PCT

BT

Industria y Comercio

SUPERINTENDENCIA

10-160884

DELEGATURA DE PROPIEDAD INDUSTRIAL

DIRECCIÓN DE NUEVAS CREACIONES

SOLICITUD DE P

INVENC

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
No. 10-160884- -00000-0000
Fecha: 2010-12-22 13:05:37 Dep: 2020 DIR.NUEVASCR
Tra: 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act: 411 PRESENTACION Folios: 309

TITULO: PROTEÍNAS FIJADORAS DE RECEPTORES DE INTERLEUKINAS-21

SOLICITANTE: WYETH LLC Y MEDIMMUNE

DIRECCIÓN: FIVE GIRALDA FARMS MADISON, NJ 07940 ESTADOS UNIDOS y ILSTEIN BUILDING, GRANTA PARK, CAMBRIDGE CB21 6GH GRAN BRETAÑA,

APODERADO: CARLOS R. OLARTE

BOGOTÁ 14 Diciembre de 2010

P2010/000174

OLARTERAISBECK
OLARTE RAISBECK MOURE &

Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
No. 10-160884- -00000-0000
Fecha: 2010-12-22 13:05:37 Dep: 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 309

PETITORIO - FORMULARIO ÚNICO DE SOLICITUD
PATENTE PCT
ENTRADA EN FASE NACIONAL **P2010/000174**

SOLICITUD DE:

(1) [X] Patente de Invención. [ ] Patente de Modelo de Utilidad.

[X] Capítulo I. [ ] Capítulo II.

(2) **SOLICITANTE (71)**

Nombre: WYETH LLC y MEDIMMUNE LIMITED
Dirección: Five Giralda Farms Madison, NJ 07940 y Milstein Building, Granta Park, Cambridge CB21 6GH
Nacionalidad o Domicilio: Estados Unidos y Gran Bretaña
Lugar de Constitución: Estados Unidos y Gran Bretaña
Teléfono: _____ **Fax:** _____
E-mail: _____

IDENTIFICACIÓN
C.C. [ ] **NIT** [ ]
C.E. [ ] **Otro** [ ]
Cual _____
Número _____

REPRESENTANTE O APODERADO

Nombre: CARLOS R. OLARTE
Dirección: Diagonal 34 No. 5-28 Bogotá, Colombia
Teléfono: 601-7700 **Fax:** 601-7799
E-mail: office@olarteraisbeck.com

IDENTIFICACIÓN
C.C. [X] **NIT** [ ]
C.E. [ ] **Otro** [ ]
Cual _____
Número 79.782.747Bta
TP 74.295

INVENTOR (ES) (72)

Nombre: VER PAGINA ADJUNTA
Dirección: VER PAGINA ADJUNTA
Nacionalidad o Domicilio: VER PAGINA ADJUNTA

(5) **PCT (86)**

Solicitud Internacional No. PCT/US2009/045182 Fecha Mayo 26, 2009

Publicación Internacional No. WO 2009/143523 Fecha Noviembre 26, 2009

(6) **Título (54)** **PROTEÍNAS FIJADORAS DE RECEPTORES DE INTERLEUKINAS-21**

Clasificación Internacional (51) C07K 14/715, C07K 16/28

Prioridad
SI [X] **NO** [ ]

(33) País de Origen	(32) Fecha	(31) Número de Solicitud
US	Mayo 23, 2008	61/055.500

(9) **Comprobante de pago No.** 10- **Fecha** Diciembre de 2010

ANEXOS

2

- [x] Comprobante de pago de la tasa de presentación de la solicitud.
- [x] Documento que acredita la existencia y representación legal cuando el solicitante sea persona jurídica.
- [x] Poderes, si fuere el caso. Adjunto copia simple ver expediente No. 10-030398
- [ ] Documento de cesión del inventor al solicitante o a su causante.
- [ ] Declaraciones.
- [x] Copia de la solicitud internacional. (Resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos).
- [x] Traducción de la solicitud internacional al castellano. (Resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos). Secuencias.
- [ ] Copia del examen preliminar internacional efectuado por la Autoridad Internacional de Examen Preliminar (IPEA).
- [ ] Traducción del examen preliminar internacional efectuado por la IPEA.
- [ ] De ser el caso, copia del contrato de acceso.
- [ ] De ser el caso, documento que acredite la licencia o autorización de uso de conocimientos tradicionales de las comunidades indígenas.
- [ ] De ser el caso, certificado de depósito del material biológico.
- [ ] Arte final 12 x 12.
- [ ] De ser el caso, información sobre otras solicitudes de patente o títulos obtenidos en el extranjero por el mismo titular o su causante, relacionadas parcial o totalmente con la invención de esta solicitud.
- [ ] De ser el caso, modificaciones efectuadas a la solicitud internacional.
- [x] Otros. Búsqueda Internacional

(11) **FIGURA CARACTERÍSTICA:**

(12) Solicito la concesión de la patente,

NOMBRE: CARLOS R. OLARTE FIRMA:

C.C. 79.782.747 Btá T.P. 74.295

Instrucciones para el diligenciamiento del presente formulario, ver reverso de esta página.

LISTA DE INVENTORES

PCT/US2009/045182

1. Laird BLOOM,
82 Falcon Street,
Needham, MA 02492
Estados Unidos
Nacionalidad: Estadounidense

2. Davinder GILL,
20 Charlotte Drive,
Andover, MA 01810
Estados Unidos
Nacionalidad: Estadounidense

3. Yulia VUGMEYSTER,
37 Riverside Drive,
North Reading, MA 01864
Estados Unidos
Nacionalidad: Estadounidense

4. Deborah A. YOUNG,
39 Nelson Road,
Melrose, MA 02176
Estados Unidos
Nacionalidad: Estadounidense

5. David LOWE,
Milstein Building,
Granta Park, Cambridge CB21 6GH
Gran Bretaña
Nacionalidad: Británica

6. Viia VALGE-ARCHER,
Milstein Building, Granta,
Park, Cambridge CB21 6GH
Gran Bretaña
Nacionalidad: Británica

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

No. 10-160884- -00000-0000

Fecha: 2010-12-22 13:05:37 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 309

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

NIT : 800176089-2

RECIBO OFICIAL DE CAJA : 10 - 109,369
FECHA : DICIEMBRE 22 DE 2010

***** C O N S I G N A C I O N *****

DEPOSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PGO	Vr. PAGO
OLARTE RAISBEK	CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	387590405	22/12/2010	4,986,000.00

***** C O N C E P T O *****

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	TOTAL CONCEPTO
1	50005-01-01 SOLICITUDES	1 TRAMITES DE SOL. DE PATENTE DE IN	554,000.00
		TOTAL : $	554,000.00

SON: QUINIENTOS CINCUENTA Y CUATRO MIL PESOS

RESPONSABLE : _____

RECIBO DE CAJA APLICADO AL EXPEDIENTE No._____

7 700037 836803

ESCRITURA PÚBLICA NÚMERO:

CINCO MIL CIENTO UNO (5101)

FECHA DE OTORGAMIENTO:

CUATRO (4) DE JUNIO DE DOS MIL DIEZ (2010)

NOTARIA TREINTA Y OCHO (38) DEL CÍRCULO DE BOGOTA D.C.----------

CODIGO NOTARIAL 1100100038.----------

SUPERINTENDENCIA DE NOTARIADO Y REGISTRO.----------

FORMULARIO DE CALIFICACION.----------

CLASE DE ACTO: PROTOCOLIZACION DE DOCUMENTOS.----------

PERSONAS QUE INTERVIENEN: CARLOS REINALDO OLARTE, identificado con cedula de ciudadanía numero 79,782,747 expedida en Bogotá D.C.----------

En la ciudad de Bogotá, Distrito Capital, Departamento de Cundinamarca, República de Colombia, a los CUATRO (04) días del mes de JUNIO de dos mil diez (2.010), ante mí EDUARDO DURAN GOMEZ. **NOTARIO TREINTA Y OCHO (38E) DEL CIRCULO DE BOGOTA D.C.**----------

Compareció con minuta escrita el señor **CARLOS REINALDO OLARTE,** mayor de edad, con domicilio y residencia en la ciudad de Bogotá, identificado con la cedula de ciudadanía número 79,782,747 de Bogotá D.C., de estado civil Casado, con sociedad conyugal vigente, quien manifestó su propósito de celebrar el acto que define las siguientes estipulaciones: ----------

PRIMERA.- Que presenta para su Protocolización los siguientes documentos:----

1° Traducción oficial de un documento que esta originalmente en ingles contenida en cuatro (4) folios utiles y es del siguiente tenor: ----------

PODER GENERAL.- WYETH LLC.- domiciliado en Five Giralda Farms Madison, NJ 07940 United States of America.- nombramos por el presente a **Carlos R. Olarte y/o J. Ian Raisbeck y/o Juan Guillermo Moure y/o Natalia Castro,** nuestros, representantes legales con facultades para recibir notificaciones y nombrar apoderados judiciales o extrajudiciales en materia de patentes, los cuales quedan a su vez facultados para representarnos ante las autoridades de cualquier jerarquía de la República de Colombia, la República de Bolivia, la República del Ecuador, la República del Perú y la República Bolivariana de Venezuela, ya sean

PAPEL DE USO EXCLUSIVO DEL PROTOCOLO NOTARIAL . NO TIENE COSTO PARA EL USUARIO

administrativas, judiciales o de policia, para iniciar ante dichas autoridades todas las acciones necesarias para cumplir con el objeto indicado e intervenir en todas las instancias, grados o etapas procesales; elevar y tramitar solicitudes, declaraciones y reclamos, para demandar, reconvenir, contestar demandas y reconvenciones, formular descripciones, enmiendas, oposiciones y todo tipo de impugnaciones y escritos de cualquier naturaleza; instaurar cancelaciones y amparos administrativos; abonar todos los impuestos y cuotas y efectuar cualquier otro pago determinado por la ley; recibir todos los documentos y valores; intervenir como demandantes o demandados ante los jueces que sean competentes, pudiendo solicitar medidas cautelares de cualquier naturaleza, conciliar, transar, someter a árbitros, desistirse de la pretensión y/o el procedimiento, allanarse a la pretensión, percibir, ratificar los actos jurídicos procesales suscritos con anterioridad al otorgamiento y/o presentación del presente poder, sustituir o delegar la presentación procesal y los demás actos que exprese la ley, con todas las demás facultades que resulten necesarias; llenar cualesquiera otros requisitos y tomar, en fin, todas las medidas que creyeren conducentes al resguardo de nuestro interes.- Firma: Gregg C. Benson.- Fecha: 4 MAY 2010.- Ciudad, País: GROTON, CONNECTICUT USA.----------

CERTIFICACION NOTARIAL.- En esta fecha, May 6 2010.- el Notario Público suscrito certifica: ----------

1. Que GREGG C. BENSON mayor de edad y domiciliado en EASTERN POINT ROAD, GROTON, CONNECTICUT USA suscribó el documento que antecede.-----

2. Que el otorgante ha suscrito el referido documento en su carácter de ATTORNEY-IN-FACT de WYETH LLC.----------

3. Que WYETH LLC con sede principal ubicada en Five Giralda Farms Madison, NJ 07940 United States of America está legalmente constituida, que tiene existencia legal vigente y que los propósitos para los cuales se otorga el poder se encuentra dentro de los que comprenden su objeto social.----------

4. Que el otorgante tiene la representación para suscribir el poder, y que está es legitima.----------

5. El fundamento de mis certificaciones contenidas en los puntos 2,3 y 4 fue la exhibición de los (del) siguiente(s) documento(s) auténticado(s): Power of Attorney executed on November 16, 2009.- NOTARY PUBLIC (Signature): (Firmado).-

6

Nancy M. George.- My Commission Expires 30 June 2011.- (Sellado).----------

TRADUCCION OFICIAL DE UN DOCUMENTO QUE ESTA ORIGINALMENTE EN INGLES.- Sello: "El Distrito de Columbia: SS. Suscrito y juramentado ante mi, este día 7 de mayo de 2010 (firmado) Lisa Renee Johnson, Notario Públic, Distrito de Columbia.- Mi nombramiento expira el 14 de octubre de 2011.".- (Hay otra firma ilegible).- Apostilla adjunta: Distrito de Columbia.- APOSTILLA: (Convention de La Haye du 5 octobre 1961).----------

1. País: Estados Unidos de América.- El presente documento público.----------

2. Ha sido firmado por: Lisa Renee Johnson.- Notario Público en y para el Distrito de Columbia.----------

3. Actuando en calidad de: Lisa Renee Johnson, Notario Público en y para el Distrito de Columbia.----------

4. Lleva el sello/estampilla de: Certificado.----------

5. En: Washington D.C.----------

6. El: Día 7 de mayo de 2010.----------

7. Por: El Secretario del Distrito de Columbia.----------

8. Bajo el No.: 229806.----------

9. Sello / estampilla: Distrito de Columbia.- (Firmado).----------

10. Firma: Stephanie D.Scott.- Traductor Oficial.- JORGE E. SIERRA REYES.- Licencia 376-1993 Minjusticia.- MINISTERIO DE RELACIONES EXTERIORES 160507 JORGE SIERRA CUYA FIRMA APARECE EN EL DOCUMENTO DESEMPEÑA LAS FUNCIONES INDICADAS.- NO ASUME RESPONSABILIDAD DEL TEXTO 2010 MAY 27 A 10:17 (FIRMADO) JEFE DE LEGALIZACIONES BOGOTA D.C.----------

DISTRICT OF COLUMBIA.- APOSTILLE.- (Convention de La Haye du 5 octobre 1961).----------

1. District of Columbia United States of America.----------

2. This public document has been sogned by LISA RENEE JOHNSON.----------

3. acting on the capacity of NOTARY PUBLIC IN AND FOR THE DISTRICT OF COLUMBIA LISA RENEE JOHNSON, NOTARY PUBLIC IN AND FOR THE.-------

4. bears the seal/stamp of DISTRICT OF COLUMBIA.- CERTIFIED.----------

PAPEL DE USO EXCLUSIVO DEL PROTOCOLO NOTARIAL . NO TIENE COSTO PARA EL USUARIO

5. at Washington, D.C.----------

6. the 7 day of MAY 2010.----------

7. by Secretary of the District of Columbia.----------

8. No. 229806.----------

9. Seal/Stamp.----------

10. Signature.- (Firmado) Stephanie D. Scott.----------

SEGUNDA.-Que de conformidad con lo expuesto y atendiendo a las prescripciones del artículo 47 del Decreto 960 de 1970, el documento mencionado, contenidos en cuatro (4) folios útiles, quedan legalmente protocolizados ante el Notario Treinta y Ocho (38) del Círculo Bogotá, de manera que desde ahora quedan bajo su custodia y guarda para que surtan los efectos legales a que haya lugar y los interesados puedan consultarlos y obtener las copias que de el solicite.-

---------- HASTA AQUÍ EL CONTENIDO -DE LA MINUTA ----------

SE ADVIRTIÓ al (a los) otorgante (s) de esta Escritura de la **obligación que tiene (n) de leer la totalidad de su texto,** a fin de verificar la exactitud de todos los datos en ella consignados con el fin de aclarar, modificar o corregir lo que le(s) pareciere; la firma de la misma demuestra su aprobación total del texto. ----------

Se advierte igualmente la necesidad de diligenciar los espacios en blanco correspondientes a la información personal y de trabajo consignados en el espacio destinado para la firma de los suscriptores del instrumento publico, con el objeto de confrontar la información solicitada con el contenido de la escritura previo a la autorización de la misma. ----------

En consecuencia, la notaria no asume ninguna responsabilidad por error o inexactitudes establecidas con posterioridad a la firma del (los) otorgante (s) y del notario. ----------

En tal caso, de la existencia de estos, deben ser corregidos mediante el otorgamiento de una nueva escritura, suscrita por el (los) que intervino (eron) en la inicial y sufragada por el (ellos) mismo (s). (Articulo 35 decreto ley 960 de 1.970).----------

ADVERTENCIA PARA TODOS LOS COMPARECIENTES QUE EXTIENDAN Y OTORGUEN INSTRUMENTOS, SEGÚN ART. 34 C.N., LEY 190 DE 1995,

LEY 333 DE 1996 Y LEY 365 DE 1997. Los comparecientes bajo la gravedad del juramento manifiestan clara y expresamente que todos los dineros, bienes muebles e inmuebles contenidos en este instrumento fueron adquiridos por medios y actividades lícitas. Así como el dinero con el que se efectúa el pago de los gastos notariales. ----------

OTORGAMIENTO Y AUTORIZACIÓN. LEÍDO EL PRESENTE INSTRUMENTO POR EL OTORGANTE Y ADVERTIDO DE SU REGISTRO DENTRO DEL TÉRMINO DE LEY, ESTUVO DE ACUERDO CON ÉL LO ACEPTÓ EN LA FORMA COMO ESTÁ REDACTADO Y EN TESTIMONIO DE QUE LE DA SU ASENTIMIENTO Y APROBACIÓN LO FIRMA POR ANTE MÍ Y CONMIGO EL NOTARIO QUE DE TODO LO EXPUESTO DOY FE Y POR ELLO LO AUTORIZO.----------

CONSTANCIA: EL PRESENTE INSTRUMENTO SE EXTIENDE EN LAS SIGUIENTES HOJAS DE PAPEL NOTARIAL Nos.

/ /00003/ 8568805/ 8568810/ 8568822/

DERECHOS NOTARIALES: RESOLUCIÓN No. 10301 DEL 17 DE DICIEMBRE DE 2.009. $ 42.860

CARLOS REINALDO OLARTE

C. C. No. 79782747 de Bogotá

ESTADO CIVIL: CASADO

DIRECCIÓN RESIDENCIA:

DIRECCIÓN OFICINA: Diagonal 34 No 5-28

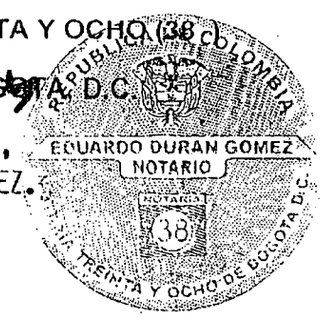
TELEFONO RESIDENCIA:

TELEFONO OFICINA: 601 7700

CELULAR: 315 7901625

EL(LA) NOTARIO (A) TREINTA Y OCHO (38) DEL CIRCULO DE BOGOTA, D.C.

EDUARDO DURAN GOMEZ.



YanethG/201005163

Traducción oficial de un documento que está originalmente en inglés

Sello: "El Distrito de Columbia: SS. Suscrito y juramentado ante mí, este día 7 de mayo de 2010 (firmado) Lisa Renee Johnson, Notario Públic, Distrito de Columbia. Mi nombramiento expira el 14 de octubre de 2011."

(Hay otra firma ilegible).

Apostilla adjunta:

Distrito de Columbia	
APOSTILLA:	
(Convention de La Haye du 5 octobre 1961)	
1. País:	Estados Unidos de América
El presente documento público	
2. Ha sido firmado por:	Lisa Renee Johnson
3. Actuando en calidad de:	Notario Público en y para el Distrito de Columbia
4. Lleva el sello/estampilla de:	Lisa Renee Johnson, Notario Público en y para el Distrito de Columbia
Certificado	
5. En:	Washington D.C.
6. El:	Día 7 de mayo de 2010
7. Por:	El Secretario del Distrito de Columbia
8. Bajo el No.:	229806
9. Sello / estampilla:	Distrito de Columbia
10. Firma:	(Firmado) Stephanie D. Scott.

Fin de la traducción

Traductor Oficial
JORGE E. SIERRA REYES
Licencia 376 - 1993 Minjusticia

MINISTERIO DE
RELACIONES
EXTERIORES

160507

CUYA FIRMA APARECE EN EL
DOCUMENTO DESEMPEÑA
LAS FUNCIONES INDICADAS

NO ASUME
RESPONSABILIDAD
DEL TEXTO

2010 MAY 27 A 10:17

JEFE [illegible] LEGALIZACIONES
BOGOTA D.C.

9

Apostille

(Convention de La Haye du 5 octobre 1961)

1. *District of Columbia*
   United States of America
2. This public document has been signed by LISA RENEE JOHNSON
3. acting in the capacity of NOTARY PUBLIC IN AND FOR THE DISTRICT OF COLUMBIA
4. bears the seal/stamp of LISA RENEE JOHNSON, NOTARY PUBLIC IN AND FOR THE DISTRICT OF COLUMBIA

CERTIFIED

5. at Washington, D.C.
6. the 7 day of MAY 2010
7. by *Secretary of the District of Columbia*
8. No. 229806
9. Seal/Stamp

10. Signature

Stephanie D. Scott

86 - PO138

OLARTERAISBECK
OLARTE RAISBECK MOURE & CASTRO LTDA.

Carlos R. Olarte
J. Ian Raisbeck
Juan Guillermo Moure
Natalia Castro

Alexander Agudelo
Ángela Correa
Erika Rico
Carlos A. Parra
Gina Arias
Juan Felipe Acosta
Andrés Rincón
Mariana Franco
Monica Guevara
Alvaro Sabbagh

Of Counsel
Guillermo Chahín
Graciela Melo
Jacqueline Chaparro
Cruz E. de Moncaleano

The undersigned, **General Power**

El suscrito, **Poder General**

WYETH LLC

domiciled in

domiciliado en

Five Giralda Farms Madison, NJ 07940 United States of America

by means of these presents hereby grants to **Carlos R. Olarte y/o J. Ian Raisbeck y/o Juan Guillermo Moure y/o Natalia Castro** , legal representatives with faculties to receive notifications and to appoint judicial or extrajudicial agents in patent matters, who at the same time have the faculty to represent us before the administrative, judicial or police authorities of any hierarchy of the Republic of Colombia, the Republic of Bolivia, the Republic of Ecuador, the Republic of Peru, and the Bolivarian Republic of Venezuela, to initiate before said authorities all the necessary actions to accomplish said purposes and to intervene in all instances, grades and procedural levels; to file and prosecute applications, declarations, complaints, to claim, counterclaim, answer claims and counterclaims; to draw up specifications; to make amendments; oppositions and all types of objections and writings of any nature; cancellations and administrative injunction proceedings; to pay all installments and effect all other payments prescribed by law; to receive documents and monies; act as complainants as well as defendants, before the competent judges, with full powers to request preliminary injunctions of any nature, settle, make arrangements, to submit to arbitrators, to desist from claims or procedures, to accept claims, to collect, to ratify legal proceedings subscribed before the appointment and/or presentation of this Power, substitute or delegate the legal representation and other acts prescribed by law, in short, with all such further powers as may be required; to comply with all other requirements and, to take all those measures which they may deem fit for the protection of our interests.

nombramos por el presente a **Carlos R. Olarte y/o J. Ian Raisbeck y/o Juan Guillermo Moure y/o Natalia Castro**, nuestros representantes legales con facultades para recibir notificaciones y nombrar apoderados judiciales o extrajudiciales en materia de patentes, los cuales quedan a su vez facultados para representarnos ante las autoridades de cualquier jerarquía de la República de Colombia, la República de Bolivia, la República del Ecuador, la República del Perú y la República Bolivariana de Venezuela, ya sean administrativas, judiciales o de policía, para iniciar ante dichas autoridades todas las acciones necesarias para cumplir con el objeto indicado e intervenir en todas las instancias, grados o etapas procesales; elevar y tramitar solicitudes, declaraciones y reclamos, para demandar, reconvenir, contestar demandas y reconvenciones; formular descripciones, enmiendas, oposiciones y todo tipo de impugnaciones y escritos de cualquier naturaleza; instaurar cancelaciones y amparos administrativos; abonar todos los impuestos y cuotas y efectuar cualquier otro pago determinado por la ley; recibir todos los documentos y valores; intervenir como demandantes o demandados ante los jueces que sean competentes, pudiendo solicitar medidas cautelares de cualquier naturaleza, conciliar, transar, someter a árbitros, desistirse de la pretensión y/o el procedimiento, allanarse a la pretensión, percibir, ratificar los actos jurídicos procesales suscritos con anterioridad al otorgamiento y/o presentación del presente poder, sustituir o delegar la representación procesal y los demás actos que exprese la ley, con todas las demás facultades que resulten necesarias; llenar cualesquiera otros requisitos y tomar, en fin, todas las medidas que creyeren conducentes al resguardo de nuestros intereses.

Signature/Firma: Gregg C. Benson
Attorney-in-Fact

Date/Fecha: 4 MAY 2010

City,Country/Ciudad,País: GROTON, CONNECTICUT USA

5/7 Colombia NC

PAGE 12

OLARTERAISBECK
OLARTE RAISBECK MOURE & CASTRO LTDA.

MODEL OF NOTARIAL CERTIFICATION

Notarial Certification

On this date, May 6, 2010
The undersigned Notary Public certifies:

1. That

of legal age and domiciled in
EASTERN POINT ROAD, GROTON, CONNECTICUT USA
signed the foregoing document.

2. That the grantor has executed the foregoing document as ATTORNEY-IN-FACT of **WYETH LLC**

3. That **WYETH LLC**
having its principal place of business located in
Five Giralda Farms Madison, NJ 07940
United States of America
is duly incorporated, is currently in existence, and that the purposes for which the General Power is granted are within the scope of its corporate purposes.

4. That the grantor has the authority to execute the General Power and that his/her representation is legal.

5. The foundation for my certifications contained in points 2, 3 and 4 was the exhibition of the following authentic document(s):
Power of Attorney executed on November 16, 2009

NOTARY PUBLIC (Signature): _____
Nancy M. George

NANCY M. GEORGE
Notary Public
My Commission Expires 30 June 2011

Certificación Notarial

En esta fecha,

el Notario Público suscrito certifica:

1. Que
GREGG C. BENSON
mayor de edad y domiciliado
suscribió el documento que antecede.

2. Que el otorgante ha suscrito el referido documento en su carácter de
de

4. Que
con sede principal ubicada en

está legalmente constituida, que tiene existencia legal vigente y que los propósitos para los cuales se otorga el poder se encuentra dentro de los que comprenden su objeto social.

4. Que el otorgante tiene la representación para suscribir el poder, y que ésta es legitima.

5. El fundamento de mis certificaciones contenidas en los puntos 2, 3 y 4 fue la exhibición de los (del) siguiente(s) documento(s) auténtico(s):

The District of Columbia: SS
subscribed and sworn to before me
this 1st day of Nov 2010

Lisa Renee Johnson
Notary Public, DC
My commission expires 10/14/2011

TERCERA (3) COPIA (FOTOCOPIA) DE LA

ESCRITURA No. 5101 DE FECHA CUATRO DEL MES

DE JUNIO DE 2010 TOMADA DE SU ORIGINAL

CONFORME AL ART. 41 DEL DECRETO 2148 DE 1983, QUE SE EXPIDE EN

BOGOTA D.C., A OCHO DEL MES DE JUNIO

DE DOS MIL DIEZ (2010), EN SIETE

(07) FOLIOS UTILES CON DESTINO A: EL INTERESADO

EDUARDO DURAN GOMEZ

NOTARIO TREINTA Y OCHO (38).

REPUBLICA DE COLOMBIA
NOTARIA 38 DE BOGOTA, D.C.

(12) INTERNATIONAL APPLICATION PUBLISHED UNDER THE PATENT COOPERATION TREATY (PCT)

(19) World Intellectual Property Organization
International Bureau

(43) International Publication Date
26 November 2009 (26.11.2009)

PCT

(10) International Publication Number
WO 2009/143523 A1

(51) International Patent Classification:
C07K 14/715 (2006.01) *C07K 16/28* (2006.01)

(21) International Application Number:
PCT/US2009/045182

(22) International Filing Date:
26 May 2009 (26.05.2009)

(25) Filing Language: English

(26) Publication Language: English

(30) Priority Data:
61/055,500 23 May 2008 (23.05.2008) US

(71) Applicants *(for all designated States except US)*: **WYETH** [US/US]; Five Giralda Farms, Madison, NJ 07940 (US). **MEDIMMUNE LIMITED** [GB/GB]; Milstein Building, Granta Park, Cambridge CB21 6GH (GB).

(72) Inventors; and

(75) Inventors/Applicants *(for US only)*: **BLOOM, Laird** [US/US]; 82 Falcon Street, Needham, MA 02492 (US). **GILL, Davinder** [US/US]; 20 Charlotte Drive, Andover, MA 01810 (US). **VUGMEYSTER, Yulia** [US/US]; 37 Riverside Drive, North Reading, MA 01864 (US). **YOUNG, Deborah, A.** [US/US]; 39 Nelson Road, Melrose, MA 02176 (US). **LOWE, David** [GB/GB]; Milstein Building, Granta Park, Cambridge CB21 6GH (GB). **VALGE-ARCHER, Viia** [GB/GB]; Milstein Building, Granta Park, Cambridge CB21 6GH (GB).

(74) Agent: **MOLENDA, Victoria, S.**; Fitzpatrick, Cella, Harper & Scinto, 1290 Avenue of the Americas, New York, NY 10104-3800 (US).

(81) Designated States *(unless otherwise indicated, for every kind of national protection available)*: AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

(84) Designated States *(unless otherwise indicated, for every kind of regional protection available)*: ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), Eurasian (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), European (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Published:

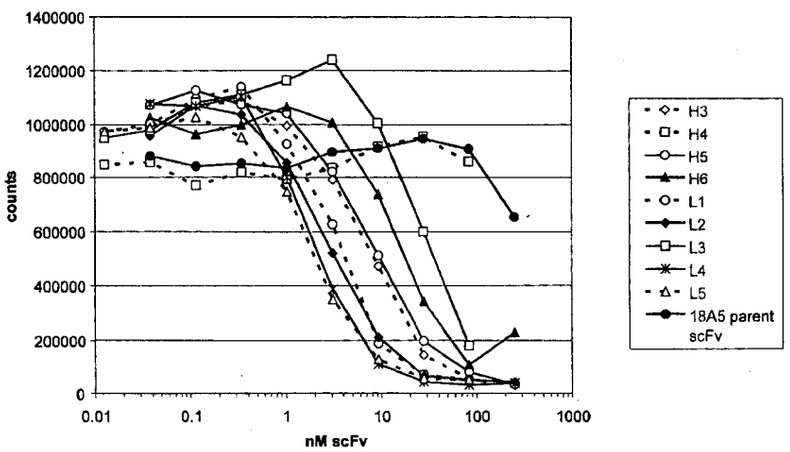
— *with international search report (Art. 21(3))*

— *before the expiration of the time limit for amending the claims and to be republished in the event of receipt of amendments (Rule 48.2(h))*

— *with sequence listing part of description (Rule 5.2(a))*

(54) **Title**: INTERLEUKIN-21 RECEPTOR BINDING PROTEINS

Figure 1a



(57) **Abstract**: The present invention provides binding proteins and antigen-binding fragments thereof that specifically bind to the human interleukin-21 receptor (IL-21R). The binding proteins can act as, e.g., antagonists of IL-21R activity, thereby modulating immune responses in general, and those mediated by IL-21R in particular. The disclosed compositions and methods may be used, e.g., in diagnosing and/or treating IL-21R-associated disorders, e.g., inflammatory disorders, autoimmune diseases, allergies, transplant rejection, cancer, and other immune system disorders.

WO 2009/143523 A1

INTERLEUKIN-21 RECEPTOR BINDING PROTEINS

Related Applications

[0001] This application claims the benefit of priority from U.S. Provisional Patent Application No. 61/055,500, filed May 23, 2008, the content of which is hereby incorporated by reference herein in its entirety.

BACKGROUND OF THE INVENTION

Field of the Invention

[0002] The present invention relates to binding proteins and antigen-binding fragments thereof that bind interleukin-21 receptor (IL-21R), in particular, human IL-21R, and their use in regulating IL-21R-associated activities. The binding proteins disclosed herein are useful in treating and/or diagnosing IL-21R-associated disorders, e.g., inflammatory disorders, autoimmune diseases, allergies, transplant rejection, hyperproliferative disorders of the blood, and other immune system disorders.

Related Background Art

[0003] Antigens initiate immune responses and activate the two largest populations of lymphocytes: T cells and B cells. After encountering antigen, T cells proliferate and differentiate into effector cells, while B cells proliferate and differentiate into antibody-secreting plasma cells. These effector cells secrete and/or respond to

cytokines, which are small proteins (less than about 30 kDa) secreted by lymphocytes and other cell types.

[0004] Human IL-21 is a cytokine that shows sequence homology to IL-2, IL-4 and IL-15 (Parrish-Novak et al. (2000) *Nature* 408:57-63). Despite low sequence homology among interleukin cytokines, cytokines share a common fold into a "four-helix-bundle" structure that is representative of the family. Most cytokines bind either class I or class II cytokine receptors. Class II cytokine receptors include the receptors for IL-10 and the interferons, whereas class I cytokine receptors include the receptors for IL-2 through IL-7, IL-9, IL-11, IL-12, IL-13, and IL-15, as well as hematopoietic growth factors, leptin, and growth hormone (Cosman (1993) *Cytokine* 5:95-106).

[0005] Human IL-21R is a class I cytokine receptor. The nucleotide and amino acid sequences encoding human IL-21 and its receptor (IL-21R) are described in International Application Publication Nos. WO 00/053761 and WO 01/085792; Parrish-Novak et al. (2000) *supra*; and Ozaki et al. (2000) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 97:11439-44. IL-21R has the highest sequence homology to the IL-2 receptor β chain and the IL-4 receptor α chain (Ozaki et al. (2000) *supra*). Upon ligand binding, IL-21R associates with the common gamma cytokine receptor chain (γc) that is shared by receptor complexes for IL-2, IL-3, IL-4, IL-7, IL-9, IL-13 and IL-15 (Ozaki et al. (2000) *supra*; Asao et al. (2001) *J. Immunol.* 167:1-5).

[0006] IL-21R is expressed in lymphoid tissues, particularly on T cells, B cells, natural killer (NK) cells, dendritic cells (DC) and macrophages (Parrish-Novak et al. (2000) *supra*), which allows these cells to respond to IL-21 (Leonard and Spolski (2005) *Nat. Rev. Immunol.* 5:688-98). The widespread lymphoid distribution of IL-21R indicates that IL-21 plays an important role in immune regulation. *In vitro* studies have shown that IL-21 significantly modulates the function of B cells, $CD4^+$ and $CD8^+$ T cells, and NK cells (Parrish-Novak et al. (2000) *supra*; Kasaian et al. (2002) *Immunity* 16:559-69). Recent evidence suggests that IL-21–mediated signaling can have antitumor activity (Sivakumar et al. (2004) *Immunology*

112:177-82), and that IL-21 can prevent antigen-induced asthma in mice (Shang et al. (2006) *Cell. Immunol.* 241:66-74).

[0007] In autoimmunity, disruption of the IL-21 gene and injection of recombinant IL-21 have been shown to modulate the progression of experimental autoimmune myasthenia gravis (EAMG) and experimental autoimmune encephalomyelitis (EAE), respectively (King et al. (2004) *Cell* 117:265-77; Ozaki et al. (2004) *J. Immunol.* 173:5361-71; Vollmer et al. (2005) *J. Immunol.* 174:2696-2701; Liu et al. (2006) *J. Immunol.* 176:5247-54). In these experimental systems, it has been suggested that the manipulation of IL-21–mediated signaling directly altered the function of $CD8^+$ cells, B cells, T helper cells, and NK cells.

SUMMARY OF THE INVENTION

[0008] The present invention describes the isolation and characterization of binding proteins, for example, human antibodies and fragments thereof, that specifically bind to the human and murine IL-21R. The binding proteins described herein are derived from antibody 18A5, which is disclosed in U.S. Patent No. 7,495,085, the entirety of which is hereby incorporated by reference herein. The binding proteins of the present invention have a much greater degree of affinity to human and/or murine IL-21R than does the parental 18A5 antibody.

[0009] The invention provides, at least in part, IL-21R binding agents (such as binding proteins and antigen-binding fragments thereof) that bind to IL-21R, in particular, human IL-21R, with high affinity and specificity. The binding proteins, and antigen-binding fragments thereof, of the present invention are also referred to herein as "anti-IL-21R binding proteins" and "fragments thereof," respectively. In one embodiment, the binding protein or fragment thereof reduces, inhibits, or antagonizes IL-21R activity. Such binding proteins can be used to regulate immune responses or IL-21R-associated disorders by antagonizing IL-21R activity. In other embodiments, the anti-IL-21R binding protein can be used diagnostically, or as a targeting binding protein to deliver a therapeutic or cytotoxic agent to an IL-21R-

expressing cell. Thus, the anti-IL-21R binding proteins of the invention are useful in diagnosing and treating IL-21R-associated disorders, e.g., inflammatory disorders, autoimmune diseases, allergies, transplant rejection, hyperproliferative disorders, and other immune system disorders.

[0010] Accordingly, in one aspect, the binding proteins of the invention feature an isolated binding protein (e.g., an isolated antibody) or antigen-binding fragment thereof that binds to IL-21R, in particular, human IL-21R. In certain embodiments, the anti-IL-21R binding protein (e.g., antibody) can have one or more of the following characteristics: (1) it is a monoclonal or single specificity binding protein; (2) it is a human binding protein; (3) it is an *in vitro*-generated binding protein; (4) it is an *in vivo*-generated (for example, a transgenic mouse system) binding protein; (5) it inhibits the binding of IL-21 to IL-21R; (6) it is an IgG1; (7) it binds to human IL-21R with an association constant of at least about 10^5 $M^{-1}s^{-1}$; (8) it binds to murine IL-21R with an association constant of at least about $5x10^4$ $M^{-1}s^{-1}$; (9) it binds to human IL-21R with a dissociation constant of about $10^{-3}s^{-1}$ or less; (10) it binds to murine IL-21R with a dissociation constant of about $10^{-2}s^{-1}$ or less; (11) it inhibits human IL-21R-mediated proliferation of human IL-21R-expressing BaF3 cells with an IC_{50} of about 1.75 nM or less; (12) it inhibits murine IL-21R-mediated proliferation of murine IL-21R-expressing BaF3 cells with an IC_{50} of about 0.5 nM or less; (13) it inhibits human IL-21R-mediated proliferation of human IL-21R-expressing TF1 cells with an IC_{50} of about 14.0 nM or less; (14) it inhibits IL-21-mediated proliferation of human primary B cells with an IC_{50} of about 1.9 nM or less; (15) it inhibits IL-21-mediated proliferation of human primary $CD4^+$ T cells with an IC_{50} of about 1.5 nM or less; and (16) it inhibits IL-21-mediated proliferation of murine primary $CD4^+$ T cells with an IC_{50} of about 5.0 nM or less.

[0011] Nonlimiting illustrative embodiments of the binding proteins of the invention (the term "binding proteins" also includes and refers to antigen-binding fragments thereof, as appropriate) are referred to herein as AbA-AbZ, and correlation of these terms with terms used in U.S. Provisional Patent Application No. 61/055,500 is

presented in **Table 2A**. Other illustrative embodiments of the binding proteins of the present invention, i.e., scFv, are referred to herein as H3-H6, L1-L6, L8-L21, and L23-L25, as detailed in **Table 2B**.

