90 95

aga ggg agg tac tac ttc ccg tgg tgg gcc cag gga acc ctg gtc acc 336
 Arg Gly Arg Tyr Tyr Phe Pro Trp Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
 100 105 110

gtc tcc tca 345
 Val Ser Ser
 115

- <210> 38
- <211> 115
- <212> PRT
- 5 <213> Artificial
- <220>
- <223> Constructo Sintético
- <400> 38

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Gly Ser Gly Phe Thr Phe Ser Arg Asn
 20 25 30

Ala Met Phe Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45

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

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

ES 2 383 809 T3

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

Arg Gly Arg Tyr Tyr Phe Pro Trp Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
 100 105 110

Val Ser Ser
 115

<210> 39
 <211> 345
 <212> DNA
 5 <213> Artificial

<220>
 <223> Secuencia variable de la cadena pesada

<220>
 <221> CDS
 10 <222> (1)..(345)

<400> 39

gag gtt cag ctg gtg cag tct ggg gga ggc ttg gta cat cct ggg ggg 48
 Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Gly Gly Leu Val His Pro Gly Gly
 1 5 10 15

tcc ctg aga ctc tcc tgt gca ggc tct gga ttc acc ttc agt aga aat 96
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Gly Ser Gly Phe Thr Phe Ser Arg Asn
 20 25 30

gct atg ttc tgg gtt cgc cag gct cca gga aaa ggt ctg gag tgg gta 144
 Ala Met Phe Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45

tca ggt att ggt act ggt ggt gcc aca agc tat gca gac tcc gtg aag 192
 Ser Gly Ile Gly Thr Gly Gly Ala Thr Ser Tyr Ala Asp Ser Val Lys
 50 55 60

ggc cga ttc acc atc tcc aga gac aat gcc aag aac tcc ttg tat ctt 240
 Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr Leu
 65 70 75 80

caa atg aac agc ctg agt gcc gag gac atg gct gtg tat tac tgt gca 288
 Gln Met Asn Ser Leu Ser Ala Glu Asp Met Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
 85 90 95

aga ggg agg tac tac ttc ccg tgg tgg ggc cag gga acc ctg gtc acc 336
 Arg Gly Arg Tyr Tyr Phe Pro Trp Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
 100 105 110

gtc tcc tca 345
 Val Ser Ser
 115

<210> 40
 <211> 115
 15 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> Constructo Sintético

ES 2 383 809 T3

<400> 40

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Gly Ser Gly Phe Thr Phe Ser Arg Asn
20 25 30

Ala Met Phe Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

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

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

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

Arg Gly Arg Tyr Tyr Phe Pro Trp Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
100 105 110

Val Ser Ser
115

<210> 41
<211> 345
5 <212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> Secuencia variable de la cadena pesada

<220>
10 <221> CDS
<222> (1)..(345)

<400> 41

gag gtt cag ttg gtg gag tct ggg gga ggc ttg gta cag cct ggg ggg 48
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

tcc ctg aga ctc tcc tgt gca gcc tct gga ttc acc ttc agt aga aat 96
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Arg Asn
20 25 30

ES 2 383 809 T3

gct atg ttc tgg gtt cgc cag gct cca gga aaa ggt ctg gag tgg gta 144
 Ala Met Phe Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45

tca ggt att ggt act ggt ggt gcc aca agc tat gca gac tcc gtg aag 192
 Ser Gly Ile Gly Thr Gly Gly Ala Thr Ser Tyr Ala Asp Ser Val Lys
 50 55 60

ggc cga ttc acc atc tcc aga gac aat gcc aag aac tcc ttg tat ctt 240
 Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr Leu
 65 70 75 80

caa atg aac agc ctg aga gcc gag gac acg gct gtg tat tac tgt gca 288
 Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr, Tyr Cys Ala
 85 90 95

aga ggg agg tac tac ttc ccg tgg tgg ggc cag gga acc ctg gtc acc 336
 Arg Gly Arg Tyr Tyr Phe Pro Trp Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
 100 105 110

gtc tcc tca 345
 Val Ser Ser
 115

<210> 42
 <211> 115
 <212> PRT
 <213> Artificial

5

<220>
 <223> Constructo Sintético
 <400> 42

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Arg Asn
 20 25 30

Ala Met Phe Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45

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

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

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

ES 2 383 809 T3

Arg Gly Arg Tyr Tyr Phe Pro Trp Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
 100 105 110

Val Ser Ser
 115

<210> 43
 <211> 345
 <212> DNA
 <213> Artificial

5

<220>
 <223> Secuencia variable de la cadena pesada

<220>
 <221> CDS
 <222> (1)..(345)

10

<400> 43

gag gtt cag ttg gtg gag tct ggg gga ggc ttg gta cag cct ggg ggg 48
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15

tcc ctg aga ctc tcc tgt gca gcc tct gga ttc acc ttc agt aga aat 96
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Arg Asn
 20 25 30

gct atg ttc tgg gtt cgc cag gct cca gga aaa ggt ctg gag tgg gta 144
 Ala Met Phe Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45

tca ggt att ggt act ggt ggt gcc aca agc tat gca gac tcc gtg aag 192
 Ser Gly Ile Gly Thr Gly Gly Ala Thr Ser Tyr Ala Asp Ser Val Lys
 50 55 60

ggc cga ttc acc atc tcc aga gac aat gcc aag aac tcc ttg tat ctt 240
 Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr Leu
 65 70 75 80

caa atg aac agc ctg aga gcc gag gac acg gct gtg tat tac tgt gca 288
 Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
 85 90 95

aga ggg agg tac tac ttt gac tac tgg ggc cag gga acc ctg gtc acc 336
 Arg Gly Arg Tyr Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
 100 105 110

gtc tcc tca 345
 Val Ser Ser
 115

<210> 44
 <211> 115
 <212> PRT
 <213> Artificial

15

<220>
 <223> Constructo Sintético

<400> 44

ES 2 383 809 T3

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Arg Asn
20 25 30

Ala Met Phe Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

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

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

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

Arg Gly Arg Tyr Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
100 105 110

Val Ser Ser
115

- <210> 45
- <211> 345
- <212> DNA
- <213> Artificial

5

- <220>
- <223> Secuencia variable de la cadena pesada

- <220>
- <221> CDS
- <222> (1)..(345)

10

- <400> 45

gag gtt cag ttg gtg gag tct ggg gga ggc ttg gta cag cct ggg ggg 48
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

tcc ctg aga ctc tcc tgt gca gcc tct gga ttc acc ttc agt aga aat 96
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Arg Asn
20 25 30

ES 2 383 809 T3

gct atg ttc tgg gtt cgc cag gct cca gga aaa ggt ctg gag tgg gta 144
 Ala Met Phe Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45

tca ggt att ggt act ggt ggt gcc aca agc tat gca gac tcc gtg aag 192
 Ser Gly Ile Gly Thr Gly Gly Ala Thr Ser Tyr Ala Asp Ser Val Lys
 50 55 60

ggc cga ttc acc atc tcc aga gac aat gcc aag aac tcc ttg tat ctt 240
 Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr Leu
 65 70 75 80

caa atg aac agc ctg aga gcc gag gac acg gct gtg tat tac tgt gca 288
 Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
 85 90 95

aga ggg agg tac tac ttc acc cac tgg ggc cag gga acc ctg gtc acc 336
 Arg Gly Arg Tyr Tyr Phe Thr His Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
 100 105 110

gtc tcc tca 345
 Val Ser Ser
 115

- <210> 46
- <211> 115
- <212> PRT
- 5 <213> Artificial

- <220>
- <223> Constructo Sintético

<400> 46

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Arg Asn
 20 25 30

Ala Met Phe Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45

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

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

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

Arg Gly Arg Tyr Tyr Phe Thr His Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
 100 105 110

Val Ser Ser
 115

ES 2 383 809 T3

<210> 47
 <211> 345
 <212> DNA
 <213> Artificial

5 <220>
 <223> Secuencia variable de la cadena pesada

<220>
 <221> CDS
 <222> (1)..(345)