[0012] One embodiment of the present invention is an isolated binding protein or antigen-binding fragment thereof that binds to IL-21R, wherein the binding protein or antigen-binding fragment thereof comprises at least one amino acid sequence that is at least about 95% identical to an amino acid sequence(s) selected from the group consisting of SEQ ID NOs:14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46, 48, 50, 52, 54, 56, 58, 60, 62, 64, 66, 68, 70, 72, 74, 76, 78, 80, 82, 84, 86, 88, 90, 92, 94, 96, 98, 100, 102, 104, 106, 108, 110, 112, 114, 116, 118, 120, 122, 124, 126, 128, 130, 132, 134, 136, 138, 140, 142, 144, 146, 148, 150, 152, 154, 156, 158, 160, 162, 165-168, 171-193, 213-229, 240, 242, 244, 246, and 248. The isolated binding protein or antigen-binding fragment can be, for example, an antibody, an scFv, a V_H, a V_L, or a CDR.

[0013] Another embodiment of the present invention is an isolated binding protein or antigen-binding fragment thereof that binds to IL-21R, wherein the binding protein or antigen-binding fragment thereof comprises at least one amino acid sequence encoded by a nucleotide sequence that is at least about 95% identical to a nucleotide sequence(s) selected from the group consisting of SEQ ID NOs:13, 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, 45, 47, 49, 51, 53, 55, 57, 59, 61, 63, 65, 67, 69, 71, 73, 75, 77, 79, 81, 83, 85, 87, 89, 91, 93, 95, 97, 99, 101, 103, 105, 107, 109, 111, 113, 115, 117, 119, 121, 123, 125, 127, 129, 131, 133, 135, 137, 139, 141, 143, 145, 147, 149, 151, 153, 155, 157, 159, 161, 239, 241, 243, 245, and 247.

[0014] A further embodiment of the present invention is an isolated binding protein or antigen-binding fragment comprising at least one amino acid sequence selected from the group consisting of SEQ ID NOs:14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46, 48, 50, 52, 54, 56, 58, 60, 62, 64, 66, 68, 70, 72, 74, 76, 78, 80, 82, 84, 86, 88, 90, 92, 94, 96, 98, 100, 102, 104, 106, 108, 110, 112, 114, 116,

118, 120, 122, 124, 126, 128, 130, 132, 134, 136, 138, 140, 142, 144, 146, 148, 150, 152, 154, 156, 158, 160, 162, 165-168, 171-193, 213-229, 240, 242, 244, 246, and 248.

[0015] Yet another embodiment of the present invention is an isolated binding protein or antigen-binding fragment thereof that binds to IL-21R, wherein the binding protein or antigen-binding fragment thereof comprises at least one amino acid sequence that is at least about 95% identical to an amino acid sequence(s) selected from the group consisting of SEQ ID NOs:6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46, 48, 50, 52, 54, 56, 58, 60, 62, 64, 66, 68, 70, 72, 74, 76, 78, 80, 82, 84, 86, 88, 90, 92, 94, 96, 98, 100, 102, 104, 106, 108, 110, 112, 114, 116, 118, 120, 122, 124, 126, 128, 130, 132, 134, 136, 138, 140, 142, 144, 146, 148, 150, 152, 154, 156, 158, 160, 162-195, 213-229, 240, 242, 244, 246, and 248, and wherein, if the binding protein or antigen-binding fragment comprises at least one amino acid sequence that is at least about 95% identical to the sequence(s) selected from the group consisting of SEQ ID NOs:6, 8, 10, 12, 163, 164, 169, 170, 194, and 195, then the binding protein or antigen-binding fragment must also comprise at least one amino acid sequence that is at least about 95% identical to the amino acid sequence(s) selected from the group consisting of SEQ ID NOs:14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46, 48, 50, 52, 54, 56, 58, 60, 62, 64, 66, 68, 70, 72, 74, 76, 78, 80, 82, 84, 86, 88, 90, 92, 94, 96, 98, 100, 102, 104, 106, 108, 110, 112, 114, 116, 118, 120, 122, 124, 126, 128, 130, 132, 134, 136, 138, 140, 142, 144, 146, 148, 150, 152, 154, 156, 158, 160, 162, 165-168, 171-193, 213-229, 240, 242, 244, 246, and 248.

[0016] Yet another embodiment of the present invention is an isolated binding protein or antigen-binding fragment thereof that binds to IL-21R, wherein the binding protein or antigen-binding fragment thereof comprises at least one amino acid sequence encoded by a nucleotide sequence that is at least about 95% identical to a nucleotide sequence(s) selected from the group consisting of SEQ ID NOs:5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, 45, 47, 49, 51, 53,

55, 57, 59, 61, 63, 65, 67, 69, 71, 73, 75, 77, 79, 81, 83, 85, 87, 89, 91, 93, 95, 97, 99, 101, 103, 105, 107, 109, 111, 113, 115, 117, 119, 121, 123, 125, 127, 129, 131, 133, 135, 137, 139, 141, 143, 145, 147, 149, 151, 153, 155, 157, 159, 161, 239, 241, 243, 245, and 247, and wherein, if the binding protein or antigen-binding fragment comprises at least one amino acid sequence encoded by a nucleotide sequence that is at least about 95% identical to the sequence(s) selected from the group consisting of SEQ ID NOs:5, 7, 9, and 11, then the binding protein or antigen-binding fragment must also comprise at least one amino acid sequence encoded by a nucleotide sequence that is at least about 95% identical to the nucleotide sequence(s) selected from the group consisting of SEQ ID NOs:13, 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, 45, 47, 49, 51, 53, 55, 57, 59, 61, 63, 65, 67, 69, 71, 73, 75, 77, 79, 81, 83, 85, 87, 89, 91, 93, 95, 97, 99, 101, 103, 105, 107, 109, 111, 113, 115, 117, 119, 121, 123, 125, 127, 129, 131, 133, 135, 137, 139, 141, 143, 145, 147, 149, 151, 153, 155, 157, 159, 161, 239, 241, 243, 245, and 247.

[0017] Yet a further embodiment of the present invention is an isolated binding protein or antigen-binding fragment comprising at least one amino acid sequence selected from the group consisting of SEQ ID NOs:6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46, 48, 50, 52, 54, 56, 58, 60, 62, 64, 66, 68, 70, 72, 74, 76, 78, 80, 82, 84, 86, 88, 90, 92, 94, 96, 98, 100, 102, 104, 106, 108, 110, 112, 114, 116, 118, 120, 122, 124, 126, 128, 130, 132, 134, 136, 138, 140, 142, 144, 146, 148, 150, 152, 154, 156, 158, 160, 162-195, 213-229, 240, 242, 244, 246, and 248, wherein, if the binding protein or antigen-binding fragment comprises at least one amino acid sequence that is at least about 95% identical to the sequence(s) selected from the group consisting of SEQ ID NOs:6, 8, 10, 12, 163, 164, 169, 170, 194, and 195, then the binding protein or antigen-binding fragment must also comprise at least one amino acid sequence that is at least about 95% identical to the amino acid sequence(s) selected from the group consisting of SEQ ID NOs:14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46, 48, 50, 52, 54, 56, 58, 60, 62, 64, 66, 68, 70, 72, 74, 76, 78, 80, 82, 84, 86, 88, 90, 92, 94, 96, 98, 100, 102,

104, 106, 108, 110, 112, 114, 116, 118, 120, 122, 124, 126, 128, 130, 132, 134, 136, 138, 140, 142, 144, 146, 148, 150, 152, 154, 156, 158, 160, 162, 165-168, 171-193, 213-229, 240, 242, 244, 246, and 248.

[0018] Another embodiment of the present invention is an isolated binding protein or antigen-binding fragment thereof that binds to IL-21R, wherein the binding protein or antigen-binding fragment thereof comprises a light chain and a heavy chain, and wherein the heavy chain comprises at least one amino acid sequence selected from the group consisting of SEQ ID NOs:14, 16, 18, 20, 68, 70, 72, 88, 90, 92, 94, 213, 218, 219, 240, and 242, or a sequence substantially identical thereto (e.g., a sequence substantially identical thereto includes a sequence at least about 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, or more identical thereto), or a sequence substantially homologous thereto (e.g., a sequence substantially homologous thereto includes a sequence at least about 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, or more identical thereto). In a further embodiment, the binding protein or antigen-binding fragment comprises a V_L domain and a V_H domain, and the V_H domain comprises at least one amino acid sequence selected from the group consisting of SEQ ID NOs:14, 16, 18, and 20, or a sequence substantially identical or homologous thereto. Another embodiment of the present invention is an isolated binding protein or antigen-binding fragment thereof that binds to IL-21R, wherein the binding protein or antigen-binding fragment thereof comprises a light chain and a heavy chain, and wherein the light chain comprises at least one amino acid sequence selected from the group consisting of SEQ ID NOs:22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46, 48, 50, 52, 54, 56, 58, 60, 62, 64, 66, 74, 76, 78, 80, 82, 84, 86, 96, 98, 100, 102, 104, 106, 108, 214-217, 220-229, 244, 246, and 248, or a sequence substantially identical or homologous thereto. In a further embodiment, the binding protein or antigen-binding fragment comprises a V_L domain and a V_H domain, and the V_L domain comprises at least one amino acid sequence selected from the group consisting of SEQ ID NOs:22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46, 48, 50, 52, 54, 56, 58, 60, 62, 64, 66, 215, 217, 221, 223,

225, 227, and 229, or a sequence substantially identical or homologous thereto. In yet another embodiment, the heavy chain comprises an amino acid sequence selected from the group consisting of SEQ ID NOs:88, 90, 92, 94, 213, 218, 219, 240, and 242, and the light chain comprises an amino acid sequence selected from the group consisting of SEQ ID NOs:96, 98, 100, 102, 104, 106, 108, 214, 216, 220, 222, 224, 226, 228, 244, 246, and 248, or a sequence substantially identical or homologous thereto.

[0019] The binding proteins of the present invention, e.g., antibodies, can be germlined or nongermlined. They may specifically bind to the same IL-21R epitope or a similar epitope (e.g., an overlapping epitope) to which AbA-AbZ, H3-H6, L1-L6, L8-L21, or L23-L25 bind. In other embodiments, the binding proteins specifically bind to a fragment of IL-21R, e.g., a fragment of at least 10, 20, 50, 75, 100, 150, or 200 amino acids contiguous to the amino acid sequence set forth in SEQ ID NOs:2 or 4, or a sequence that is at least 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% or more identical thereto.

[0020] Another embodiment of the present invention is an isolated binding protein or antigen-binding fragment thereof that binds to an IL-21R epitope that is recognized by a binding protein selected from the group consisting of AbA-AbZ, H3-H6, L1-L6, L8-L21, and L23-L25, wherein the binding protein or antigen-binding fragment competitively inhibits the binding of a binding protein selected from the group consisting of AbA-AbZ, H3-H6, L1-L6, L8-L21, and L23-L25 to human IL-21R. In another embodiment, the binding protein or antigen-binding fragment comprises a heavy chain, a light chain, or an F_v fragment comprising an amino acid sequence selected from the group consisting of SEQ ID NOs:14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46, 48, 50, 52, 54, 56, 58, 60, 62, 64, 66, 68, 70, 72, 74, 76, 78, 80, 82, 84, 86, 88, 90, 92, 94, 96, 98, 100, 102, 104, 106, 108, 110, 112, 114, 116, 118, 120, 122, 124, 126, 128, 130, 132, 134, 136, 138, 140, 142, 144, 146, 148, 150, 152, 154, 156, 158, 160, 162, 165-168, 171-193, 213-229, 240, 242, 244, 246, and 248, or a sequence substantially identical or

homologous thereto. In yet another embodiment, the binding protein or antigen-binding fragment comprises a heavy chain, a light chain, or an F_v fragment comprising an amino acid sequence encoded by a nucleotide sequence selected from the group consisting of SEQ ID NOs:13, 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, 45, 47, 49, 51, 53, 55, 57, 59, 61, 63, 65, 67, 69, 71, 73, 75, 77, 79, 81, 83, 85, 87, 89, 91, 93, 95, 97, 99, 101, 103, 105, 107, 109, 111, 113, 115, 117, 119, 121, 123, 125, 127, 129, 131, 133, 135, 137, 139, 141, 143, 145, 147, 149, 151, 153, 155, 157, 159, 161, 239, 241, 243, 245, and 247, or a sequence substantially identical or homologous thereto.

[0021] In yet other embodiments, the binding protein comprises at least one complementarity determining region (CDR) of these V_H and V_L domains (e.g., one or more, two or more, three or more, four or more, or five or more of contiguous CDRs (e.g., two or more CDRs separated by framework regions (FR) or a linker) or noncontiguous CDRs (e.g., two or more CDRs separated by at least one other CDR and, e.g., FR(s)). For example, the binding protein can include one, two, three or more CDRs of the V_H domain and/or the V_L domain.

[0022] The disclosure provides nucleic acid sequences from the V_H and V_L domains of AbA-AbZ, H3-H6, L1-L6, L8-L21, and L23-L25. Also contemplated are nucleic acid sequences that comprise at least one CDR from AbA-AbZ, H3-H6, L1-L6, L8-L21, and L23-L25. The disclosure also provides vectors and host cells comprising such nucleic acids.

[0023] The binding proteins of the invention can be full-length (e.g., include at least one complete heavy chain and at least one complete light chain), or can include only an antigen-binding fragment (e.g., a Fab, a Fab', a $F(ab')_2$, an Fv, a single chain Fv fragment, an Fd fragment, a dAb fragment, a CDR, or other fragment of a full-length binding protein that retains the ability to specifically bind to an antigen). The binding protein can include a constant region, or a portion thereof, chosen from any of the kappa, lambda, alpha, gamma, delta, epsilon and mu constant region genes. For example, heavy chain constant regions of the various isotypes can be used,

including: IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgM, IgA1, IgA2, IgD, and IgE. The light chain constant region can be chosen from kappa or lambda. The binding protein may be an IgG, or it may also be $IgG1_{\kappa}$ or $IgG1\lambda$.

[0024] The anti-IL-21R binding protein described herein can be derivatized or linked to another functional molecule (such as another peptide or protein, e.g., a Fab fragment). For example, a binding protein of the invention can be functionally linked (e.g., by chemical coupling, genetic fusion, noncovalent association or otherwise) to at least one other molecular entity, such as another binding protein (e.g., a bispecific or a multispecific binding protein), toxin, radioisotope, cytotoxic or cytostatic agent, among others.

[0025] In one embodiment of the invention, the association constant of the binding protein or antigen-binding fragment for human IL-21R is at least about 10^5 $M^{-1}s^{-1}$. In another embodiment, the binding protein or antigen-binding fragment inhibits IL-21-mediated proliferation of BaF3 cells with an IC_{50} of about 1.75 nM or less, and the BaF3 cells comprise a human IL-21R. In another embodiment, the binding protein or antigen-binding fragment inhibits IL-21-mediated proliferation of TF1 cells with an IC_{50} of about 14.0 nM or less, and the TF1 cells comprise a human IL-21R. In another embodiment, the binding protein or antigen-binding fragment inhibits IL-21-mediated proliferation of primary human B cells with an IC_{50} of about 1.9 nM or less, and the B cells comprise a human IL-21R. In yet another embodiment, the binding protein or antigen-binding fragment inhibits IL-21-mediated proliferation of primary human $CD4^+$ cells with an IC_{50} of about 1.5 nM or less, and the $CD4^+$ cells comprise a human IL-21R.

[0026] In one embodiment, the present invention provides a binding protein or antigen-binding fragment that specifically binds to an amino acid sequence that is at least about 95% identical to any sequence of at least 100 contiguous amino acids of SEQ ID NO:2. Another embodiment provides a binding protein or antigen-binding fragment that inhibits the binding of IL-21 to IL-21R. In at least one embodiment,

the binding protein or antigen-binding fragment is IgG1. In at least one embodiment, the binding protein or antigen-binding fragment is human.

[0027] In another aspect, the invention features a pharmaceutical composition containing at least one anti-IL-21R binding protein and a pharmaceutically acceptable carrier. The pharmaceutical composition can further include a combination of at least one anti-IL-21R binding protein and at least one other therapeutic agent (e.g., cytokine and growth factor inhibitors, immunosuppressants, anti-inflammatory agents, metabolic inhibitors; enzyme inhibitors, cytotoxic agents, cytostatic agents, or combinations thereof, as described in more detail herein). Combinations of the anti-IL-21R binding protein and therapeutic agent(s) are also within the scope of the invention. The compositions and combinations of the invention can be used to regulate IL-21R-associated immune disorders, e.g., by modulating IL-21R signaling.

[0028] In one embodiment, the binding proteins of the invention are antibodies. In further embodiments, the antibodies are polyclonal, monoclonal, monospecific, polyspecific, nonspecific, humanized, human, single-chain, chimeric, synthetic, recombinant, hybrid, mutated, grafted, *in vitro*-generated and/or multispecific (e.g., bispecific antibodies formed from at least two intact antibodies).

[0029] Other embodiments of the invention include an isolated nucleic acid encoding an anti-IL-21R binding protein, an expression vector comprising the nucleic acid, and a host cell transformed with the vector. The host cell may be a bacteria, a mammalian cell, a yeast cell, a plant cell, or an insect cell.

[0030] The binding protein may be directly or indirectly labeled with a detectable substance to facilitate detection of the bound or unbound binding protein. Suitable detectable substances include, but are not limited to, various enzymes, prosthetic groups, fluorescent materials, luminescent materials, and radioactive materials.

[0031] In another aspect, the invention provides a method for delivering or targeting an agent, e.g., a therapeutic or a cytotoxic agent, to an IL-21R-expressing cell *in vivo*. The method includes administering an anti-IL-21R binding protein to a subject under

conditions that allow for binding of the binding protein to IL-21R. The binding protein may be coupled to a second therapeutic moiety, e.g., a toxin.

[0032] In another embodiment, the invention provides a diagnostic kit comprising a binding protein or antigen-binding fragment of the present invention.

[0033] Additional aspects of the disclosure will be set forth in part in the description, and in part will be obvious from the description, or may be learned by practicing the invention. The invention is set forth and particularly pointed out in the claims, and the disclosure should not be construed as limiting the scope of the claims. The following detailed description includes exemplary representations of various embodiments of the invention, which are not restrictive of the invention as claimed. The accompanying figures constitute a part of this specification and, together with the description, serve only to illustrate embodiments and not limit the invention.

BRIEF DESCRIPTION OF THE DRAWINGS

[0034] **FIG. 1(a-c)** depicts the neutralization of proliferation of human IL-21R-BaF3 cells by scFv. Cells were mixed with the indicated scFv and then incubated with 100 pg/ml of human IL-21. Proliferation was measured by CELLTITER-GLO® (Promega Corporation, Madison, WI) after 48 hours.

[0035] **FIG. 2(a-c)** depicts the neutralization of proliferation of human IL-21R-TF1 cells by scFv. Cells were mixed with the indicated scFv and then incubated with 100 pg/ml of human IL-21. Proliferation was measured by CELLTITER-GLO® after 48 hours.

[0036] **FIG. 3(a-c)** depicts the neutralization of proliferation of murine IL-21R-BaF3 cells by scFv. Cells were mixed with the indicated scFv and then incubated with 400 pg/ml of murine IL-21. Proliferation was measured by CELLTITER-GLO® after 48 hours.

[0037] **FIG. 4(a-c)** depicts scFv competition with parental antibody 18A5 IgG for binding to murine IL-21R. The scFv were mixed with biotinylated-murine

IL-21R-H/F, and the mixtures were added to antibody 18A5 immobilized on an ELISA plate. Capture of mIL-21R was detected with HRP-streptavidin, and competition for binding to mIL-21R was indicated by a reduction in the A450 signal.

[0038] FIG. 5 depicts the neutralization of IL-21-dependent proliferation by 21 heavy chain / light chain pairs. Antibodies, as indicated in the figure, were added to cells. IL-21 was subsequently added, and proliferation measured with CELLTITER-GLO® after 48 hours. Assays were conducted on human IL-21R-BaF3 cells with 100 pg/ml of human IL-21 (**FIGs. 5a-c**), human IL-21R-TF1 cells with 100 pg/ml of human IL-21 (**FIGs. 5d-f**), or murine IL-21R-BaF3 cells with 400 pg/ml of murine IL-21 (**FIGs. 5g-i**).

[0039] FIG. 6 depicts the binding of 21 anti-IL-21R IgGs to CHO cells transiently expressing human IL-21R (**FIGs. 6a-c**), rat IL-21R (**FIGs. 6d-f**), cynomolgus monkey IL-21R (**FIGs. 6g-i**), and human gamma common chain (**FIGs. 6j-l**). CHO cells were transiently transfected with IL-21R or the control gamma common chain, and binding was detected with HRP-conjugated anti-human IgG in a cell-based ELISA.

[0040] FIG. 7(a-c) depicts the binding specificity of particular anti-IL-21R antibodies (**FIG. 7a**, AbS; **FIG. 7b**, AbQ, AbT, AbO; **FIG. 7c**, AbR, AbP, and AbU), measured by surface plasmon resonance. The anti-IL-21R antibodies were captured on anti-human IgG, and subsequent binding to either murine IL-21R-H/F, human IL-13-H/F, human IL-2Rβ, or human soluble IL-4R was measured in a BIACORE™ (GE Healthcare, Piscataway, NJ) instrument. **FIG. 7d** shows that human IL-2Rβ and human soluble IL-4R are captured by specific anti-IL-2Rβ and anti-IL-4R antibodies, respectively (control).

[0041] FIG. 8(a-d) depicts the binding of anti-IL-21R antibodies to human and murine IL-21R. The indicated human anti-IL-21R antibodies were captured on anti-human IgG immobilized on a BIACORE™ chip. Varying concentrations of human IL-21R-His/FLAG (**FIGs. 8a-b**) and murine IL-21R-His/FLAG (**FIGs. 8c-d**) were allowed to flow over the chip, and binding and dissociation were monitored.

[0042] **FIG. 9** depicts the binding of anti-IL-21R antibodies to human and cynomolgus monkey IL-21R. Human anti-IL-21R antibodies AbS and AbT were captured on anti-human IgG immobilized on a BIACORE™ chip. Varying concentrations of human and cynomolgus monkey IL-21R-His/FLAG were allowed to flow over the chip, and binding and dissociation were monitored. **FIG. 9a** shows cynomolgus monkey IL-21R-His/FLAG binding to AbS. **FIG. 9b** shows human IL-21R-His/FLAG binding to AbS. **FIG. 9c** shows cynomolgus monkey IL-21R-His/FLAG binding to AbT. **FIG. 9d** shows human IL-21R-His/FLAG binding to AbT.

[0043] **FIG. 10** depicts an epitope assessment of IL-21R antibodies. In the experiment depicted in **FIG. 10a** (see also illustration at left of Y-axis), murine IL-21R-H/F (His-Flag fusion protein) was captured by anti-IL-21R antibody AbS immobilized on a BIACORE™ chip. Additional anti-IL-21R antibodies (AbS, AbT, D5 (D5-20, a neutralizing anti-murine IL-21R antibody), and 7C2 (a nonneutralizing anti-murine IL-21R control antibody)) were flowed over the chip and their binding to the captured IL-21R-H/F was monitored. In the experiment depicted in **FIG. 10b**, human IL-21R-H/F was captured by anti-IL-21R antibody AbS immobilized on a BIACORE™ chip. Additional anti-IL-21R antibodies (AbS, AbT, and 9D2 (a nonneutralizing anti-human IL-21R control antibody)) were flowed over the chip and their binding to the captured IL-21R-H/F was monitored.

[0044] **FIG. 11** depicts the neutralization of proliferation of human IL-21R-BaF3 cells and murine IL-21R-BaF3 cells by the indicated antibodies. Antibodies were added to cells. IL-21 was subsequently added and proliferation measured with CELLTITER-GLO® after 48 hours. Assays were conducted on human IL-21R-BaF3 cells with 100 pg/ml of human IL-21 (**FIG. 11a**), murine IL-21R-BaF3 cells with 200 pg/ml of murine IL-21 (**FIG. 11b**), and human IL-21R-TF1 cells with 100 pg/ml of human IL-21 (**FIG. 11c**).

[0045] **FIG. 12** depicts the neutralization of IL-21-dependent proliferation of human primary B cells. The indicated antibodies were added to primary human B cells

along with anti-CD40 antibodies and human IL-21. Incorporation of ^{3}H-thymidine was measured after three days. **FIG. 12a** depicts the comparison between AbQ, AbR, AbS, AbT, AbU, IL-13 triple-mutant, and 18A5 parental antibody; **FIG. 12b** depicts the comparison between AbT, AbV, AbW, AbU, and human IgG1 control (hIg1).

[0046] FIG. 13 depicts the neutralization of IL-21-dependent proliferation of human primary $CD4^+$ T cells. The indicated antibodies were added to activated primary human $CD4^+$ T cells along with human IL-21, and incorporation of ^{3}H-thymidine was measured after three days.

[0047] FIG. 14 depicts the neutralization of IL-21-dependent proliferation of murine primary $CD8^+$ T cells. The indicated antibodies were added to activated primary murine $CD8^+$ T cells along with human IL-21, and incorporation of ^{3}H-thymidine was measured after three days.

[0048] FIG. 15 depicts the measurement of antibody-dependent cellular cytotoxicity (ADCC) induced by anti-IL-21R antibodies. PBMC-dependent killing of CFSE-labeled BJAB cells coated with the indicated anti-IL-21R antibodies was measured by incorporation of propidium iodide. The anti-CD20 antibody rituximab (RITUXAN®, Genentech, Inc., South San Francisco, CA) was included as a positive control, and an anti-IL-13 antibody was included as a negative control.

[0049] FIG. 16 depicts complement C1q binding by anti-IL-21R antibodies. The indicated anti-IL-21R antibodies were immobilized on an ELISA plate and, following incubation with human serum, C1q binding was measured with chicken anti-human C1q and an HRP-conjugated anti-chicken IgY antibody. The anti-CD20 antibody rituximab (RITUXAN®) was included as a positive control, and an anti-IL-13 antibody was included as a negative control.

[0050] FIG. 17(a-c) depicts amino acid sequences for AbQ, including V_H and V_L domains, CDRs (H1, H2, H3, L1, L2, and L3), and constant regions.

[0051] FIG. 18(a-c) depicts amino acid sequences for AbR, including V_H and V_L domains, CDRs (H1, H2, H3, L1, L2, and L3), and constant regions.

[0052] **FIG. 19(a-c)** depicts amino acid sequences for AbW, including V_H and V_L domains, CDRs (H1, H2, H3, L1, L2, and L3), and constant regions.

[0053] **FIG. 20(a-c)** depicts amino acid sequences for AbS, including V_H and V_L domains, CDRs (H1, H2, H3, L1, L2, and L3), and constant regions.

[0054] **FIG. 21(a-c)** depicts amino acid sequences for AbT, including V_H and V_L domains, CDRs (H1, H2, H3, L1, L2, and L3), and constant regions.

[0055] **FIG. 22(a-c)** depicts amino acid sequences for AbO, including V_H and V_L domains, CDRs (H1, H2, H3, L1, L2, and L3), and constant regions.

[0056] **FIG. 23(a-c)** depicts amino acid sequences for AbP including V_H and V_L domains, CDRs (H1, H2, H3, L1, L2, and L3), and constant regions.

[0057] **FIG. 24(a-c)** depicts amino acid sequences for AbU, including V_H and V_L domains, CDRs (H1, H2, H3, L1, L2, and L3), and constant regions.

[0058] **FIG. 25(a-c)** depicts amino acid sequences for AbV, including V_H and V_L domains, CDRs (H1, H2, H3, L1, L2, and L3), and constant regions.

[0059] **FIG. 26(a-g)** depicts results generated from additional studies that were performed similarly to those performed to generate the results shown in **FIGs. 5, 11, 12, 13,** and **14** (described above).

[0060] **FIG. 27** depicts IL-21 cytokine competition with antibody AbT for binding to murine IL-21R. Vehicle or increasing amounts of IL-21 was mixed with biotinylated murine IL-21R-His/FLAG, and the mixtures were added to AbT immobilized on an ELISA plate. Capture of mIL-21R was detected with HRP-streptavidin, and competition for binding to mIL-21R was indicated by a reduction in the A450 signal.

DETAILED DESCRIPTION OF THE INVENTION

[0061] The binding proteins of the present invention were initially derived from parental antibody 18A5, but differ from 18A5 in the amino acid sequences of portions of the heavy chain and/or light chain complementarity determining region 3 (CDR3). Additionally, the present binding proteins show improved potency in

binding to and neutralizing both human and murine IL-21R as compared to 18A5 in the equivalent format (e.g., scFv or IgG). High-potency neutralization of IL-21R from both species (human and mouse) by a single binding protein has not previously been reported. The present binding proteins having a greater neutralization potency than their parental antibody may translate into higher efficacy as compared to agents previously described. In addition, the amino acid sequence of the V_H and V_L framework regions has been altered to match sequences encoded by human genomic sequence, thereby reducing the potential for human anti-human antibody responses in patients treated with the present binding proteins.

Definitions

[0062] In order that the present invention may be more readily understood, certain terms are first defined. Additional definitions are set forth throughout the detailed description and elsewhere in the specification.

[0063] The term "binding protein" as used herein includes any naturally occurring, recombinant, synthetic, or genetically engineered protein, or a combination thereof, that binds an antigen, target protein, or peptide, or a fragment(s) thereof. Binding proteins of the invention can include antibodies, or be derived from at least one antibody fragment. The binding proteins can include naturally occurring proteins and/or proteins that are synthetically engineered. Binding proteins of the invention can bind to an antigen or a fragment thereof to form a complex and elicit a biological response (e.g., agonize or antagonize a particular biological activity). Binding proteins can include isolated antibody fragments, "Fv" fragments consisting of the variable regions of the heavy and light chains of an antibody, recombinant single-chain polypeptide molecules in which light and heavy chain variable regions are connected by a peptide linker ("scFv proteins"), and minimal recognition units consisting of the amino acid residues that mimic the hypervariable region. Binding protein fragments can also include functional fragments of an antibody, such as, for example, Fab, Fab', $F(ab')_2$, Fc, Fd, Fd', Fv, and a single variable domain of an

antibody (dAb). The binding proteins can be double or single chain, and can comprise a single binding domain or multiple binding domains.

[0064] Binding proteins can also include binding domain-immunoglobulin fusion proteins, including a binding domain polypeptide that is fused or otherwise connected to an immunoglobulin hinge or hinge-acting region polypeptide, which in turn is fused or otherwise connected to a region comprising one or more native or engineered constant regions from an immunoglobulin heavy chain other than CH1, for example, the CH2 and CH3 regions of IgG and IgA, or the CH3 and CH4 regions of IgE (see, e.g., Ledbetter et al., U.S. Patent Publication 2005/0136049, for a more complete description). The binding domain-immunoglobulin fusion protein can further include a region that includes a native or engineered immunoglobulin heavy chain CH2 constant region polypeptide (or CH3 in the case of a construct derived in whole or in part from IgE) that is fused or otherwise connected to the hinge region polypeptide, and a native or engineered immunoglobulin heavy chain CH3 constant region polypeptide (or CH4 in the case of a construct derived in whole or in part from IgE) that is fused or otherwise connected to the CH2 constant region polypeptide (or CH3 in the case of a construct derived in whole or in part from IgE). Typically, such binding domain-immunoglobulin fusion proteins are capable of at least one immunological activity selected from the group consisting of antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity, complement fixation, and/or binding to a target, for example, a target antigen. The binding proteins of the invention can be derived from any species including, but not limited to mouse, human, camel, llama, fish, shark, goat, rabbit, chicken, and bovine.

[0065] The term "antibody" as used herein refers to an immunoglobulin that is reactive to a designated protein or peptide or fragment thereof. Suitable antibodies include, but are not limited to, human antibodies, primatized antibodies, chimeric antibodies, monoclonal antibodies, monospecific antibodies, polyclonal antibodies, polyspecific antibodies, nonspecific antibodies, bispecific antibodies, multispecific antibodies, humanized antibodies, synthetic antibodies, recombinant antibodies,

hybrid antibodies, mutated antibodies, grafted conjugated antibodies (i.e., antibodies conjugated or fused to other proteins, radiolabels, cytotoxins), and *in vitro*-generated antibodies. The antibody can be from any class of antibodies including, but not limited to, IgG, IgA, IgM, IgD, and IgE, and from any subclass (e.g., IgG1, IgG2, IgG3, and IgG4) of antibodies. The antibody can have a heavy chain constant region chosen from, e.g., IgG1, IgG2, IgG3, or IgG4. The antibody can also have a light chain chosen from, e.g., kappa (κ) or lambda (λ). The antibodies of the invention can be derived from any species including, but not limited to mouse, human, camel, llama, fish, shark, goat, rabbit, chicken, and bovine. Constant regions of the antibodies can be altered, e.g., mutated, to modify the properties of the antibody (e.g., to increase or decrease one or more of: Fc receptor binding, antibody glycosylation, the number of cysteine residues, effector cell function, or complement function). Typically, the antibody specifically binds to a predetermined antigen, e.g., an antigen associated with a disorder, e.g., an inflammatory, immune, autoimmune, neurodegenerative, metabolic, and/or malignant disorder.

[0066] The term "single domain binding protein" as used herein includes any single domain binding scaffold that binds to an antigen, protein, or polypeptide. Single domain binding proteins can include any natural, recombinant, synthetic, or genetically engineered protein scaffold, or a combination thereof, that binds an antigen or fragment thereof to form a complex and elicit a biological response (e.g., agonize or antagonize a particular biological activity). Single domain binding proteins may be derived from naturally occurring proteins or antibodies, or they can be synthetically engineered or produced by recombinant techology. Single domain binding proteins may be any in the art or any future single domain binding proteins, and may be derived from any species including, but not limited to mouse, human, camel, llama, fish, shark, goat, rabbit, chicken, and bovine. In some embodiments of the invention, a single domain binding protein scaffold can be derived from a variable region of the immunoglobulin found in fish, such as, for example, that which is derived from the immunoglobulin isotype known as Novel Antigen

Receptor (NAR) found in the serum of shark. Methods of producing single domain binding scaffolds dervied from a variable region of NAR ("IgNARs") are described in International Application Publication No. WO 03/014161 and Streltsov (2005) *Protein Sci.* 14(11):2901-09.

[0067] In other embodiments, a single domain binding protein is a naturally occurring single domain binding protein which has been described in the art as a heavy chain antibody devoid of light chains. Such single domain binding proteins are disclosed in, e.g., International Application Publication No. WO 94/004678. For clarity reasons, a variable domain binding protein that is derived from a heavy chain antibody naturally devoid of light chain is known herein as a VHH or "nanobody" to distinguish it from the conventional VH of four-chain immunoglobulins. Such a VHH molecule can be derived from antibodies raised in *Camelidae* species, for example in camel, llama, dromedary, alpaca, and guanaco. Other families besides *Camelidae* may also be used to produce heavy chain binding proteins naturally devoid of light chains. VHH molecules are approximately ten times smaller than traditional IgG molecules. They are single polypeptides and are very stable, resisting extreme pH and temperature conditions. Moreover, they are resistant to the action of proteases, which is not the case for conventional antibodies. Furthermore, *in vitro* expression of VHHs can produce high-yield, properly folded functional VHHs. In addition, binding proteins generated in Camelids can recognize epitopes other than those recognized by antibodies generated *in vitro* via antibody libraries or via immunization of mammals other than Camelids (see, e.g., International Application Publication Nos. WO 97/049805 and WO 94/004678, both hereby incorporated by reference herein).

[0068] The terms "antigen-binding domain" and "antigen-binding fragment" refer to a part of a binding protein that comprises amino acids responsible for the specific binding between the binding protein and an antigen. The part of the antigen that is specifically recognized and bound by the binding protein is referred to as the "epitope." An antigen-binding domain may comprise a light chain variable region

(V_L) and a heavy chain variable region (V_H) of an antibody; however, it does not have to comprise both. Fd fragments, for example, have two V_H regions and often retain antigen-binding function of the intact antigen-binding domain. Examples of antigen-binding fragments of a binding protein include, but are not limited to: (1) a Fab fragment, a monovalent fragment having V_L, V_H, C_L and C_H1 domains; (2) a $F(ab')_2$ fragment, a bivalent fragment having two Fab fragments linked by a disulfide bridge at the hinge region; (3) an Fd fragment, having two V_H and one C_H1 domains; (4) an Fv fragment, having the V_L and V_H domains of a single arm of an antibody; (5) a dAb fragment (see, e.g., Ward et al. (1989) *Nature* 341:544-46), having a V_H domain; (6) an isolated CDR; and (7) a single chain variable fragment (scFv). Although the two domains of an Fv fragment, V_L and V_H are coded for by separate genes, they can be joined, using recombinant methods, by a synthetic linker that enables them to be made as a single protein chain in which the V_L and V_H regions pair to form monovalent molecules (known as scFv) (see, e.g., Bird et al. (1988) *Science* 242:423-26; Huston et al. (1988) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 85:5879-83). These binding domain fragments can be obtained using conventional techniques known to those with skill in the art, and the fragments are evaluated for function in the same manner as are intact binding proteins such as, for example, antibodies.

[0069] The term "neutralizing" refers to a binding protein or antigen-binding fragment thereof (for example, an antibody) that reduces or blocks the activity of a signaling pathway or an antigen, e.g., IL-21/IL-21R signaling pathway or IL-21R antigen.

[0070] The term "effective amount" refers to a dosage or amount that is sufficient to regulate IL-21R activity to ameliorate or lessen the severity of clinical symptoms or achieve a desired biological outcome, e.g., decreased T cell and/or B cell activity, suppression of autoimmunity, suppression of transplant rejection.

[0071] The term "human binding protein" includes binding proteins having variable and constant regions corresponding substantially to human germline immunoglobulin sequences known in the art, including, for example, those described by Kabat et al.

(5th ed. 1991) *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, U.S. Department of Health and Human Services, NIH Publication No. 91-3242. The human antibodies of the invention may include amino acid residues not encoded by human germline immunoglobulin sequences (e.g., mutations introduced by random or site-specific mutagenesis *in vitro* or by somatic mutation *in vivo*), for example, in the CDRs, and in particular, CDR3. The human antibody can have at least one, two, three, four, five, or more positions replaced with an amino acid residue that is not encoded by the human germline immunoglobulin sequence.

[0072] The phrases "inhibit," "antagonize," "block," or "neutralize" IL-21R activity and its cognates refer to a reduction, inhibition, or otherwise diminution of at least one activity of IL-21R due to binding an anti-IL-21R antibody, wherein the reduction is relative to the activity of IL-21R in the absence of the same antibody. The IL-21R activity can be measured using any technique known in the art. Inhibition or antagonism does not necessarily indicate a total elimination of the IL-21R biological activity. A reduction in activity may be about 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, or more.

[0073] The terms "interleukin-21 receptor" or "IL-21R" or the like refer to a class I cytokine family receptor, also known as MU-1 (see, e.g., U.S. Patent Application No. 09/569,384 and U.S. Application Publication Nos. 2004/0265960; 2006/0159655; 2006/0024268; and 2008/0241098), NILR or zalpha11 (see, e.g., International Application Publication No. WO 01/085792; Parrish-Novak et al. (2000) *supra*; Ozaki et al. (2000) *supra*), that binds to an IL-21 ligand. IL-21R is homologous to the shared β chain of the IL-2 and IL-15 receptors, and IL-4α (Ozaki et al. (2000) *supra*). Upon ligand binding, IL-21R is capable of interacting with a common gamma cytokine receptor chain (γc) and inducing the phosphorylation of STAT1 and STAT3 (Asao et al. (2001) *supra*) or STAT5 (Ozaki et al. (2000) *supra*). IL-21R shows widespread lymphoid tissue distribution. The terms "interleukin-21 receptor" or "IL-21R" or the like also refer to a polypeptide (preferably of mammalian origin, e.g., murine or human IL-21R) or, as context requires, a polynucleotide encoding

such a polypeptide, that is capable of interacting with IL-21 (preferably IL-21 of mammalian origin, e.g., murine or human IL-21) and has at least one of the following features: (1) an amino acid sequence of a naturally occurring mammalian IL-21R polypeptide or a fragment thereof, e.g., an amino acid sequence set forth in SEQ ID NO:2 (human - corresponding to GENBANK® (U.S. Dept. of Health and Human Services, Bethesda, MD) Accession No. NP_068570) or SEQ ID NO:4 (murine - corresponding to GENBANK® Acc. No. NP_068687), or a fragment thereof; (2) an amino acid sequence substantially homologous to, e.g., at least 85%, 90%, 95%, 98%, or 99% homologous to, an amino acid sequence set forth in SEQ ID NO:2 or SEQ ID NO:4, or a fragment thereof; (3) an amino acid sequence that is encoded by a naturally occurring mammalian IL-21R nucleotide sequence or fragment thereof (e.g., SEQ ID NO:1 (human - corresponding to GENBANK® Accession No. NM_021798) or SEQ ID NO:3 (murine - corresponding to GENBANK® Acc. No. NM_021887), or a fragment thereof); (4) an amino acid sequence encoded by a nucleotide sequence which is substantially homologous to, e.g., at least 85%, 90%, 95%, 98%, or 99% homologous to, a nucleotide sequence set forth in SEQ ID NO:1 or SEQ ID NO:3 or a fragment thereof; (5) an amino acid sequence encoded by a nucleotide sequence degenerate to a naturally occurring IL-21R nucleotide sequence or a fragment thereof, e.g., SEQ ID NO:1 or SEQ ID NO:3, or a fragment thereof; or (6) a nucleotide sequence that hybridizes to one of the foregoing nucleotide sequences under stringent conditions, e.g., highly stringent conditions. In addition, other nonhuman and nonmammalian IL-21Rs are contemplated as useful in the disclosed methods.

[0074] The term "interleukin-21" or "IL-21" refers to a cytokine that shows sequence homology to IL-2, IL-4 and IL-15 (Parrish-Novak et al. (2000) *supra*), and binds to an IL-21R. Such cytokines share a common fold into a "four-helix-bundle" structure that is representative of the family. IL-21 is expressed primarily in activated $CD4^+$ T cells, and has been reported to have effects on NK, B and T cells (Parrish-Novak et al. (2000) *supra*; Kasaian et al. (2002) *supra*). Upon IL-21

binding to IL-21R, activation of IL-21R leads to, e.g., STAT5 or STAT3 signaling (Ozaki et al. (2000) *supra*). The term "interleukin-21" or "IL-21" also refers to a polypeptide (preferably of mammalian origin, e.g., murine or human IL-21), or as context requires, a polynucleotide encoding such a polypeptide, that is capable of interacting with IL-21R (preferably of mammalian origin, e.g., murine or human IL-21R) and has at least one of the following features: (1) an amino acid sequence of a naturally occurring mammalian IL-21 or a fragment thereof, e.g., an amino acid sequence set forth in SEQ ID NO:212 (human), or a fragment thereof; (2) an amino acid sequence substantially homologous to, e.g., at least 85%, 90%, 95%, 98%, or 99% homologous to, an amino acid sequence set forth in SEQ ID NO:212, or a fragment thereof; (3) an amino acid sequence which is encoded by a naturally occurring mammalian IL-21 nucleotide sequence or a fragment thereof (e.g., SEQ ID NO:211 (human), or a fragment thereof); (4) an amino acid sequence encoded by a nucleotide sequence which is substantially homologous to, e.g., at least 85%, 90%, 95%, 98%, or 99% homologous to, a nucleotide sequence set forth in SEQ ID NO:211 or a fragment thereof; (5) an amino acid sequence encoded by a nucleotide sequence degenerate to a naturally occurring IL-21 nucleotide sequence or a fragment thereof; or (6) a nucleotide sequence that hybridizes to one of the foregoing nucleotide sequences under stringent conditions, e.g., highly stringent conditions.

[0075] The terms "IL-21R activity" and the like (e.g., "activity of IL-21R," "IL-21/IL-21R activity") refer to at least one cellular process initiated or interrupted as a result of IL-21R binding. IL-21R activities include, but are not limited to: (1) interacting with, e.g., binding to, a ligand, e.g., an IL-21 polypeptide; (2) associating with or activating signal transduction (also called "signaling," which refers to the intracellular cascade occurring in response to a particular stimuli) and signal transduction molecules (e.g., gamma chain (γc) and JAK1), and/or stimulating the phosphorylation and/or activation of STAT proteins, e.g., STAT5 and/or STAT3; and (3) modulating the proliferation, differentiation, effector cell function, cytolytic

activity, cytokine secretion, and/or survival of immune cells, e.g., T cells, NK cells, B cells, macrophages, regulatory T cells (Tregs) and megakaryocytes.

[0076] As used herein, "*in vitro*-generated antibody" refers to an antibody where all or part of the variable region (e.g., at least one CDR) is generated in a nonimmune cell selection (e.g., an *in vitro* phage display, protein chip, or any other method in which candidate sequences can be tested for their ability to bind to an antigen).

[0077] The term "isolated" refers to a molecule that is substantially free of its natural environment. For instance, an isolated protein is substantially free of cellular material or other proteins from the cell or tissue source from which it was derived. The term also refers to preparations where the isolated protein is sufficiently pure for pharmaceutical compositions, or is at least 70-80% (w/w) pure, at least 80-90% (w/w) pure, at least 90-95% (w/w) pure, or at least 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, or 100% (w/w) pure.

[0078] The phrase "percent identical" or "percent identity" refers to the similarity between at least two different sequences. This percent identity can be determined by standard alignment algorithms, for example, the Basic Local Alignment Search Tool (BLAST) described by Altshul et al. ((1990) *J. Mol. Biol.* 215:403-10); the algorithm of Needleman et al. ((1970) *J. Mol. Biol.* 48:444-53); or the algorithm of Meyers et al. ((1988) *Comput. Appl. Biosci.* 4:11-17). A set of parameters may be the Blosum 62 scoring matrix with a gap penalty of 12, a gap extend penalty of 4, and a frameshift gap penalty of 5. The percent identity between two amino acid or nucleotide sequences can also be determined using the algorithm of Meyers and Miller ((1989) *CABIOS* 4:11-17), which has been incorporated into the ALIGN program (version 2.0), using a PAM120 weight residue table, a gap length penalty of 12, and a gap penalty of 4. The percent identity is usually calculated by comparing sequences of similar length.

[0079] The term "repertoire" refers to at least one nucleotide sequence derived wholly or partially from at least one sequence encoding at least one immunoglobulin. The sequence(s) may be generated by rearrangement *in vivo* of the V, D, and J

segments of heavy chains, and the V and J segments of light chains. Alternatively, the sequence(s) can be generated from a cell in response to which rearrangement occurs, e.g., *in vitro* stimulation. Alternatively, part or all of the sequence(s) may be obtained by DNA splicing, nucleotide synthesis, mutagenesis, or other methods (see, e.g., U.S. Patent No. 5,565,332). A repertoire may include only one sequence or may include a plurality of sequences, including ones in a genetically diverse collection.

[0080] The terms "specific binding," "specifically binds," and the like refer to two molecules forming a complex that is relatively stable under physiologic conditions. Specific binding is characterized by a high affinity and a low-to-moderate capacity as distinguished from nonspecific binding, which usually has a low affinity with a moderate-to-high capacity. Typically, binding is considered specific when the association constant Ka is higher than about $10^6 M^{-1}s^{-1}$. If necessary, nonspecific binding can be reduced without substantially affecting specific binding by varying the binding conditions. The appropriate binding conditions, such as concentration of binding protein, ionic strength of the solution, temperature, time allowed for binding, concentration of a blocking agent (e.g., serum albumin or milk casein), etc., can be improved by a skilled artisan using routine techniques. Illustrative conditions are set forth herein, but other conditions known to the person of ordinary skill in the art fall within the scope of this invention.

[0081] As used herein, the terms "stringent," "stringency," and the like describe conditions for hybridization and washing. The isolated polynucleotides of the present invention can be used as hybridization probes and primers to identify and isolate nucleic acids having sequences identical to or similar to those encoding the disclosed polynucleotides. Therefore, polynucleotides isolated in this fashion may be used to produce binding proteins against IL-21R or to identify cells expressing such binding proteins. Hybridization methods for identifying and isolating nucleic acids include polymerase chain reaction (PCR), Southern hybridizations, *in situ* hybridization and Northern hybridization, and are well known to those skilled in the art.

[0082] Hybridization reactions can be performed under conditions of different stringencies. The stringency of a hybridization reaction includes the difficulty with which any two nucleic acid molecules will hybridize to one another and the conditions under which they will remain hybridized. Preferably, each hybridizing polynucleotide hybridizes to its corresponding polynucleotide under reduced stringency conditions, more preferably stringent conditions, and most preferably highly stringent conditions. Stringent conditions are known to those skilled in the art and can be found in, e.g., *Current Protocols in Molecular Biology*, John Wiley & Sons, N.Y. (1989) 6.3.1-6.3.6. Both aqueous and nonaqueous methods are described in this reference, and either can be used. One example of stringent hybridization conditions is hybridization in 6X sodium chloride/sodium citrate (SSC) at about 45°C, followed by at least one wash in 0.2X SSC / 0.1% SDS at 50°C. Stringent hybridization conditions are also accomplished with wash(es) in, e.g., 0.2X SSC / 0.1% SDS at 55°C, 60°C, or 65°C. Highly stringent conditions include, e.g., hybridization in 0.5M sodium phosphate / 7% SDS at 65°C, followed by at least one wash at 0.2X SSC / 1 % SDS at 65°C. Further examples of stringency conditions are shown in **Table 1** below: highly stringent conditions are those that are at least as stringent as, for example, conditions A-F; stringent conditions are at least as stringent as, for example, conditions G-L; and reduced stringency conditions are at least as stringent as, for example, conditions M-R.

Table 1: Hybridization Conditions

Condition	Hybrid	Hybrid Length (bp)[1]	Hybridization Temperature and Buffer[2]	Wash Temperature and Buffer[2]
A	DNA:DNA	> 50	65°C; 1X SSC -or- 42°C; 1X SSC, 50% formamide	65°C; 0.3X SSC
B	DNA:DNA	< 50	T_B*; 1X SSC	T_B*; 1X SSC
C	DNA:RNA	> 50	67°C; 1X SSC -or- 45°C; 1X SSC, 50% formamide	67°C; 0.3X SSC
D	DNA:RNA	< 50	T_D*; 1X SSC	T_D*; 1X SSC

Condition	Hybrid	Hybrid Length (bp)[1]	Hybridization Temperature and Buffer[2]	Wash Temperature and Buffer[2]
E	RNA:RNA	> 50	70°C; 1X SSC -or- 50°C; 1X SSC, 50% formamide	70°C; 0.3X SSC
F	RNA:RNA	< 50	T_F*; 1X SSC	T_F*; 1X SSC
G	DNA:DNA	> 50	65°C; 4X SSC -or- 42°C; 4X SSC, 50% formamide	65°C; 1X SSC
H	DNA:DNA	< 50	T_H*; 4X SSC	T_H*; 4X SSC
I	DNA:RNA	> 50	67°C; 4X SSC -or- 45°C; 4X SSC, 50% formamide	67°C; 1X SSC
J	DNA:RNA	< 50	T_J*; 4X SSC	T_J*; 4X SSC
K	RNA:RNA	> 50	70°C; 4X SSC -or- 50°C; 4X SSC, 50% formamide	67°C; 1X SSC
L	RNA:RNA	< 50	T_L*; 2X SSC	T_L*; 2X SSC
M	DNA:DNA	>50	50°C; 4X SSC -or- 40°C; 6X SSC, 50% formamide	50°C; 2X SSC
N	DNA:DNA	< 50	T_N*; 6X SSC	T_N*; 6X SSC
O	DNA:RNA	> 50	55°C; 4X SSC -or- 42°C; 6X SSC, 50% formamide	55°C; 2X SSC
P	DNA:RNA	< 50	T_P*; 6X SSC	T_P*; 6X SSC
Q	RNA:RNA	> 50	60°C; 4X SSC -or- 45°C; 6X SSC, 50% formamide	60°C; 2X SSC
R	RNA:RNA	< 50	T_R*; 4X SSC	T_R*; 4X SSC

[1] The hybrid length is that anticipated for the hybridized region(s) of the hybridizing polynucleotides. When hybridizing a polynucleotide to a target polynucleotide of unknown sequence, the hybrid length is assumed to be that of the hybridizing polynucleotide. When polynucleotides of known sequence are hybridized, the hybrid length can be determined by aligning the sequences of the polynucleotides and identifying the region or regions of optimal sequence complementarity.

[2] SSPE (1xSSPE is 0.15M NaCl, 10mM NaH_2PO_4, and 1.25mM EDTA, pH 7.4) can be substituted for SSC (1xSSC is 0.15M NaCl and 15mM sodium citrate) in the hybridization and wash buffers; washes are performed for 15 min after hybridization is complete.

T_B* - T_R*: The hybridization temperature for hybrids anticipated to be less than 50 base pairs in length should be 5-10°C less than the melting temperature (T_m) of the hybrid, where T_m is determined according to the following equations. For hybrids less than 18 base pairs in length, T_m(°C) = 2(# of A + T bases) + 4(# of G + C bases). For hybrids between 18 and 49 base pairs in length, T_m(°C) = 81.5 + 16.6($\log_{10}Na^+$) + 0.41(%G + C) - (600/N), where N is the number of bases in the hybrid, and Na^+ is the concentration of sodium ions in the hybridization buffer (Na^+ for 1X SSC = 0.165 M).

Additional examples of stringency conditions for polynucleotide hybridization are provided in Sambrook et al., *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, Chs. 9 & 11, Cold Spring Harbor

Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY (1989), and Ausubel et al. eds., *Current Protocols in Molecular Biology*, Sects. 2.10 & 6.3-6.4, John Wiley & Sons, Inc. (1995), herein incorporated by reference.

[0083] The isolated polynucleotides of the present invention may be used as hybridization probes and primers to identify and isolate DNAs having sequences encoding allelic variants of the disclosed polynucleotides. Allelic variants are naturally occurring alternative forms of the disclosed polynucleotides that encode polypeptides that are identical to or have significant similarity to the polypeptides encoded by the disclosed polynucleotides. Preferably, allelic variants have at least about 90% sequence identity (more preferably, at least about 95% identity; most preferably, at least about 99% identity) with the disclosed polynucleotides. The isolated polynucleotides of the present invention may also be used as hybridization probes and primers to identify and isolate DNAs having sequences encoding polypeptides homologous to the disclosed polynucleotides. These homologs are polynucleotides and polypeptides isolated from a different species than that of the disclosed polypeptides and polynucleotides, or within the same species, but with significant sequence similarity to the disclosed polynucleotides and polypeptides. Preferably, polynucleotide homologs have at least about 50% sequence identity (more preferably, at least about 75% identity; most preferably, at least about 90% identity) with the disclosed polynucleotides, whereas polypeptide homologs have at least about 30% sequence identity (more preferably, at least about 45% identity; most preferably, at least about 60% identity) with the disclosed binding proteins / polypeptides. Preferably, homologs of the disclosed polynucleotides and polypeptides are those isolated from mammalian species. The isolated polynucleotides of the present invention may additionally be used as hybridization probes and primers to identify cells and tissues that express the binding proteins of the present invention and the conditions under which they are expressed.

[0084] The phrases "substantially as set out," "substantially identical," and "substantially homologous" mean that the relevant amino acid or nucleotide sequence (e.g., CDR(s), V_H, or V_L domain(s)) will be identical to or have

insubstantial differences (e.g., through conserved amino acid substitutions) in comparison to the sequences which are set out. Insubstantial differences include minor amino acid changes, such as one or two substitutions in a five amino acid sequence of a specified region. In the case of antibodies, the second antibody has the same specificity and has at least about 50% of the affinity of the first antibody.

[0085] Sequences substantially identical or homologous to the sequences disclosed herein are also part of this application. In some embodiments, the sequence identity can be about 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, or higher. Alternatively, substantial identity or homology exists when the nucleic acid segments will hybridize under selective hybridization conditions (e.g., highly stringent hybridization conditions), to the complement of the strand. The nucleic acids may be present in whole cells, in a cell lysate, or in a partially purified or substantially pure form.

[0086] The term "therapeutic agent" or the like is a substance that treats or assists in treating a medical disorder or symptoms therof. Therapeutic agents may include, but are not limited to, substances that modulate immune cells or immune responses in a manner that complements the use of anti-IL-21R binding proteins. In one embodiment of the invention, a therapeutic agent is a therapeutic antibody, e.g., an anti-IL-21R antibody. In another embodiment of the invention, a therapeutic agent is a therapeutic binding protein, e.g., an anti-IL-21R nanobody. Nonlimiting examples and uses of therapeutic agents are described herein.

[0087] As used herein, a "therapeutically effective amount" of an anti-IL-21R binding protein (e.g., an antibody) refers to an amount of the binding protein that is effective, upon single or multiple dose administration to a subject (such as a human patient) for treating, preventing, curing, delaying, reducing the severity of, and/or ameliorating at least one symptom of a disorder or a recurring disorder, or prolonging the survival of the subject beyond that expected in the absence of such treatment.

Anti-IL-21R Binding Proteins

[0088] The disclosure of the present application provides novel anti-IL-21R binding proteins that comprise novel antigen-binding fragments. Numerous methods known to those skilled in the art are available for obtaining binding proteins or antigen-binding fragments thereof. For example, anti-IL-21R binding proteins that comprise antibodies can be produced using recombinant DNA methods (see, e.g., U.S. Patent No. 4,816,567). Monoclonal antibodies may also be produced by generation of hybridomas in accordance with known methods (see, e.g., Kohler and Milstein (1975) *Nature* 256:495-99). Hybridomas formed in this manner are then screened using standard methods, such as enzyme-linked immunosorbent assays (ELISA) and surface plasmon resonance (BIACORE™) analysis, to identify one or more hybridomas that produce an antibody that specifically binds with a particular antigen. Any form of the specified antigen may be used as the immunogen, e.g., recombinant antigen, naturally occurring forms, any variants or fragments thereof, and antigenic peptides thereof.

[0089] One exemplary method of making binding proteins that comprise antibodies includes screening protein expression libraries, e.g., phage or ribosome display libraries. Phage display is described, for example, in U.S. Patent No. 5,223,409; Smith (1985) *Science* 228:1315-17; Clackson et al. (1991) *Nature* 352:624-28; Marks et al. (1991) *J. Mol. Biol.* 222:581-97; and International Application Publication Nos. WO 92/018619; WO 91/017271; WO 92/020791; WO 92/015679; WO 93/001288; WO 92/001047; WO 92/009690; and WO 90/002809.

[0090] In addition to the use of display libraries, the specified antigen can be used to immunize a nonhuman animal, e.g., a cynomolgus monkey, a chicken, or a rodent (e.g., a mouse, hamster, or rat). In one embodiment, the nonhuman animal includes at least a part of a human immunoglobulin gene. For example, it is possible to engineer mouse strains deficient in mouse antibody production with large fragments of the human Ig loci. Using the hybridoma technology, antigen-specific monoclonal binding proteins, such as antibodies, derived from the genes with the desired

specificity may be produced and selected (see, e.g., XENOMOUSE™ (Amgen Inc., Thousand Oaks, CA); Green et al. (1994) *Nat. Genet.* 7:13-21; U.S. Patent No. 7,064,244; and International Application Publication Nos. WO 96/034096 and WO 96/033735).

[0091] In one embodiment of the invention, the binding proteins is a monoclonal antibody that is obtained from a nonhuman animal, and then modified (e.g., humanized, deimmunized, or chimeric) using recombinant DNA techniques known in the art. A variety of approaches for making chimeric antibodies have been described (see, e.g., Morrison et al. (1985) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 81(21):6851-55; Takeda et al. (1985) *Nature* 314(6010):452-54; U.S. Patent Nos. 4,816,567 and 4,816,397; European Application Publication Nos. EP 0 171 496 and EP 0 173 494; and United Kingdom Patent No. GB 2 177 096). Humanized binding proteins may also be produced, for example, using transgenic mice that express human heavy and light chain genes, but are incapable of expressing the endogenous mouse immunoglobulin heavy and light chain genes. Winter (U.S. Patent No. 5,225,539) describes an exemplary CDR-grafting method that may be used to prepare the humanized binding proteins described herein. All of the CDRs of a particular human binding protein may be replaced with at least a portion of a nonhuman CDR, or only some of the CDRs may be replaced with nonhuman CDRs. It is only necessary to replace the number of CDRs required for binding of the humanized binding protein to a predetermined antigen.

[0092] Humanized binding proteins or fragments thereof can be generated by replacing sequences of the Fv variable domain that are not directly involved in antigen binding with equivalent sequences from human Fv variable domains. Exemplary methods for generating humanized binding proteins or fragments thereof are provided by, e.g., Morrison (1985) *Science* 229:1202-07; Oi et al. (1986) *BioTechniques* 4:214; and U.S. Patent Nos. 5,585,089; 5,693,761; 5,693,762; 5,859,205; and 6,407,213. Those methods include isolating, manipulating, and expressing the nucleic acid sequences that encode all or part of immunoglobulin Fv

variable domains from at least one of a heavy or light chain. Such nucleic acids may be obtained from a hybridoma producing an antibody against a predetermined target, as described above, as well as from other sources. The recombinant DNA encoding the humanized antibody molecule can then be cloned into an appropriate expression vector.

[0093] In certain embodiments, a humanized binding protein is improved by the introduction of conservative substitutions, consensus sequence substitutions, germline substitutions and/or backmutations. Such altered immunoglobulin molecules can be made by any of several techniques known in the art, (see, e.g., Teng et al. (1983) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 80:7308-73; Kozbor et al. (1983) *Immunol. Today* 4:7279; Olsson et al. (1982) *Meth. Enzymol.* 92:3-16); International Application Publication No. WO 92/006193; and European Patent No. EP 0 239 400).

[0094] A binding protein or fragment thereof may also be modified by specific deletion of human T cell epitopes or "deimmunization" by the methods disclosed in, e.g., International Application Publication Nos. WO 98/052976 and WO 00/034317. Briefly, the heavy and light chain variable domains of a binding protein (such as, for example, a binding protein derived from an antibody) can be analyzed for peptides that bind to MHC Class II; these peptides represent potential T cell epitopes (as defined in, e.g., International Application Publication Nos. WO 98/052976 and WO 00/034317). For detection of potential T cell epitopes, a computer modeling approach termed "peptide threading" can be applied, and in addition a database of human MHC class II binding peptides can be searched for motifs present in the V_H and V_L sequences, as described in International Application Publication Nos. WO 98/052976 and WO 00/034317. These motifs bind to any of the 18 major MHC Class II DR allotypes and thus, constitute potential T cell epitopes. Potential T cell epitopes detected can be eliminated by substituting small numbers of amino acid residues in the variable domains or by single amino acid substitutions. Typically, conservative substitutions are made. Often, but not exclusively, an amino acid

common to a position in human germline antibody sequences may be used. Human germline sequences are disclosed in, e.g., Tomlinson et al. (1992) *J. Mol. Biol.* 227:776-98; Cook et al. (1995) *Immunol. Today* 16(5):237-42; Chothia et al. (1992) *J. Mol. Biol.* 227:799-817; and Tomlinson et al. (1995) *EMBO J.* 14:4628-38. The V BASE directory provides a comprehensive directory of human immunoglobulin variable region sequences (compiled by Tomlinson et al., MRC Centre for Protein Engineering, Cambridge, UK). These sequences can be used as a source of human sequence, e.g., for framework regions and CDRs. Consensus human framework regions can also be used, as described in, e.g., U.S. Patent No. 6,300,064.

[0095] In certain embodiments, a binding protein can contain an altered immunoglobulin constant or Fc region. For example, binding proteins produced in accordance with the teachings herein may bind more strongly or with more specificity to effector molecules such as complement and/or Fc receptors, which can control several immune functions of the binding protein such as effector cell activity, lysis, complement-mediated activity, binding protein clearance, and binding protein half-life. Typical Fc receptors that bind to an Fc region of a binding protein (e.g., an IgG antibody) include, but are not limited to, receptors of the FcγRI, FcγRII, and FcRn subclasses, including allelic variants and alternatively spliced forms of these receptors. Fc receptors are reviewed in, e.g., Ravetch and Kinet (1991) *Annu. Rev. Immunol.* 9:457-92; Capel et al. (1994) *Immunomethods* 4:25-34; and de Haas et al. (1995) *J. Lab. Clin. Med.* 126:330-41. For additional binding protein / antibody production techniques, see, e.g., *Antibodies: A Laboratory Manual* (1988) Harlow et al. eds., Cold Spring Harbor Laboratory. The present invention is not necessarily limited to any particular source, method of production, or other special characteristic of a binding protein or an antibody.

[0096] Binding proteins comprising antibodies (immunoglobulins) are typically tetrameric glycosylated proteins composed of two light (L) chains of approximately 25 kDa each and two heavy (H) chains of approximately 50 kDa each. Two types of light chains, termed lambda (λ) and kappa (κ), may be found in antibodies.

Depending on the amino acid sequence of the constant domain of heavy chains, immunoglobulins can be assigned to five major classes: A, D, E, G, and M, and several of these may be further divided into subclasses (isotypes), e.g., IgG1, lgG2, IgG3, IgG4, IgA1, and IgA2. Each light chain includes an N-terminal variable (V) domain (V_L) and a constant (C) domain (C_L). Each heavy chain includes an N-terminal V domain (V_H), three or four C domains (C_Hs), and a hinge region. The C_H domain most proximal to V_H is designated as C_H1. The V_H and V_L domains consist of four regions of relatively conserved sequences called framework regions (FR1, FR2, FR3, and FR4) that form a scaffold for three regions of hypervariable sequences, called CDRs. The CDRs contain most of the residues responsible for specific interactions of the antibody with the antigen. CDRs are referred to as CDR1, CDR2, and CDR3. CDR constituents on the heavy chain are referred to as H1, H2, and H3 (also referred to herein as CDR H1, CDR H2, and CDR H3, respectively), while CDR constituents on the light chain are referred to as L1, L2, and L3 (also referred to herein as CDR L1, CDR L2, and CDR L3, respectively).

[0097] CDR3 is typically the greatest source of molecular diversity within the antigen-binding site. CDR H3, for example, can be as short as two amino acid residues or greater than 26 amino acids. The subunit structures and three-dimensional configurations of different classes of immunoglobulins are well known in the art. For a review of antibody structure, see, e.g., Harlow et al. (1988) *supra.* One of skill in the art will recognize that each subunit structure, e.g., a C_H, V_H, C_L, V_L, CDR, and/or FR structure, comprises active fragments, e.g., the portion of the V_H, V_L, or CDR subunit that binds to the antigen, i.e., the antigen-binding fragment, or, e.g., the portion of the C_H subunit that binds to and/or activates, e.g., an Fc receptor and/or complement. The CDRs typically refer to the Kabat CDRs (as described in Kabat et al. (1991) *supra*). Another standard for characterizing the antigen binding site is to refer to the hypervariable loops as described in, e.g., Chothia et al. (1992) *supra* and Tomlinson et al. (1995) *supra.* Still another standard is the "AbM" definition used by Oxford Molecular's AbM antibody modeling

software (see, generally, e.g., *Protein Sequence and Structure Analysis of Antibody Variable Domains* in: *Antibody Engineering* (2001) Duebel and Kontermann eds., Springer-Verlag, Heidelberg). Embodiments described with respect to Kabat CDRs can alternatively be implemented using similar described relationships with respect to Chothia hypervariable loops or to the AbM-defined loops.

[0098] The Fab fragment consists of V_H-C_H1 and V_L-C_L domains covalently linked by a disulfide bond between the constant regions. The F_v fragment is smaller and consists of V_H and V_L domains noncovalently linked. To overcome the tendency of noncovalently linked domains to dissociate, an scFv can be constructed. The scFv contains a flexible polypeptide that links (1) the C-terminus of V_H to the N-terminus of V_L, or (2) the C-terminus of V_L to the N-terminus of V_H. A 15-mer $(Gly_4Ser)_3$ peptide, for example, may be used as a linker, but other linkers are known in the art.

[0099] The sequence of antibody genes after assembly and somatic mutation is highly varied, and these varied genes are estimated to encode 10^{10} different antibody molecules (*Immunoglobulin Genes* (2nd ed. 1995) Jonio et al. eds., Academic Press, San Diego, CA).

[0100] In certain embodiments of the invention, the binding protein is a single domain binding protein. Single domain binding proteins include binding proteins wherein the CDRs are part of a single domain polypeptide. Examples include, but are not limited to, heavy chain binding proteins, binding proteins that are naturally devoid of light chains, single domain binding proteins derived from conventional four-chain antibodies, engineered binding proteins, and single domain protein scaffolds other than those derived from antibodies. Single domain binding proteins include any known in the art, as well as any future-determined or -learned single domain binding proteins.

[0101] Single domain binding proteins may be derived from any species including, but not limited to, mouse, human, camel, llama, fish, shark, goat, rabbit, chicken, and bovine. In one aspect of the invention, the single domain binding protein can be derived from a variable region of the immunoglobulin found in fish, such as, for

example, that which is derived from the immunoglobulin isotype known as Novel Antigen Receptor (NAR) found in the serum of shark. Methods of producing single domain binding proteins derived from a variable region of NAR (IgNARs) are described in, e.g., International Application Publication No. WO 03/014161 and Streltsov (2005) *Protein Sci.* 14:2901-09. Single domain binding proteins also include naturally occurring single domain binding proteins known in the art as heavy chain antibodies devoid of light chains. This variable domain derived from a heavy chain antibody naturally devoid of a light chain is known herein as a VHH, or a nanobody, to distinguish it from the conventional V_H of four-chain immunoglobulins. Such a VHH molecule can be derived from antibodies raised in *Camelidae* species, for example, in camel, llama, dromedary, alpaca, and guanaco, and is sometimes called a camelid or camelized variable domain (see, e.g., Muyldermans (2001) *J. Biotechnol.* 74(4):277-302, incorporated herein by reference). Other species besides those in the family *Camelidàe* may also produce heavy chain binding proteins naturally devoid of light chains. VHH molecules are about ten times smaller than IgG molecules. They are single polypeptides and are very stable, resisting extreme pH and temperature conditions. Moreover, they are resistant to the actions of proteases, which is not the case for conventional antibodies. Furthermore, *in vitro* expression of VHHs can produce high-yield, properly folded functional VHHs. In addition, binding proteins generated in camelids will recognize epitopes other than those recognized by antibodies generated *in vitro* via antibody libraries or via immunization of mammals other than camelids (see, e.g., International Application Publication Nos. WO 97/049805 and WO 94/004678, which are incorporated herein by reference).

[0102] A "bispecific" or "bifunctional" binding protein is an artificial hybrid binding protein having two different heavy/light chain pairs and two different binding sites. Bispecific binding proteins can be produced by a variety of methods including fusion of hybridomas or linking of Fab' fragments (see, e.g., Songsivilai and Lachmann (1990) *Clin. Exp. Immunol.* 79:315-21; Kostelny et al. (1992) *J. Immunol.*

148:1547-53). In one embodiment, the bispecific binding protein comprises a first binding domain polypeptide, such as a Fab' fragment, linked via an immunoglobulin constant region to a second binding domain polypeptide.

[0103] Another binding protein according to the invention can comprise, for example, a binding domain-immunoglobulin fusion protein that includes a binding domain polypeptide that is fused or otherwise connected to an immunoglobulin hinge or hinge-acting region polypeptide, which in turn is fused or otherwise connected to a region comprising one or more native or engineered constant regions from an immunoglobulin heavy chain, other than C_H1, for example, the C_H2 and C_H3 regions of IgG and IgA1 or the C_H3 and C_H4 regions of IgE (see, e.g., U.S. Application Publication No. 2005/0136049, which is incorporated by reference herein, for a more complete description). The binding domain-immunoglobulin fusion protein can further include a region that includes a native or engineered immunoglobulin heavy chain C_H2 constant region polypeptide (or C_H3 in the case of a construct derived in whole or in part from IgE) that is fused or otherwise connected to the hinge region polypeptide and a native or engineered immunoglobulin heavy chain C_H3 constant region polypeptide (or C_H4 in the case of a construct derived in whole or in part from IgE) that is fused or otherwise connected to the C_H2 constant region polypeptide (or C_H3 in the case of a construct derived in whole or in part from IgE). Typically, such binding domain-immunoglobulin fusion proteins are capable of at least one immunological activity selected from the group consisting of antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity (ADCC), complement fixation, and/or binding to a target, for example, a target antigen, such as human IL-21R.

[0104] Binding proteins of the invention can also comprise peptide mimetics. Peptide mimetics are peptide-containing molecules that mimic elements of protein secondary structure (see, for example, Johnson et al., *Peptide Turn Mimetics* in *Biotechnology and Pharmacy* (1993) Pezzuto et al. eds., Chapman and Hall, New York, incorporated by reference herein in its entirety). The underlying rationale behind the use of peptide mimetics is that the peptide backbone of proteins exists

chiefly to orient amino acid side chains in such a way as to facilitate molecular interactions, such as those between antibody and antigen. A peptide mimetic is expected to permit molecular interactions similar to the natural molecule. These principles may be used to engineer second generation molecules having many of the natural properties of the targeting peptides disclosed herein, but with altered and potentially improved characteristics.

[0105] Other embodiments of binding proteins useful for practing the invention include fusion proteins. These molecules generally have all or a substantial portion of a targeting peptide, for example, IL-21R or an anti IL-21R antibody, linked at the N- or C-terminus, to all or a portion of a second polypeptide or protein. For example, fusion proteins may employ leader (or signal) sequences from other species to permit the recombinant expression of a protein in a heterologous host. For example, amino acid sequences, or nucleic acid sequences encoding amino acid sequences, of the the binding proteins and antigen-binding fragments thereof of the present invention comprising a leader (or signal) sequence may be selected from SEQ ID NOs:87-109 and 239-248. Another useful fusion includes the addition of an immunologically active domain, such as a binding protein epitope, to facilitate purification of the fusion protein. Inclusion of a cleavage site at or near the fusion junction will facilitate removal of the extraneous polypeptide after purification. Other useful fusions include the linking of functional domains, such as active sites from enzymes, glycosylation domains, cellular targeting signals, or transmembrane regions. Examples of proteins or peptides that may be incorporated into a fusion protein include, but are not limited to, cytostatic proteins, cytocidal proteins, pro-apoptosis agents, anti-angiogenic agents, hormones, cytokines, growth factors, peptide drugs, antibodies, Fab fragments of antibodies, antigens, receptor proteins, enzymes, lectins, MHC proteins, cell adhesion proteins, and binding proteins. Methods of generating fusion proteins are well known to those of skill in the art. Such proteins can be produced, for example, by chemical attachment using bifunctional cross-linking reagents, by de novo synthesis of the complete fusion

protein, or by attachment of a DNA sequence encoding the targeting peptide to a DNA sequence encoding the second peptide or protein, followed by expression of the intact fusion protein.

[0106] In one embodiment, the targeting peptide, for example, IL-21R, is fused with an immunoglobulin heavy chain constant region, such as an Fc fragment, which contains two constant region domains and a hinge region, but lacks the variable region (see, e.g., U.S. Patent Nos. 6,018,026 and 5,750,375, incorporated by reference herein). The Fc region may be a naturally occurring Fc region, or may be altered to improve certain qualities, e.g., therapeutic qualities, circulation time, reduced aggregation. Peptides and proteins fused to an Fc region typically exhibit a greater half-life *in vivo* than the unfused counterpart does. In addition, a fusion to an Fc region permits dimerization / multimerization of the fusion polypeptide.

[0107] One aspect of the present invention comprises binding proteins and antigen-binding fragments thereof that bind IL-21R. The disclosure provides novel CDRs that have been derived from human immunoglobulin gene libraries. The protein structure that is generally used to carry a CDR is an antibody heavy or light chain or a portion thereof, wherein the CDR is localized to a region associated with a naturally occurring CDR. The structures and locations of variable domains may be determined as described in Kabat et al. ((1991) *supra*).

[0108] Illustrative embodiments of the binding proteins (and antigen-binding fragments thereof) of the invention are identified as AbA-AbZ, H3-H6, L1-L6, L8-L21, and L23-L25. DNA and amino acid sequences of the nonlimiting illustrative embodiments of the anti-IL-21R binding proteins of the invention are set forth in SEQ ID NOs:5-195, 213-229, and 239-248. DNA and amino acid sequences of some illustrative embodiments of the anti-IL-21R binding proteins of the invention, including their scFv fragments, V_H and V_L domains, and CDRs, as well as their present codes and previous designations, are set forth in **FIGs. 17-25**, and **Tables 2A** and **2B**.