10 <400> 47

gag gtt cag ttg gtg gag tct ggg gga ggc ttg gta cag cct ggg ggg	48
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly	
1 5 10 15	
tcc ctg aga ctc tcc tgt gca gcc tct gga ttc acc ttc agt aga aat	96
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Arg Asn	
20 25 30	
gct atg ttc tgg gtt cgc cag gct cca gga aaa ggt ctg gag tgg gta	144
Ala Met Phe Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val	
35 40 45	
tca ggt att ggt act ggt ggt gcc aca agc tat gca gac tcc gtg aag	192
Ser Gly Ile Gly Thr Gly Gly Ala Thr Ser Tyr Ala Asp Ser Val Lys	
50 55 60	
ggc cga ttc acc atc tcc aga gac aat gcc aag aac tcc ttg tat ctt	240
Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr Leu	
65 70 75 80	
caa atg aac agc ctg aga gcc gag gac acg gct gtg tat tac tgt gca	288
Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala	
85 90 95	
aga ggg agg tac tgg tac aac aac tgg ggc cag gga acc ctg gtc acc	336
Arg Gly Arg Tyr Trp Tyr Asn Asn Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr	
100 105 110	
gtc tcc tca	345
Val Ser Ser	
115	

<210> 48
 <211> 115
 <212> PRT
 <213> Artificial

15 <220>
 <223> Constructo Sintético

<400> 48

ES 2 383 809 T3

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Arg Asn
 20 25 30
 Ala Met Phe Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ser Gly Ile Gly Thr Gly Gly Ala Thr Ser Tyr Ala Asp Ser Val Lys
 50 55 60
 Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr Leu
 65 70 75 80
 Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
 85 90 95
 Arg Gly Arg Tyr Trp Tyr Asn Asn Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
 100 105 110
 Val Ser Ser
 115

<210> 49
 <211> 345
 <212> DNA
 5 <213> Artificial

<220>
 <223> Secuencia variable de la cadena pesada

<220>
 <221> CDS
 10 <222> (1)..(345)

<400> 49

gag gtt cag ttg gtg gag tct ggg gga ggc ttg gta cag cct ggg ggg 48
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15

tcc ctg aga ctc tcc tgt gca gcc tct gga ttc acc ttc agt aga aat 96
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Arg Asn
 20 25 30

gct atg ttc tgg gtt cgc cag gct cca gga aaa ggt ctg gag tgg gta 144
 Ala Met Phe Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45

ES 2 383 809 T3

tca ggt att ggt act ggt ggt gcc aca agc tat gca gac tcc gtg aag 192
 Ser Gly Ile Gly Thr Gly Gly Ala Thr Ser Tyr Ala Asp Ser Val Lys
 50 55 60

ggc cga ttc acc atc tcc aga gac aat gcc aag aac tcc ttg tat ctt 240
 Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr Leu
 65 70 75 80

caa atg aac agc ctg aga gcc gag gac acg gct gtg tat tac tgt gca 288
 Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
 85 90 95

aga ggg agg tac tac ttc acg agg tgg ggc cag gga acc ctg gtc acc 336
 Arg Gly Arg Tyr Tyr Phe Thr Arg Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
 100 105 110

gtc tcc tca 345
 Val Ser Ser
 115

- <210> 50
- <211> 115
- <212> PRT
- 5 <213> Artificial
- <220>
- <223> Constructo Sintético
- <400> 50

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Arg Asn
 20 25 30

Ala Met Phe Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45

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

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

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

Arg Gly Arg Tyr Tyr Phe Thr Arg Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
 100 105 110

Val Ser Ser
 115

- 10 <210> 51
- <211> 345
- <212> DNA

ES 2 383 809 T3

<213> Artificial

<220>

<223> Secuencia variable de la cadena pesada

<220>

5 <221> CDS

<222> (1)..(345)

<400> 51

gag gtt cag ttg gtg gag tct ggg gga ggc ttg gta cag cct ggg ggg 48
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15

tcc ctg aga ctc tcc tgt gca gcc tct gga ttc acc ttc agt aga aat 96
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Arg Asn
 20 25 30

gct atg ttc tgg gtt cgc cag gct cca gga aaa ggt ctg gag tgg gta 144
 Ala Met Phe Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45

tca ggt att ggt act ggt ggt gcc aca agc tat gca gac tcc gtg aag 192
 Ser Gly Ile Gly Thr Gly Gly Ala Thr Ser Tyr Ala Asp Ser Val Lys
 50 55 60

ggc cga ttc acc atc tcc aga gac aat gcc aag aac tcc ttg tat ctt 240
 Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr Leu
 65 70 75 80

caa atg aac agc ctg aga gcc gag gac acg gct gtg tat tac tgt gca 288
 Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
 85 90 95

aga ggg agg tac tgg tac ccg tgg tgg ggc cag gga acc ctg gtc acc 336
 Arg Gly Arg Tyr Trp Tyr Pro Trp Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
 100 105 110

gtc tcc tca 345
 Val Ser Ser
 115

<210> 52

10 <211> 115

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Constructo Sintético

15 <400> 52

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

ES 2 383 809 T3

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Arg Asn
 20 25 30

Ala Met Phe Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45

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

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

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

Arg Gly Arg Tyr Trp Tyr Pro Trp Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
 100 105 110

Val Ser Ser
 115

- <210> 53
- <211> 345
- <212> DNA
- 5 <213> Artificial

- <220>
- <223> Secuencia variable de la cadena pesada

- <220>
- 10 <221> CDS
- <222> (1)..(345)

<400> 53

gag gtt cag ttg gtg gag tct ggg gga ggc ttg gta cag cct ggg ggg 48
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15

tcc ctg aga ctc tcc tgt gca gcc tct gga ttc acc ttc agt aga aat 96
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Arg Asn
 20 25 30

gct atg ttc tgg gtt cgc cag gct cca gga aaa ggt ctg gag tgg gta 144
 Ala Met Phe Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45

tca ggt att ggt act ggt ggt gcc aca aac tat gca gac tcc gtg aag 192
 Ser Gly Ile Gly Thr Gly Gly Ala Thr Asn Tyr Ala Asp Ser Val Lys
 50 55 60

ES 2 383 809 T3

ggc cga ttc acc atc tcc aga gac aat gcc aag aac tcc ttg tat ctt 240
 Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr Leu
 65 70 75 80

caa atg aac agc ctg aga gcc gag gac acg gct gtg tat tac tgt gca 288
 Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
 85 90 95

aga ggg agg tac tgg tac ccg tgg tgg gcc cag gga acc ctg gtc acc 336
 Arg Gly Arg Tyr Trp Tyr Pro Trp Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
 100 105 110

gtc tcc tca 345
 Val Ser Ser
 115

- <210> 54
- <211> 115
- <212> PRT
- 5 <213> Artificial
- <220>
- <223> Constructo Sintético
- <400> 54

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Arg Asn
 20 25 30

Ala Met Phe Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45

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

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

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

Arg Gly Arg Tyr Trp Tyr Pro Trp Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
 100 105 110

Val Ser Ser
 115

- 10 <210> 55
- <211> 345
- <212> DNA
- <213> Artificial
- <220>
- 15 <223> Secuencia variable de la cadena pesada

ES 2 383 809 T3

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(345)

<400> 55

gag gtt cag ttg gtg gag tct ggg gga ggc ttg gta cag cct ggg ggg	48
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly	
1 5 10 15	
tcc ctg aga ctc tcc tgt gca gcc tct gga ttc acc ttc agt aga aat	96
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Arg Asn	
20 25 30	
gct atg ttc tgg gtt cgc cag gct cca gga aaa ggt ctg gag tgg gta	144
Ala Met Phe Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val	
35 40 45	
tca ggt att ggt act ggt ggt gcc aca agc tat gca gac tcc gtg aag	192
Ser Gly Ile Gly Thr Gly Gly Ala Thr Ser Tyr Ala Asp Ser Val Lys	
50 55 60	
ggc cga ttc acc atc tcc aga gac aat gcc aag aac tcc ttg tat ctt	240
Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr Leu	
65 70 75 80	
caa atg aac agc ctg aga gcc gag gac acg gct gtg tat tac tgt gca	288
Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala	
85 90 95	
aga ggg agg tac tgg ttc ccg tgg tgg ggc cag gga acc ctg gtc acc	336
Arg Gly Arg Tyr Trp Phe Pro Trp Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr	
100 105 110	
gtc tcc tca	345
Val Ser Ser	
115	