Table 2A: Correlation of Present Antibody Codes and Previous Designations

Present Code	Previous Designation
AbA	VHP/VL2
AbB	VHP/VL3
AbC	VHP/VL11
AbD	VHP/VL13
AbE	VHP/VL14
AbF	VHP/VL17
AbG	VHP/VL18
AbH	VHP/VL19
AbI	VHP/VL24
AbJ	VH3/VLP
AbK	VH3/VL3
AbL	VH3/VL13
AbM	VH6/VL13
AbN	VH6/VL24
AbO	VHP/VL16; VHPTM/VL16
AbP	VHP/VL20; VHPTM/VL20
AbQ	VH3/VL2; VH3DM/VL2
AbR	VH3/VL18; VH3DM/VL18
AbS	VHP/VL6; VHPTM/VL6; VL6
AbT	VHP/VL9; VHPTM/VL9; VL9
AbU	VHP/VL25; VHPTM/VL25
AbV	VH3TM/VL2
AbW	VH3TM/VL18
AbX	VHPDM/VL9
AbY	VHPg4/VL9
AbZ	VHPWT/VL9

Table 2B: Amino Acid and Nucleotide Sequences of V_H and V_L Domains, scFv, and CDRs of Illustrative Binding Proteins of the Invention

REGION	TYPE	H3 SEQ ID	H4 SEQ ID	H5 SEQ ID	H6 SEQ ID	L1 SEQ ID
V_H	AA	NO:14	NO:16	NO:18	NO:20	NO:6
V_L	AA	NO:10	NO:10	NO:10	NO:10	NO:22
scFv	AA	NO:110	NO:112	NO:114	NO:116	NO:118
CDR H1	AA	NO:163	NO:163	NO:163	NO:163	NO:163
CDR H2	AA	NO:164	NO:164	NO:164	NO:164	NO:164
CDR H3	AA	NO:165	NO:166	NO:167	NO:168	NO:169
CDR L1	AA	NO:194	NO:194	NO:194	NO:194	NO:194
CDR L2	AA	NO:195	NO:195	NO:195	NO:195	NO:195
CDR L3	AA	NO:170	NO:170	NO:170	NO:170	NO:171
V_H	DNA	NO:13	NO:15	NO:17	NO:19	NO:5
V_L	DNA	NO:9	NO:9	NO:9	NO:9	NO:21
scFv	DNA	NO:109	NO:111	NO:113	NO:115	NO:117

Table 2B (continued)

REGION	TYPE	L2 SEQ ID	L3 SEQ ID	L4 SEQ ID	L5 SEQ ID	L6 SEQ ID
V_H	AA	NO:6	NO:6	NO:6	NO:6	NO:6
V_L	AA	NO:24	NO:26	NO:28	NO:30	NO:32
scFv	AA	NO:120	NO:122	NO:124	NO:126	NO:128
CDR H1	AA	NO:163	NO:163	NO:163	NO:163	NO:163
CDR H2	AA	NO:164	NO:164	NO:164	NO:164	NO:164
CDR H3	AA	NO:169	NO:169	NO:169	NO:169	NO:169
CDR L1	AA	NO:194	NO:194	NO:194	NO:194	NO:194
CDR L2	AA	NO:195	NO:195	NO:195	NO:195	NO:195
CDR L3	AA	NO:172	NO:173	NO:174	NO:175	NO:176
V_H	DNA	NO:5	NO:5	NO:5	NO:5	NO:5
V_L	DNA	NO:23	NO:25	NO:27	NO:29	NO:31
scFv	DNA	NO:119	NO:121	NO:123	NO:125	NO:127

Table 2B (continued)

REGION	TYPE	L8 SEQ ID	L9 SEQ ID	L10 SEQ ID	L11 SEQ ID	L12 SEQ ID
V_H	AA	NO:6	NO:6	NO6	NO:6	NO:6
V_L	AA	NO:34	NO:36	NO:38	NO:40	NO:42
scFv	AA	NO:130	NO:132	NO:134	NO:136	NO:138
CDR H1	AA	NO:163	NO:163	NO:163	NO:163	NO:163
CDR H2	AA	NO:164	NO:164	NO:164	NO:164	NO:164
CDR H3	AA	NO:169	NO:169	NO:169	NO:169	NO:169
CDR L1	AA	NO:194	NO:194	NO:194	NO:194	NO:194
CDR L2	AA	NO:195	NO:195	NO:195	NO:195	NO:195
CDR L3	AA	NO:177	NO:178	NO:179	NO:180	NO:181
V_H	DNA	NO:5	NO:5	NO:5	NO:5	NO:5
V_L	DNA	NO:33	NO:35	NO:37	NO:39	NO:41
scFv	DNA	NO:129	NO:131	NO:133	NO:135	NO:137

Table 2B (continued)

REGION	TYPE	L13 SEQ ID	L14 SEQ ID	L15 SEQ ID	L16 SEQ ID	L17 SEQ ID
V_H	AA	NO:6	NO:6	NO:6	NO:6	NO:6
V_L	AA	NO:44	NO:46	NO:48	NO:50	NO:52
scFv	AA	NO:140	NO:142	NO:144	NO:146	NO:148
CDR H1	AA	NO:163	NO:163	NO:163	NO:163	NO:163
CDR H2	AA	NO:164	NO:164	NO:164	NO:164	NO:164
CDR H3	AA	NO:169	NO:169	NO:169	NO:169	NO:169
CDR L1	AA	NO:194	NO:194	NO:194	NO:194	NO:194
CDR L2	AA	NO:195	NO:195	NO:195	NO:195	NO:195
CDR L3	AA	NO:182	NO:183	NO:184	NO:185	NO:186
V_H	DNA	NO:5	NO:5	NO:5	NO:5	NO:5
V_L	DNA	NO:43	NO:45	NO:47	NO:49	NO:51
scFv	DNA	NO:139	NO:141	NO:143	NO:145	NO:147

Table 2B (continued)

REGION	TYPE	L18 SEQ ID	L19 SEQ ID	L20 SEQ ID	L21 SEQ ID	L23 SEQ ID
V_H	AA	NO:6	NO:6	NO:6	NO:6	NO:6
V_L	AA	NO:54	NO:56	NO:58	NO:60	NO:62
scFv	AA	NO:150	NO:152	NO:154	NO:156	NO:158
CDR H1	AA	NO:163	NO:163	NO:163	NO:163	NO:163
CDR H2	AA	NO:164	NO:164	NO:164	NO:164	NO:164
CDR H3	AA	NO:169	NO:169	NO:169	NO:169	NO:169
CDR L1	AA	NO:194	NO:194	NO:194	NO:194	NO:194
CDR L2	AA	NO:195	NO:195	NO:195	NO:195	NO:195
CDR L3	AA	NO:187	NO:188	NO:189	NO:190	NO:191
V_H	DNA	NO:5	NO:5	NO:5	NO:5	NO:5
V_L	DNA	NO:53	NO:55	NO:57	NO:59	NO:61
scFv	DNA	NO:149	NO:151	NO:153	NO:155	NO:157

Table 2B (continued)

REGION	TYPE	L24 SEQ ID	L25 SEQ ID
V_H	AA	NO:6	NO:6
V_L	AA	NO:64	NO:66
scFv	AA	NO:160	NO:162
CDR H1	AA	NO:163	NO:163
CDR H2	AA	NO:164	NO:164
CDR H3	AA	NO:169	NO:169
CDR L1	AA	NO:194	NO:194
CDR L2	AA	NO:195	NO:195
CDR L3	AA	NO:192	NO:193
V_H	DNA	NO:5	NO:5
V_L	DNA	NO:63	NO:65
scFv	DNA	NO:159	NO:161

[0109] Anti-IL-21R binding proteins of the present invention may comprise antibody constant regions or parts thereof. For example, a V_L domain may be attached at its C-terminal end to a light chain constant domain like Cκ or Cλ. Similarly, a V_H domain, or portion thereof, may be attached to all or part of a heavy chain like IgA, IgD, IgE, IgG, and IgM, and any isotype subclass. Constant regions are known in the art (see, e.g., Kabat et al. (1991) *supra*). Therefore, binding proteins within the scope of this invention include V_H and V_L domains, or portions thereof, combined with constant regions known in the art.

[0110] Certain embodiments comprise a V_H domain, a V_L domain, or a combination thereof, of the Fv fragment from AbA-AbZ, H3-H6, L1-L6, L8-L21, and/or L23-L25. Further embodiments comprise one, two, three, four, five or six CDRs from the V_H and V_L domains. Binding proteins whose CDR sequence(s) are the same as, or similar to (i.e., differ insubstantially from), one or more CDR sequence(s) present within the sequences set forth in SEQ ID NOs:5-195, 213-229, and 239-248 are encompassed within the scope of the invention.

[0111] In certain embodiments, the V_H and/or V_L domains may be germlined, i.e., the FR of these domains are mutated using conventional molecular biology

techniques to match those produced by the germline cells. In other embodiments, the FR sequences remain diverged from the consensus germline sequences.

[0112] In one embodiment, mutagenesis is used to make a binding protein more similar to one or more germline sequences. This may be desirable when mutations are introduced into the FR of a binding protein (e.g., an antibody) through somatic mutagenesis or through error prone PCR. Germline sequences for the V_H and V_L domains can be identified by performing amino acid and nucleic acid sequence alignments against the VBASE database (MRC Center for Protein Engineering, UK). VBASE is a comprehensive directory of all human germline variable region sequences compiled from over a thousand published sequences, including those in the current releases of the GENBANK® and EMBL data libraries. In some embodiments, the FRs of scFvs are mutated in conformity with the closest matches in the VBASE database and the CDR portions are kept intact.

[0113] In certain embodiments, binding proteins of the invention specifically react with an epitope that is the same as the epitope recognized by AbA-AbZ, H3-H6, L1-L6, L8-L21, or L23-L25, such that they competitively inhibit the binding of AbA-AbZ, H3-H6, L1-L6, L8-L21, or L23-L25 to human IL-21R. Such binding proteins can be determined in competitive binding assays. In one embodiment, the association constant (K_A) of these binding proteins for human IL-21R is at least 10^5 $M^{-1}s^{-1}$. The binding affinity may be determined using techniques known in the art, such as ELISA, biosensor technology (such as biospecific interaction analysis) or other techniques, including those described in this application.

[0114] It is contemplated that binding proteins of the invention may bind other proteins, such as, for example, recombinant proteins comprising all or a portion of IL-21R.

[0115] One of ordinary skill in the art will recognize that the disclosed binding proteins may be used to detect, measure, and/or inhibit proteins that differ somewhat from IL-21R. For example, these proteins may be homologs of IL-21R. Anti-IL-21R binding proteins are expected to bind proteins that comprise a sequence which is at

least about 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, or more identical to any sequence of at least 100, 80, 60, 40, or 20 contiguous amino acids in the sequence set forth SEQ ID NOs:2 or 4.

[0116] In addition to sequence homology analyses, epitope mapping (see, e.g., *Epitope Mapping Protocols* (1996) Morris ed., Humana Press), and secondary and tertiary structure analyses can be carried out to identify specific 3D structures assumed by the presently disclosed binding proteins and their complexes with antigens. Such methods include, but are not limited to, x-ray crystallography (Engstom (1974) *Biochem. Exp. Biol.* 11:7-13) and computer modeling of virtual representations of the present binding proteins (Fletterick et al. (1986) *Computer Graphics and Molecular Modeling, in Current Communications in Molecular Biology*, Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, NY).

[0117] The disclosure provides a method for obtaining anti-IL-21R binding proteins. The method comprises creating binding proteins with V_H and/or V_L sequence(s) that are altered from those sequences disclosed herein. Such binding proteins may be derived by a skilled artisan using techniques known in the art. For example, amino acid substitutions, deletions, or additions can be introduced in FR and/or CDR regions. FR changes are usually designed to improve the stability and immunogenicity of the binding protein, while CDR changes are typically designed to increase a binding protein's affinity for its antigen. The changes that increase affinity may be tested by altering one or more CDR sequences and measuring the affinity of the binding protein for its target (see, e.g., *Antibody Engineering* (2nd ed. 1995) Borrebaeck ed., Oxford University Press).

[0118] Binding proteins whose CDR sequences differ insubstantially from those set forth in or included within the sequences of SEQ ID NOs:5-195, 213-229, and 239-248 are encompassed within the scope of this invention. Typically, such an insubstantial difference(s) involves substitution of an amino acid with an amino acid having similar charge, hydrophobicity, or stereochemical characteristics. More drastic substitutions in FR regions, in contrast to CDR regions, may also be made as

long as they do not adversely affect (e.g., reduce affinity by more than 50% as compared to the unsubstituted binding protein) the binding properties of the binding protein. Substitutions may also be made to germline the binding protein or stabilize its antigen binding site.

[0119] Conservative modifications will produce molecules having functional and chemical characteristics similar to those of the molecule from which such modifications are made. In contrast, substantial modifications in the functional and/or chemical characteristics of the molecules may be accomplished by selecting substitutions in the amino acid sequence that differ significantly in their effect on maintaining (1) the structure of the molecular backbone in the area of the substitution, for example, as a sheet or helical conformation, (2) the charge or hydrophobicity of the molecule at the target site, and/or (3) the size of the molecule.

[0120] For example, a "conservative amino acid substitution" may involve a substitution of a native amino acid residue with a normative residue such that there is little or no effect on the polarity or charge of the amino acid residue at that position (see, e.g., MacLennan et al. (1998) *Acta Physiol. Scand. Suppl.* 643:55-67; Sasaki et al. (1998) *Adv. Biophys.* 35:1-24).

[0121] Desired amino acid substitutions (whether conservative or nonconservative) can be determined by those skilled in the art at the time such substitutions are desired. For example, amino acid substitutions can be used to identify important residues of the molecule sequence, or to increase or decrease the affinity of the molecules described herein. Exemplary amino acid substitutions include, but are not limited to, those set forth in **Table 3**.

Table 3: Exemplary Amino Acid Substitutions

Original Residues	Exemplary Substitutions	More Conservative Substitutions
Ala (A)	Val, Leu, Ile	Val
Arg (R)	Lys, Gln, Asn	Lys
Asn (N)	Gln	Gln
Asp (D)	Glu	Glu
Cys (C)	Ser, Ala	Ser
Gln (Q)	Asn	Asn
Gly (G)	Pro, Ala	Ala
His (H)	Asn, Gln, Lys, Arg	Arg
Ile (I)	Leu, Val, Met, Ala, Phe, Norleucine	Leu
Leu (L)	Norleucine, Ile, Val, Met, Ala, Phe	Ile
Lys (K)	Arg, 1,4-diamino-butyric acid, Gln, Asn	Arg
Met (M)	Leu, Phe, Ile	Leu
Phe (F)	Leu, Val, Ile, Ala, Tyr	Leu
Pro (P)	Ala, Gly	Gly
Ser (S)	Thr, Ala, Cys	Thr
Thr (T)	Ser	Ser
Trp (W)	Tyr, Phe	Tyr
Tyr (Y)	Trp, Phe, Thr, Ser	Phe
Val (V)	Ile, Met, Leu, Phe, Ala, Norleucine	Leu

[0122] In certain embodiments, conservative amino acid substitutions also encompass nonnaturally occurring amino acid residues that are typically incorporated by chemical peptide synthesis rather than by synthesis in biological systems.

[0123] In one embodiment, the method for making a variant V_H domain comprises adding, deleting, or substituting at least one amino acid in the disclosed V_H domains, or combining the disclosed V_H domains with at least one V_L domain, and testing the variant V_H domain for IL-21R binding or modulation of IL-21R/IL-21 activity.

[0124] An analogous method for making a variant V_L domain comprises adding, deleting, or substituting at least one amino acid in the disclosed V_L domains, or

combining the disclosed V_L domains with at least one V_H domain, and testing the variant V_L domain for IL-21R binding or modulation of IL-21R activity.

[0125] In some alternative embodiments, the anti-IL-21R binding proteins can be linked to a protein (e.g., albumin) by chemical cross-linking or recombinant methods. The disclosed binding proteins may also be linked to a variety of nonproteinaceous polymers (e.g., polyethylene glycol, polypropylene glycol, or polyoxyalkylenes) in manners set forth in U.S. Patent Nos. 4,640,835; 4,496,689; 4,301,144; 4,670,417; 4,791,192; and 4,179,337. The binding proteins can be chemically modified by covalent conjugation to a polymer, for example, to increase their half-life in blood circulation. Exemplary polymers and attachment methods are shown in U.S. Patent Nos. 4,766,106; 4,179,337; 4,495,285; and 4,609,546.

[0126] The disclosed binding proteins can be modified to alter their glycosylation; that is, at least one carbohydrate moiety can be deleted or added to the binding protein. Deletion or addition of glycosylation sites can be accomplished by changing amino acid sequence to delete or create glycosylation consensus sites, which are well known in the art. Another means of adding carbohydrate moieties is the chemical or enzymatic coupling of glycosides to amino acid residues of the binding protein, e.g., antibody (see, e.g., International Application Publication No. WO 87/05330 and Aplin et al. (1981) *CRC Crit. Rev. Biochem.* 22:259-306). Removal of carbohydrate moieties can also be accomplished chemically or enzymatically (see, e.g., Hakimuddin et al. (1987) *Arch. Biochem. Biophys.* 259:52; Edge et al. (1981) *Anal. Biochem.* 118:131; and Thotakura et al. (1987) *Meth. Enzymol.* 138:350). Modification of carbohydrate structures may be preferable as amino acid changes in the Fc domain may enhance immunogenicity of a pharmaceutical composition (see, e.g., International Application Publication No. WO 2008/052030). For immunoglobulin molecules it has been demonstrated that attachment of N-linked carbohydrate to Asn-297 of the CH2 domain is critical for ADCC activity. Its removal enzymatically or through mutation of the N-linked consensus site results in little to no ADCC activity. In glycoproteins, carbohydrates may attach to the amide

nitrogen atom in the side chain of an asparagine in a tripeptide motif Asn-X-Thr/Ser. This type of glycosylation, termed N-linked glycosylation, commences in the endoplasmic reticulum (ER) with the addition of multiple monosaccharides to a dolichol phosphate to form a 14-residue branched carbohydrate complex. This carbohydrate complex is then transferred to the protein by the oligosaccharyltransferase (OST) complex. Before the glycoprotein leaves the lumen of the ER, three glucose molecules are removed from the 14-residue oligosaccharide. The enzymes ER glucosidase I, ER glucosidase II and ER mannosidase are involved in ER processing. Subsequently, the polypeptides are transported to the Golgi complex, where the N-linked sugar chains are modified in many different ways. In the cis and medial compartments of the Golgi complex, the original 14-saccharide N-linked complex may be trimmed through removal of mannose (Man) residues and elongated through addition of N-acetylglucosamine (GlcNac) and/or fucose (Fuc) residues. The various forms of N-linked carbohydrates generally have in common a pentasaccharide core consisting of three mannose and two N-acetylglucosamine residues. Finally, in the trans Golgi, other GlcNac residues can be added, followed by galactose (Gal) and a terminal sialic acid (Sial). Carbohydrate processing in the Golgi complex is called "terminal glycosylation" to distinguish it from "core glycosylation," which takes place in the ER. The final complex carbohydrate units can take on many forms and structures, some of which have two, three or four branches (termed biantennary, triantennary or tetraantennary). A number of enzymes are involved in Golgi processing, including Golgi mannosidases IA, IB and IC, GlcNAc-transferase I, Golgi mannosidase II, GlcNAc-transferase II, galactosyl transferase and sialyl transferase.

[0127] Methods for altering the constant region of a binding protein (such as, for example, the constant region of an antibody) are known in the art. Binding proteins with altered function (e.g., altered affinity for an effector ligand such as FcR on a cell or the C1 component of complement) can be produced by replacing at least one amino acid residue in the constant portion with a different residue (see, e.g.,

European Application Publication No. EP 0 388 151 and U.S. Patent Nos. 5,624,821 and 5,648,260). Similar types of alterations could be described that, if applied to a murine or other species of binding protein, would reduce or eliminate similar functions.

[0128] For example, it is possible to alter the affinity of an Fc region of a binding protein (e.g., an IgG, such as a human IgG) for FcR (e.g., Fc gamma R1) or C1q. The affinity may be altered by replacing at least one specified residue with at least one residue having an appropriate functionality on its side chain, or by introducing a charged functional group, such as glutamate or aspartate, or perhaps an aromatic nonpolar residue such as phenylalanine, tyrosine, tryptophan or alanine (see, e.g., U.S. Patent No. 5,624,821).

[0129] For example, replacing residue 297 (asparagine) with alanine in the IgG constant region significantly inhibits recruitment of effector cells, while only slightly reducing (about three-fold weaker) affinity for CIq (see, e.g., U.S. Patent No. 5,624,821). The numbering of the residues in the heavy chain is that of the EU index (see Kabat et al. (1991) *supra*). This alteration destroys the glycosylation site, and it is believed that the presence of carbohydrate is required for Fc receptor binding. Any other substitution at this site that destroys the glycosylation site is believed to cause a similar decrease in lytic activity. Other amino acid substitutions, e.g., changing any one of residues 318 (Glu), 320 (Lys) and 322 (Lys), to Ala, are also known to abolish C1q binding to the Fc region of IgG antibodies (see, e.g., U.S. Patent No. 5,624,821).

[0130] Modified binding proteins can be produced which have a reduced interaction with an Fc receptor. For example, it has been shown that in human IgG_3, which binds to the human Fc gamma R1 receptor, changing Leu 235 to Glu destroys its interaction with the receptor. Mutations on adjacent or close sites in the hinge link region of a binding protein (e.g., replacing residues 234, 235 and 237 with Ala) can also be used to affect binding protein affinity for the Fc gamma R1 receptor. The numbering of the residues in the heavy chain is based on the EU index (see Kabat et al. (1991) *supra*). Thus, in some embodiments of the invention, the Fc region of the

binding proteins of the invention contains at least one constant region mutation, such as, for example, changing Leu to Ala at position 234 (L234A), changing Leu to Ala at position 235 (L235A), and/or changing Gly to Ala at position 237 (G237A). In one embodiment, the Fc region of the binding protein contains two constant region mutations, L234A and G237A (i.e., "double-mutant" or "DM"). In another embodiment, the Fc region of the binding protein contains three constant region mutations, L234A, L235A, and G237A (i.e., "triple-mutant" or "TM"). For example, a human IgG constant region triple-mutant is set forth in SEQ ID NO:196.

[0131] Additional methods for altering the lytic activity of a binding protein, for example, by altering at least one amino acid in the N-terminal region of the CH2 domain, are described in International Application Publication No. WO 94/029351 and U.S. Patent No. 5,624,821.

[0132] The binding proteins of the invention can be tagged with a detectable or functional label. These labels include radiolabels (e.g., ^{131}I and ^{99}Tc), enzymatic labels (e.g., horseradish peroxidase and alkaline phosphatase), and other chemical moieties (e.g., biotin).

[0133] The invention may also feature an isolated binding protein or antigen-binding fragment thereof that binds to IL-21R, in particular, human IL-21R. In certain embodiments, the anti-IL-21R binding protein may have at least one of the following characteristics: (1) it is a monoclonal or single specificity binding protein; (2) it is a human binding protein; (3) it is an *in vitro* generated binding protein; (4) it is an *in vivo* generated binding protein (e.g., transgenic mouse system); (5) it inhibits the binding of IL-21 to IL-21R; (6) it is an IgG1; (7) it binds to human IL-21R with an association constant of at least about 10^5 $M^{-1}s^{-1}$; (8) it binds to murine IL-21R with an association constant of at least about $5x10^4$ $M^{-1}s^{-1}$; (9) it binds to human IL-21R with a dissociation constant of about 10^{-3} (1/s) or less; (10) it binds to murine IL-21R with a dissociation constant of about 10^{-2} (1/s) or less; (11) it inhibits human IL-21R-mediated proliferation of human IL-21R-expressing BaF3 cells with an IC_{50} of about 1.75 nM or less; (12) it inhibits murine IL-21R-mediated proliferation of murine

IL-21R-expressing BaF3 cells with an IC_{50} of about 0.5 nM or less; (13) it inhibits human IL-21R-mediated proliferation of human IL-21R-expressing TF1 cells with an IC_{50} of about 14.0 nM or less; (14) it inhibits IL-21-mediated proliferation of human primary B cells with an IC_{50} of about 1.9 nM or less; (15) it inhibits IL-21-mediated proliferation of human primary $CD4^+$ T cells with an IC_{50} of about 1.5 nM or less; and (16) it inhibits IL-21-mediated proliferation of murine primary $CD4^+$ T cells with an IC_{50} of about 5.0 nM or less.

[0134] One of skill in the art will appreciate that the modifications described above are not exhaustive, and that many other modifications will be obvious to a skilled artisan in light of the teachings of the present disclosure.

Nucleic Acids, Cloning and Expression Systems

[0135] The disclosure provides isolated nucleic acids encoding the disclosed binding proteins. The nucleic acids may comprise DNA or RNA, and they may be synthetic (completely or partially) or recombinant (completely or partially). Reference to a nucleotide sequence as set out herein encompasses a DNA molecule with the specified sequence, and encompasses an RNA molecule with the specified sequence in which U is substituted for T.

[0136] Also contemplated are nucleic acids that comprise a coding sequence for one, two, or three CDRs, a V_H domain, a V_L domain, or combinations thereof, as disclosed herein, or a sequence substantially identical thereto (e.g., a sequence at least 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% or higher identical thereto, or which is capable of hybridizing under stringent conditions to the sequences).

[0137] In one embodiment, the isolated nucleic acids have nucleotide sequences encoding heavy chain and light chain variable regions of an anti-IL-21R binding protein comprising at least one CDR chosen from the amino acid sequences of SEQ ID NOs:163-195, or a sequence encoding a CDR which differs by one or two or three or four amino acids from the sequences described herein.

[0138] The nucleic acid can encode only the light chain or the heavy chain variable region, or can encode a binding protein light or heavy chain constant region, operatively linked to the corresponding variable region. In one embodiment, the light chain variable region is linked to a constant region chosen from a kappa or a lambda constant region. The light chain constant region may also be a human kappa or lambda type. In another embodiment, the heavy chain variable region is linked to a heavy chain constant region of a binding protein isotype chosen from IgG (e.g., IgG1, IgG2, IgG3, and IgG4), IgM, IgA1, IgA2, IgD, and IgE. The heavy chain constant region may be an IgG (e.g., an IgG1) isotype.

[0139] The nucleic acid compositions of the present invention, while often in the native sequence (of cDNA or genomic DNA or mixtures thereof), except for modified restriction sites and the like, can be mutated in accordance with standard techniques to provide gene sequences. For coding sequences, these mutations, may affect amino acid sequences as desired. In particular, nucleotide sequences substantially identical to or derived from native V, D, J, constant, switches and other such sequences described herein are contemplated (where "derived" indicates that a sequence is identical to or modified from another sequence).

[0140] In one embodiment, the nucleic acid differs (e.g., differs by substitution, insertion, or deletion) from that of the sequences provided (e.g., by at least one but less than 10, 20, 30, or 40 nucleotides; at least one but less than 1%, 5%, 10% or 20% of the nucleotides in the subject nucleic acid). If necessary for this analysis the sequences should be aligned for maximum homology. "Looped" out sequences from deletions or insertions, or mismatches, are considered differences. The difference may be at a nucleotide(s) encoding a nonessential residue(s), or the difference may be a conservative substitution(s).

[0141] The disclosure also provides nucleic acid constructs in the form of plasmids, vectors, and transcription or expression cassettes, which comprise at least one nucleic acid as described herein.

[0142] The disclosure further provides a host cell that comprises at least one nucleic acid construct described herein.

[0143] Also provided is a method of making an encoded protein(s) from a nucleic acid(s) comprising the sequence(s) described herein. The method comprises culturing host cells under appropriate conditions so they express the protein from the nucleic acid. Following expression and production, the V_H or V_L domain, or specific binding member, may be isolated and/or purified using any suitable technique, and then used as appropriate. The method can also include the steps of fusing a nucleic acid encoding an scFv with nucleic acids encoding an Fc portion of a binding protein, and expressing the fused nucleic acid in a cell. The method can also include a step of germlining.

[0144] Antigen-binding fragments, V_H and/or V_L domains, and encoding nucleic acid molecules and vectors may be isolated and/or purified from their natural environment, in substantially pure or homogenous form, or, in the case of nucleic acids, free or substantially free of nucleic acids or genes of origin other than the sequence encoding a polypeptide with the require function.

[0145] Systems for cloning and expressing polypeptides in a variety of host cells are known in the art. Cells suitable for producing binding proteins are described in, for example, Fernandez et al. (1999) *Gene Expression Systems*, Academic Press. In brief, suitable host cells include mammalian cells, insect cells, plant cells, yeast cells, or prokaryotic cells, e.g., *E. coli*. Mammalian cells available in the art for heterologous polypeptide expression include lymphocytic cell lines (e.g., NSO), HEK293 cells, Chinese hamster ovary (CHO) cells, COS cells, HeLa cells, baby hamster kidney cells, oocyte cells, and cells from a transgenic animal, e.g., mammary epithelial cells. In other embodiments, the nucleic acids encoding the binding proteins of the invention are placed under the control of a tissue-specific promoter (e.g., a mammary-specific promoter) and the binding proteins are produced in transgenic animals. For example, the binding proteins are secreted into the milk of the transgenic animal, such as a transgenic cow, pig, horse, sheep, goat, or rodent.

[0146] Suitable vectors may be chosen or constructed to contain appropriate regulatory sequences, including promoter sequences, terminator sequences, polyadenylation sequences, enhancer sequences, marker genes, and other sequences. The vectors may also contain a plasmid or viral backbone. For details, see, e.g., Sambrook et al., *Molecular Cloning: A Laboratory Manual* (2nd ed. 1989) Cold Spring Harbor Laboratory Press. Many established techniques used with vectors, including the manipulation, preparation, mutagenesis, sequencing, and transfection of DNA, are described, e.g., in Current Protocols in Molecular Biology (2nd ed. 1992) Ausubel et al. eds., John Wiley & Sons.

[0147] A further aspect of the disclosure provides a method of introducing the nucleic acid into a host cell. For eukaryotic cells, suitable transfection techniques may include calcium phosphate, DEAE-Dextran, electroporation, liposome-mediated transfection, and transduction using a retrovirus or other virus(es), e.g., vaccinia or baculovirus. For bacterial cells, suitable techniques may include calcium chloride transformation, electroporation, and transfection using bacteriophage. DNA introduction may be followed by a selection method (e.g., drug resistance) to select cells that contain the nucleic acid.

Uses of Anti-IL-21R Binding Proteins

[0148] Anti-IL-21R binding proteins that act as antagonists to IL-21R can be used to regulate at least one IL-21R-mediated immune response, such as one or more of cell proliferation, cytokine expression or secretion, chemokine secretion, and cytolytic activity, of T cells, B cells, NK cells, macrophages, or synovial cells. Accordingly, the binding proteins of the invention can be used to inhibit the activity (e.g., proliferation, differentiation, and/or survival) of an immune or hematopoietic cell (e.g., a cell of myeloid, lymphoid, or erythroid lineage, or precursor cells thereof), and, thus, can be used to treat a variety of immune disorders and hyperproliferative disorders of the blood. Examples of immune disorders that can be treated include, but are not limited to, transplant rejection, graft-versus-host disease (GVHD),

allergies (for example, atopic allergy), and autoimmune diseases. Autoimmune diseases include diabetes mellitus, arthritic disorders (including rheumatoid arthritis, juvenile rheumatoid arthritis, osteoarthritis, psoriatic arthritis, and ankylosing spondylitis), spondyloarthropathy, multiple sclerosis, encephalomyelitis, myasthenia gravis, systemic lupus erythematosus, cutaneous lupus erythematosus, autoimmune thyroiditis, dermatitis (including atopic dermatitis and eczematous dermatitis), psoriasis, Sjögren's syndrome, IBD (including Crohn's disease and ulcerative colitis), asthma (including intrinsic asthma and allergic asthma), scleroderma and vasculitis.

Combination Therapy

[0149] In one embodiment, a pharmaceutical composition comprising at least one anti-IL-21R binding protein and at least one therapeutic agent is administered in combination therapy. The therapy is useful for treating pathological conditions or disorders, such as immune and inflammatory disorders. The term "in combination" in this context means that the binding protein composition and the therapeutic agent are given substantially contemporaneously, either simultaneously or sequentially. If given sequentially, at the onset of administration of the second compound, the first of the two compounds may still be detectable at effective concentrations at the site of treatment.

[0150] For example, the combination therapy can include at least one anti-IL-21R binding protein, such as, for example, an anti-IL-21R antibody, coformulated with, and/or coadministered with, at least one additional therapeutic agent. The additional agents may include at least one cytokine inhibitor, growth factor inhibitor, immunosuppressant, anti-inflammatory agent, metabolic inhibitor, enzyme inhibitor, cytotoxic agent, and/or cytostatic agent. Such combination therapies may advantageously utilize lower dosages of the administered therapeutic agents, thus avoiding possible toxicities or complications associated with the various monotherapies. Moreover, the therapeutic agents disclosed herein act on pathways

that differ from the IL-21/IL-21R pathway, and thus are expected to enhance and/or synergize with the effects of the anti-IL-21R binding proteins.

[0151] Another aspect of the present invention relates to kits for carrying out the combined administration of anti-IL-21R binding proteins with other therapeutic agents. In one embodiment, the kit comprises at least one anti-IL-21R binding protein formulated in a pharmaceutical carrier, and at least one therapeutic agent, formulated as appropriate in one or more separate pharmaceutical preparations.

Diagnostic Uses

[0152] The binding proteins of the invention may also be used to detect the presence of IL-21R in biological samples. By correlating the presence or level of these proteins with a medical condition, one of skill in the art can diagnose the associated medical condition. For example, stimulated T cells increase their expression of IL-21R, and an unusually high concentration of IL-21R expressing T cells in joints may indicate joint inflammation and possible arthritis. Illustrative medical conditions that may be diagnosed by the binding proteins of this invention include, but are not limited to, multiple sclerosis, rheumatoid arthritis, and transplant rejection.

[0153] Binding protein-based detection methods, such as those commonly used for antibodies, are well known in the art, and include ELISA, radioimmunoassays, immunoblots, Western blots, flow cytometry, immunofluorescence, immunoprecipitation, and other related techniques. The binding proteins may be provided in a diagnostic kit that incorporates at least one of these procedures to detect IL-21R. The kit may contain other components, packaging, instructions, reagents and/or other material to aid the detection of the protein and use of the kit.

[0154] Binding proteins may be modified with detectable markers, including ligand groups (e.g., biotin), fluorophores, chromophores, radioisotopes, electron-dense reagents, or enzymes. Enzymes are detected by their activity. For example, horseradish peroxidase is detected by its ability to convert tetramethylbenzidine

(TMB) to a blue pigment, quantifiable with a spectrophotometer. Other suitable binding partners include biotin and avidin, IgG and protein A, and other receptor-ligand pairs known in the art.

[0155] Binding proteins can also be functionally linked (e.g., by chemical coupling, genetic fusion, noncovalent association, or otherwise) to at least one other molecular entity, such as another binding protein (e.g., a bispecific or a multispecific binding protein), toxins, radioisotopes, cytotoxic or cytostatic agents, among others. Other permutations and possibilities are apparent to those of ordinary skill in the art, and they are considered equivalents within the scope of this invention.

Pharmaceutical Compositions and Methods of Administration

[0156] Certain embodiments of the invention include compositions comprising the disclosed binding proteins. The compositions may be suitable for pharmaceutical use and administration to patients. The compositions comprise a binding protein of the present invention and a pharmaceutical excipient. As used herein, "pharmaceutical excipient" includes solvents, dispersion media, coatings, antibacterial and antifungal agents, isotonic and absorption delaying agents, etc., that are compatible with pharmaceutical administration. Use of these agents for pharmaceutically active substances is well known in the art. The compositions may also contain other active compounds providing supplemental, additional, or enhanced therapeutic functions. The pharmaceutical compositions may also be included in a container, pack, or dispenser, together with instructions for administration.

[0157] A pharmaceutical composition of the invention is formulated to be compatible with its intended route of administration. Methods to accomplish the administration are known to those of ordinary skill in the art. Pharmaceutical compositions may be topically or orally administered, or capable of transmission across mucous membranes. Examples of administration of a pharmaceutical composition include oral ingestion or inhalation. Administration may also be

intravenous, intraperitoneal, intramuscular, intracavity, subcutaneous, cutaneous, or transdermal.

[0158] Solutions or suspensions used for intradermal or subcutaneous application typically include at least one of the following components: a sterile diluent such as water, saline solution, fixed oils, polyethylene glycol, glycerine, propylene glycol, or other synthetic solvent; antibacterial agents such as benzyl alcohol or methyl parabens; antioxidants such as ascorbic acid or sodium bisulfite; chelating agents such as ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA); buffers such as acetate, citrate, or phosphate; and tonicity agents such as sodium chloride or dextrose. The pH can be adjusted with acids or bases by methods known in the art. Such preparations may be enclosed in ampoules, disposable syringes, or multiple dose vials.

[0159] Solutions or suspensions used for intravenous administration include a carrier such as physiological saline, bacteriostatic water, CREMOPHOR EL® (BASF Corp., Ludwigshafen, Germany), ethanol, or polyol. In all cases, the composition must be sterile and fluid for easy syringability. Proper fluidity can often be obtained using lecithin or surfactants. The composition must also be stable under the conditions of manufacture and storage. Prevention of microorganisms can be achieved with antibacterial and antifungal agents, e.g., parabens, chlorobutanol, phenol, ascorbic acid, thimerosal, etc. In many cases, isotonic agents (sugar), polyalcohols (e.g., mannitol and sorbitol), or sodium chloride may be included in the composition. Prolonged absorption of the composition can be accomplished by adding an agent that delays absorption, e.g., aluminum monostearate or gelatin.

[0160] Oral compositions include an inert diluent or edible carrier. For the purpose of oral administration, the binding proteins can be incorporated with excipients and placed, e.g., in tablets, troches, capsules, or gelatin. Pharmaceutically compatible binding agents or adjuvant materials can be included in the composition. The compositions may contain (1) a binder such as microcrystalline cellulose, gum tragacanth or gelatin; (2) an excipient such as starch or lactose, (3) a disintegrating agent such as alginic acid, Primogel, or corn starch; (4) a lubricant such as

magnesium stearate; (5) a glidant such as colloidal silicon dioxide; and/or (6) a sweetening or flavoring agent.

[0161] The composition may also be administered by a transmucosal or transdermal route. For example, binding proteins that comprise an Fc portion (for example, an antibody) may be capable of crossing mucous membranes in the intestine, mouth, or lungs (via Fc receptors). Transmucosal administration can be accomplished by lozenges, nasal sprays, inhalers, or suppositories. Transdermal administration can be accomplished with a composition containing ointments, salves, gels, or creams known in the art. For transmucosal or transdermal administration, penetrants appropriate to the barrier to be permeated are used. For administration by inhalation, the binding proteins may be delivered in an aerosol spray from a pressured container or dispenser, which contains a propellant (e.g., liquid or gas), or a nebulizer.

[0162] In certain embodiments, the binding proteins of this invention are prepared with carriers to protect the binding proteins against rapid elimination from the body. Biodegradable polymers (e.g., ethylene vinyl acetate, polyanhydrides, polyglycolic acid, collagen, polyorthoesters, and polylactic acid) are often used. Methods for the preparation of such formulations are known by those skilled in the art. Liposomal suspensions can be used as pharmaceutically acceptable carriers also. The liposomes can be prepared according to established methods known in the art (see, e.g., U.S. Patent No. 4,522,811).

[0163] The binding proteins or binding protein compositions of the invention are administered in therapeutically effective amounts as described. Therapeutically effective amounts may vary with the subject's age, condition, sex, and severity of medical condition. Appropriate dosages can be determined by a physician based upon clinical indications. The binding proteins or compositions may be given as a bolus dose to maximize the circulating levels of binding proteins for the greatest length of time. Continuous infusion may also be used.

[0164] As used herein, the term "subject" is intended to include human and nonhuman animals. Subjects may include a human patient having a disorder

characterized by cells that express IL-21R, e.g., a cancer cell or an immune cell. The term "nonhuman animals" of the invention includes all vertebrates, such as nonhuman primates, sheep, dogs, cows, chickens, amphibians, reptiles, etc.

[0165] Examples of dosage ranges that can be administered to a subject can be chosen from: 1 μg/kg to 20 mg/kg, 1 μg/kg to 10 mg/kg, 1 μg/kg to 1 mg/kg, 10 μg/kg to 1 mg/kg, 10 μg/kg to 100 μg/kg, 100 μg/kg to 1 mg/kg, 250 μg/kg to 2 mg/kg, 250 μg/kg to 1 mg/kg, 500 μg/kg to 2 mg/kg, 500 μg/kg to 1 mg/kg, 1 mg/kg to 2 mg/kg, 1 mg/kg to 5 mg/kg, 5 mg/kg to 10 mg/kg, 10 mg/kg to 20 mg/kg, 15 mg/kg to 20 mg/kg, 10 mg/kg to 25 mg/kg, 15 mg/kg to 25 mg/kg, 20 mg/kg to 25 mg/kg, and 20 mg/kg to 30 mg/kg (or higher). These dosages may be administered daily, weekly, biweekly, monthly, or less frequently, for example, biannually, depending on dosage, method of administration, disorder or symptom(s) to be treated, and individual subject characteristics.

[0166] In certain circumstances, it may be advantageous to formulate compositions in dosage unit form for ease of administration and uniformity of dosage. Dosage unit form as used herein refers to physically discrete units suited for the patient. Each dosage unit contains a predetermined quantity of binding protein calculated to produce a therapeutic effect in association with the carrier. The dosage unit depends on the characteristics of the binding protein and the particular therapeutic effect to be achieved.

[0167] Toxicity and therapeutic efficacy of the composition can be determined by standard pharmaceutical procedures in cell cultures or experimental animals, e.g., determining the LD_{50} (the dose lethal to 50% of the population) and the ED_{50} (the dose therapeutically effective in 50% of the population). The dose ratio between toxic and therapeutic effects is the therapeutic index and it can be expressed as the ratio LD_{50}/ED_{50}. Binding proteins that exhibit large therapeutic indices may be less toxic and/or more therapeutically effective.

[0168] The data obtained from the cell culture assays and animal studies can be used to formulate a dosage range in humans. The dosage of these compounds may lie

within the range of circulating binding protein concentrations in the blood, which includes an ED_{50} with little or no toxicity. The dosage may vary within this range depending upon the dosage composition form employed and the route of administration. For any binding protein used in the present invention, the therapeutically effective dose can be estimated initially using cell culture assays. A dose may be formulated in animal models to achieve a circulating plasma concentration range that includes the IC_{50} (i.e., the concentration of binding protein that achieves a half-maximal inhibition of symptoms). The effects of any particular dosage can be monitored by a suitable bioassay. Examples of suitable bioassays include DNA replication assays, transcription-based assays, gene expression assays, IL-21/IL-21R binding assays, and other immunological assays.

[0169] The entire contents of all references, patent applications, and patents cited throughout this application are hereby incorporated by reference herein.

EXAMPLES

[0170] The invention will be further illustrated in the following nonlimiting examples. These Examples are set forth to aid in the understanding of the invention but are not intended to, and should not be construed to, limit its scope in any way. The Examples do not include detailed descriptions of conventional methods that would be well known to those of ordinary skill in the art.

Example 1: Generation of Binding Proteins by Phage Display

[0171] The scFv parental clone 18A5, described in U.S. Patent No. 7,495,085 (incorporated by reference herein), was obtained from the CS human scFv library by standard phage display methods, using BaF3 cells expressing human IL-21R as a target in rounds 1 and 3 and biotinylated IL-21R-Fc fusion protein as a target in round 2.

Example 2: Library Construction

[0172] Phage display libraries were based upon the parental 18A5 scFv, using a pCANTAB6 vector in which the scFv was fused at its 3' end to the intact gene III. Various CDR3 sequences were derived using techniques well known in the art.

[0173] Two overlapping blocks of six consecutive codons were randomized in the CDR3 of the V_H and the V_L, producing a total of four libraries: H3B1, H3B2, L3B1, and L3B2. The following identify nucleotide and amino acid sequences, respectively: IL-21R: 18A5 V_HCDR3 [SEQ ID NOs:199 and 200]; H3B1 (library size $1.40x10^9$) [SEQ ID NOs:201 and 202]; H3B2 (library size $1.00x10^9$) [SEQ ID NOs:203 and 204]; IL-21R: 18A5 V_LCDR3 [SEQ ID NOs:205 and 206]; L3B1 (library size $9.00x10^9$) [SEQ ID NOs:207 and 208]; L3B2 (library size $6.40x10^9$) [SEQ ID NOs:209 and 210].

Example 3: Phage Selection

[0174] All derivatives of 18A5 were isolated from the scFv libraries above by selection of phage able to bind in solution phase to biotinylated human IL-21R extracellular domain His-Flag fusion proteins ("biotin-hIL-21R-H/F") and biotinylated murine IL-21R extracellular domain His-Flag fusion proteins ("biotin-mIL-21R-H/F"); all procedures and techniques related to selection are well known to one of skill in the art. A total of twenty-seven anti-IL-21R scFv were isolated by phage selection procedures.

Example 4: Library Screening

[0175] Resulting binding proteins in scFv format were chosen based on their ability to compete with parental 18A5 in human IgG1 format for binding to biotin-hIL-21R-H/F and biotin-mIL-21R-H/F, to prevent the hIL-21-dependent proliferation of genetically engineered cell lines expressing human IL-21R and the mIL-21-dependent proliferation of genetically engineered cell lines expressing murine IL-21R.

Example 4.1: Preparation of Crude Periplasmic Material ("peri-preps") for Use in Screening Assays

[0176] Depending on the growth conditions used, scFv can be expressed in solution in the bacterial periplasmic space. To induce release of scFv into the periplasm, 96-deep-well plates containing 990 µl 2xTY media with 0.1% glucose / 100 µg/ml ampicillin were inoculated from thawed glycerol stocks (one clone per well) using the QPix2 Colony picker (Genetix, New Milton, England) and grown at 37°C (999 rpm) for about 4 hr. Cultures were induced with IPTG at a final concentration of 0.02 mM and grown overnight at 30°C (999 rpm). The contents of the bacterial periplasm (peri-preps) were released by osmotic shock. Briefly, plates were centrifuged and pellets were resuspended in 150 µl TES periplasmic buffer (50 mM Tris / HCl (pH 8.0) / 1 mM EDTA (pH 8.0) / 20% Sucrose), followed by the addition of 150 µl 1:5 TES:water, and incubated on ice for 30 min. Plates were centrifuged and the scFv-containing supernatant was harvested.

Example 4.2: Epitope Competition Assay for Library Screening

[0177] Those scFv able to compete with the parental 18A5 antibody for binding to human or murine IL-21R were identified from selected phage by a homogeneous time-resolved fluorescence (HTRF®) assay. Purified parental 18A5 antibody was covalently modified with cryptate, a derivative of europium, according to the instructions in an HTRF® Cryptate Labeling Kit (Cisbio, Bedford, MA). Peri-preps of scFv were prepared as described above and diluted to 0.25% in PBS / 0.4 M potassium fluoride / 0.1% BSA (HTRF® buffer); then 10 µl of the mixture was transferred to the wells of black 384-shallow-well plates (Nunc, Rochester, NY). Five µl of cryptate-conjugated 18A5 antibody was then added to each well, followed by 5 µl of a mixture of a 1:800 dilution of streptavidin-XL665 conjugate (Cisbio), and either 4.8 nM biotin-hIL-21R-H/F or 40 nM biotin-mIL-21R-H/F. The mixture was incubated for 2 hr at RT, and time-resolved fluorescence measurements were made (340 nm excitation, 615 nm and 665 nm emission). Competition with 18A5

antibody was indicated by a reduction in the background-corrected ratio of emission at 665 nm to emission at 615 nm.

[0178] A total of 8280 independently isolated scFv were screened in the HTRF® assay using human IL-21R-H/F, and 376 clones able to compete with the parental 18A5 antibody for binding to biotin-hIL-21R-H/F were chosen for further analysis.

Example 5: DNA Sequence Analysis of Library-derived scFv - PCR Amplification of scFv Regions for Sequencing Analysis

[0179] The sequences of 287 18A5-derived scFv variants with improved IL-21R binding over that of the parent 18A5 scFv molecule were determined, and the frequencies of amino acids found at each position were determined. Among the V_H clones, only two (1.7%) were derived from a library which mutated the last six amino acids of, e.g., SEQ ID NO:169 (at the C-terminus of V_H CDR3), while the remainder were derived from a library which mutated the first six amino acids of, e.g., SEQ ID NO:169. Among the V_L clones, only one clone (0.6%) was derived from a library in which the last six amino acids of, e.g., SEQ ID NO:170 (at the C-terminus of V_L CDR3) were mutated, while the majority were derived from alterations in the first six amino acids of, e.g., SEQ ID NO:170 (at the N-terminus of V_L CDR3).

[0180] PCR amplification of scFvs was carried out using VENT® DNA Polymerase (New England Biolabs, Ispwich, MA) in HN buffer (Epicentre Biotechnologies, Madison, WI) according to the manufacturer's instructions. Five µl of a 1:10 dilution of a stationary phase bacterial culture was used as the template for a final reaction volume of 20 µl. The cycling conditions used were a 2-min hot start at 94°C, 30 cycles of denaturation at 94°C (1 min), primer annealing at 55°C (2 min) and extension at 72°C (1 min), followed by a final extension at 72°C (5 min). PCR products were verified by agarose gel electrophoresis and cleaned up with ExoI/SAP (shrimp alkaline phosphatase) prior to sequencing with the M13rev primer.

[0181] The SEQ ID NOs for the CDR3 sequences of twenty-seven scFv are listed in **Table 4**. These scFv were chosen for further analysis based on assays described in Example 6.

Table 4: CDR3 SEQ ID NOs of Improved 18A5-derived scFv

scFv	Heavy CDR3	Light CDR3
H3	165	170
H4	166	170
H5	167	170
H6	168	170
L1	169	171
L2	169	172
L3	169	173
L4	169	174
L5	169	175
L6	169	176
L8	169	177
L9	169	178
L10	169	179
L11	169	180
L12	169	181
L13	169	182
L14	169	183
L15	169	184
L16	169	185
L17	169	186
L18	169	187
L19	169	188
L20	169	189
L21	169	190
L23	169	191
L24	169	192
L25	169	193

Example 6: Characterization of Library-derived scFv

Example 6.1: Preparation of Purified scFv for Quantitative Analysis

[0182] Individual scFv clones were purified on a small scale by Ni-NTA purification on PHYTIP® columns (PhyNexus, Inc., San Jose, CA). Single colonies were grown in 20 ml 2xTY medium with 0.1% glucose / 100 μg/ml ampicillin in 50-ml conical tubes to mid-logarithmic phase at 37°C with shaking at 250 rpm. Expression of scFv was induced with IPTG at a final concentration of 0.02 mM, and cultures were grown overnight at 30°C. Cells were harvested by centrifugation and resuspended in 1 ml TES periplasmic buffer, followed by the addition of 1 ml 1:5 TES:water and incubation on ice for 30 min. Lysates were centrifuged at 3200 rpm for 10 min at

4°C, and supernatants were brought to 2 mM $MgCl_2$. scFv were captured on Ni-NTA PHYTIPs® (PhyNexus) by repeated passage of the supernatant over the PHYTIPs® on a Perkin Elmer (Waltham, MA) MINITRAK™ IX liquid handling robot, followed by washing in IMAC wash buffer and elution with 200 mM imidazole, 50 mM Tris, 300 mM NaCl (pH 8.0). The buffer was exchanged to PBS by three cycles of dilution 1:10 into PBS, followed by concentration on a 10,000 molecular weight cutoff filter plate (Millipore MULTISCREEN® ULTRACEL™ 96-well ultrafiltration plate, Millipore, Billerica, MA). Samples were quantitated using a Micro BCA™ kit (Thermo Fisher Scientific Inc., Rockford, IL) using the manufacturer's bovine serum albumin standard.

Example 6.2: Assays for IL-21-dependent Proliferation of Cells Overexpressing Human or Murine IL-21R

[0183] Inhibition assays were performed with 18A5-derived binding proteins (scFv and IgG) to measure their blockade of IL-21-dependent proliferation of cell lines transfected with human or murine IL-21R. BaF3 cells, a murine pre-B cell line, and TF1 cells, a human erythroid cell line, were retrovirally transduced with IL-21R and green fluorescent protein (GFP). Cells were routinely grown in RPMI 1640 with 10% FBS, 2 mM L-glutamine, 100 U/ml penicillin, 100 µg/ml streptomycin, and 0.00036% β-mercaptoethanol. Human IL-21R-BaF3 cell cultures were supplemented with 50 ng/ml of human IL-21; murine IL-21R-BaF3 cell cultures were supplemented with 10 U/ml of IL-3; TF1 cell cultures were supplemented with 50 ng/ml of GM-CSF. Prior to assay, cells were washed 3X in assay medium lacking supplemental growth factors, resuspended in assay medium, and incubated at 37°C / 5% CO_2 for 6 hr. To prepare assay plates, 5000 cells were added to the central 60 wells of a 96-well flat-bottomed white tissue culture plate (Thermo Scientific, Waltham, MA) in a volume of 55 µl/well. Test scFv or IgG samples were prepared by diluting the stock sample in assay medium and diluting serially three-fold. Twenty-five µl of the binding protein samples were added to the cells and incubated for 30 min at 37°C / 5% CO_2. Twenty µl of assay medium containing 100-400 pg/ml

of human or murine IL-21 was added to each well, and the cells were incubated for an additional 48 hr. Proliferation was measured by bringing plates to RT, adding 15 µl/well CELLTITER-GLO®, incubating for 10 min at RT, and measuring luminescence with a Perkin Elmer ENVISION™ plate reader. After purification with PhyNexus IMAC tips, 108 scFv were tested for neutralization of IL-21-dependent proliferation of all three cell lines. All showed neutralization of human IL-21R-BaF3 cells, with IC_{50}s lower than or equal to that of the parental 18A5 scFv. A subset showed strong neutralization of proliferation of murine IL-21R-BaF3 cells and human IL-21R-TF1 cells. Data from the 27 most potent clones are shown in **FIGs. 1-3**, and are summarized in **Table 5**.

[0184] **FIGs. 1-3** show the neutralization of proliferation by scFv of human IL-21R-BaF3 cells (**FIGs. 1a-c**); human IL-21R-TF1 cells (**FIGs. 2a-c**); and murine IL-21R-BaF3 cells (**FIGs. 3a-c**). Cells were mixed with the indicated scFv and incubated with 100 pg/ml (**FIGs. 1-2**) or 400 pg/ml (**FIG. 3**) of human IL-21.

Example 6.3: Quantitative Epitope Competition Assay

[0185] Purified scFv were analyzed quantitatively for their ability to compete with the parental 18A5 antibody for binding to murine IL-21R in an enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). Parental 18A5 antibody was coated overnight at 4°C on 96-well Nunc MAXISORP® plates at a concentration of 0.75 µg/ml in PBS. Plates were washed 3X using PBS, and then blocked for 3 hr at RT in PBS / 1% BSA / 0.05% Tween-20. scFv were mixed with 36 nM biotinylated mIL-21R-H/F and incubated for 10 min at RT. Blocked plates were washed 3X with PBS, and 50 µl/well of scFv / IL-21R mixtures were transferred to the appropriate plates and incubated for 1 hr at RT. Plates were washed 5X with PBS prior to the addition of a 1:6000 dilution of horseradish peroxidase-conjugated streptavidin (Southern Biotech, Birmingham, AL) secondary antibody to detect bound biotinylated mIL-21R-H/F. Plates were then incubated for 1 hr at RT and washed 7X with PBS. Signal was developed using 3,3',5,5'-tetramethylbenzidine (TMB), the

reaction stopped with H_2SO_4, and the absorbance read at 450 nm on an ENVISION™ plate reader (Perkin Elmer). 108 scFv purified by PhyNexus IMAC tips were tested in this assay, and most competed with the parental 18A5 antibody for binding to biotinylated murine IL-21R-H/F with IC_{50}s lower than that of the parental 18A5 scFv. Epitope competition data for the 27 clones with the highest potencies in cell-based neutralization assays are shown in **FIGs. 4a-c** and summarized in **Table 5**.

Table 5: Neutralization of Human and Murine IL-21R in Cell-based Assays and Competition with 18A5 Antibody for Murine IL-21R Binding

	IC_{50} (nM) in Human IL-21R-BaF3 Neutralization Assay	IC_{50} (nM) in Human IL-21R-TF1 Neutralization Assay	IC_{50} (nM) in Murine IL-21R-BaF3 Neutralization Assay	IC_{50} (nM) in Murine IL-21R Epitope Competition ELISA
H3	7.7	98.1	25.68	14
H4	3.8	9.3	nd	nd
H5	7.9	178.5	53.66	17
H6	13.8	150 (estimated)	nd	13
L1	3.7	55 (estimated)	28.77	7
L2	3.1	37.5	2.41	5
L3	27.6	7 (estimated)	13.78	100
L4	2.1	60 (estimated)	nd	8
L5	2.1	20 (estimated)	38.52	7
L6	5.9	150 (estimated)	0.29	4
L8	4.1	51.3	715.27	7
L9	2.8	27.7	3.61	7
L10	15.1	7	nd	40
L11	4.2	38.3	10.03	6
L12	2.6	54.9	87.77	8
L13	11.0	257.4	1.25	7
L14	3.2	33.5	6.49	6
L15	3.3	30.3	53.49	14
L16	3.7	67.4	4.71	6
L17	1.6	60.3	2.66	12
L18	3.7	54.4	8.34	8
L19	4.5	35.3	13.59	15
L20	3.1	57.5	15.39	5
L21	9.4	100 (estimated)	162.27	28
L23	1.5	15.3	nd	12
L24	2.4	18.7	3.73	6
L25	3.7	33.1	15.55	9

Example 7: Conversion of Parental 18A5 IgG to Germline Sequence

[0186] The following fifteen scFv with modified V_L regions, along with the germlined parental 18A5 V_L (see below), were chosen for conversion to full-length human IgG lambda: L2, L3, L6, L9, L11, L13, L14, L16, L17, L18, L19, L20, L23, L24, and L25. Four scFv with modified V_H regions, H3, H4, H5, and H6, along with the germlined parental 18A5 V_H (see below) were chosen for conversion to full-length human IgG1.

[0187] The V_H and V_L amino sequences of the parental 18A5 antibody were modified so that the sequences outside the CDR regions matched the closest human germline sequences: DP67/VH4B+ (VBASE_AA:WAP00CEAZ_1) and JH1/JH4/JH5 in the case of the V_H, and DPL16/VL3.1 (VBASE_AA:WAP00CEMI_1) in the case of the V_L. Modifications were done by a combination of gene synthesis at GENEART (Regensburg, Germany) and site-directed changes introduced by PCR. In addition, the sequences were codon-optimized for expression in mammalian cells by GENEART using their proprietary methods. An alignment of the parental 18A5 sequences and the germline-corrected 18A5 sequences is shown below:

18A5 Heavy Chain Comparison

Parental 18A5 V_H

CAGGTGCAGCTGCAGGAGTCGGGCCCAGGACTGGTGAAGACTTCGGAGACCCTGTCCCTCACCTGCGCT
GTCTCTGGTTACTCCATCAGCAGTGGTTACTACTGGGGCTGGATCCGGCAGCCCCCAGGGAAGGGGTTG
GAGTGGATTGGGAGTATCTCTCATACTGGGAACACCTACTACAACCCGCCCCTCAAGAGTCGCGTCACC
ATATCAGTAGACACGTCCAAGAACCAGTTCTCCCTGAAACTGAGCTCTGTGACCGCCGCAGACACGGCC
GTGTATTACTGTGCGCGAGGTGGGGGAATTAGCAGGCCGGAGTACTGGGGCAAAGGCACCCTGGTCACC
GTCTCGAGT (SEQ ID NO:5)

Germlined 18A5 V_H

CAGGTGCAGCTGCAGGAGTCTGGCCCTGGCCTGGTGAAGCCTTCCGAGACCCTGTCTCTGACCTGTGCC
GTGTCCGGCTACTCCATCTCCTCCGGCTACTACTGGGGCTGGATCAGACAGCCTCCTGGCAAGGGCCTG
GAGTGGATCGGCTCCATCTCTCACACCGGCAACACCTACTACAACCCCCCTCTGAAGTCCAGAGTGACC
ATCTCCGTGGACACCTCCAAGAACCAGTTCTCCCTGAAGCTGTCCTCTGTGACCGCTGCCGATACCGCC
GTGTACTACTGTGCCAGAGGCGGCGGAATCTCCAGACCTGAGTACTGGGGCCAGGGCACCCTGGTGACC
GTGTCCTCT (SEQ ID NO:7)

Germlined 18A5 V_H x Parental 18A5 V_H

```
  1 CAGGTGCAGCTGCAGGAGTCTGGCCCTGGCCTGGTGAAGCCTTCCGAGAC 50
    |||||||||||||||||||| ||||| || ||||||||| |||| |||||
  1 CAGGTGCAGCTGCAGGAGTCGGGCCCAGGACTGGTGAAGACTTCGGAGAC 50

 51 CCTGTCTCTGACCTGTGCCGTGTCCGGCTACTCCATCTCCTCCGGCTACT 100
    |||||| || ||||| || || || || ||||||||| |  || ||||
 51 CCTGTCCCTCACcTGCGCTGTCTCTGGTTACTCCATCAGCAGTGGTTACT 100

101 ACTGGGGCTGGATCAGACAGCCTCCTGGCAAGGGCCTGGAGTGGATCGGC 150
    |||||||||||||| | ||||| || || |||||  |||||||||| ||
101 ACTGGGGCTGGATCCGGCAGCCCCCAGGGAAGGGGTTGGAGTGGATTGGG 150

151 TCCATCTCTCACACCGGCAACACCTACTACAACCCCCCTCTGAAGTCCAG 200
       |||||||| || || ||||||||||||||||| || || |||    |
151 AGTATCTCTCATACTGGGAACACCTACTACAACCCGCCCCTCAAGAGTCG 200

201 AGTGACCATCTCCGTGGACACCTCCAAGAACCAGTTCTCCCTGAAGCTGT 250
     || ||||| || || ||||| |||||||||||||||||||||||| |||
201 CGTCACCATATCAGTAGACACGTCCAAGAACCAGTTCTCCCTGAAACTGA 250

251 CCTCTGTGACCGCTGCCGATACCGCCGTGTACTACTGTGCCAGAGGCGGC 300
     |||||||||||| || || || |||||||| |||||||  |||| ||
251 GCTCTGTGACCGCCGCAGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGCGAGGTGGG 300

301 GGAATCTCCAGACCTGAGTACTGGGGCCAGGGCACCCTGGTGACCGTGTC 350
    |||||   ||| || |||||||||||| | |||||||||| ||||| ||
301 GGAATTAGCAGGCCGGAGTACTGGGGCAAAGGCACCCTGGTCACCGTCTC 350


351 CTCT 354    (SEQ ID NO:7)
      |
351 GAGT 354    (SEQ ID NO:5)
```

18A5 Light Chain Comparison

Parental 18A5 V_L

```
TCTTCTGAGCTGACTCAGGACCCTCCTGTGTCTGTGGCCTTGGGACAGACAGTCACGCTCACATGCCAA
GGAGACAGCCTCAGAACCTATTATGCAAGCTGGTACCAGCAGAAGTCAGGACAGGCCCCTATACTTCTC
CTCTATGGTAAACACAAACGGCCCTCAGGGATCCCAGACCGCTTCTCTGGCTCCACCTCAGGAGACACA
GCTTCCTTGACCATCACTGGGGCTCAGGCGGAAGACGAGGCTGACTATTACTGTAACTCCCGGGACTCC
AGTGGCAACCCCCATGTTCTGTTCGGCGGAGGGACCCAGCTCACCGTTTTA  (SEQ ID NO:9)
```

Germlined 18A5 V_L

```
TCCTCTGAGCTGACCCAGGATCCTGCTGTGTCTGTGGCCCTGGGCCAGACCGTCAGGATCACCTGCCAG
GGCGATAGCCTGAGAACCTACTACGCCTCCTGGTATCAGCAGAAGCCTGGACAGGCCCCTGTGCTGGTG
ATCTACGGCAAGCACAAGAGGCCATCCGGCATCCCTGACAGATTCTCCGGCTCCTCCTCTGGCAATACC
GCCTCCCTGACCATCACCGGCGCTCAGGCCGAGGACGAGGCCGACTACTACTGTAACTCCCGGGACTCT
TCCGGCAACCCTCACGTGCTGTTTGGCGGCGGAACCCAGCTGACCGTGCTA  (SEQ ID NO:11)
```

Germlined 18A5 V_L x Parental 18A5 V_L

```
  1 TCCTCTGAGCTGACCCAGGATCCTGCTGTGTCTGTGGCCCTGGGCCAGAC 50
    || |||||||||||| ||||| ||| |||||||||||||| |||| |||||
  1 TCTTCTGAGCTGACTCAGGACCCTCCTGTGTCTGTGGCCTTGGGACAGAC 50

 51 CGTCAGGATCACCTGCCAGGGCGATAGCCTGAGAACCTACTACGCCTCCT 100
     |||| | |||| ||||| || || ||||| |||||||| || ||   ||
 51 AGTCACGCTCACATGCCAAGGAGACAGCCTCAGAACCTATTATGCAAGCT 100

101 GGTATCAGCAGAAGCCTGGACAGGCCCCTGTGCTGGTGATCTACGGCAAG 150
    |||| ||||||||| | |||||||||||| | ||  |  |||| || ||
101 GGTACCAGCAGAAGTCAGGACAGGCCCCTATACTTCTCCTCTATGGTAAA 150

151 CACAAGAGGCCATCCGGCATCCCTGACAGATTCTCCGGCTCCTCCTCTGG 200
    |||||  |||| || || ||||| ||| | ||||| |||||| |||| ||
151 CACAAACGGCCCTCAGGGATCCCAGACCGCTTCTCTGGCTCCACCTCAGG 200

201 CAATACCGCCTCCCTGACCATCACCGGCGCTCAGGCCGAGGACGAGGCCG 250
      | || || ||| |||||||||| || |||||||| || |||||||| |
201 AGACACAGCTTCCTTGACCATCACTGGGGCTCAGGCGGAAGACGAGGCTG 250

251 ACTACTACTGTAACTCCCGGGACTCTTCCGGCAACCCTCACGTGCTGTTT 300
    |||| |||||||||||||||||||    |||||||| || || |||||
251 ACTATTACTGTAACTCCCGGGACTCCAGTGGCAACCCCCATGTTCTGTTC 300

301 GGCGGCGGAACCCAGCTGACCGTGCTA 327   (SEQ ID NO:11)
    ||||| || |||||||| |||||  ||
301 GGCGGAGGGACCCAGCTCACCGTTTTA 327   (SEQ ID NO:9)
```

Germline-corrected V_H sequence (changes from parental sequence are bold and underlined):

Parental (SEQ ID NO:6) QVQLQESGPGLVKTSETLSLTCAVSGYSISSGYYWGWIRQPPGKG

Germlined (SEQ ID NO:8) QVQLQESGPGLVK**P**SETLSLTCAVSGYSISSGYYWGWIRQPPGKG

Parental LEWIGSISHTGNTYYNPPLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARGGGISRP

Germlined LEWIGSISHTGNTYYNPPLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARGGGISRP

Parental EYWGKGTLVTVSS

Germlined EYWG**Q**GTLVTVSS

Germline-corrected V_L sequence (changes from parental sequence are bold and underlined):

Parental (SEQ ID NO:10) SSELTQDPPVSVALGQTVTLTCQGDSLRTYYASWYQQKSGQAPIL

Germlined (SEQ ID NO:12) SSELTQDP**A**VSVALGQTV**RI**TCQGDSLRTYYASWYQQK**P**GQAP**V**L

Parental LLYGKHKRPSGIPDRFSGSTSGDTASLTITGAQAEDEADYYCNSRDSSGNPHVLFGGGTQ

Germlined **VI**YGKHKRPSGIPDRFSGS**S**SG**N**TASLTITGAQAEDEADYYCNSRDSSGNPHVLFGGGTQ

Parental LTVL

Germlines LTVL

Example 8: Conversion of Library-Derived scFv to IgG

[0188] The CDR3 regions of the V_L and V_H domains of improved 18A5 scFv derivatives were amplified by PCR and subcloned into the germline-corrected V_L and V_H frameworks of the parental 18A5 by the following method. A PCR fragment encompassing the 5' portion of the germlined 18A5 V_H gene was generated by amplification of the plasmid pSMED2_OP18A5G_huIgG1 with primers BssHII_II_V_H_F (5'-GCTTGGCGCGCACTCTCAGGTGCAGCTGCAGGAG-3') [SEQ ID NO:230] and GV_H_R_for_BssHII (5'-TCAGGGAGAACTGGTTCTTGG-3') [SEQ ID NO:231]. A PCR fragment encompassing the 3' portion of the V_H gene from the improved scFv clone VH3 was amplified with the following primers: G_V_H_F_for_SalI (5'-TCCAAGAACCAGTTCTCCCTG-3') [SEQ ID NO:232] and scFv_SalI_V_H_R

(5'-GCGACGTCGACAGGACTCACCACTCGAGACGGTGACCAGGGTGCC-3') [SEQ ID NO:233]. Fragments were gel-purified, and then the two were mixed and amplified with the outside primer sets BssHII_G_V_H_F and SalI_V_H_R to generate a complete V_H gene fragment. This was digested with BssHII and SalI and ligated into a vector containing the constant regions of human IgG1 with a triple-mutant hinge region. The insert was reamplified with BssHII_II_V_H_F and a new primer (Sal_V_H_R_RJ (5'-GCGACGTCGACAGGACTCACCACTCGAGACGG-3')) [SEQ ID NO:234] in order to alter the coding sequence of the V_H J segment to conform to the JH1 germline sequence, and ligated into a human IgG1-triple-mutant constant region vector.

[0189] The V_L genes from improved scFv were subcloned by a similar method. A PCR fragment encompassing the 5' portion of the 18A5 V_L gene was generated by amplification of the plasmid pSMEN2_OP18A5G_hu Lambda with primers BssHII_II_V_L_F (5'-GCTTGGCGCGCACTCTTCCTCTGAGCTGACCCAG-3') [SEQ ID NO:235] and scFv_V_L_R_for_BssHII (5'-GCCTGAGCCCCAGTGATGGTCA-3') [SEQ ID NO:236]. PCR fragments encompassing the 3' portions of the V_L genes from improved scFv clones were amplified with the primers GV_L_F_for_XbaI (5'-ACCGCCTCCCTGACCATCAC-3') [SEQ ID NO:237] and scFv_XbaI_V_L_R (5'-GCGCCGTCTAGAGTTATTCTACTCACCTAAAACGGTGAGCTGGGTCCC TC-3') [SEQ ID NO:238]. Fragments were gel-purified, and then fragments corresponding to the 5' and 3' portions of each gene were mixed and amplified with the outside primer set BssHII_II_V_L_F and scFv_XbaI_V_L_R to generate complete V_L gene fragments. These were digested with BssHII and XbaI, and ligated into a vector containing the constant regions of the human lambda gene.

Example 9: Characterization of Improved IgG In Vitro

Example 9.1: Transient Small-scale Expression of Binding Proteins

[0190] Clones were tested for function in full IgG format following transient expression in cos-7 cells. Each light chain in the set of sixteen test sequences (germlined parental 18A5 V_L and L2, L3, L6, L9, L11, L13, L14, L16, L17, L18, L19, L20, L23, L24 and L25) was paired with each heavy chain in the set of five test sequences (H3, H4, H5, and H6, along with V_H_P, the germlined parental 18A5 V_H domain). Each plasmid in the pair (1.4 μg) was combined with the *TRANS*IT® transfection reagent (Mirus, Madison, WI) according to the manufacturer's instructions, and DNA:*TRANS*IT® reagent complexes were added to monolayers of cos-7 cells growing in Dulbecco's Modified Eagle's medium (DMEM) / 10% heat-inactivated fetal bovine serum / penicillin / streptomycin / 2 mM L-glutamine in 6-well tissue culture plates. After 24 hr, the medium was changed to a serum-free medium (R1CD1), and was then collected 48 hr later. Binding proteins, now comprising full-length antibodies, were quantitated by anti-human IgG ELISA.

Example 9.2: Activity of Anti-IL-21R IgG in Neutralization of Cell Proliferation

[0191] The 80 transiently expressed IgGs in serum-free conditioned medium were tested for activity in IL-21-dependent proliferation assays in three cell lines as described above: (1) human IL-21R-BaF3 cells, (2) murine IL-21R-BaF3 cells, and (3) human IL-21R-TF1 cells. All 80 pairs showed neutralization of proliferation of human IL-21R-expressing BaF3 cells, and all pairs except those involving VH4 showed neutralization of human IL-21R-expressing TF1 cells (data not shown). All 80 pairs also showed neutralization of proliferation of murine IL-21R-expressing BaF3 cells, with the strongest neutralization generally associated with light chains paired with the parental heavy chain and the weakest neutralization generally associated with the VH4 heavy chain (data not shown). Neutralization data from the most potent 21 IgG combinations (AbA-AbU) are shown in **FIG. 5**, and IC_{50} data are summarized in **Table 6**.

[0192] Assays were conducted on human IL-21R-BaF3 cells with 100 pg/ml of human IL-21 (**FIGs. 5a-c**), human IL-21R-TF1 cells with 100 pg/ml of human IL-21 (**FIGs. 5d-f**), or murine IL-21R-BaF3 cells with 400 pg/ml of murine IL-21 (**FIGs. 5g-i**). IL-21 was added to the cells after the indicated antibodies; proliferation was measured with CELLTITER-GLO® after 48 hr. **FIGs. 26a-c** show additional studies demonstrating similar inhibition in the same three cell lines.

Example 9.3: Anti-IL-21R IgG Binding to Transiently Expressed Rat and Cynomolgus Monkey IL-21R

[0193] A subset of binding proteins was tested for binding to rat, cynomolgus monkey, human IL-21R, or human IL-2R-γ common subunit expressed transiently on the surfaces of CHO-PA-Dukx cells. Cells were transfected 48 hr prior to the assay. On the day of the assay, cells were washed gently 5X in PBS containing 0.9 mM $CaCl_2$ and 0.45 mM $MgCl_2$ (PBS / CaMg) on an automated plate washer (Titertek, Huntsville, AL), and blocked for 1 hr at RT in PBS / CaMg / 5% nonfat dry milk. Conditioned media from transiently expressed anti-IL-21R IgGs were serially diluted in blocking buffer and added to the cells in the blocked plates for 1 hr at RT. Cells were washed 5X with PBS / CaMg and then incubated with horseradish peroxidase-conjugated anti-human IgG for 1 hr at RT. Cells were then washed 10X in PBS / CaMg and all of the wash buffer was removed. Cells were incubated with 100 µl TMB until the color reaction reached saturation, stopped with 100 µl of 0.18 M H_2SO_4, and read at A450 on a Perkin Elmer ENVISION™ plate reader.

[0194] All of the twenty-one IgGs bound to CHO cells transiently expressing human (**FIGs. 6a-c**), rat (**FIGs. 6d-f**), or cynomolgus monkey (**FIGs. 6g-i**) IL-21R. Most showed no binding above background to a control protein (human gamma (γ) common chain) transiently expressed on CHO cells, but a subset of IgGs (AbD, AbE, AbF, AbH, AbL, and AbM) bound above background at 13 nM or greater (**FIGs. 6j-l**). Data are summarized in **Table 6**.

Table 6: Summary of Neutralization of Human and Murine IL-21R Activity in Cell-proliferation Assays and Binding to Human, Rat, and Cynomolgus Monkey IL-21R Expressed on CHO Cells

Binding Protein	Human IL-21R-BaF3 Proliferation IC_{50} (nM)	Human IL-21R-TF1 Proliferation IC_{50} (nM)	Murine IL-21R-BaF3 Proliferation IC_{50} (nM)	Human IL-21R Binding (13 nM Ab in Cell ELISA; A450)	Rat IL-21R Binding (13 nM Ab in Cell ELISA; A450)	Cynomolgus Monkey IL-21R Binding (13 nM Ab in Cell ELISA; A450)	Human Gamma Common Binding (13 nM Ab in Cell ELISA; A450)
AbA	0.97	3.80	0.08	1.196	1.124	1.352	0.111
AbB	1.14	3.34	0.421	1.147	1.09	1.333	0.107
AbC	0.82	3.36	0.03	1.218	0.999	1.277	0.137
AbD	0.91	2.67	0.01	1.247	0.874	1.375	0.197
AbE	0.56	2.28	0.04	1.257	1.111	1.423	0.223
AbF	0.54	2.41	0.304	1.347	1.001	1.458	0.433
AbG	0.77	3.84	0.07	1.35	1.112	1.304	0.108
AbH	0.94	3.64	0.327	1.35	1.097	1.324	0.152
AbI	1.00	3.80	0.224	1.237	1.088	1.209	0.107
AbJ	0.65	4.60	0.4	1.217	1.261	1.273	0.126
AbK	0.98	4.00	0.079	1.364	1.175	1.338	0.108
AbL	0.68	4.25	0.227	1.454	1.257	1.514	0.219
AbM	1.08	4.22	0.125	1.197	0.78	1.45	0.224
AbN	0.50	1.59	0.435	1.214	0.702	1.497	0.136
AbO	0.52	2.91	0.065	1.107	1.101	1.358	0.108
AbP	0.75	3.48	0.03	1.308	1.03	1.313	0.112
AbQ	0.68	4.62	0.153	1.255	1.161	1.31	0.125
AbR	0.87	3.94	0.302	1.334	1.108	1.35	0.109
AbS	1.53	5.00	0.04	1.017	1.166	1.224	0.118
AbT	0.67	3.26	0.093	1.078	0.994	1.219	0.102
AbU	0.73	3.13	0.184	1.289	0.927	1.314	0.104

Example 9.4: BIACORE™ Analysis of Selectivity of Anti-IL-21R IgG Binding to Human IL-21R

[0195] The specificity of binding of a subset of transiently expressed anti-IL-21R binding proteins (here antibodies) was tested on a BIACORE™ 2000 surface plasmon resonance instrument. Anti-human-IgG, anti-murine immunoglobulin antibodies, and murine IL-21R-H/F were immobilized onto a research-grade carboxymethyl-dextran chip (CM5) using standard amine coupling. The sensor chip surface was activated with EDC/NHS for 7 min at a flow rate of 20 µl/min. The first flow cell was used as reference surface to correct for bulk refractive index, matrix effects, and nonspecific binding. Capture antibodies (7,150 resonance units (RU) of

anti-human-Fc antibody (Invitrogen Corporation, Carlsbad, CA) on flow cell 2 and 7,500 RU of anti-murine-Fc antibody on flow cell 3) were diluted to 10 μg/ml in sodium acetate buffer (pH 5.0) and injected over the activated surface. Remaining activated groups were blocked with 1.0 M ethanolamine (pH 8.0). The molecular weights of the anti-human IgG and the anti-murine IgG were both 150 kD, and the molecular weight of the IL-21R monomer was 27 kD.