5

<210> 56

<211> 115

<212> PRT

<213> Artificial

10

<220>

<223> Constructo Sintético

<400> 56

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly	
1 5 10 15	
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Arg Asn	
20 25 30	

ES 2 383 809 T3

Ala Met Phe Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45

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

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

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

Arg Gly Arg Tyr Trp Phe Pro Trp Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
 100 105 110

Val Ser Ser
 115

<210> 57
 <211> 345
 <212> DNA
 5 <213> Artificial

<220>
 <223> Secuencia variable de la cadena pesada

<220>
 <221> CDS
 10 <222> (1)..(345)

<400> 57

gag gtt cag ttg gtg gag tct ggg gga ggc ttg gta cag cct ggg ggg 48
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15

tcc ctg aga ctc tcc tgt gca gcc tct gga ttc acc ttc agt aga aat 96
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Arg Asn
 20 25 30

gct atg ttc tgg gtt cgc cag gct cca gga aaa ggt ctg gag tgg gta 144
 Ala Met Phe Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45

tca ggt att ggt act ggt ggt gcc aca aac tat gca gac tcc gtg aag 192
 Ser Gly Ile Gly Thr Gly Gly Ala Thr Asn Tyr Ala Asp Ser Val Lys
 50 55 60

ggc cga ttc acc atc tcc aga gac aat gcc aag aac tcc ttg tat ctt 240
 Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr Leu
 65 70 75 80

ES 2 383 809 T3

<400> 59

gag gtt cag ttg gtg gag tct ggg gga ggc ttg gta cag cct ggg ggg	48
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly	
1 5 10 15	
tcc ctg aga ctc tcc tgt gca gcc tct gga ttc acc ttc agt aga aat	96
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Arg Asn	
20 25 30	
gct atg ttc tgg gtt cgc cag gct cca gga aaa ggt ctg gag tgg gta	144
Ala Met Phe Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val	
35 40 45	
tca ggt att ggt act ggt ggt gcc aca agc tat gca gac tcc gtg aag	192
Ser Gly Ile Gly Thr Gly Gly Ala Thr Ser Tyr Ala Asp Ser Val Lys	
50 55 60	
ggc cga ttc acc atc tcc aga gac aat gcc aag aac tcc ttg tat ctt	240
Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr Leu	
65 70 75 80	
caa atg aac agc ctg aga gcc gag gac acg gct gtg tat tac tgt gca	288
Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala	
85 90 95	
aga ggg agg tac tgg tac ccg tgg tgg ggc cag gga acc ctg gtc acc	336
Arg Gly Arg Tyr Trp Tyr Pro Trp Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr	
100 105 110	
gtc tcc tca	345
Val Ser Ser	
115	

<210> 60
 <211> 115
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> Constructo Sintético

<400> 60

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Arg Asn
20 25 30

5

10

ES 2 383 809 T3

Ala Met Phe Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45

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

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

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

Arg Gly Arg Tyr Trp Tyr Pro Trp Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
 100 105 110

Val Ser Ser
 115

<210> 61
 <211> 345
 <212> DNA
 5 <213> Artificial

<220>
 <223> Secuencia variable de la cadena pesada

<220>
 10 <221> CDS
 <222> (1)..(345)

<400> 61

gag gtt cag ttg gtg gag tct ggg gga ggc ttg gta cag cct ggg ggg 48
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15

tcc ctg aga ctc tcc tgt gca gcc tct gga ttc acc ttc agt aga aat 96
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Arg Asn
 20 25 30

gct atg ttc tgg gtt cgc cag gct cca gga aaa ggt ctg gag tgg gta 144
 Ala Met Phe Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45

tca ggt att ggt act ggt ggt gcc aca aac tat gca gac tcc gtg aag 192
 Ser Gly Ile Gly Thr Gly Gly Ala Thr Asn Tyr Ala Asp Ser Val Lys
 50 55 60

ggc cga ttc acc atc tcc aga gac aat gcc aag aac tcc ttg tat ctt 240
 Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr Leu
 65 70 75 80

caa atg aac agc ctg aga gcc gag gac acg gct gtg tat tac tgt gca 288
 Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
 85 90 95

ES 2 383 809 T3

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

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser
20 25 30

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

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

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

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

Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

- <210> 64
- <211> 116
- <212> PRT
- <213> Artificial

5

- <220>
- <223> Región variable de la cadena pesada 27A1
- <400> 64

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ser Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Arg Tyr
20 25 30

Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Arg Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ala Ile Ile Trp Phe Glu Gly Asn Asn Gln Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

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

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

ES 2 383 809 T3

Ala Arg Gly Lys Tyr Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
 100 105 110

Thr Val Ser Ser
 115

- <210> 65
- <211> 107
- <212> PRT
- 5 <213> Artificial

- <220>
- <223> Región variable de la cadena ligera 5A1
- <400> 65

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

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Tyr
 20 25 30

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

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

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

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

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

- 10 <210> 66
- <211> 123
- <212> PRT
- <213> Artificial

- <220>
- 15 <223> Región variable de la cadena pesada 5A1
- <400> 66

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

ES 2 383 809 T3

Ser Leu Arg Leu Thr Cys Ala Gly Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Phe
 20 25 30

Val Met His Trp Val Arg Gln Thr Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45

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

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

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

Arg Asp Arg Pro Met Val Arg Gly Val Ile Ile Asp Tyr Phe Asp Tyr
 100 105 110

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

<210> 67
 <211> 107
 <212> PRT
 5 <213> Artificial

<220>
 <223> Región variable de la cadena ligera 63
 <400> 67

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

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

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

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

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

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

Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Asp Ile Lys
 100 105

<210> 68

ES 2 383 809 T3

<211> 117
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 5 <223> Región variable de la cadena pesada 63

<400> 68

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30

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

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

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

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Ile Phe Tyr Cys
 85 90 95

Ala Lys Asp Asn Arg Gly Phe Phe His Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
 100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
 115

<210> 69
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 10 <223> Región variable de la cadena ligera 1B7

<400> 69

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

ES 2 383 809 T3

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

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

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

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

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

Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Asp Ile Lys
 100 105

5 <210> 70
 <211> 36
 <212> DNA
 <213> Artificial
 <220>
 <223> Cebadores
 10 <220>
 <221> Característica_miscelánea
 <222> (21)..(21)
 <223> N es A o G
 15 <220>
 <221> Característica_miscelánea
 <222> (24)..(24)
 <223> N es G o T
 <400> 70
 gtcgacgccg ccacatgga nttngggctg agctgg 36
 20 <210> 71
 <211> 21
 <212> DNA
 <213> Artificial
 <220>
 <223> Cebadores
 25 <400> 71
 cttgaccagg cagcccaggg c 21
 <210> 72
 <211> 36
 <212> DNA
 <213> Artificial
 30 <220>
 <223> Cebadores
 <400> 72
 atcaaacgta cggtggtgc accatctgtc ttcac 36

ES 2 383 809 T3

<210> 73
 <211> 49
 <212> DNA
 <213> Artificial

5 <220>
 <223> Cebadores

<400> 73

gtttaaaccg ggccgcggat ctaaacactc tcccctgtg aagctctt 49

10 <210> 74
 <211> 99
 <212> DNA
 <213> Artificial

<220>
 <223> Cebadores

15 <400> 74

gtcgacgccg ccaccatgga aaccccagcg cagcttctct tcctcctgct actctggctc 60

ccagataccg ctagcgaat tgtgttgacg cagtctcca 99

20 <210> 75
 <211> 99
 <212> DNA
 <213> Artificial

<220>
 <223> Cebadorse

<400> 75

tggagactgc gtcaacacaa tttcgctagc ggtatctggg agccagagta gcaggaggaa 60

gagaagctgc gctggggttt ccatggtggc ggcgtcgac 99

25 <210> 76
 <211> 57
 <212> DNA
 <213> Artificial

<220>
 <223> Cebadores

30 <400> 76

atgggtcaa ccgcatcct tggcctctc ctgctgttc tccaaggagt cgctagc 57

35 <210> 77
 <211> 327
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 77

ES 2 383 809 T3

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
 1 5 10 15

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

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

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
 50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr
 65 70 75 80

Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
 85 90 95

Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Ser Cys Pro Ala Pro
 100 105 110

Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
 115 120 125

Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
 130 135 140

Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp
 145 150 155 160

Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe
 165 170 175

Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
 180 185 190

Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu
 195 200 205

ES 2 383 809 T3

Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
 210 215 220

Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys
 225 230 235 240

Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
 245 250 255

Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
 260 265 270

Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
 275 280 285

Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser
 290 295 300

Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
 305 310 315 320

Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
 325

REIVINDICACIONES

1. Un anticuerpo aislado que se une al receptor de IL-4, que comprende un dominio variable de cadena ligera, donde
 - a. la cadena ligera CDR1 comprende los residuos 24-35 de la SEC ID NO:6 y
 - b. la cadena ligera CDR2 comprende los residuos 51-57 de la SEC ID NO:6, y
 - 5 c. la cadena ligera CDR3 comprende los residuos 90-99 de la SEC ID NO:6.; y un dominio variable de cadena pesada, donde las secuencias de la cadena pesada CDR1, CDR2 y CDR3 comprenden los residuos 30 a 35, 49 a 65 y 97 a 104 de la SEC ID NO:16, respectivamente, los residuos 30 a 35, 49 a 65 y 97 a 104 de la SEC ID NO:18, respectivamente, los residuos 30 a 35, 49 a 65 y 97 a 104 de la SEC ID NO: 20, respectivamente, los residuos 30 a 35, 49 a 65 y 97 a 104 de la SEC ID NO:22, respectivamente, los residuos 30 a 35, 49 a 65 y 97 a 104 de la SEC ID NO:26, respectivamente, los residuos 30 a 35, 49 a 65 y 97 a 104 de la SEC ID NO:28, respectivamente, los residuos 30 a 35, 49 a 65 y 97 a 104 de la SEC ID NO:30, respectivamente, los residuos 30 a 35, 49 a 65 y 97 a 104 de la SEC ID NO:32, respectivamente, los residuos 30 a 35, 49 a 65 y 97 a 104 de la SEC ID NO: 34, respectivamente, los residuos 30 a 35, 49 a 65 y 97 a 104 de la SEC ID NO:38, respectivamente o los residuos 30 a 35, 49 a 65 y 97 a 104 de la SEC ID NO:40, respectivamente.
- 15 2. Un anticuerpo según la reivindicación 1, en el que el dominio variable de la cadena pesada es por lo menos 90% idéntico a la SEC ID NO: 16.
3. Un anticuerpo según la reivindicación 1 o 2, en el que el dominio variable de la cadena pesada es por lo menos 90% idéntico a la secuencia de SEC ID NO:16 o por lo menos 90% idéntico a la secuencia de SEC ID NO:38.
- 20 4. El anticuerpo según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en el que el dominio variable de la cadena ligera es por lo menos 90% idéntico a la SEC ID NO:6.
5. El anticuerpo según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en el que el dominio variable de la cadena ligera comprende la SEC ID NO:6.
6. El anticuerpo según la reivindicación 1, en el que la región variable de la cadena pesada de dicho anticuerpo se selecciona del grupo que consiste en la SEC ID NO: 16, 18, 20, 22, 26, 28, 30, 32, 34, 38 y 40.
- 25 7. El anticuerpo según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en el que dicho anticuerpo es un anticuerpo humano, humanizado o quimérico.
8. El anticuerpo según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en el que dicho anticuerpo es un anticuerpo monoclonal.
- 30 9. El anticuerpo según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en el que dicho anticuerpo se selecciona del grupo que consiste en IgD, IgE, IgM, IgG1, IgG2, IgG3 e IgG4, que tiene por lo menos una mutación en la región bisagra que alivia una tendencia a formar un anticuerpo de enlace disulfuro intra-catenario H.
10. Un polipéptido aislado que comprende una porción de unión al receptor de IL-4 del anticuerpo según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, donde dicho polipéptido comprende un Fab, F(ab')₂, scFv, diacuerpo, triacuerpo o tetracuerpo.
- 35 11. Un ácido nucleico aislado que comprende una secuencia de nucleótidos, o su complemento, que codifica la cadena ligera del anticuerpo según la reivindicación 1.
12. El ácido nucleico aislado según la reivindicación 11, en el que dicho ácido nucleico comprende la secuencia de nucleótidos de la SEC ID NO:5.
13. Un vector que comprende dicho ácido nucleico de la reivindicación 11.
- 40 14. El vector según la reivindicación 13, en el que dicho vector es un vector de expresión.
15. Una célula aislada que comprende dicho ácido nucleico según la reivindicación 11.
16. La célula aislada según la reivindicación 15, en la que dicha célula es un hibridoma.
17. La célula aislada según la reivindicación 15, en la que dicha célula es una célula transgénica.
- 45 18. Un método que expresa el anticuerpo según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, que comprende incubar una célula que comprende un ácido nucleico que codifica la cadena ligera de dicho anticuerpo y un ácido nucleico que codifica la cadena pesada de dicho anticuerpo bajo condiciones que permiten que dicha célula exprese dicha cadena ligera y dicha cadena pesada, y que permiten que dicha cadena ligera y dicha cadena pesada se ensamblen en dicho anticuerpo, y aislar dicho anticuerpo de dicha célula.
19. El método según la reivindicación 18, en el que dicha célula es un hibridoma.

20. El método según la reivindicación 18, en el que dicha célula es una célula transgénica.
21. Un método *in vitro* para inhibir un receptor de IL-4 que comprende contactar una célula que expresa un receptor de IL-4 con el anticuerpo según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9 bajo condiciones que permiten que dicho anticuerpo se una a dicho receptor de IL-4, donde la unión de dicho anticuerpo a dicho receptor de IL-4 inhibe la transducción de señales a través de dicho receptor de IL-4.
22. Un método *in vitro* para inhibir un receptor de IL-4 que comprende contactar una célula que expresa el receptor de IL-4 alfa con el polipéptido según la reivindicación 10 bajo condiciones que permiten que dicho polipéptido se una a dicho receptor de IL-4 alfa, donde la unión de dicho polipéptido a dicho receptor de IL-4 inhibe la transducción de señales a través de dicho receptor de IL-4.
23. El método según la reivindicación 21 o la reivindicación 22, en el que dicha célula es una célula humana.
24. Un anticuerpo según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9 o un polipéptido según la reivindicación 10, para uso en medicina.
25. El anticuerpo o polipéptido según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9 para uso en el tratamiento de una afección inflamatoria o cancerosa.
26. El anticuerpo o polipéptido para uso según la reivindicación 25, en el que dicha afección es asma, artritis septicémica, dermatitis herpetiforme, urticaria idiopática crónica, colitis ulcerosa, esclerodermia, cicatrización hipertrófica, enfermedad de Whipple, hiperplasia prostática benigna, un trastorno pulmonar en el que el receptor de IL-4 desempeña una función, una afección en la que la ruptura de la barrera epitelial mediada por el receptor de IL-4 desempeña una función, un trastorno del sistema digestivo en el que el receptor de IL-4 desempeña una función, una reacción alérgica a una medicación, enfermedad de Kawasaki, anemia drepanocítica, síndrome de Churg-Strauss, enfermedad de Grave, preclampsia, síndrome de Sjogren, síndrome linfoproliferativo autoinmunitario, anemia hemolítica autoinmunitaria, esófago de Barrett, uveítis autoinmunitaria, tuberculosis, fibrosis quística, micosis broncopulmonar alérgica, enfermedad pulmonar obstructiva crónica, fibrosis y neumopatía inducida por bleomicina, fibrosis pulmonar inducida por radiación, proteinosis alveolar pulmonar, síndrome de dificultad respiratoria aguda, sarcoidosis, síndrome de hiper IgE, síndrome hipereosinofílico idiopático, una enfermedad ampollosa autoinmunitaria, pénfigo vulgar, pénfigo bulloso, miastenia grave, síndrome de fatiga crónica o nefrosis.
27. Uso de un anticuerpo según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, o un polipéptido según la reivindicación 13 o la reivindicación 14, en la elaboración de un medicamento para tratar una afección inflamatoria o cancerosa.
28. Uso de un anticuerpo o polipéptido según la reivindicación 27, en el que dicha afección es asma, artritis septicémica, dermatitis herpetiforme, urticaria idiopática crónica, colitis ulcerosa, esclerodermia, cicatrización hipertrófica, enfermedad de Whipple, hiperplasia prostática benigna, un trastorno pulmonar en el que el receptor de IL-4 desempeña una función, una afección en la que la ruptura de la barrera epitelial mediada por el receptor de IL-4 desempeña una función, un trastorno del sistema digestivo en el que el receptor de IL-4 desempeña una función, una reacción alérgica a una medicación, enfermedad de Kawasaki, anemia drepanocítica, síndrome de Churg-Strauss, enfermedad de Grave, preclampsia, síndrome de Sjogren, síndrome linfoproliferativo autoinmunitario, anemia hemolítica autoinmunitaria, esófago de Barrett, uveítis autoinmunitaria, tuberculosis, fibrosis quística, micosis broncopulmonar alérgica, enfermedad pulmonar obstructiva crónica, fibrosis y neumopatía inducida por bleomicina, fibrosis pulmonar inducida por radiación, proteinosis alveolar pulmonar, síndrome de dificultad respiratoria aguda, sarcoidosis, síndrome de hiper IgE, síndrome hipereosinofílico idiopático, una enfermedad ampollosa autoinmunitaria, pénfigo vulgar, pénfigo bulloso, miastenia grave, síndrome de fatiga crónica o nefrosis.
29. Una composición farmacéutica que comprende un anticuerpo según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9 o un polipéptido según la reivindicación 10, y un excipiente, diluyente o tampón.
30. El anticuerpo según la reivindicación 1, en el que dicho anticuerpo no se une al dominio I y II del receptor de IL-4 murino.
31. El anticuerpo según la reivindicación 1, en el que dicho anticuerpo se une al dominio I del receptor de IL-4 humano.