[0196] Conditioned media containing anti-IL-21R antibodies and antibody controls (murine anti-human IL-2Rβ and murine anti-human IL-4R (R&D Systems, Minneapolis, MN); human anti-human IL-13 (Wyeth, Cambridge, MA)) were diluted in HBS / EP buffer supplemented with 0.2% bovine serum and injected onto all four flow cells of the BIACORE™ chip, capturing 500-700 (RU) of antibody on the species-appropriate capture antibody. Following a 5 sec washing period, 50 nM solutions of a positive control protein (murine IL-21R-H/F), two human proteins related to IL-21R (human IL-2Rβ and human sIL-4R (R&D Systems)), or an unrelated His/FLAG-tagged protein (human IL-13-H/F), were injected over the captured antibodies on the chip. The association and dissociation phases were monitored for 120 and 180 sec, respectively, followed by two 5 μl injections of glycine (pH 1.5) to regenerate a fully active capturing surface. All binding experiments were done at 25°C in HBS / EP buffer. Blank and buffer effects were subtracted for each sensorgram using double referencing.

[0197] All of the anti-IL-21R antibodies tested (18A5 antibody and AbA-AbU) showed clear binding to murine IL-21R, but no binding to the IL-21R-related proteins human IL-2Rβ and human soluble IL-4R, or to the unrelated His/FLAG-tagged protein human IL-13-His/FLAG (**FIGs. 7a-c**). Controls indicated that IL-2Rβ and human soluble IL-4R could be captured by specific anti-IL-2Rβ and anti-IL-4R antibodies (**FIG. 7d**).

Example 9.5: Purification of Transiently Expressed Antibodies

[0198] Seven antibodies (human IgG1 triple-mutant versions: AbS, AbT, AbO, AbP, and AbU; and double-mutant versions: AbQ and AbR) were transiently expressed in cos-7 cells and purified for further analysis. In addition, three versions of AbT with human IgG tails expected to have different levels of Fc receptor binding (wild-type IgG1, IgG4, and IgG1 double-mutants) were also prepared. The *TRANS*IT® protocol described above was followed, except that 25 μg of each plasmid was used to transfect cells in each of eight T-175 flasks. Following the first harvest of conditioned medium, fresh R1CD1 was added and then collected after an additional 72 hr. Conditioned media were pooled and filtered on a 0.22 μm filter. Antibodies were loaded onto protein A resin, eluted with 20 mM citric acid / 150 mM sodium chloride (pH 2.5), neutralized with Tris (pH 8.5), and dialyzed into PBS.

Example 9.6: BIACORE™ Analysis of Antibody Binding to Human and Murine IL-21R

[0199] The kinetics of binding of anti-IL-21R antibodies to human and murine IL-21R-H/F was tested on a BIACORE™ surface plasmon resonance instrument. Anti-human IgG antibodies (Invitrogen Corporation) were immobilized onto a research-grade carboxy-methyl-dextran chip (CM5) using standard amine coupling. The surface was activated with EDC/NHS for 7 min at a flow of 20 μl/min. The first flow cell was used as a reference surface to correct for bulk refractive index, matrix effects, and nonspecific binding. The anti-human-Fc antibody was diluted to 20 μg/ml in 10 mM sodium acetate buffer (pH 5.0), and 2950-3405 resonance units (RU) were captured on each of the four flow cells. Remaining activated groups were blocked with 1.0 M ethanolamine-HCl (pH 8.5).

[0200] Anti-IL-21R antibodies were diluted to 0.1-0.2 μg/ml in HBS / EP buffer supplemented with 0.2% bovine serum albumin and loaded onto the BIACORE™ chip. Following a brief washing period, solutions of 0-100 nM human IL-21R-H/F or 10-500 nM murine IL-21R-H/F were injected over the chip at a flow rate of 50 μl/min. The association phase was run for 3 min for human and murine IL-21R

kinetics, and the dissociation phase was monitored for 15 min for hIL-21R and for 5 min for mIL-21R, followed by two 10 µl injections and one 30 µl injection of glycine (pH 1.5), to regenerate a fully active capturing surface. All binding experiments were done at 25°C in HBS / EP buffer, and the sample rack was kept at 15°C. Blank and buffer effects were subtracted for each sensorgram using double referencing. Sensorgrams are shown in **FIGs. 8a-b** (human IL-21R-His/FLAG) and **8c-d** (murine IL-21R-His/FLAG). Binding kinetic parameters are shown in **Table 7A**, and additional kinetic data from a replicate experiment are shown in **Table 7B**.

[0201] In addition, AbS and AbT were tested for binding kinetics to cynomolgus monkey IL-21R-His/FLAG by the above-described protocol. Binding profiles to human and cynomolgus monkey IL-21R-H/F were similar for both AbS and AbT (**FIG. 9**). **FIG. 9** shows cynomolgus monkey IL-21R-His/FLAG binding to AbS (**9a**); and to AbT (**9c**); and human IL-21R-His/FLAG binding to AbS (**9b**); and AbT (**9d**).

Table 7A: Kinetic Parameters of Anti-IL-21R Antibody Binding Human and Murine IL-21R-His/FLAG

	Human IL-21R			Murine IL-21R		
Antibody	ka (1/Ms)	kd (1/s)	KD (M)	ka (1/Ms)	kd (1/s)	KD (M)
18A5	2.43E+05	1.08E-03	4.43E-09	2.12E+05	1.53E-02	7.20E-08
AbO	2.41E+05	1.14E-04	4.75E-10	1.12E+05	5.49E-03	4.92E-08
AbP	1.94E+05	1.19E-04	6.15E-10	9.99E+04	5.08E-03	5.08E-08
AbQ	4.39E+05	9.34E-05	2.13E-10	3.01E+05	2.07E-02	6.88E-08
AbR	1.70E+05	9.61E-05	5.67E-10	7.65E+04	4.93E-03	6.45E-08
AbS	1.44E+05	2.91E-04	2.02E-09	1.99E+05	3.32E-03	1.67E-08
AbT	1.79E+05	6.78E-05	3.79E-10	2.11E+05	3.31E-03	1.57E-08
AbU	1.86E+05	8.18E-05	4.40E-10	9.81E+04	4.34E-03	4.42E-08

Table 7B: Kinetic Parameters of Anti-IL-21R Antibody Binding Human IL-21R-His/FLAG

	Human IL-21R		
Antibody	ka (1/Ms)	kd (1/s)	KD (M)
18A5	3.04E+05	1.34E-03	4.40E-09
AbP	2.33E+05	1.02E-04	4.36E-10
AbQ	4.39E+05	9.34E-05	2.13E-10
AbR	2.48E+05	9.76E-05	3.94E-10
AbS	2.02E+05	3.05E-04	1.51E-09
AbT	2.73E+05	7.42E-05	2.72E-10
AbU	2.38E+05	7.83E-05	3.29E-10

Example 9.7: BIACORE™ Epitope Competition Assay

[0202] Antibodies AbS and AbT and the parental antibody 18A5 were immobilized directly onto a CM5 BIACORE™ chip. Murine IL-21R-H/F (100 nM) was allowed to flow over the chip for 300 sec, followed by a wash (100 sec), and then a 5 μg/ml solution of either AbS, AbT, D5, or a nonneutralizing anti-mIL-21R antibody (7C2) was allowed to flow over the surface. No additional binding was observed with AbS, AbT, and D5, indicating that their binding site on mIL-21R-H/F was blocked by concurrent binding to AbS, AbT, or 18A5 antibody (**FIG. 10a**). In contrast, the nonneutralizing control anti-IL-21R antibody 7C2 was able to bind to mIL-21R-H/F captured on AbS, AbT, or 18A5 antibody, indicating that this control antibody bound at a different epitope from the one bound by the capture antibodies.

[0203] Similarly, AbS and AbT did not bind to human IL-21R-H/F captured by AbS or AbT immobilized on a CM5 BIACORE™ chip, while the control anti-human IL-21R antibody (9D2) was able to bind human IL-21R-H/F captured by AbS or AbT (**FIG. 10b**). This observation suggested that the binding site for AbS is blocked by concurrent binding by AbT, and vice versa.

Example 9.8: Cell-based Proliferation Assays

[0204] Purified IgGs were tested for activity in IL-21-dependent proliferation assays in three cell lines as described above: human IL-21R-BaF3 cells, murine IL-21R-BaF3 cells, and human IL-21R-TF-1 cells. All showed strong inhibition of

both human and murine IL-21R-dependent proliferation with greater potency than that of the parental 18A5 IgG (**FIG. 11, Table 8**). Assays were conducted on human IL-21R-BaF3 cells with 100 pg/ml of human IL-21 (**FIG. 11a**), murine IL-21R-BaF3 cells with 200 pg/ml of murine IL-21 (**FIG. 11b**), and human IL-21R-TF-1 cells with 100 pg/ml of human IL-21 (**FIG. 11c**). **FIG. 26d** depicts the results of an additional study of the effects of these antibodies on human IL-21R-BaF3 cells.

Table 8: Neutralization of Proliferation of Human IL-21R-BaF3 Cells, Murine IL-21R-BaF3 Cells, and Human IL-21R-TF-1 Cells

Antibody	Human IL-21R-BaF3 Neutralization IC_{50} (nM)	Murine IL-21R-BaF3 Neutralization IC_{50} (nM)	Human IL-21R-TF1 Neutralization IC_{50} (nM)
18A5 antibody	1.71	177.23	13.99
AbR	0.56	0.34	1.63
AbS	0.68	0.04	6.67
AbT	0.30	0.05	2.32
AbX	0.54	nd	nd
IL21R-Fc	0.20 (human IL-21R-Fc)	0.04 (mouse IL-21R-Fc)	7.22 (human IL-21R-Fc)

Example 9.9: Primary Human B cell Proliferation Assays

[0205] Anti-IL-21R antibodies were tested for their ability to inhibit IL-21-dependent proliferation of primary human B cells. Buffy coat cells from healthy human donors were obtained from Massachusetts General Hospital (Boston, MA). The cells were incubated with a ROSETTESEP™ B cell enrichment cocktail (StemCell Technologies, Vancouver, Canada), and B cells isolated according to the manufacturer's instructions. The resulting population (60-80% $CD19^+$ B cells) were cultured in RPMI containing 10% FBS, 50 U/ml penicillin, 50 µg/ml streptomycin, and 2 mM L-glutamine at $1x10^5$/well in 96-well flat-bottom plates. B cells were pretreated with serially diluted anti-human IL-21R antibodies in a 37°C incubator adjusted to 5% CO_2 for 30 min. The treated B cells were then stimulated with

0.5 μg/ml anti-CD40 mAb (BD Biosciences, San Jose, CA) and 10 ng/ml IL-21 cytokine for 3 days in a 37°C incubator adjusted to 5% CO_2. On day 3, cultures were pulsed with 0.5 μCi/well ^{3}H-thymidine (Perkin Elmer (NEN)) and harvested 5 hr later onto glass fiber filter mats. ^{3}H-thymidine incorporation was determined by liquid scintillation counting. All of the improved antibodies neutralized IL-21-dependent proliferation with greater potency than the parental 18A5 antibody (**FIGs. 12a-b, Table 9**; also see **FIG. 26e**).

Table 9: Neutralization of Human Primary B Cell Proliferation

Antibody	Neutralization of B cell proliferation IC_{50} (nM)
AbQ	0.16
AbR	0.22
AbS	0.44
AbT	0.14
AbU	0.13
18A5 antibody	1.86

Example 9.10: Primary Human T cell Proliferation Assays

[0206] Anti-IL-21R antibodies were tested for their ability to inhibit IL-21-dependent proliferation of primary human $CD4^+$ T cells. Buffy coat cells from healthy human donors were obtained from Massachusetts General Hospital. $CD4^+$ T cells were isolated by negative selection using ROSETTESEP™ $CD4^+$ T cell enrichment cocktail (StemCell Technologies), according to the manufacturer's instructions. The resulting population was ~80-90% $CD4^+/CD3^+$ T cells. Enriched human $CD4^+$ T cells were activated for 3 days with anti-CD3/anti-CD28-coated microspheres in RPMI containing 10% FBS, 100 U/ml penicillin, 100 μg/ml streptomycin, 2 mM L-glutamine, and HEPES in a 37°C incubator adjusted to 5% CO_2. After activation, the microspheres were removed and the cells were washed and rested overnight at approximately $1x10^6$ cells/ml in culture medium. The rested cells were then washed again before addition to the assay plates. Serial dilutions of

anti-human IL-21 receptor antibodies were made in culture medium in flat-bottomed 96-well plates, followed by the sequential addition of human IL-21 (20 ng/ml final concentration) and the activated and rested $CD4^+$ T cells (10^5 cells/well). The plates were then incubated for an additional 3 days and pulsed with 1 μCi/well ^{3}H-thymidine (Perkin Elmer (NEN)) during the final 6 hr of the assay. Cells were harvested onto glass fiber filter mats and ^{3}H-thymidine incorporation was determined by liquid scintillation counting. All of the improved antibodies neutralized IL-21-dependent proliferation with greater potency than the parental 18A5 antibody (**FIG. 13, Table 10A**; also see **FIG. 26f**).

Table 10A: Neutralization of Human Primary T Cell Proliferation

Antibody	Neutralization of T cell Proliferation IC_{50} (nM)
AbO	0.06
AbP	0.02
AbQ	0.08
AbR	0.04
AbS	0.06
AbT	0.03
AbU	0.03
18A5 antibody	1.42

Example 9.11: Primary Murine T cell Proliferation Assays

[0207] Anti-IL-21R antibodies were tested for their ability to inhibit IL-21-dependent proliferation of primary murine $CD8^+$ T cells. Popliteal, axillary, brachial, and inguinal lymph nodes and spleens from 12-week-old female BALB/C mice were collected. A single-cell suspension of the spleen cells was depleted of red blood cells using 0.16 M NH_4Cl in 0.017 M Tris (pH 7.4). The spleen and lymph node cells were pooled and enriched for $CD8^+$ cells using a murine T cell CD8 Subset Column Kit (R&D Systems). Murine $CD8^+$ cells ($3x10^4$; suspended in DMEM containing 10% fetal calf serum and supplemented with 0.05 mM β-mercaptoethanol, 2 mM L-glutamine, 0.1 mM nonessential amino acids, 1 mM sodium pyruvate, 100 U/ml

penicillin, 100 µg/ml streptomycin and 50 µg/ml gentamicin) were plated in 96-well, anti-mCD3 activation plates (BD Biosciences); mIL-21 (50 ng/ml) was added to all the wells. The test antibodies were titered in triplicate beginning at 20 µg/ml. Cells were grown for 3 days in a 37°C / 10% CO_2 incubator. During the last 5 hr of culture, cells were labeled with 0.5 µCi methyl-^{3}H-thymidine/well (GE Healthcare). The cells were harvested using a Mach III cell harvester (TomTec, Hamden, CT) and counted using a Trilux microbeta counter (Perkin Elmer). Aside from AbP, all of the improved antibodies neutralized IL-21-dependent proliferation with greater potency than the parental 18A5 antibody (**FIG. 14, Table 10B**; also see **FIG. 26g**).

Table 10B: Neutralization of Murine Primary T Cell Proliferation

Antibody	Neutralization of T cell Proliferation IC_{50} (nM)
AbO	4.92
AbP	no inhibition
AbQ	0.85
AbR	0.13
AbS	0.02
AbT	0.61
AbU	1.79
18A5 antibody	>85

Example 9.12: ADCC Assay

[0208] Anti-IL-21R antibodies were tested for their ability to induce antibody-dependent cellular cytotoxicity (ADCC) when bound to target cells. The day before the experiment, PBMC were isolated from buffy coat by diluting the buffy coat 1:1 in PBS, layering it over FICOLL® (GE Healthcare), and centrifuging at 1200 g for 20 min. PBMCs were removed from the top of the FICOLL® layer, washed, and stimulated overnight with 10 ng/ml IL-2 and 10 ng/ml IL-12 (R&D Systems). The day of the experiment, stimulated PBMCs were collected by centrifugation and resuspended in media at $1x10^8$ cells/ml. BJAB cells were labeled with 0.5 µM CFSE (MOLECULAR PROBES®, Invitrogen Corporation) for 10 min at 37°C, and then

washed with fetal bovine serum once and PBS twice. Cells were then plated into a 96-well flat-bottom plate at $2x10^5$ cells/well in 100 µl media. Fifty µl of the 4x antibodies were added to the BJAB cells, followed by $5x10^6$ PBMC in 50 µl, giving a final 1:25 target:effector cell ratio. Cells were incubated at 37°C for 6 hr and stained with propidium iodide (PI) to label dead and dying cells. Killing of target cells ($CFSE^+$) was assessed by measuring PI staining in a FACSCALIBUR™ flow cytometer (BD Biosciences). Only one anti-IL-21R antibody, AbZ, which has a wild-type human IgG1 constant region, showed ADCC above the background level displayed by a control anti-IL-13 antibody that did not bind to the target cells. All antibodies with the same variable domains as AbZ, including forms with human IgG4 (AbY), and those with double-mutant (AbX) and triple-mutant (AbT) forms of human IgG1, showed only background levels of ADCC (**FIG. 15**). All other anti-IL-21R antibodies tested contained the triple-mutant form of human IgG1 and showed background ADCC. A positive control antibody, rituximab (RITUXAN®), induced ADCC in all experiments.

Example 9.13: C1q ELISA

[0209] In order to determine whether cell-surface binding by anti-IL-21R antibodies is likely to lead to complement-dependent cytotoxicity (CDC), the antibodies were tested for their ability to bind to the complement component C1q in an ELISA. IL-21R antibodies and rituximb (RITUXAN®) were diluted in PBS to 5 µg/ml. Diluted antibodies (100 µl) were coated onto a COSTAR® high-binding ELISA plate (Corning Life Sciences, Lowell, MA) overnight at 4°C. Plates were washed 3X with PBS / Tween-20 and blocked with 200 µl of blocking buffer (0.1 M $NaPO_4$, 0.1 M NaCl, 0.1% gelatin, 0.01% Tween) for 1 hr at RT. Human serum previously determined to contain C1q (Quidel, San Diego, CA) was diluted 1:50 in PBS. After 1 hr of blocking, plates were washed and 100 µl of diluted serum was added to each well and incubated for 2 hr at RT on a shaker. Following three washes, 100 µl of 0.1 µg/ml chicken polyclonal anti-human C1q antibody (AbCam, Cambridge, MA)

was added to each well and incubated for 1 hr at RT. Plates were again washed and incubated with 100 µl of a rabbit polyclonal antibody to chicken Ig-Y-HRP diluted 1:4000 (AbCam) for 1 hr at RT. Plates were washed and developed with TMB for 5 min, followed by 50 µl of 1 M H_2SO_4 to stop the reaction, and then read at 450 nm. Only one anti-IL-21R antibody, AbZ, which has a wild-type human IgG1 constant region, showed C1q binding above the background level displayed by a control antibody with a triple-mutant human IgG1 constant region that had previously been shown to lack C1q binding. All antibodies with the same variable domains as AbZ, including forms with human IgG4 (AbY), and those with double-mutant (AbX) and triple-mutant (AbT) forms of human IgG1, showed only background levels of C1q binding (**FIG. 16**). All other anti-IL-21R antibodies tested contained the triple-mutant form of human IgG1 and showed background C1q binding.

Example 9.14: Cytokine competition assay

[0210] In order to demonstrate that antibody AbT binds to the murine IL-21R in a manner that competes with the IL-21 cytokine, a cytokine competition assay was performed. Antibody AbT was coated at 1 µg/ml onto ELISA plates, which were then blocked with 1% BSA in PBS/.05% Tween. Biotinylated murine IL-21R-His/FLAG (1.5 ng/ml) was added to the wells, either alone or in the presence of increasing concentrations of murine IL-21, and the binding of the receptor to the immobilized antibody was detected with HRP-conjugated streptavidin and subsequent incubation with TMB detection reagent. Mouse IL-21 was able to block the binding of mIL-21R to AbT nearly completely above 4 ng/ml, indicating that the antibody and the cytokine compete for binding to murine IL-21R (**FIG. 27**).

Equivalents

[0211] Those skilled in the art will recognize, or be able to ascertain using no more than routine experimentation, many equivalents of the specific embodiments of the

invention described herein. Such equivalents are intended to be encompassed by the following claims.

WHAT IS CLAIMED IS:

1. An isolated binding protein or antigen-binding fragment thereof that binds to IL-21R, wherein the binding protein or antigen-binding fragment thereof comprises at least one amino acid sequence that is at least about 95% identical to an amino acid sequence(s) selected from the group consisting of SEQ ID NOs:14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46, 48, 50, 52, 54, 56, 58, 60, 62, 64, 66, 68, 70, 72, 74, 76, 78, 80, 82, 84, 86, 88, 90, 92, 94, 96, 98, 100, 102, 104, 106, 108, 110, 112, 114, 116, 118, 120, 122, 124, 126, 128, 130, 132, 134, 136, 138, 140, 142, 144, 146, 148, 150, 152, 154, 156, 158, 160, 162, 165-168, 171-193, 213-229, 240, 242, 244, 246, and 248.

2. The isolated binding protein or antigen-binding fragment of claim 1, wherein the binding protein or antigen-binding fragment is an antibody.

3. The isolated binding protein or antigen-binding fragment of claim 1, wherein the binding protein or antigen-binding fragment is an scFv.

4. The isolated binding protein or antigen-binding fragment of claim 1, wherein the binding protein or antigen-binding fragment is a V_H.

5. The isolated binding protein or antigen-binding fragment of claim 1, wherein the binding protein or antigen-binding fragment is a V_L.

6. The isolated binding protein or antigen-binding fragment of claim 1, wherein the binding protein or antigen-binding fragment is a CDR.

7. An isolated binding protein or antigen-binding fragment thereof that binds to IL-21R, wherein the binding protein or antigen-binding fragment thereof comprises at least one amino acid sequence encoded by a nucleotide sequence that is at least about 95% identical to a nucleotide sequence(s) selected from the group consisting of SEQ ID NOs:13, 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, 45, 47, 49, 51, 53,

55, 57, 59, 61, 63, 65, 67, 69, 71, 73, 75, 77, 79, 81, 83, 85, 87, 89, 91, 93, 95, 97, 99, 101, 103, 105, 107, 109, 111, 113, 115, 117, 119, 121, 123, 125, 127, 129, 131, 133, 135, 137, 139, 141, 143, 145, 147, 149, 151, 153, 155, 157, 159, 161, 239, 241, 243, 245, and 247.

8. The isolated binding protein or antigen-binding fragment of claim 7, wherein the binding protein or antigen-binding fragment is an antibody.

9. The isolated binding protein or antigen-binding fragment of claim 7, wherein the binding protein or antigen-binding fragment is an scFv.

10. The isolated binding protein or antigen-binding fragment of claim 7, wherein the binding protein or antigen-binding fragment is a V_H.

11. The isolated binding protein or antigen-binding fragment of claim 7, wherein the binding protein or antigen-binding fragment is a V_L.

12. The isolated binding protein or antigen-binding fragment of claim 7, wherein the binding protein or antigen-binding fragment is a CDR.

13. The binding protein or antigen-binding fragment of claim 1, comprising at least one amino acid sequence selected from the group consisting of SEQ ID NOs:14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46, 48, 50, 52, 54, 56, 58, 60, 62, 64, 66, 68, 70, 72, 74, 76, 78, 80, 82, 84, 86, 88, 90, 92, 94, 96, 98, 100, 102, 104, 106, 108, 110, 112, 114, 116, 118, 120, 122, 124, 126, 128, 130, 132, 134, 136, 138, 140, 142, 144, 146, 148, 150, 152, 154, 156, 158, 160, 162, 165-168, 171-193, 213-229, 240, 242, 244, 246, and 248.

14. The isolated binding protein or antigen-binding fragment of claim 13, wherein the binding protein or antigen-binding fragment is an antibody.

15. The isolated binding protein or antigen-binding fragment of claim 13, wherein the binding protein or antigen-binding fragment is an scFv.

16. The isolated binding protein or antigen-binding fragment of claim 13, wherein the binding protein or antigen-binding fragment is a V_H.

17. The isolated binding protein or antigen-binding fragment of claim 13, wherein the binding protein or antigen-binding fragment is a V_L.

18. The isolated binding protein or antigen-binding fragment of claim 13, wherein the binding protein or antigen-binding fragment is a CDR.

19. An isolated binding protein or antigen-binding fragment thereof that binds to IL-21R, wherein the binding protein or antigen-binding fragment thereof comprises at least one amino acid sequence that is at least about 95% identical to an amino acid sequence(s) selected from the group consisting of SEQ ID NOs:6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46, 48, 50, 52, 54, 56, 58, 60, 62, 64, 66, 68, 70, 72, 74, 76, 78, 80, 82, 84, 86, 88, 90, 92, 94, 96, 98, 100, 102, 104, 106, 108, 110, 112, 114, 116, 118, 120, 122, 124, 126, 128, 130, 132, 134, 136, 138, 140, 142, 144, 146, 148, 150, 152, 154, 156, 158, 160, 162-195, 213-229, 240, 242, 244, 246, and 248, and

wherein, if the binding protein or antigen-binding fragment comprises at least one amino acid sequence that is at least about 95% identical to the sequence(s) selected from the group consisting of SEQ ID NOs:6, 8, 10, 12, 163, 164, 169, 170, 194, and 195, then the binding protein or antigen-binding fragment must also comprise at least one amino acid sequence that is at least about 95% identical to the amino acid sequence(s) selected from the group consisting of SEQ ID NOs:14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46, 48, 50, 52, 54, 56, 58, 60, 62, 64, 66, 68, 70, 72, 74, 76, 78, 80, 82, 84, 86, 88, 90, 92, 94, 96, 98, 100, 102, 104, 106, 108, 110, 112, 114, 116, 118, 120, 122, 124, 126, 128, 130, 132, 134, 136, 138, 140, 142, 144, 146,

148, 150, 152, 154, 156, 158, 160, 162, 165-168, 171-193, 213-229, 240, 242, 244, 246, and 248.

20. An isolated binding protein or antigen-binding fragment thereof that binds to IL-21R, wherein the binding protein or antigen-binding fragment thereof comprises at least one amino acid sequence encoded by a nucleotide sequence that is at least about 95% identical to a nucleotide sequence(s) selected from the group consisting of SEQ ID NOs:5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, 45, 47, 49, 51, 53, 55, 57, 59, 61, 63, 65, 67, 69, 71, 73, 75, 77, 79, 81, 83, 85, 87, 89, 91, 93, 95, 97, 99, 101, 103, 105, 107, 109, 111, 113, 115, 117, 119, 121, 123, 125, 127, 129, 131, 133, 135, 137, 139, 141, 143, 145, 147, 149, 151, 153, 155, 157, 159, 161, 239, 241, 243, 245, and 247, and

wherein, if the binding protein or antigen-binding fragment comprises at least one amino acid sequence encoded by a nucleotide sequence that is at least about 95% identical to the sequence(s) selected from the group consisting of SEQ ID NOs:5, 7, 9, and 11, then the binding protein or antigen-binding fragment must also comprise at least one amino acid sequence encoded by a nucleotide sequence that is at least about 95% identical to the nucleotide sequence(s) selected from the group consisting of SEQ ID NOs:13, 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, 45, 47, 49, 51, 53, 55, 57, 59, 61, 63, 65, 67, 69, 71, 73, 75, 77, 79, 81, 83, 85, 87, 89, 91, 93, 95, 97, 99, 101, 103, 105, 107, 109, 111, 113, 115, 117, 119, 121, 123, 125, 127, 129, 131, 133, 135, 137, 139, 141, 143, 145, 147, 149, 151, 153, 155, 157, 159, 161, 239, 241, 243, 245, and 247.

21. The binding protein or antigen-binding fragment of claim 19, comprising at least one amino acid sequence selected from the group consisting of SEQ ID NOs:6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46, 48, 50, 52, 54, 56, 58, 60, 62, 64, 66, 68, 70, 72, 74, 76, 78, 80, 82, 84, 86, 88, 90, 92, 94, 96, 98, 100, 102, 104, 106, 108, 110, 112, 114, 116, 118, 120, 122, 124, 126, 128, 130, 132, 134,

136, 138, 140, 142, 144, 146, 148, 150, 152, 154, 156, 158, 160, 162-195, 213-229, 240, 242, 244, 246, and 248,

wherein, if the binding protein or antigen-binding fragment comprises at least one amino acid sequence that is at least about 95% identical to the sequence(s) selected from the group consisting of SEQ ID NOs:6, 8, 10, 12, 163, 164, 169, 170, 194, and 195, then the binding protein or antigen-binding fragment must also comprise at least one amino acid sequence that is at least about 95% identical to the amino acid sequence(s) selected from the group consisting of SEQ ID NOs:14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46, 48, 50, 52, 54, 56, 58, 60, 62, 64, 66, 68, 70, 72, 74, 76, 78, 80, 82, 84, 86, 88, 90, 92, 94, 96, 98, 100, 102, 104, 106, 108, 110, 112, 114, 116, 118, 120, 122, 124, 126, 128, 130, 132, 134, 136, 138, 140, 142, 144, 146, 148, 150, 152, 154, 156, 158, 160, 162, 165-168, 171-193, 213-229, 240, 242, 244, 246, and 248.

22. An isolated binding protein or antigen-binding fragment thereof that binds to IL-21R, wherein the binding protein or antigen-binding fragment thereof comprises a light chain and a heavy chain, and wherein the heavy chain comprises at least one amino acid sequence selected from the group consisting of SEQ ID NOs:14, 16, 18, 20, 68, 70, 72, 88, 90, 92, 94, 213, 218, 219, 240, and 242.

23. An isolated binding protein or antigen-binding fragment thereof that binds to IL-21R, wherein the binding protein or antigen-binding fragment thereof comprises a light chain and a heavy chain, and wherein the light chain comprises at least one amino acid sequence selected from the group consisting of SEQ ID NOs:22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46, 48, 50, 52, 54, 56, 58, 60, 62, 64, 66, 74, 76, 78, 80, 82, 84, 86, 96, 98, 100, 102, 104, 106, 108, 214-217, 220-229, 244, 246, and 248.

24. The binding protein or antigen-binding fragment of claim 22, wherein the binding protein or antigen-binding fragment comprises a V_L domain and a V_H domain,

and wherein the V_H domain comprises at least one amino acid sequence selected from the group consisting of SEQ ID NOs:14, 16, 18, and 20.

25. The binding protein or antigen-binding fragment of claim 23, wherein the binding protein or antigen-binding fragment comprises a V_L domain and a V_H domain, and wherein the V_L domain comprises at least one amino acid sequence selected from the group consisting of SEQ ID NOs:22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46, 48, 50, 52, 54, 56, 58, 60, 62, 64, 66, 215, 217, 221, 223, 225, 227, and 229.

26. The binding protein or antigen-binding fragment of claim 22 or 23, wherein the heavy chain comprises an amino acid sequence selected from the group consisting of SEQ ID NOs:88, 90, 92, 94, 213, 218, 219, 240, and 242, and the light chain comprises an amino acid sequence selected from the group consisting of SEQ ID NOs:96, 98, 100, 102, 104, 106, 108, 214, 216, 220, 222, 224, 226, 228, 244, 246, and 248.

27. An isolated binding protein or antigen-binding fragment thereof that binds to an IL-21R epitope that is recognized by a binding protein selected from the group consisting of AbA-AbW, H3-H6, L1-L6, L8-L21, and L23-L25, wherein the binding protein or antigen-binding fragment competitively inhibits the binding of a binding protein selected from the group consisting of AbA-AbW, H3-H6, L1-L6, L8-L21, and L23-L25 to human IL-21R.

28. The binding protein or antigen-binding fragment of claim 27, comprising a heavy chain, a light chain, or an F_v fragment comprising an amino acid sequence selected from the group consisting of SEQ ID NOs:14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46, 48, 50, 52, 54, 56, 58, 60, 62, 64, 66, 68, 70, 72, 74, 76, 78, 80, 82, 84, 86, 88, 90, 92, 94, 96, 98, 100, 102, 104, 106, 108, 110, 112, 114, 116, 118, 120, 122, 124, 126, 128, 130, 132, 134, 136, 138, 140, 142, 144, 146, 148, 150, 152, 154, 156, 158, 160, 162, 165-168, 171-193, 213-229, 240, 242, 244, 246, and 248.

29. The binding protein or antigen-binding fragment of claim 27, comprising a heavy chain, a light chain, or an F_v fragment comprising an amino acid sequence encoded by a nucleotide sequence selected from the group consisting of SEQ ID NOs:13, 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, 45, 47, 49, 51, 53, 55, 57, 59, 61, 63, 65, 67, 69, 71, 73, 75, 77, 79, 81, 83, 85, 87, 89, 91, 93, 95, 97, 99, 101, 103, 105, 107, 109, 111, 113, 115, 117, 119, 121, 123, 125, 127, 129, 131, 133, 135, 137, 139, 141, 143, 145, 147, 149, 151, 153, 155, 157, 159, 161, 239, 241, 243, 245, and 247.

30. The binding protein or antigen-binding fragment of any one of claims 1, 2, 19, or 20, wherein the association constant of the binding protein or antigen-binding fragment for human IL-21R is at least about 10^5 $M^{-1}s^{-1}$.

31. The binding protein or antigen-binding fragment of any one of claims 1, 2, 19, or 20, wherein the binding protein or antigen-binding fragment inhibits IL-21-mediated proliferation of BaF3 cells with an IC_{50} of about 1.75 nM or less, and wherein the BaF3 cells comprise a human IL-21R.

32. The binding protein or antigen-binding fragment of any one of claims 1, 2, 19, or 20, wherein the binding protein or antigen-binding fragment inhibits IL-21-mediated proliferation of TF1 cells with an IC_{50} of about 14.0 nM or less, and wherein the TF1 cells comprise a human IL-21R.

33. The binding protein or antigen-binding fragment of any one of claims 1, 2, 19, or 20, wherein the binding protein or antigen-binding fragment inhibits IL-21-mediated proliferation of primary human B cells with an IC_{50} of about 1.9 nM or less, and wherein the B cells comprise a human IL-21R.

34. The binding protein or antigen-binding fragment of any one of claims 1, 2, 19, or 20, wherein the binding protein or antigen-binding fragment inhibits IL-21-

mediated proliferation of primary human $CD4^+$ cells with an IC_{50} of about 1.5 nM or less, and wherein the $CD4^+$ cells comprise a human IL-21R.

35. The binding protein or antigen-binding fragment of any one of claims 1, 2, 19, or 20, wherein the binding protein or antigen-binding fragment specifically binds to an amino acid sequence that is at least about 95% identical to any sequence of at least 100 contiguous amino acids of SEQ ID NO:2.

36. The binding protein or antigen-binding fragment of any one of claims 1, 2, 19, or 20, wherein the binding protein or antigen-binding fragment inhibits the binding of IL-21 to IL-21R.

37. The binding protein or antigen-binding fragment of any one of claims 1, 2, 19, or 20, wherein the binding protein or antigen-binding fragment is IgG1.

38. The binding protein or antigen-binding fragment of any one of claims 1, 2, 19, or 20, wherein the binding protein or antigen-binding fragment is human.

39. A pharmaceutical composition comprising the binding protein or antigen-binding fragment of any one of claims 1, 2, 19, or 20.

40. An isolated nucleic acid encoding the binding protein or antigen-binding fragment of any one of claims 1, 2, 19, or 20.

41. An expression vector comprising the nucleic acid of claim 40.

42. A host cell transformed with the vector of claim 41.

43. The host cell of claim 42, wherein the host cell is a bacteria, mammalian cell, yeast cell, plant cell, or insect cell.

44. A diagnostic kit comprising the binding protein or antigen-binding fragment of any one of claims 1, 2, 19, or 20.

45. The isolated binding protein or antigen-binding fragment of any one of claims 19-38, wherein the binding protein or antigen-binding fragment is an antibody.

46. The isolated binding protein or antigen-binding fragment of any one of claims 19-38, wherein the binding protein or antigen-binding fragment is an scFv.

47. The isolated binding protein or antigen-binding fragment of any one of claims 19-38, wherein the binding protein or antigen-binding fragment is a V_H.

48. The isolated binding protein or antigen-binding fragment of any one of claims 19-38, wherein the binding protein or antigen-binding fragment is a V_L.

49. The isolated binding protein or antigen-binding fragment of any one of claims 19-38, wherein the binding protein or antigen-binding fragment is a CDR.

Figure 1a

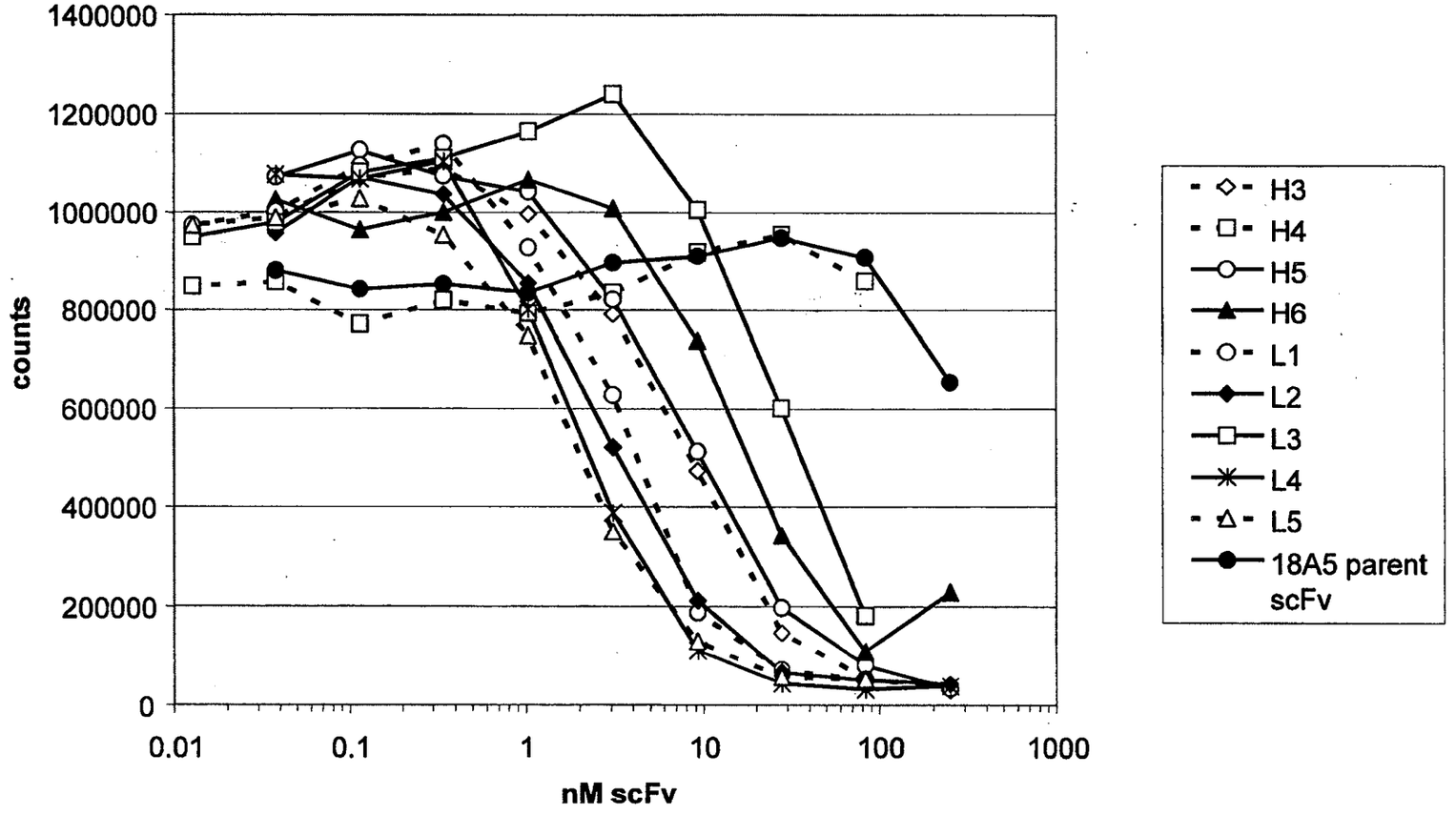

1400000
1200000
1000000
800000
600000
400000
200000
0
counts
0.01
0.1
1
10
100
1000
nM scFv
H3
H4
H5
H6
L1
L2
L3
L4
L5
18A5 parent scFv

Figure 1b

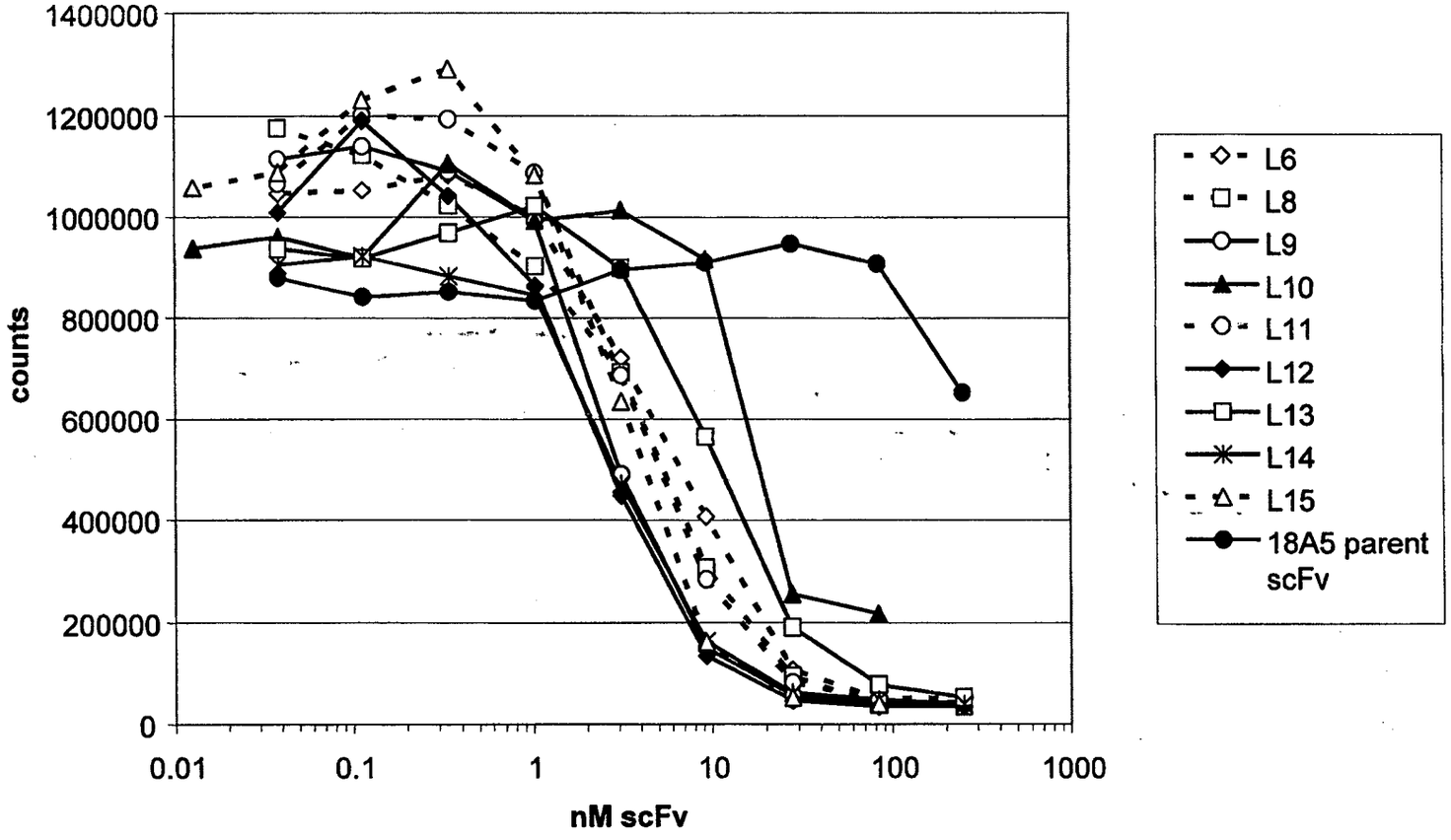

1400000
1200000
1000000
800000
600000
400000
200000
0
counts
0.01
0.1
1
10
100
1000
nM scFv
L6
L8
L9
L10
L11
L12
L13
L14
L15
18A5 parent scFv

Figure 1c

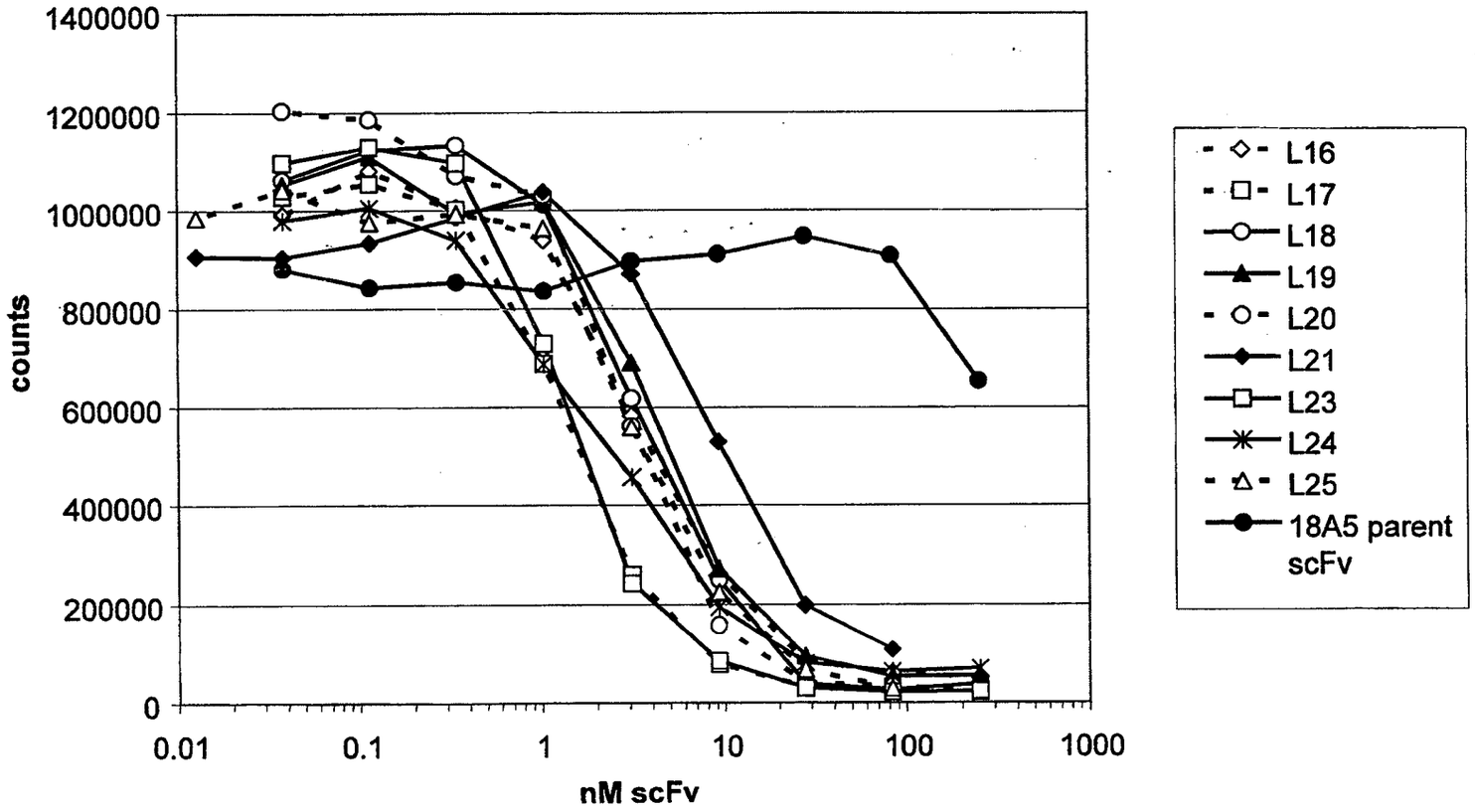

1400000
1200000
1000000
800000
600000
400000
200000
0
counts
0.01
0.1
1
10
100
1000
nM scFv
L16
L17
L18
L19
L20
L21
L23
L24
L25
18A5 parent scFv

Figure 2a

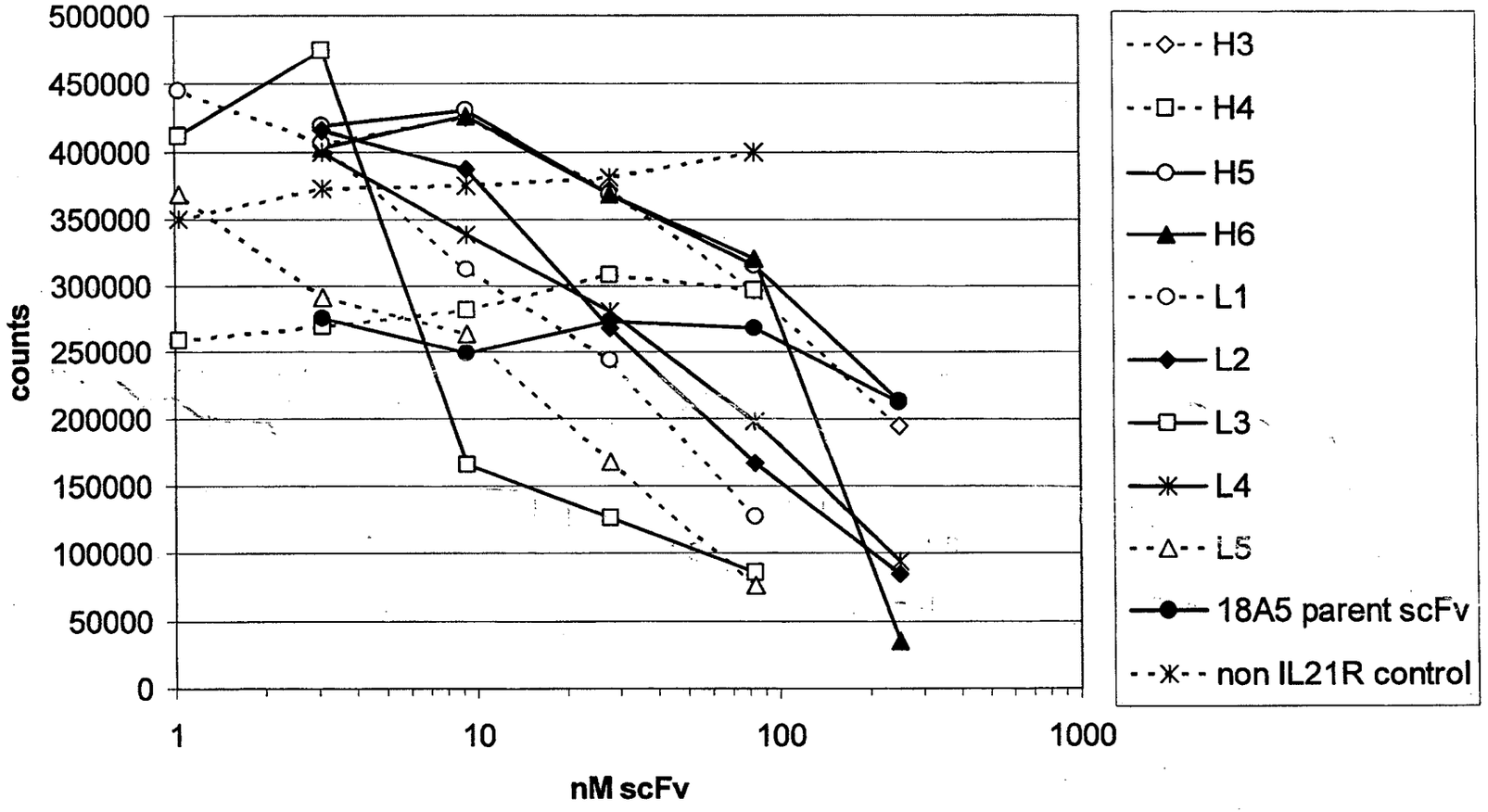

500000
450000
400000
350000
300000
250000
200000
150000
100000
50000
0
counts
1
10
100
1000
nM scFv
H3
H4
H5
H6
L1
L2
L3
L4
L5
18A5 parent scFv
non IL21R control

Figure 2b

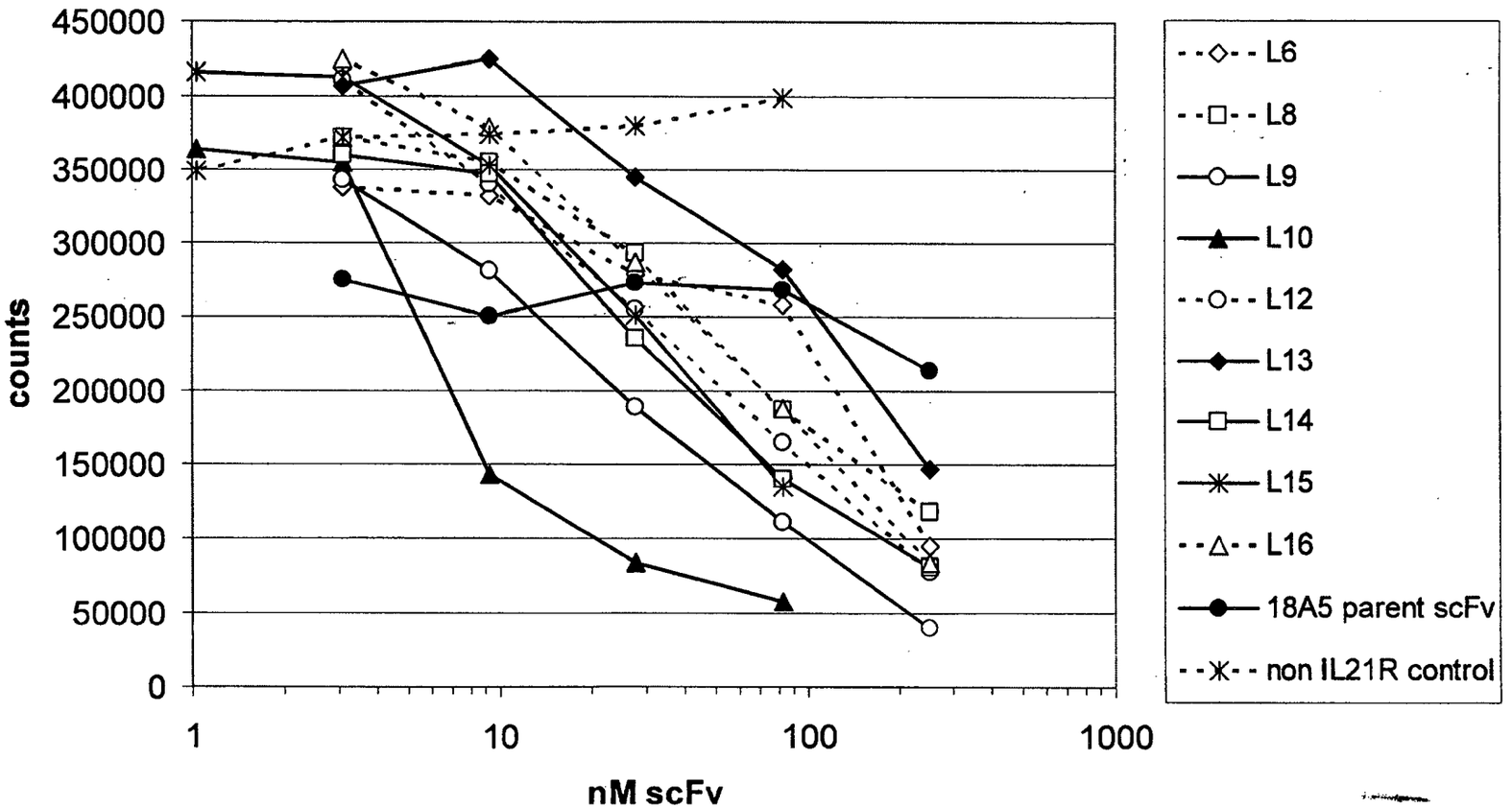
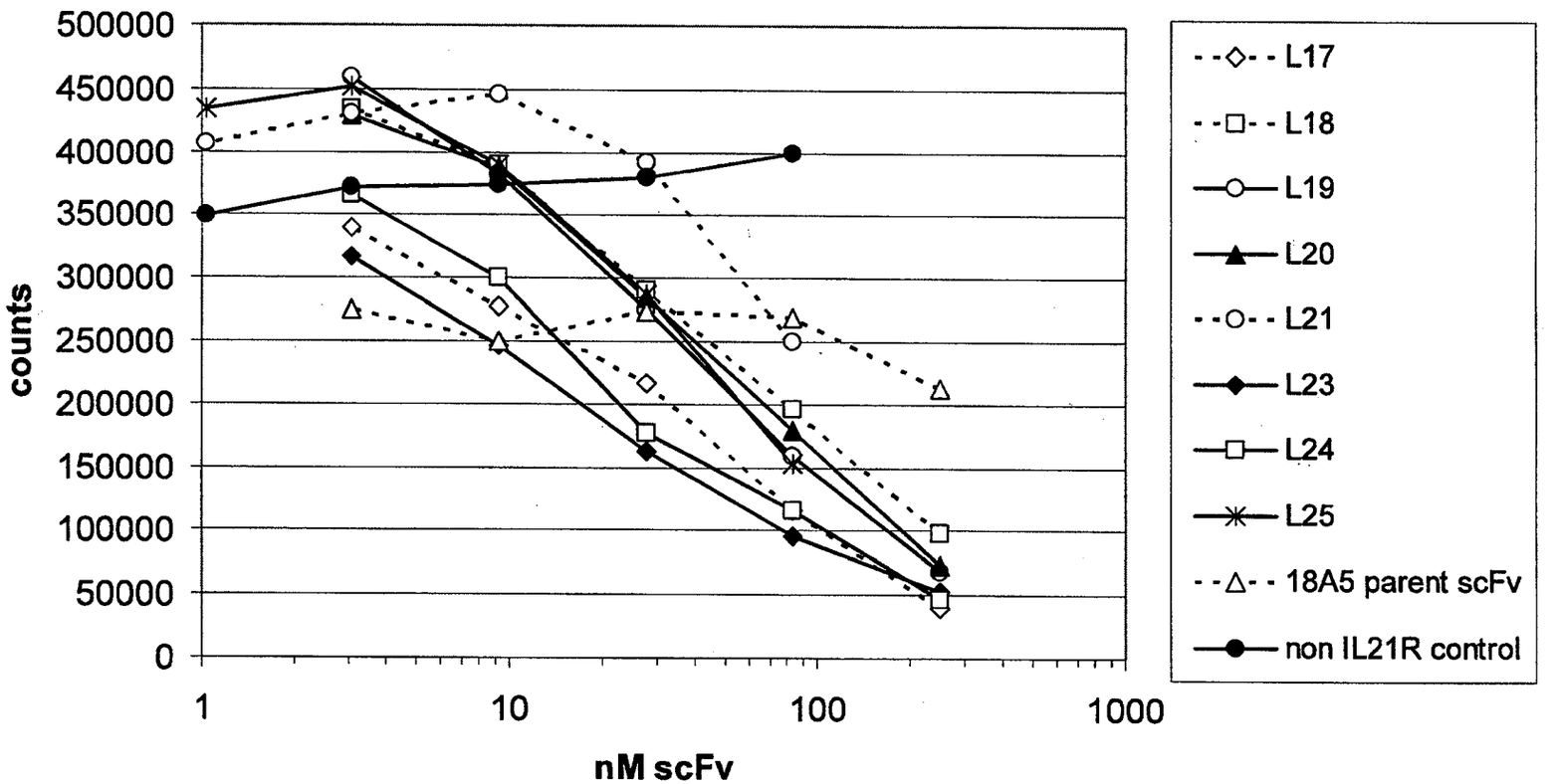

450000
400000
350000
300000
250000
200000
150000
100000
50000
0
counts
1
10
100
1000
nM scFv
L6
L8
L9
L10
L12
L13
L14
L15
L16
18A5 parent scFv
non IL21R control

Figure 2c


500000
450000
400000
350000
300000
250000
200000
150000
100000
50000
0
counts
1
10
100
1000
nM scFv
L17
L18
L19
L20
L21
L23
L24
L25
18A5 parent scFv
non IL21R control

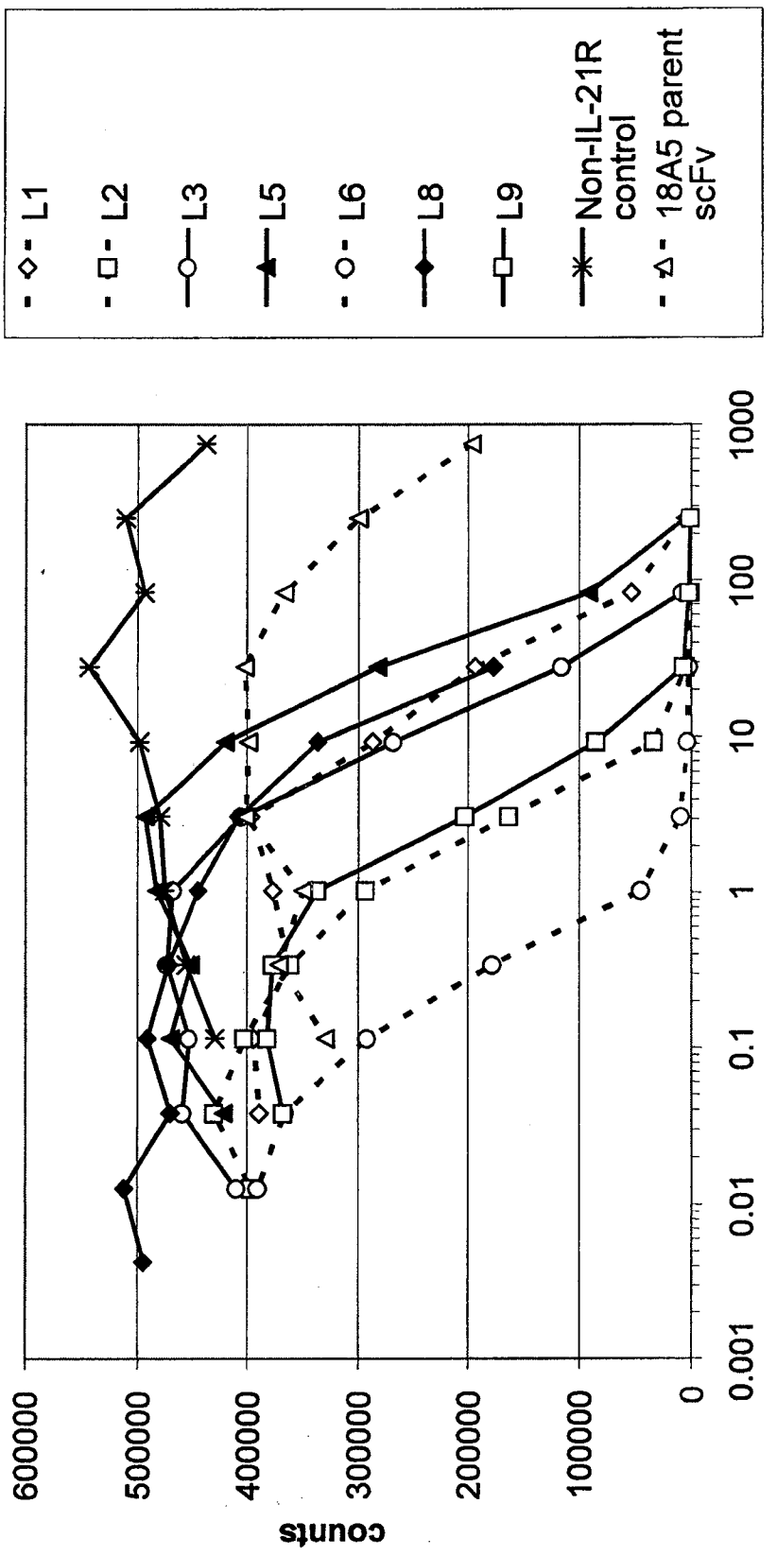

L1
L2
L3
L5
L6
L8
L9
Non-IL-21R control
18A5 parent scFv
counts
600000
500000
400000
300000
200000
100000
0
0.001
0.01
0.1
1
10
100
1000
nM scFv

Figure 3a

Figure 3b

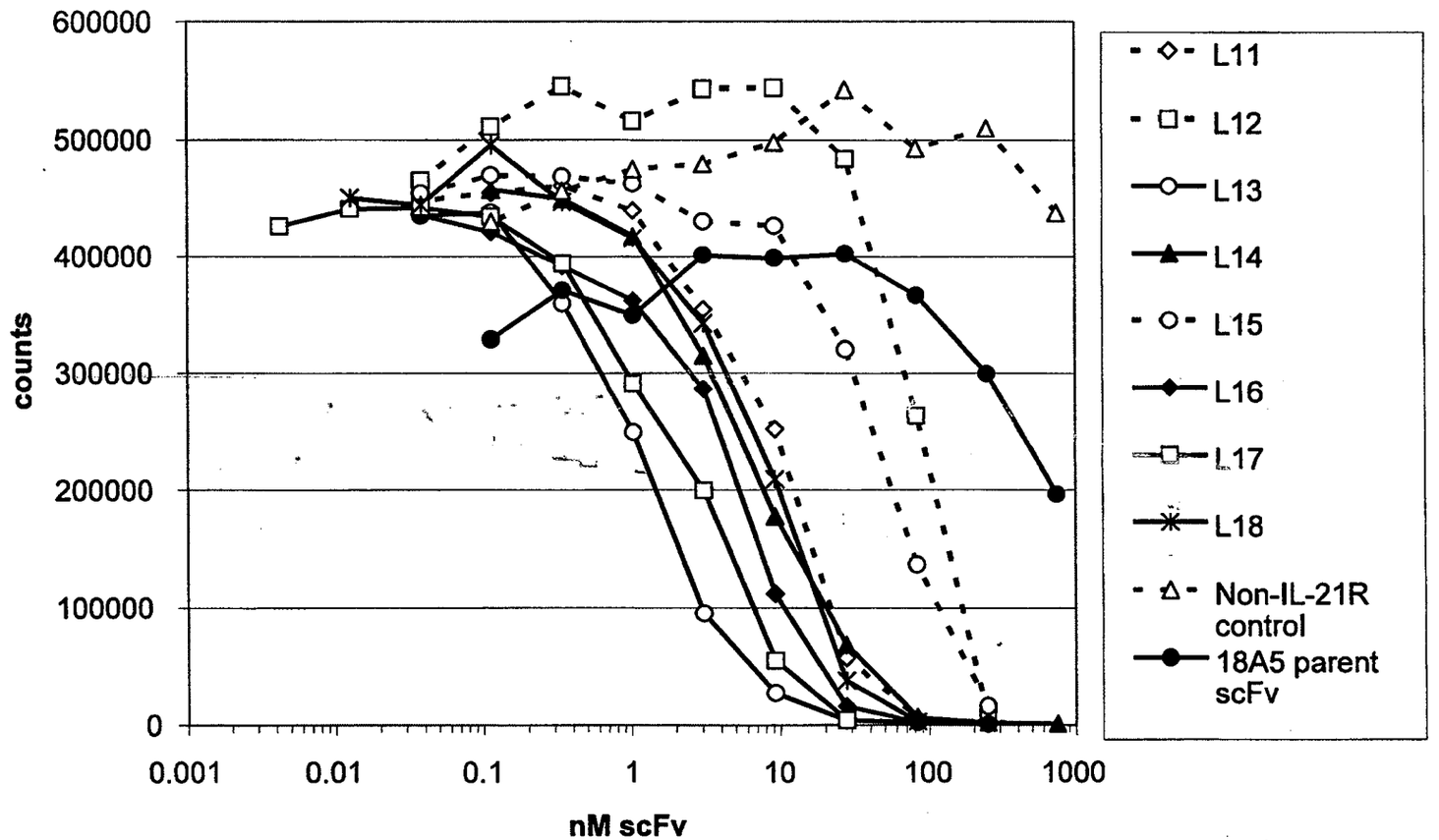

600000
500000
400000
300000
200000
100000
0
counts
0.001
0.01
0.1
1
10
100
1000
nM scFv
L11
L12
L13
L14
L15
L16
L17
L18
Non-IL-21R control
18A5 parent scFv

Figure 3c

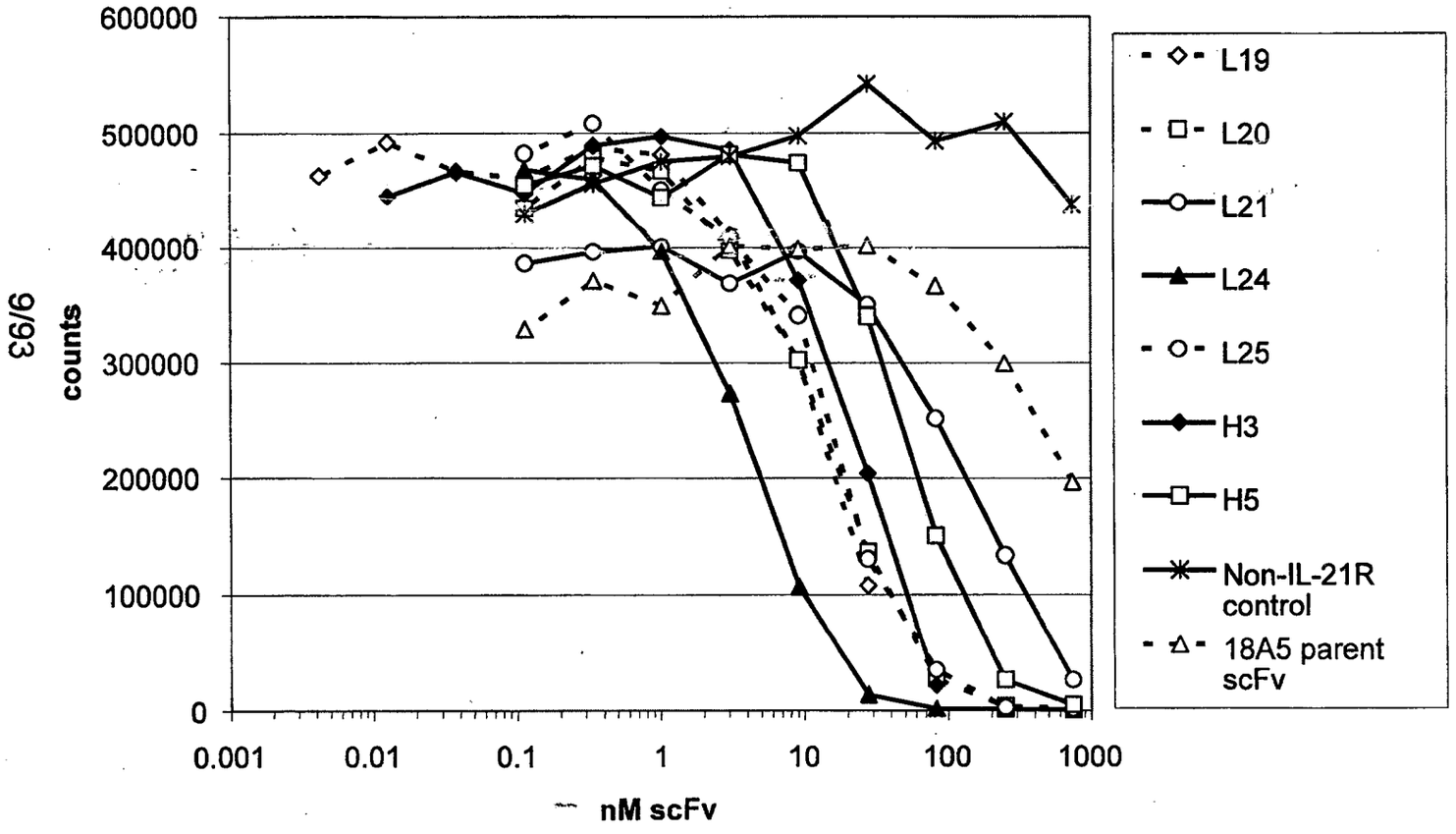

600000
500000
400000
300000
200000
100000
0
counts
0.001
0.01
0.1
1
10
100
1000
nM scFv
L19
L20
L21
L24
L25
H3
H5
Non-IL-21R control
18A5 parent scFv

Figure 4a

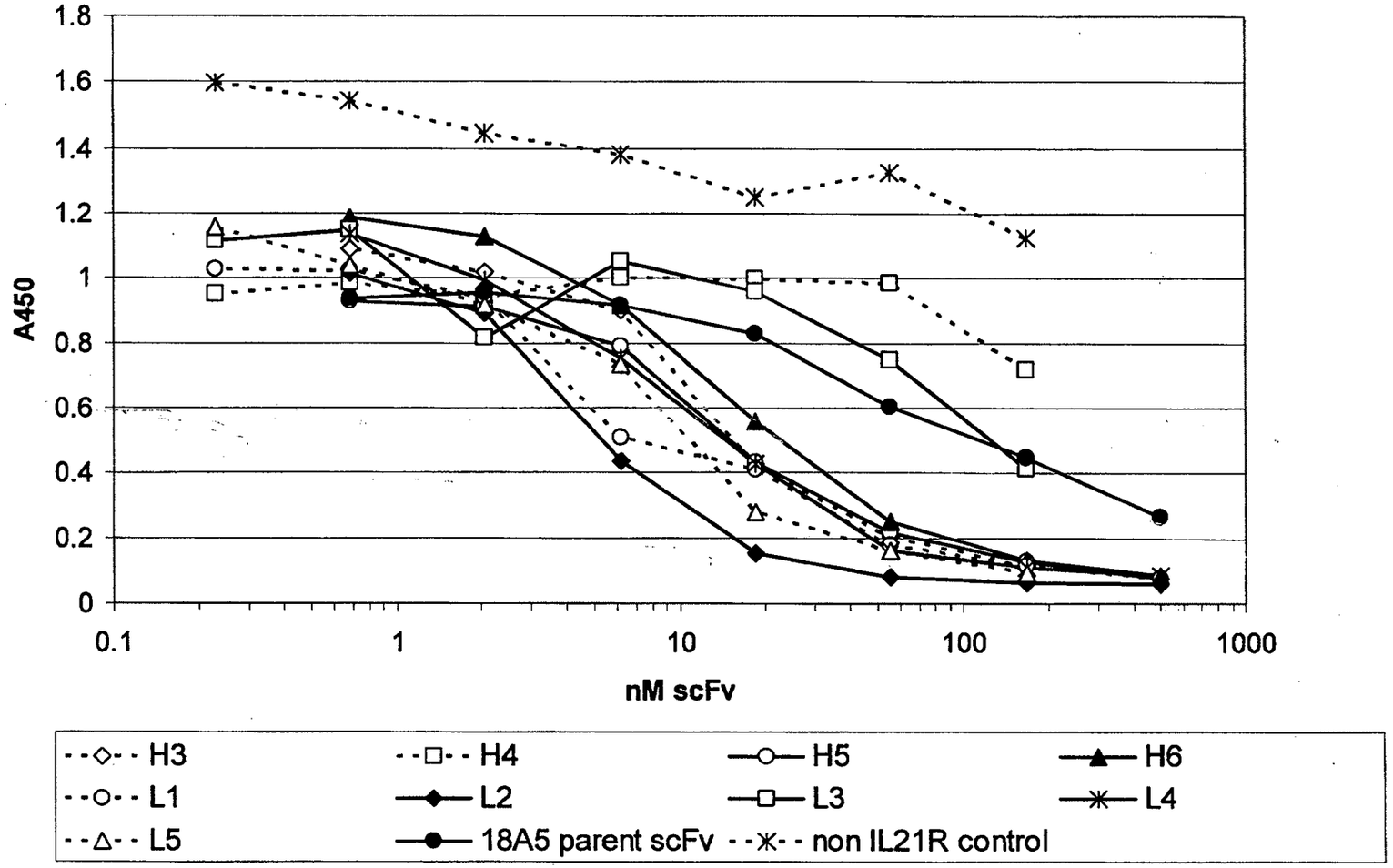

1.8
1.6
1.4
1.2
1
0.8
0.6
0.4
0.2
0
A450
0.1
1
10
100
1000
nM scFv
H3
H4
H5
H6
L1
L2
L3
L4
L5
18A5 parent scFv
non IL21R control