ES 2 383 809 T3

Figura 1A

ATG	GGG	TGG	CTT	TGC	TCT	GGG	CTC	CTG	TTC	CCT	GTG	AGC	TGC	CTG	-31
Met	Gly	Trp	Leu	Cys	Ser	Gly	Leu	Leu	Phe	Pro	Val	Ser	Cys	Leu	-11
GTC	CTG	CTG	CAG	GTG	GCA	AGC	TCT	GGG	AAC	ATG	AAG	GTC	TTG	CAG	15
Val	Leu	Leu	Gln	Val	Ala	Ser	Ser	Gly	Asn	<u>Met</u>	Lys	Val	Leu	Gln	5
GAG	CCC	ACC	TGC	GTC	TCC	GAC	TAC	ATG	AGC	ATC	TCT	ACT	TGC	GAG	60
Glu	Pro	Thr	Cys	Val	Ser	Asp	Tyr	Met	Ser	Ile	Ser	Thr	Cys	Glu	20
TGG	AAG	ATG	AAT	GGT	CCC	ACC	AAT	TGC	AGC	ACC	GAG	CTC	CGC	CTG	105
Trp	Lys	Met	Asn	Gly	Pro	Thr	Asn	Cys	Ser	Thr	Glu	Leu	Arg	Leu	35
TTG	TAC	CAG	CTG	GTT	TTT	CTG	CTC	TCC	GAA	GCC	CAC	ACG	TGT	ATC	150
Leu	Tyr	Gln	Leu	Val	Phe	Leu	Leu	Ser	Glu	Ala	His	Thr	Cys	Ile	50
CCT	GAG	AAC	AAC	GGA	GGC	GCG	GGG	TGC	GTG	TGC	CAC	CTG	CTC	ATG	195
Pro	Glu	Asn	Asn	Gly	Gly	Ala	Gly	Cys	Val	Cys	His	Leu	Leu	Met	65
GAT	GAC	GTG	GTC	AGT	GCG	GAT	AAC	TAT	ACA	CTG	GAC	CTG	TGG	GCT	240
Asp	Asp	Val	Val	Ser	Ala	Asp	Asn	Tyr	Thr	Leu	Asp	Leu	Trp	Ala	80
GGG	CAG	CAG	CTG	CTG	TGG	AAG	GGC	TCC	TTC	AAG	CCC	AGC	GAG	CAT	285
Gly	Gln	Gln	Leu	Leu	Trp	Lys	Gly	Ser	Phe	Lys	Pro	Ser	Glu	His	95
GTG	AAA	CCC	AGG	GCC	CCA	GGA	AAC	CTG	ACA	GTT	CAC	ACC	AAT	GTC	330
Val	Lys	Pro	Arg	Ala	Pro	Gly	Asn	Leu	Thr	Val	His	Thr	Asn	Val	110
TCC	GAC	ACT	CTG	CTG	CTG	ACC	TGG	AGC	AAC	CCG	TAT	CCC	CCT	GAC	375
Ser	Asp	Thr	Leu	Leu	Leu	Thr	Trp	Ser	Asn	Pro	Tyr	Pro	Pro	Asp	125
AAT	TAC	CTG	TAT	AAT	CAT	CTC	ACC	TAT	GCA	GTC	AAC	ATT	TGG	AGT	420
Asn	Tyr	Leu	Tyr	Asn	His	Leu	Thr	Tyr	Ala	Val	Asn	Ile	Trp	Ser	140
GAA	AAC	GAC	CCG	GCA	GAT	TTC	AGA	ATC	TAT	AAC	GTG	ACC	TAC	CTA	465
Glu	Asn	Asp	Pro	Ala	Asp	Phe	Arg	Ile	Tyr	Asn	Val	Thr	Tyr	Leu	155
GAA	CCC	TCC	CTC	CGC	ATC	GCA	GCC	AGC	ACC	CTG	AAG	TCT	GGG	ATT	510
Glu	Pro	Ser	Leu	Arg	Ile	Ala	Ala	Ser	Thr	Leu	Lys	Ser	Gly	Ile	170
TCC	TAC	AGG	GCA	CGG	GTG	AGG	GCC	TGG	GCT	CAG	TGC	TAT	AAC	ACC	555
Ser	Tyr	Arg	Ala	Arg	Val	Arg	Ala	Trp	Ala	Gln	Cys	Tyr	Asn	Thr	185
ACC	TGG	AGT	GAG	TGG	AGC	CCC	AGC	ACC	AAG	TGG	CAC	AAC	TCC	TAC	600
Thr	Trp	Ser	Glu	Trp	Ser	Pro	Ser	Thr	Lys	Trp	His	Asn	Ser	Tyr	200
AGG	GAG	CCC	TTC	GAG	CAG	CAC	CTC	CTG	CTG	GGC	GTC	AGC	GTT	TCC	645
Arg	Glu	Pro	Phe	Glu	Gln	His	<u>Leu</u>	<u>Leu</u>	<u>Leu</u>	<u>Gly</u>	<u>Val</u>	<u>Ser</u>	<u>Val</u>	<u>Ser</u>	215
TGC	ATT	GTC	ATC	CTG	GCC	GTC	TGC	CTG	TTG	TGC	TAT	GTC	AGC	ATC	690
<u>Cys</u>	<u>Ile</u>	<u>Val</u>	<u>Ile</u>	<u>Leu</u>	<u>Ala</u>	<u>Val</u>	<u>Cys</u>	<u>Leu</u>	<u>Leu</u>	<u>Cys</u>	<u>Tyr</u>	<u>Val</u>	<u>Ser</u>	<u>Ile</u>	230
ACC	AAG	ATT	AAG	AAA	GAA	TGG	TGG	GAT	CAG	ATT	CCC	AAC	CCA	GCC	735
<u>Thr</u>	Lys	Ile	Lys	Lys	Glu	Trp	Trp	Asp	Gln	Ile	Pro	Asn	Pro	Ala	245

Figura 1B

CGC	AGC	CGC	CTC	GTG	GCT	ATA	ATA	ATC	CAG	GAT	GCT	CAG	GGG	TCA	780
Arg	Ser	Arg	Leu	Val	Ala	Ile	Ile	Ile	Gln	Asp	Ala	Gln	Gly	Ser	260
CAG	TGG	GAG	AAG	CGG	TCC	CGA	GGC	CAG	GAA	CCA	GCC	AAG	TGC	CCA	825
Gln	Trp	Glu	Lys	Arg	Ser	Arg	Gly	Gln	Glu	Pro	Ala	Lys	Cys	Pro	275
CAC	TGG	AAG	AAT	TGT	CTT	ACC	AAG	CTC	TTG	CCC	TGT	TTT	CTG	GAG	870
His	Trp	Lys	Asn	Cys	Leu	Thr	Lys	Leu	Leu	Pro	Cys	Phe	Leu	Glu	290
CAC	AAC	ATG	AAA	AGG	GAT	GAA	GAT	CCT	CAC	AAG	GCT	GCC	AAA	GAG	915
His	Asn	Met	Lys	Arg	Asp	Glu	Asp	Pro	His	Lys	Ala	Ala	Lys	Glu	305
ATG	CCT	TTC	CAG	GGC	TCT	GGA	AAA	TCA	GCA	TGG	TGC	CCA	GTG	GAG	960
Met	Pro	Phe	Gln	Gly	Ser	Gly	Lys	Ser	Ala	Trp	Cys	Pro	Val	Glu	320
ATC	AGC	AAG	ACA	GTC	CTC	TGG	CCA	GAG	AGC	ATC	AGC	GTG	GTG	CGA	1005
Ile	Ser	Lys	Thr	Val	Leu	Trp	Pro	Glu	Ser	Ile	Ser	Val	Val	Arg	335
TGT	GTG	GAG	TTG	TTT	GAG	GCC	CCG	GTG	GAG	TGT	GAG	GAG	GAG	GAG	1050
Cys	Val	Glu	Leu	Phe	Glu	Ala	Pro	Val	Glu	Cys	Glu	Glu	Glu	Glu	350
GAG	GTA	GAG	GAA	GAA	AAA	GGG	AGC	TTC	TGT	GCA	TCG	CCT	GAG	AGC	1095
Glu	Val	Glu	Glu	Glu	Lys	Gly	Ser	Phe	Cys	Ala	Ser	Pro	Glu	Ser	365
AGC	AGG	GAT	GAC	TTC	CAG	GAG	GGA	AGG	GAG	GGC	ATT	GTG	GCC	CGG	1140
Ser	Arg	Asp	Asp	Phe	Gln	Glu	Gly	Arg	Glu	Gly	Ile	Val	Ala	Arg	380
CTA	ACA	GAG	AGC	CTG	TTC	CTG	GAC	CTG	CTC	GGA	GAG	GAG	AAT	GGG	1185
Leu	Thr	Glu	Ser	Leu	Phe	Leu	Asp	Leu	Leu	Gly	Glu	Glu	Asn	Gly	395
GGC	TTT	TGC	CAG	CAG	GAC	ATG	GGG	GAG	TCA	TGC	CTT	CTT	CCA	CCT	1230
Gly	Phe	Cys	Gln	Gln	Asp	Met	Gly	Glu	Ser	Cys	Leu	Leu	Pro	Pro	410
TCG	GGA	AGT	ACG	AGT	GCT	CAC	ATG	CCC	TGG	GAT	GAG	TTC	CCA	AGT	1275
Ser	Gly	Ser	Thr	Ser	Ala	His	Met	Pro	Trp	Asp	Glu	Phe	Pro	Ser	425
GCA	GGG	CCC	AAG	GAG	GCA	CCT	CCC	TGG	GGC	AAG	GAG	CAG	CCT	CTC	1320
Ala	Gly	Pro	Lys	Glu	Ala	Pro	Pro	Trp	Gly	Lys	Glu	Gln	Pro	Leu	440
CAC	CTG	GAG	CCA	AGT	CCT	CCT	GCC	AGC	CCG	ACC	CAG	AGT	CCA	GAC	1365
His	Leu	Glu	Pro	Ser	Pro	Pro	Ala	Ser	Pro	Thr	Gln	Ser	Pro	Asp	455
AAC	CTG	ACT	TGC	ACA	GAG	ACG	CCC	CTC	GTC	ATC	GCA	GGC	AAC	CCT	1410
Asn	Leu	Thr	Cys	Thr	Glu	Thr	Pro	Leu	Val	Ile	Ala	Gly	Asn	Pro	470
GCT	TAC	CGC	AGC	TTC	AGC	AAC	TCC	CTG	AGC	CAG	TCA	CCG	TGT	CCC	1455
Ala	Tyr	Arg	Ser	Phe	Ser	Asn	Ser	Leu	Ser	Gln	Ser	Pro	Cys	Pro	485
AGA	GAG	CTG	GGT	CCA	GAC	CCA	CTG	CTG	GCC	AGA	CAC	CTG	GAG	GAA	1500
Arg	Glu	Leu	Gly	Pro	Asp	Pro	Leu	Leu	Ala	Arg	His	Leu	Glu	Glu	500
GTA	GAA	CCC	GAG	ATG	CCC	TGT	GTC	CCC	CAG	CTC	TCT	GAG	CCA	ACC	1545
Val	Glu	Pro	Glu	Met	Pro	Cys	Val	Pro	Gln	Leu	Ser	Glu	Pro	Thr	515

ES 2 383 809 T3

Figura 1C

ACT	GTG	CCC	CAA	CCT	GAG	CCA	GAA	ACC	TGG	GAG	CAG	ATC	CTC	CGC	1590
Thr	Val	Pro	Gln	Pro	Glu	Pro	Glu	Thr	Trp	Glu	Gln	Ile	Leu	Arg	530
CGA	AAT	GTC	CTC	CAG	CAT	GGG	GCA	GCT	GCA	GCC	CCC	GTC	TCG	GCC	1635
Arg	Asn	Val	Leu	Gln	His	Gly	Ala	Ala	Ala	Ala	Pro	Val	Ser	Ala	545
CCC	ACC	AGT	GGC	TAT	CAG	GAG	TTT	GTA	CAT	GCG	GTG	GAG	CAG	GGT	1680
Pro	Thr	Ser	Gly	Tyr	Gln	Glu	Phe	Val	His	Ala	Val	Glu	Gln	Gly	560
GGC	ACC	CAG	GCC	AGT	GCG	GTG	GTG	GGC	TTG	GGT	CCC	CCA	GGA	GAG	1725
Gly	Thr	Gln	Ala	Ser	Ala	Val	Val	Gly	Leu	Gly	Pro	Pro	Gly	Glu	575
GCT	GGT	TAC	AAG	GCC	TTC	TCA	AGC	CTG	CTT	GCC	AGC	AGT	GCT	GTG	1770
Ala	Gly	Tyr	Lys	Ala	Phe	Ser	Ser	Leu	Leu	Ala	Ser	Ser	Ala	Val	590
TCC	CCA	GAG	AAA	TGT	GGG	TTT	GGG	GCT	AGC	AGT	GGG	GAA	GAG	GGG	1815
Ser	Pro	Glu	Lys	Cys	Gly	Phe	Gly	Ala	Ser	Ser	Gly	Glu	Glu	Gly	605
TAT	AAG	CCT	TTC	CAA	GAC	CTC	ATT	CCT	GGC	TGC	CCT	GGG	GAC	CCT	1860
Tyr	Lys	Pro	Phe	Gln	Asp	Leu	Ile	Pro	Gly	Cys	Pro	Gly	Asp	Pro	620
GCC	CCA	GTC	CCT	GTC	CCC	TTG	TTC	ACC	TTT	GGA	CTG	GAC	AGG	GAG	1905
Ala	Pro	Val	Pro	Val	Pro	Leu	Phe	Thr	Phe	Gly	Leu	Asp	Arg	Glu	635
CCA	CCT	CGC	AGT	CCG	CAG	AGC	TCA	CAT	CTC	CCA	AGC	AGC	TCC	CCA	1950
Pro	Pro	Arg	Ser	Pro	Gln	Ser	Ser	His	Leu	Pro	Ser	Ser	Ser	Pro	650
GAG	CAC	CTG	GGT	CTG	GAG	CCG	GGG	GAA	AAG	GTA	GAG	GAC	ATG	CCA	1995
Glu	His	Leu	Gly	Leu	Glu	Pro	Gly	Glu	Lys	Val	Glu	Asp	Met	Pro	665
AAG	CCC	CCA	CTT	CCC	CAG	GAG	CAG	GCC	ACA	GAC	CCC	CTT	GTG	GAC	2040
Lys	Pro	Pro	Leu	Pro	Gln	Glu	Gln	Ala	Thr	Asp	Pro	Leu	Val	Asp	680
AGC	CTG	GGC	AGT	GGC	ATT	GTC	TAC	TCA	GCC	CTT	ACC	TGC	CAC	CTG	2085
Ser	Leu	Gly	Ser	Gly	Ile	Val	Tyr	Ser	Ala	Leu	Thr	Cys	His	Leu	695
TGC	GGC	CAC	CTG	AAA	CAG	TGT	CAT	GGC	CAG	GAG	GAT	GGT	GGC	CAG	2130
Cys	Gly	His	Leu	Lys	Gln	Cys	His	Gly	Gln	Glu	Asp	Gly	Gly	Gln	710
ACC	CCT	GTC	ATG	GCC	AGT	CCT	TGC	TGT	GGC	TGC	TGC	TGT	GGA	GAC	2175
Thr	Pro	Val	Met	Ala	Ser	Pro	Cys	Cys	Gly	Cys	Cys	Cys	Gly	Asp	725
AGG	TCC	TCG	CCC	CCT	ACA	ACC	CCC	CTG	AGG	GCC	CCA	GAC	CCC	TCT	2220
Arg	Ser	Ser	Pro	Pro	Thr	Thr	Pro	Leu	Arg	Ala	Pro	Asp	Pro	Ser	740
CCA	GGT	GGG	GTT	CCA	CTG	GAG	GCC	AGT	CTG	TGT	CCG	GCC	TCC	CTG	2265
Pro	Gly	Gly	Val	Pro	Leu	Glu	Ala	Ser	Leu	Cys	Pro	Ala	Ser	Leu	755
GCA	CCC	TCG	GGC	ATC	TCA	GAG	AAG	AGT	AAA	TCC	TCA	TCA	TCC	TTC	2310
Ala	Pro	Ser	Gly	Ile	Ser	Glu	Lys	Ser	Lys	Ser	Ser	Ser	Ser	Phe	770
CAT	CCT	GCC	CCT	GGC	AAT	GCT	CAG	AGC	TCA	AGC	CAG	ACC	CCC	AAA	2355
His	Pro	Ala	Pro	Gly	Asn	Ala	Gln	Ser	Ser	Ser	Gln	Thr	Pro	Lys	785
ATC	GTG	AAC	TTT	GTC	TCC	GTG	GGA	CCC	ACA	TAC	ATG	AGG	GTC	TCT	2400
Ile	Val	Asn	Phe	Val	Ser	Val	Gly	Pro	Thr	Tyr	Met	Arg	Val	Ser	800

Figura 2A

		FR1							
L1	1	GAAATTGTGT	TGACGCAGTC	TCCAGGCACC	CTGTCTTTGT	CTCCAGGGGA	AAGAGCCACC	60	
L2	1	GAAATTGTGT	TGACGCAGTC	TCCAGGCACC	CTGTCTTTGT	CTCCAGGGGA	AAGAGCCACC	60	
L3	1	GAAATTGTGT	TGACGCAGTC	TCCAGGCACC	CTGTCTTTGT	CTCCGGGGGA	AAGAGCCACC	60	
L4	1	GAAATTGTGA	TGACGCAGTC	TCCAGGCACC	CTGTCTTTGT	CTCCAGGGGA	AAGAGCCACC	60	
L5	1	GATATTGTGC	TGACCCAGTC	TCCAGCCACC	CTGTCTTTGT	CTCCAGGGGA	AAGAGCCACC	60	
L6	1	GATATTGTGC	TGACGCAGAC	TCCAGCCACC	CTGTCTTTGT	CTCCAGGGGA	AAGAGCCACC	60	
		CDR1							
L1	61	CTCTCCTGCA	GGGCCAGTCA	GAGTGTTAGC	AGCAGCTACT	TAGCCTGGTA	CCAGCAGAAA	120	
L2	61	CTCTCCTGCA	GGGCCAGTCA	GAGTGTTAGC	AACAGCTACT	TAGCCTGGTA	CCAGCAGAAA	120	
L3	61	CTCTCCTGCA	GGGCCAGTCA	GACTGTTAAC	AGCGACTACT	TAGCCTGGTA	CCAGCAGAAA	120	
L4	61	CTCTCCTGCA	GGGCCAGTCA	GAGTGTTAGC	AGCGACTACT	TAGCCTGGTA	CCAGCAGAAA	120	
L5	61	CTCTCCTGCA	GGGCCAGTCA	GAGTGTTAAC	AGCAACTACT	TAGCCTGGTA	CCAGCAGAAA	120	
L6	61	CTCTCCTGCA	GGGCCAGTCA	GAGTGTTGGC	AGCAGCTACT	TAGCCTGGTA	CCAGCAGAGA	120	
		FR2			CDR2				
L1	121	CCTGGCCAGG	CTCCCAGGCT	CCTCATCTTT	GGTGCATCCA	GCAGGGCCAC	TGGCATCCCA	180	
L2	121	CCTGGCCAGG	CTCCCAGGCT	CCTCATCTAT	GGTGCATCCA	GCAGGGCCCC	TGGCATCCCA	180	
L3	121	CCGGGCCAGG	CTCCCAGGCT	CCTCATCTAT	GGTGCATCCA	GCAGGGCCAC	TGGCATCCCA	180	
L4	121	CCTGGCCAGG	CTCCCAGGCT	CCTCATCTAT	GGTGCATCTA	GCAGGGCCTC	TGGCATCCCA	180	
L5	121	CCTGGCCAGG	CTCCCAGGCT	CCTCATCTAT	GGTACATCCT	ACAGGGCCAC	TGGCATCCCA	180	
L6	121	CCTGGCCAGG	CTCCCAGGCT	CCTCATCTAT	GGTGCATCCA	GCAGGGCCAC	TGGCATCCCG	180	
		FR3							
L1	181	GACAGGTTCA	GTGGCAGTGG	GTCTGGGACA	GACTTCACTC	TCACCATCAG	CAGACTGGAG	240	
L2	181	GACAGGTTCA	GTGGCAGTGG	GTCTGGGACA	GACTTCACTC	TCACCATCAG	CAGACTGGAG	240	
L3	181	GACAGGTTCA	GTGGCAGTGG	GTCTGGGACA	GACTTCACTC	TCACCATCAG	CAGACTGGAG	240	
L4	181	GACAGGTTCA	GTGGCAGTGG	GTTTGGGACA	GACTTCACTC	TCACCATCAG	CAGACTGGAG	240	
L5	181	GACAGGTTCA	GTGGCAGTGG	GTCTGGGACA	GACTTCACTC	TCACCATCAG	CAGACTGGAG	240	
L6	181	GACAGGTTCA	GTGGCAGTGG	GTCTGGGACA	GACTTCACTC	TCACGATCAG	CAGACTGGAG	240	
		CDR3							
L1	241	CCTGAAGATT	TTGCAGTGTA	TTACTGTCAG	CAGTATGGTA	GCTCACCTCC	GTGGACGTTT	300	
L2	241	CCTGAAGATT	TTGCAGTGTA	TTACTGTCAG	CAGTATGATC	ACTCAGCAGG	GTGGACGTTT	300	
L3	241	CCTGAAGATT	TTGCAGTCTA	TTACTGTCAG	CAGTATGGTA	GGTCACCTCC	GTGGACGTTT	300	
L4	241	CCTGAAGATT	TTGCAATATA	TTACTGTCAG	CAGTATGGTA	GCTCACCTCC	GTGGACGTTT	300	
L5	241	CCTGAAGATT	TTGCAGTGTA	TTACTGTCAG	CAGTATGGTA	GCTCACCCAC	GTGGACGTTT	300	
L6	241	CCTGAAGATT	TTGCAGTGTA	TTATTGTCAG	CAGTATGGAA	GTTCACCTCC	GTGGATGTTT	300	
		FR4							
L1	301	GGCCAAGGGA	CCAAGGTGGA	AATCAAA	327				
L2	301	GGCCAAGGGA	CCAAGGTGGA	GATCAAA	327				
L3	301	GGCCAAGGGA	CCAAAGTGGG	TATCAAA	327				
L4	301	GGCCAAGGGA	CCAAGGTGGA	AATCAAA	327				
L5	301	GGCCAAGGGA	CACGACTGGA	GATTAAA	327				
L6	301	GGCCAAGGGA	CCAAGGTGGA	GATCAAA	327				

Figura 2D

H1	241	CAAATGAACA	GCCTGAGAGC	CGAGGACATG	GCTGTGTATT	ACTGTGCAAG	AGGGAGGTAC	300
H2	241	CAAATGAACA	GCCTGAGTGC	CGAGGACATG	GCTGTGTATT	ACTGTGCAAG	AGGGAGGTAC	300
H3	241	CAAATGAACA	GCCTGAGAGC	CGAGGACATG	GCTGTGTATT	ACTGTGCAAG	AGGGAGGTAC	300
H4	241	CAAATGAACA	GCCTGAGAGC	CGAGGACATG	GCTGTGTATT	ACTGTGCAAG	AGGGAGGTAC	300
H5	241	CAAATGAACA	GCCTGAGAGC	CGAGGACATG	GCTGTGTATT	ACTGTGCAAG	AGGGAGGTAC	300
H6	241	CAAATGAACA	GCCTGAGAGC	CGAGGACATG	GCTGTGTATT	ACTGTGCAAG	AGGGAGGTAC	300
H7	241	CAAATGAACA	GCCTGAGAGC	CGAGGACATG	GCTGTGTATT	ACTGTGCAAG	AGGGAGGTAC	300
H8	241	CAAATGAACA	GCCTGAGAGC	CGAGGACATG	GCTGTGTATT	ACTGTGCAAG	AGGGAGGTAC	300
H9	241	CAAATGAACA	GCCTGAGAGC	CGAGGACATG	GCTGTGTATT	ACTGTGCAAG	AGGGAGGTAC	300
H10	241	CAAATGAACA	GCCTGAGAGC	CGAGGACATG	GCTGTGTATT	ACTGTGCAAG	AGGGAGGTAC	300
H11	241	CAAATGAACA	GCCTGAGAGC	CGAGGACATG	GCTGTGTATT	ACTGTGCAAG	AGGGAGGTAC	300
H12	241	CAAATGAACA	GCCTGAGAGC	CGAGGACATG	GCTGTGTATT	ACTGTGCAAG	AGGGAGGTAC	300
H13	241	CAAATGAACA	GCCTGAGTGC	CGAGGACATG	GCTGTGTATT	ACTGTGCAAG	AGGGAGGTAC	300
H14	241	CAAATGAACA	GCCTGAGAGC	CGAGGACACG	GCTGTGTATT	ACTGTGCAAG	AGGGAGGTAC	300
H15	241	CAAATGAACA	GCCTGAGAGC	CGAGGACACG	GCTGTGTATT	ACTGTGCAAG	AGGGAGGTAC	300
H16	241	CAAATGAACA	GCCTGAGAGC	CGAGGACACG	GCTGTGTATT	ACTGTGCAAG	AGGGAGGTAC	300
H17	241	CAAATGAACA	GCCTGAGAGC	CGAGGACACG	GCTGTGTATT	ACTGTGCAAG	AGGGAGGTAC	300
H18	241	CAAATGAACA	GCCTGAGAGC	CGAGGACACG	GCTGTGTATT	ACTGTGCAAG	AGGGAGGTAC	300
H19	241	CAAATGAACA	GCCTGAGAGC	CGAGGACACG	GCTGTGTATT	ACTGTGCAAG	AGGGAGGTAC	300
H20	241	CAAATGAACA	GCCTGAGAGC	CGAGGACACG	GCTGTGTATT	ACTGTGCAAG	AGGGAGGTAC	300
H21	241	CAAATGAACA	GCCTGAGAGC	CGAGGACACG	GCTGTGTATT	ACTGTGCAAG	AGGGAGGTAC	300
H22	241	CAAATGAACA	GCCTGAGAGC	CGAGGACACG	GCTGTGTATT	ACTGTGCAAG	AGGGAGGTAC	300
H23	241	CAAATGAACA	GCCTGAGAGC	CGAGGACACG	GCTGTGTATT	ACTGTGCAAG	AGGGAGGTAC	300
H24	241	CAAATGAACA	GCCTGAGAGC	CGAGGACACG	GCTGTGTATT	ACTGTGCAAG	AGGGAGGTAC	300

		CDR3		FR4			
H1	301	TACTTTGACT	ACTGGGGCCA	GGAACCCCTG	GTCACCGTCT	CCTCA	345
H2	301	TACTTCACCC	ACTGGGGCCA	GGAACCCCTG	GTCACCGTCT	CCTCA	345
H3	301	TGGTACAACA	ACTGGGGCCA	GGAACCCCTG	GTCACCGTCT	CCTCA	345
H4	301	TACTTCCCCT	GGTGGGGCCA	GGAACCCCTG	GTCACCGTCT	CCTCA	345
H5	301	TACTTCACGA	GGTGGGGCCA	GGAACCCCTG	GTCACCGTCT	CCTCA	345
H6	301	TGGTACCCCT	GGTGGGGCCA	GGAACCCCTG	GTCACCGTCT	CCTCA	345
H7	301	TGGTACCCCT	GGTGGGGCCA	GGAACCCCTG	GTCACCGTCT	CCTCA	345
H8	301	TGGTTCCCCT	GGTGGGGCCA	GGAACCCCTG	GTCACCGTCT	CCTCA	345
H9	301	TGGTTCCCCT	GGTGGGGCCA	GGAACCCCTG	GTCACCGTCT	CCTCA	345
H10	301	TGGTACCCCT	GGTGGGGCCA	GGAACCCCTG	GTCACCGTCT	CCTCA	345
H11	301	TGGTACCCCT	GGTGGGGCCA	GGAACCCCTG	GTCACCGTCT	CCTCA	345
H12	301	TACTTCCCCT	GGTGGGGCCA	GGAACCCCTG	GTCACCGTCT	CCTCA	345
H13	301	TACTTCCCCT	GGTGGGGCCA	GGAACCCCTG	GTCACCGTCT	CCTCA	345
H14	301	TACTTCCCCT	GGTGGGGCCA	GGAACCCCTG	GTCACCGTCT	CCTCA	345
H15	301	TACTTTGACT	ACTGGGGCCA	GGAACCCCTG	GTCACCGTCT	CCTCA	345
H16	301	TACTTCACCC	ACTGGGGCCA	GGAACCCCTG	GTCACCGTCT	CCTCA	345
H17	301	TGGTACAACA	ACTGGGGCCA	GGAACCCCTG	GTCACCGTCT	CCTCA	345
H18	301	TACTTCACGA	GGTGGGGCCA	GGAACCCCTG	GTCACCGTCT	CCTCA	345
H19	301	TGGTACCCCT	GGTGGGGCCA	GGAACCCCTG	GTCACCGTCT	CCTCA	345
H20	301	TGGTACCCCT	GGTGGGGCCA	GGAACCCCTG	GTCACCGTCT	CCTCA	345
H21	301	TGGTTCCCCT	GGTGGGGCCA	GGAACCCCTG	GTCACCGTCT	CCTCA	345
H22	301	TGGTTCCCCT	GGTGGGGCCA	GGAACCCCTG	GTCACCGTCT	CCTCA	345
H23	301	TGGTACCCCT	GGTGGGGCCA	GGAACCCCTG	GTCACCGTCT	CCTCA	345
H24	301	TGGTACCCCT	GGTGGGGCCA	GGAACCCCTG	GTCACCGTCT	CCTCA	345

Figura 3

	FR1	CDR1	FR2	CDR2	FR3	CDR3	FR4
L1	EIVLTQSPGTLSPGERATL	SCRASQSVSSYLAWYQOKPGQAPRLLIFGASSRATGIPDRFSGSGGTDFLTISLQPEDEFAVYQCQYGSPPFTFGQTKVEIK					
L2							
L3							
L4							
L5							
L6							
H1	EVQLVQSGGGLVHPGGSLRLSCAGSGFTFSRNAMFWVRQAPGKGLEWVSGIGTGGATYADSVKGRFTISRDNKNSLYLQMNLSRAEDMAVYFCARGRYFDIWGQGLTVTVSS						
H2							
H3							
H4							
H5							
H6							
H7							
H8							
H9							
H10							
H11							
H12							
H13							
H14							
H15							
H16							
H17							
H18							
H19							
H20							
H21							
H22							
H23							
H24							