Figure 4b

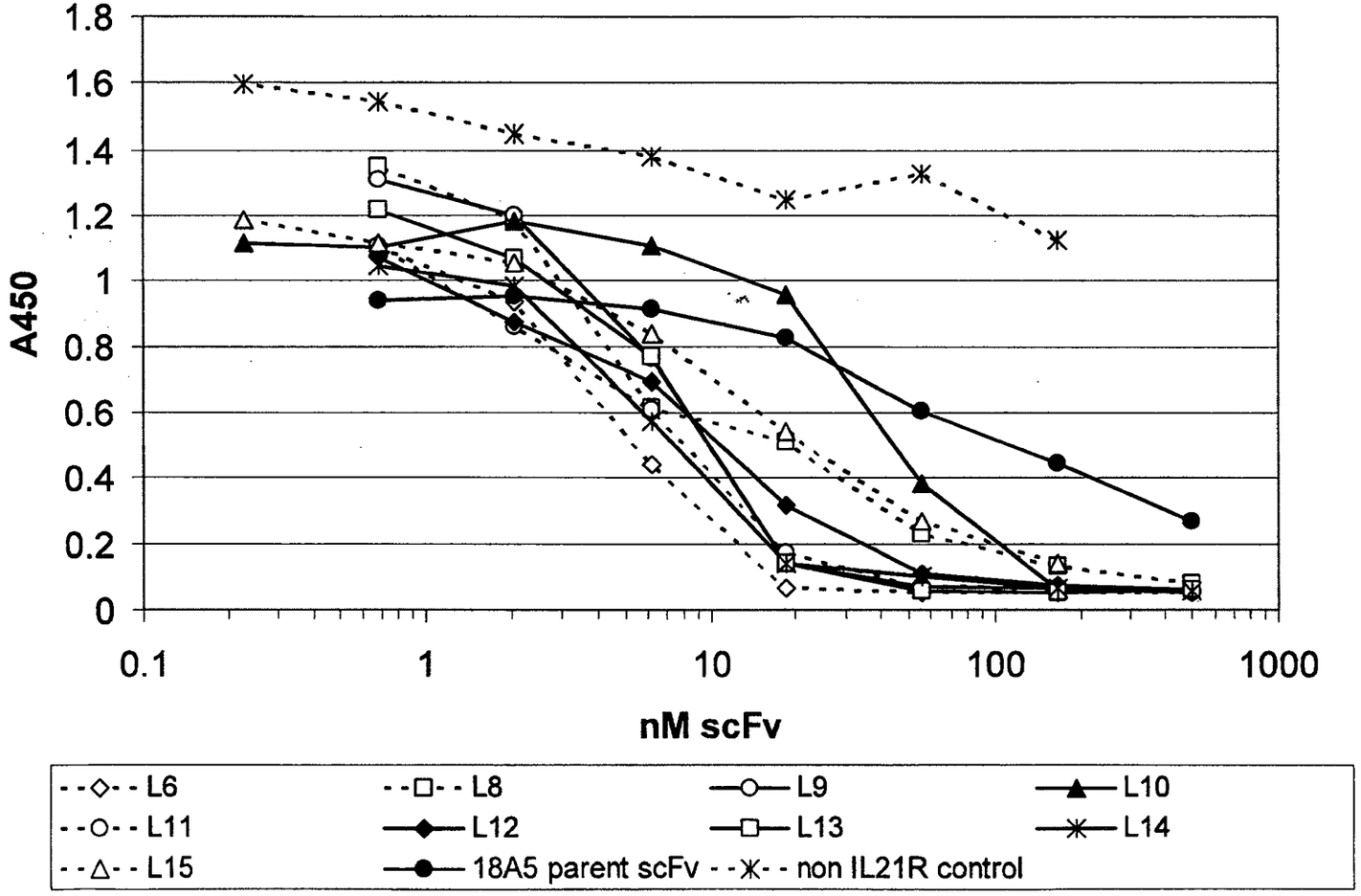

1.8
1.6
1.4
1.2
1
0.8
0.6
0.4
0.2
0
A450
0.1
1
10
100
1000
nM scFv
L6
L8
L9
L10
L11
L12
L13
L14
L15
18A5 parent scFv
non IL21R control

Figure 4c

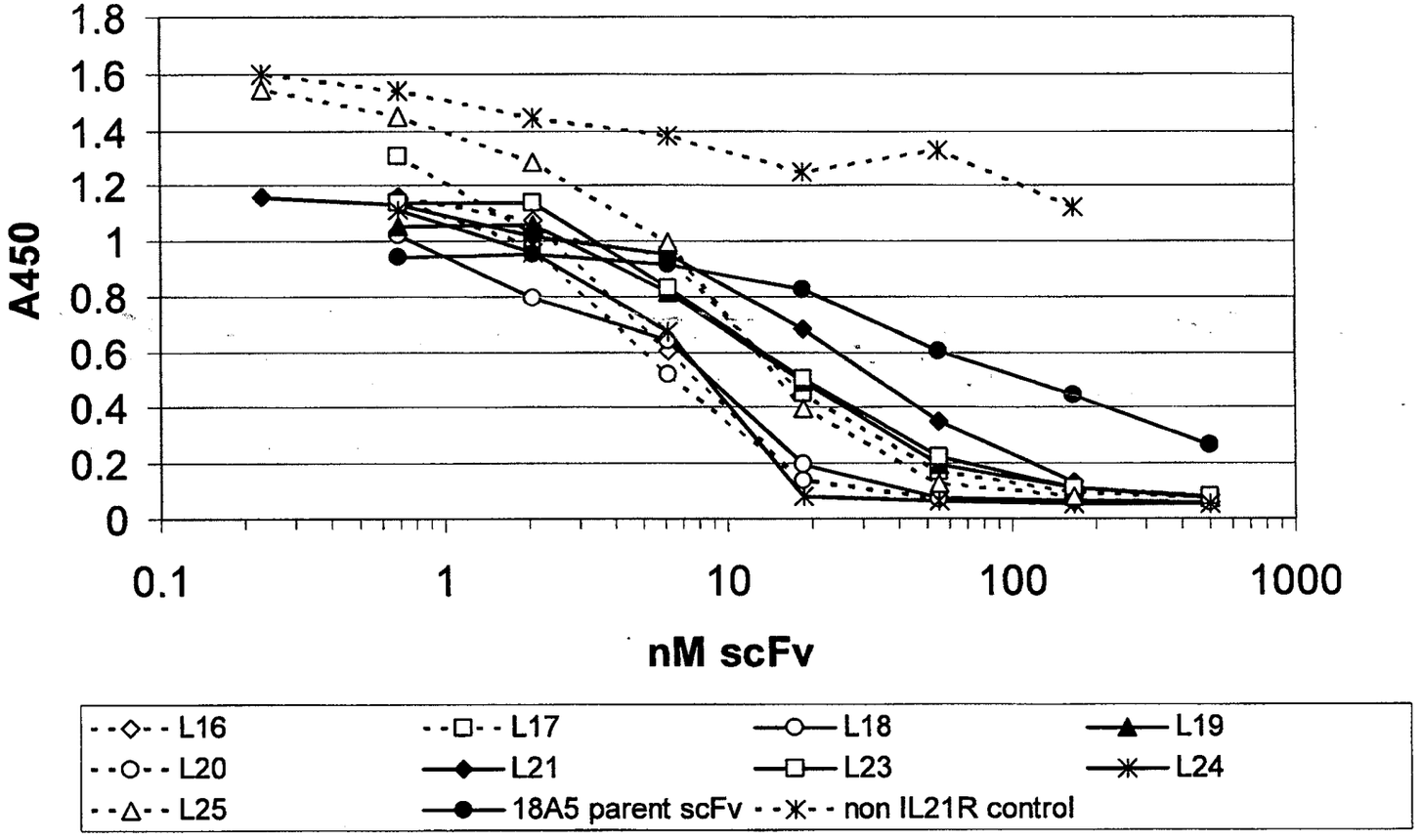

1.8
1.6
1.4
1.2
1
0.8
0.6
0.4
0.2
0
A450
0.1
1
10
100
1000
nM scFv
L16
L17
L18
L19
L20
L21
L23
L24
L25
18A5 parent scFv
non IL21R control

Figure 5a

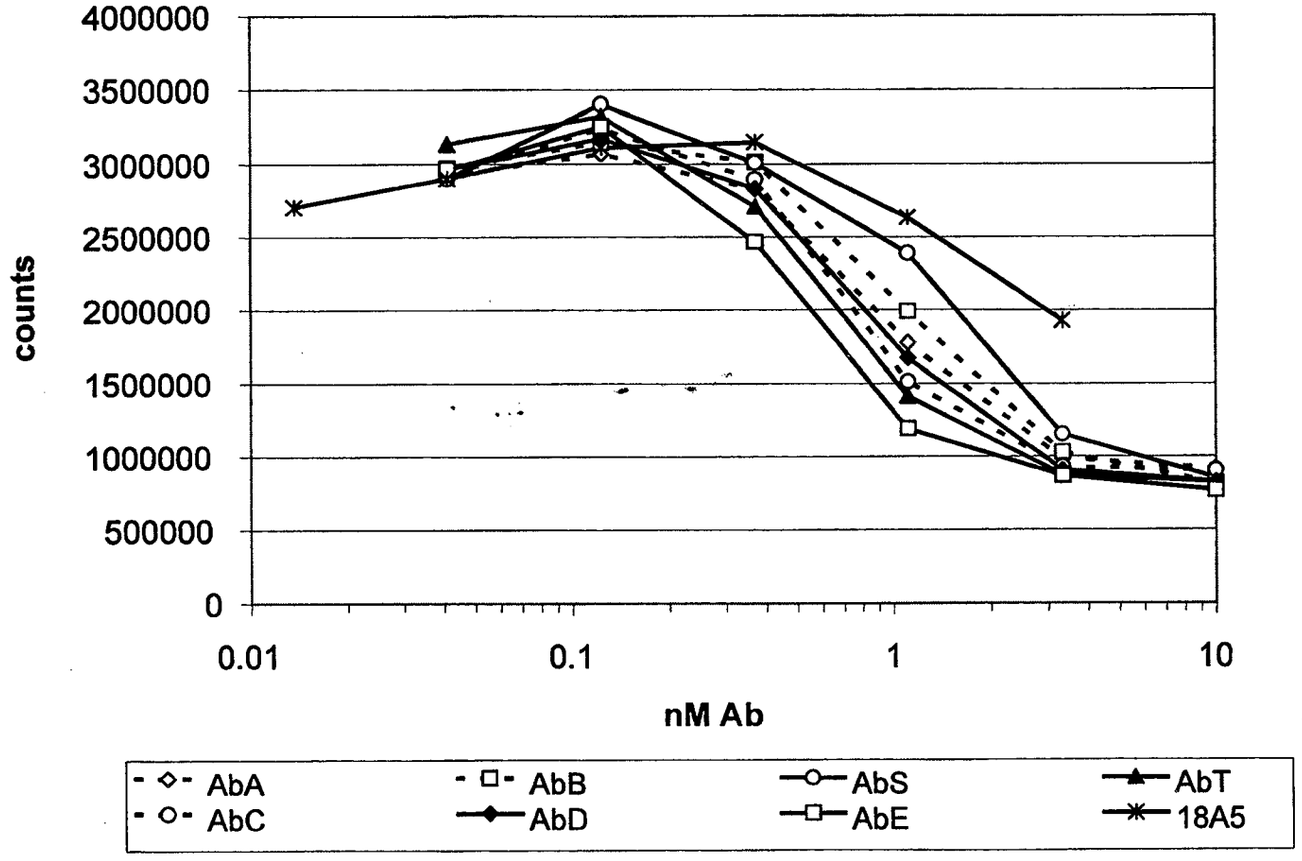

4000000
3500000
3000000
2500000
2000000
1500000
1000000
500000
0
counts
0.01
0.1
1
10
nM Ab
AbA
AbB
AbS
AbT
AbC
AbD
AbE
18A5

Figure 5b

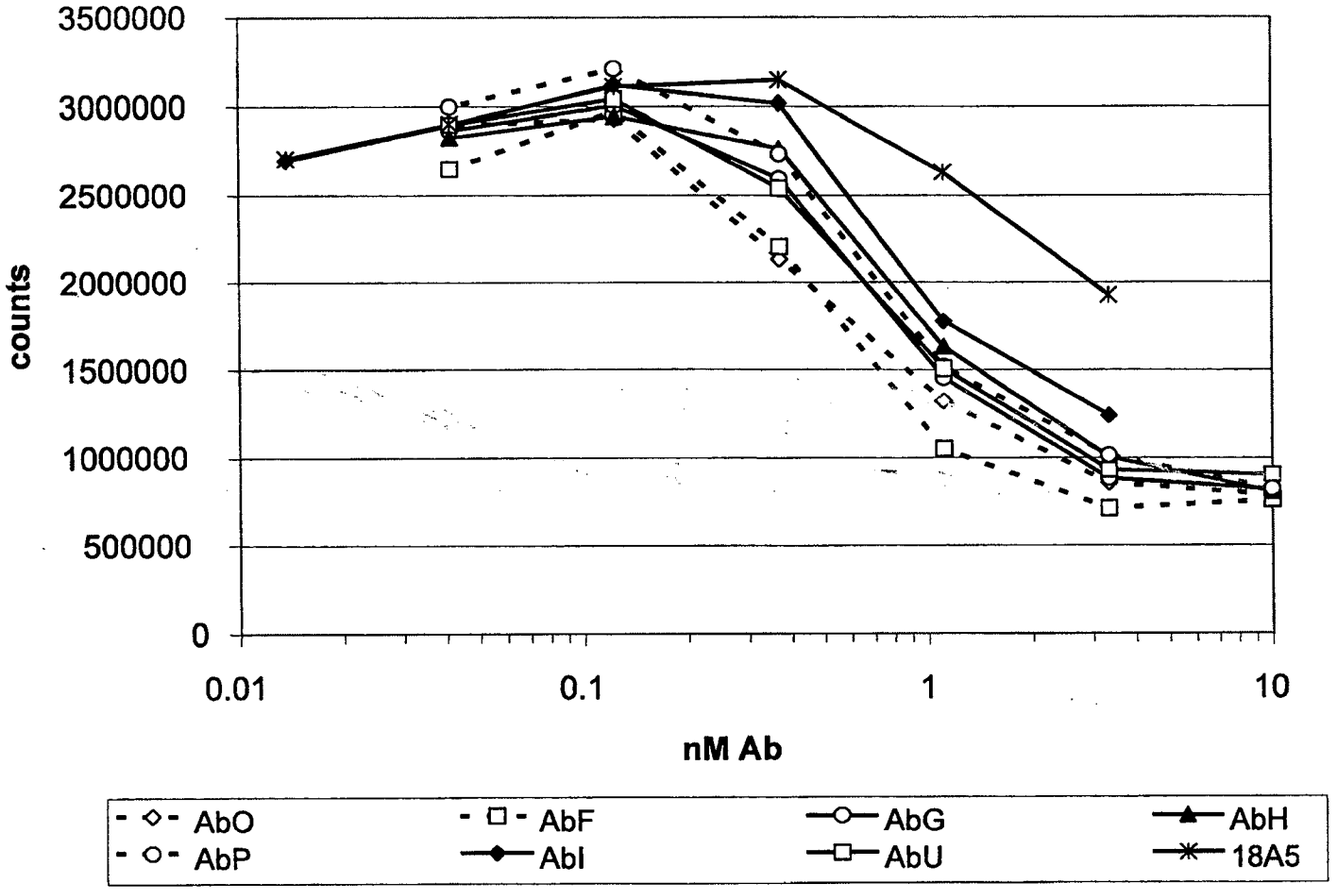
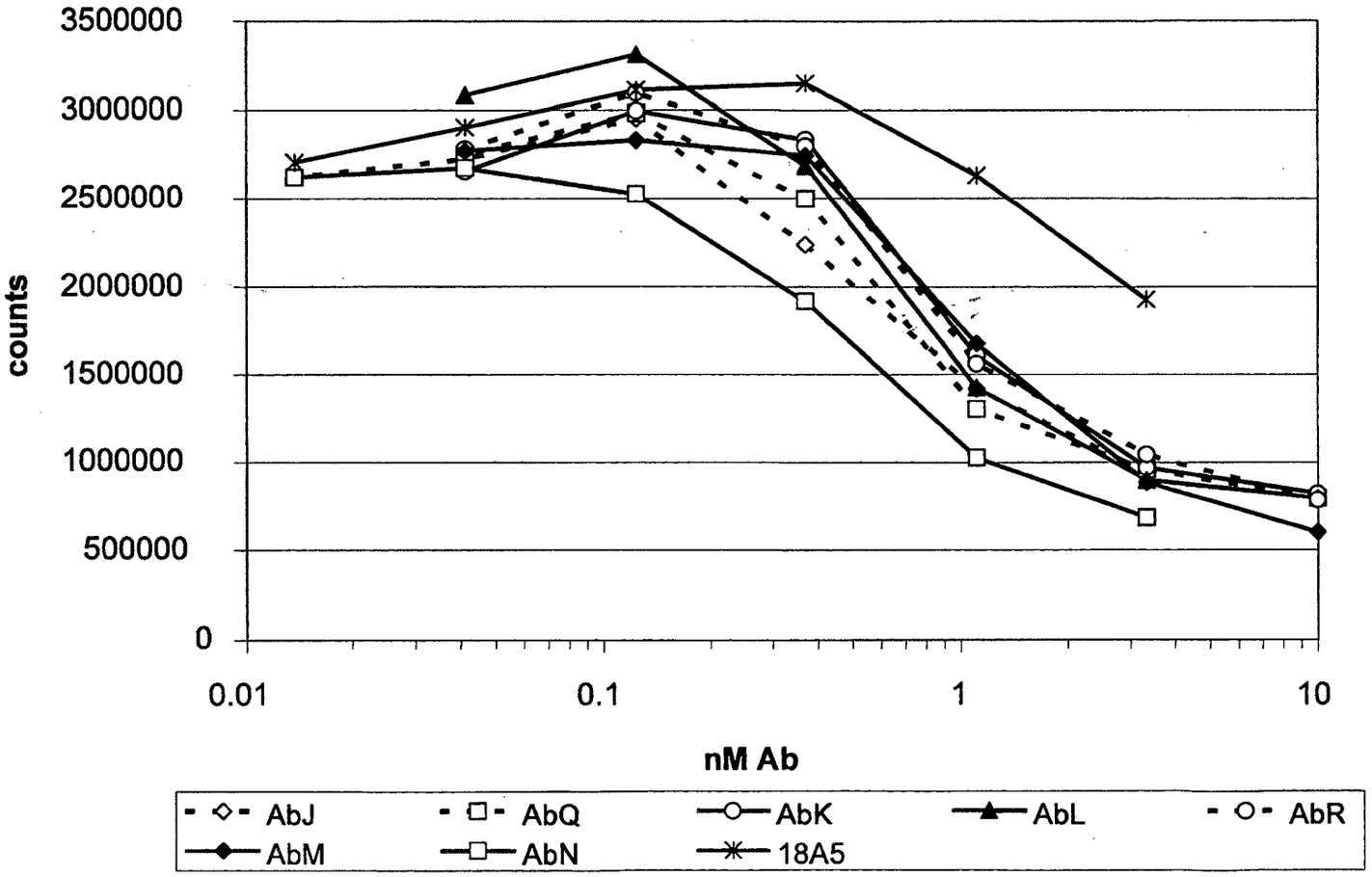

3500000
3000000
2500000
2000000
1500000
1000000
500000
0
counts
0.01
0.1
1
10
nM Ab
AbO
AbP
AbF
AbI
AbG
AbU
AbH
18A5

Figure 5c


3500000
3000000
2500000
2000000
1500000
1000000
500000
0
counts
0.01
0.1
1
10
nM Ab
AbJ
AbQ
AbK
AbL
AbR
AbM
AbN
18A5

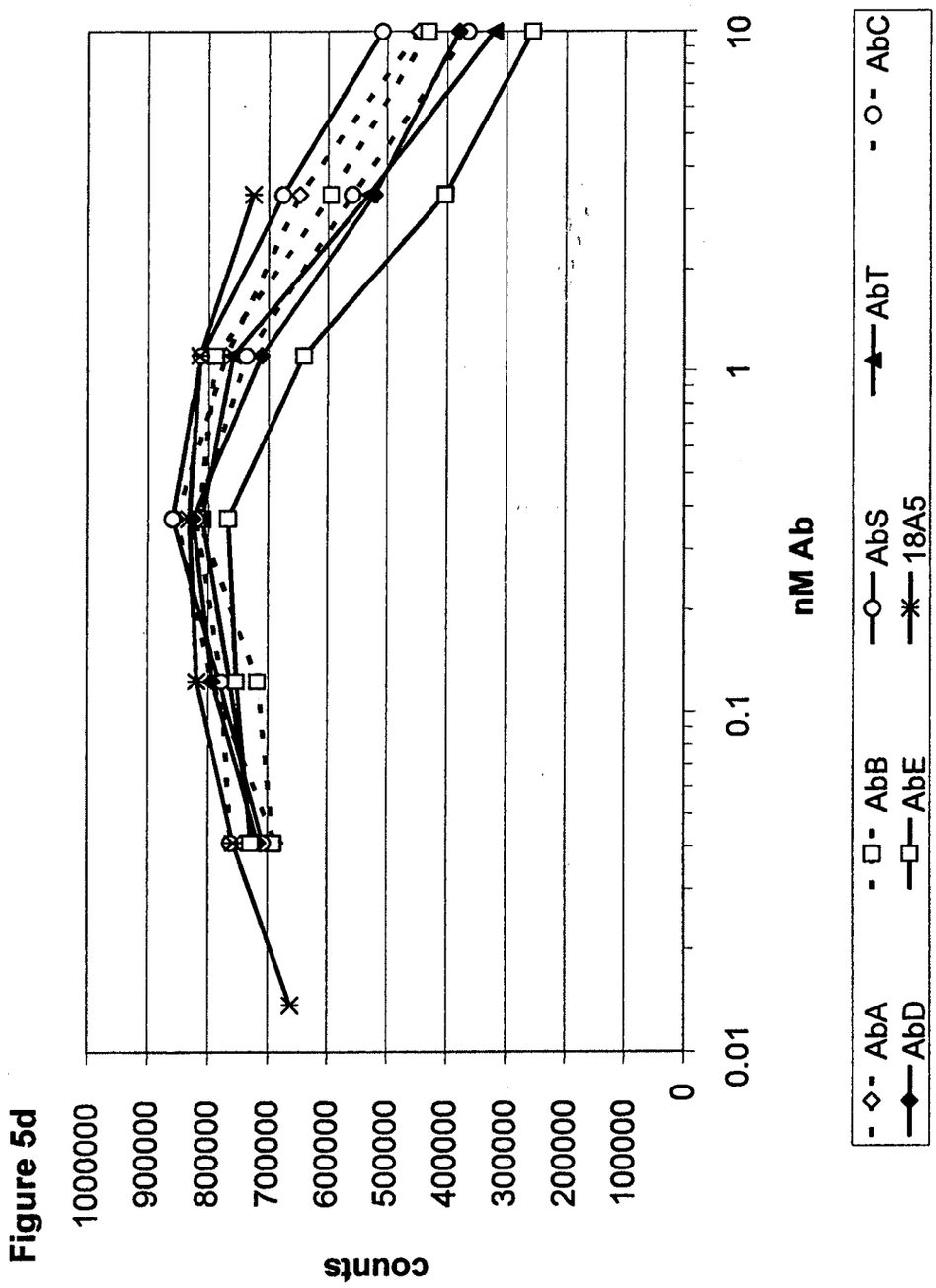

counts
1000000
900000
800000
700000
600000
500000
400000
300000
200000
100000
0
0.01
0.1
1
10
nM Ab
AbA
AbB
AbC
AbD
AbE
AbS
AbT
18A5

Figure 5d

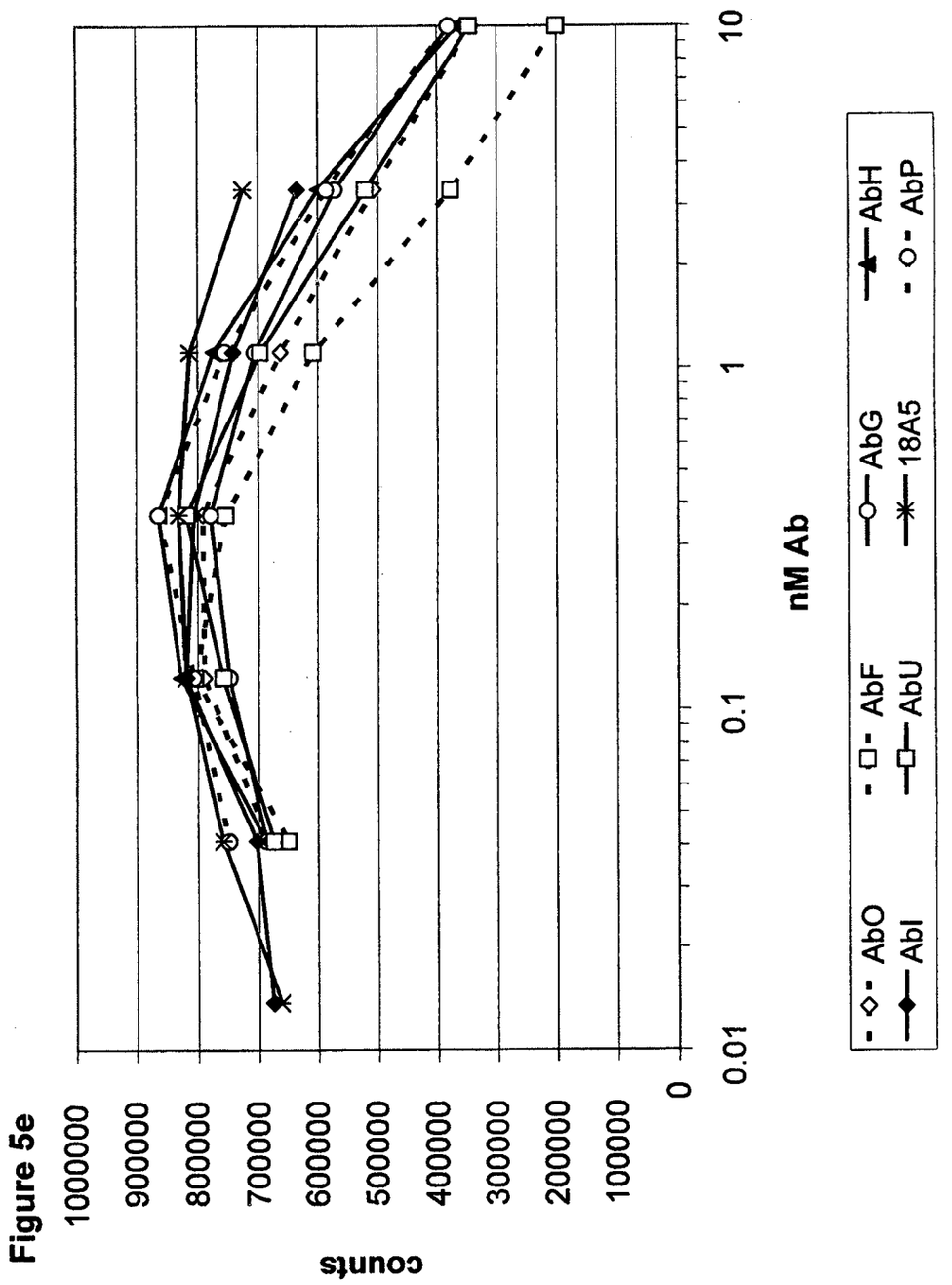

counts
1000000
900000
800000
700000
600000
500000
400000
300000
200000
100000
0
0.01
0.1
1
10
nM Ab
AbO
AbF
AbG
AbH
AbI
AbU
18A5
AbP

Figure 5e

Figure 5f

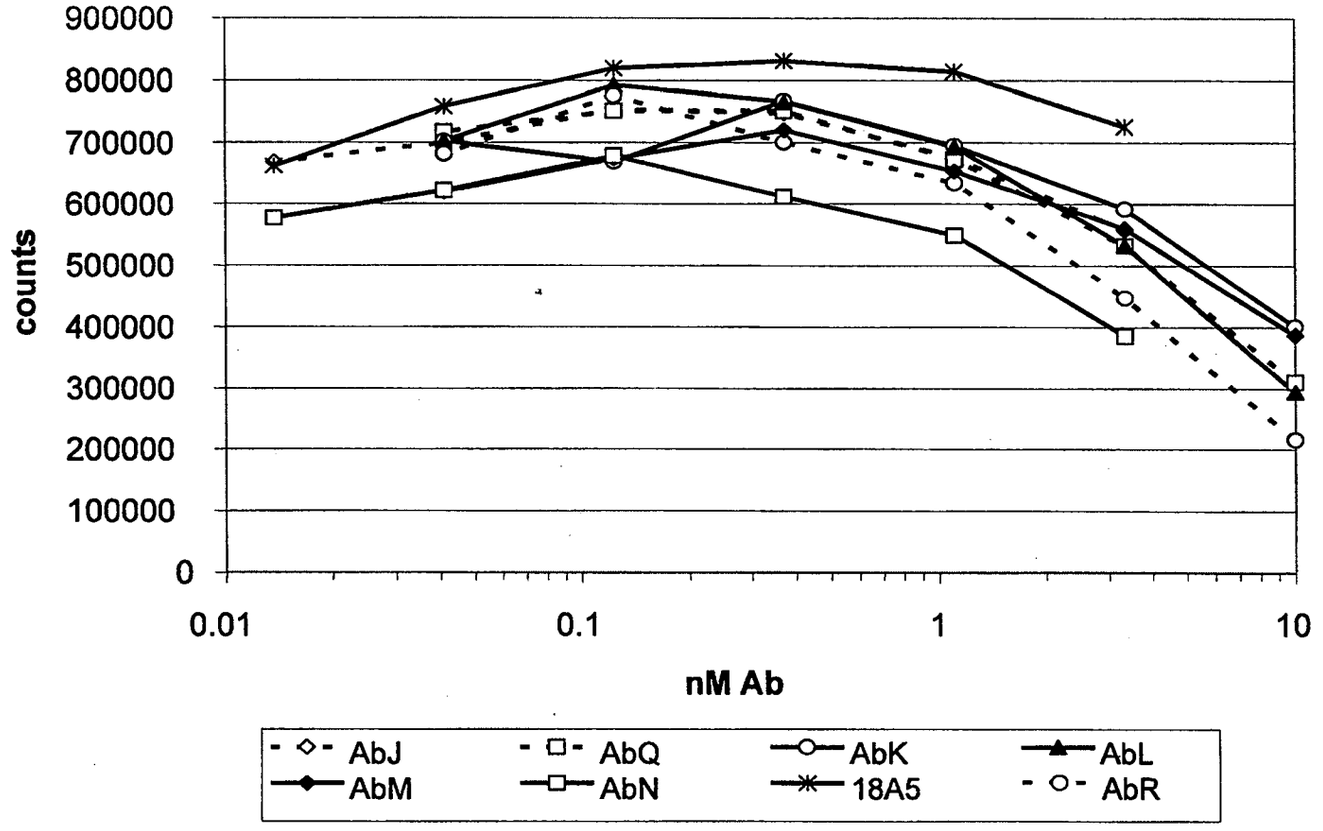

900000
800000
700000
600000
500000
400000
300000
200000
100000
0
counts
0.01
0.1
1
10
nM Ab
AbJ
AbQ
AbK
AbL
AbM
AbN
18A5
AbR

Figure 5g

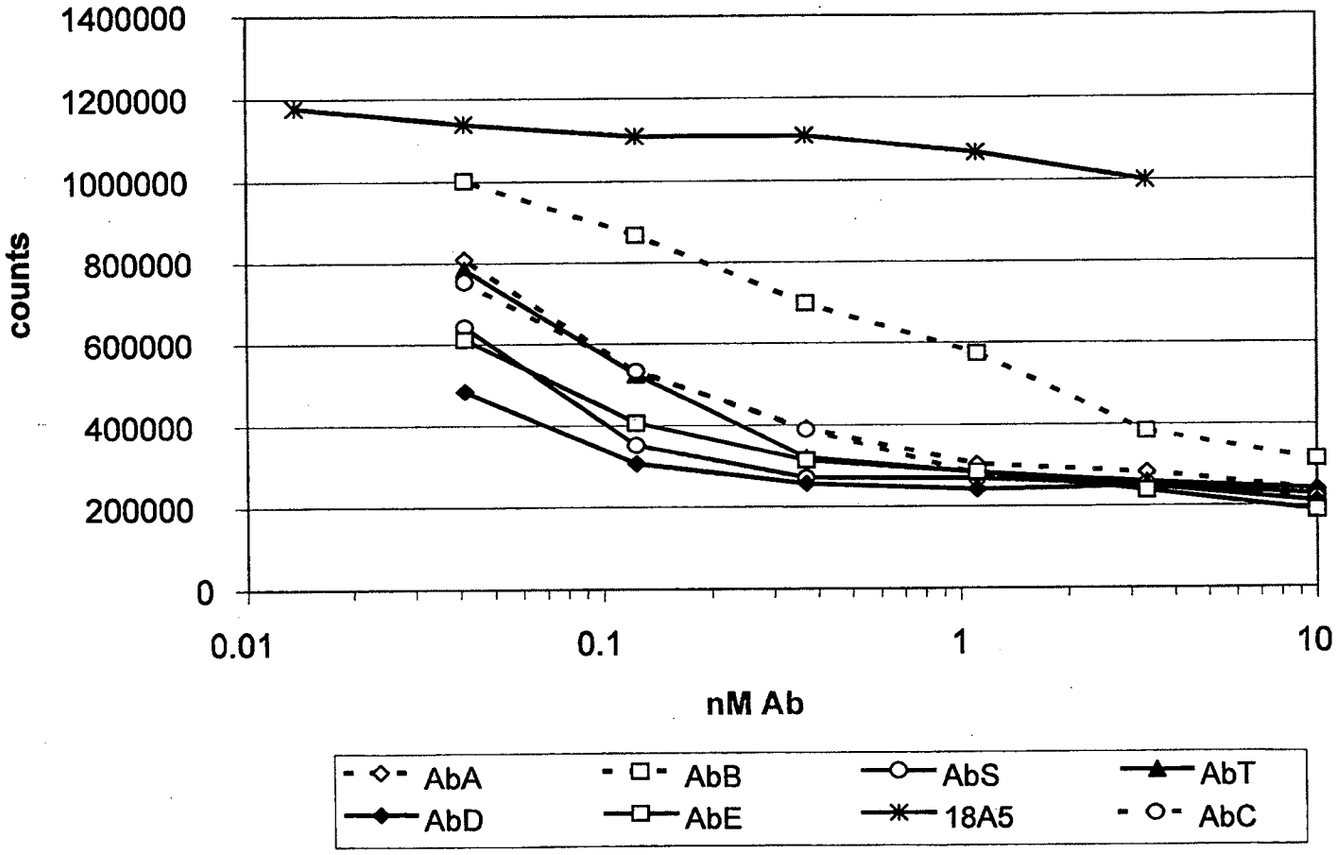

1400000
1200000
1000000
800000
600000
400000
200000
0
counts
0.01
0.1
1
10
nM Ab
AbA
AbB
AbS
AbT
AbD
AbE
18A5
AbC

Figure 5h

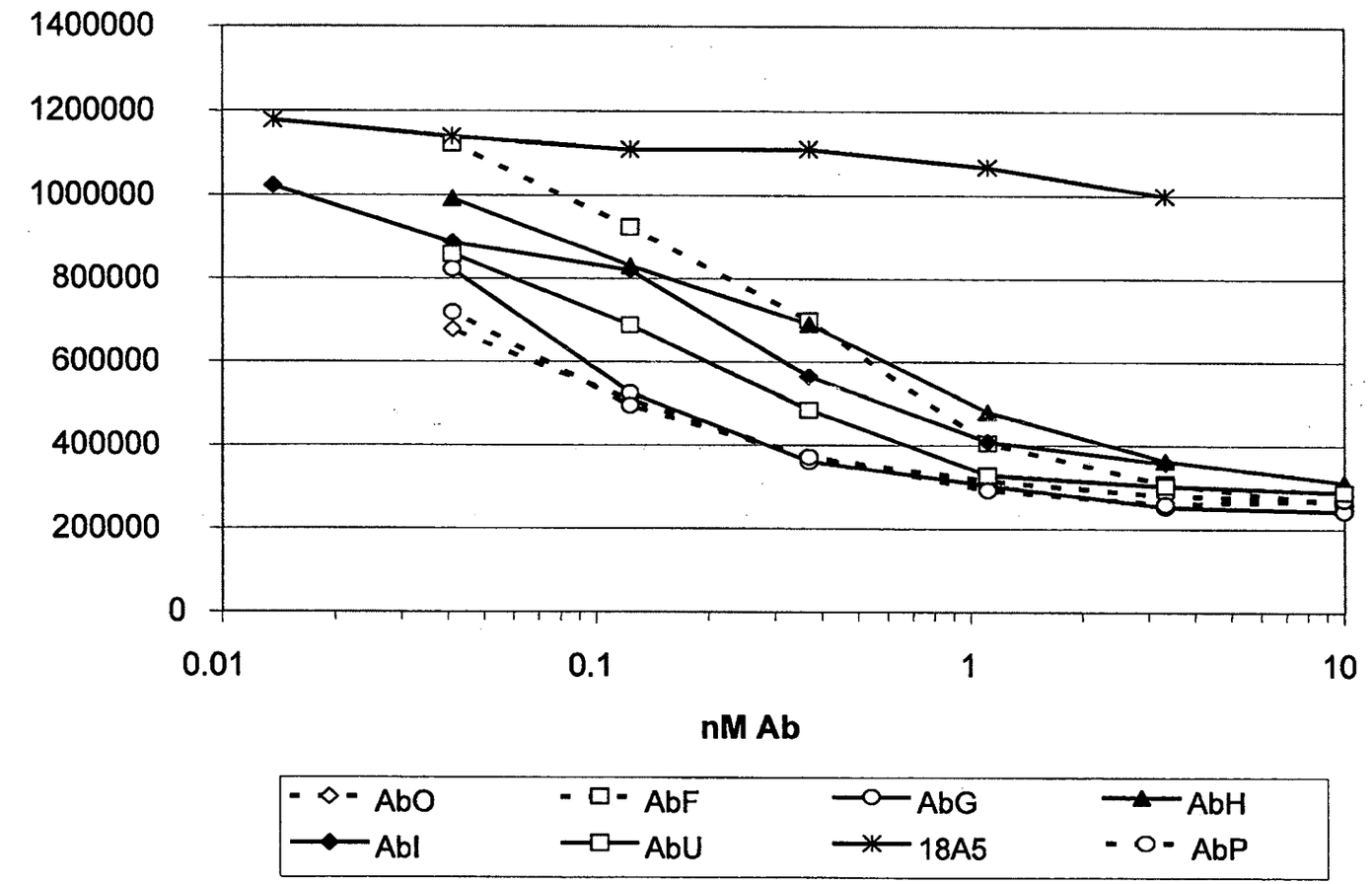

1400000
1200000
1000000
800000
600000
400000
200000
0
counts
0.01
0.1
1
10
nM Ab
AbO
AbF
AbG
AbH
AbI
AbU
18A5
AbP

Figure 5i

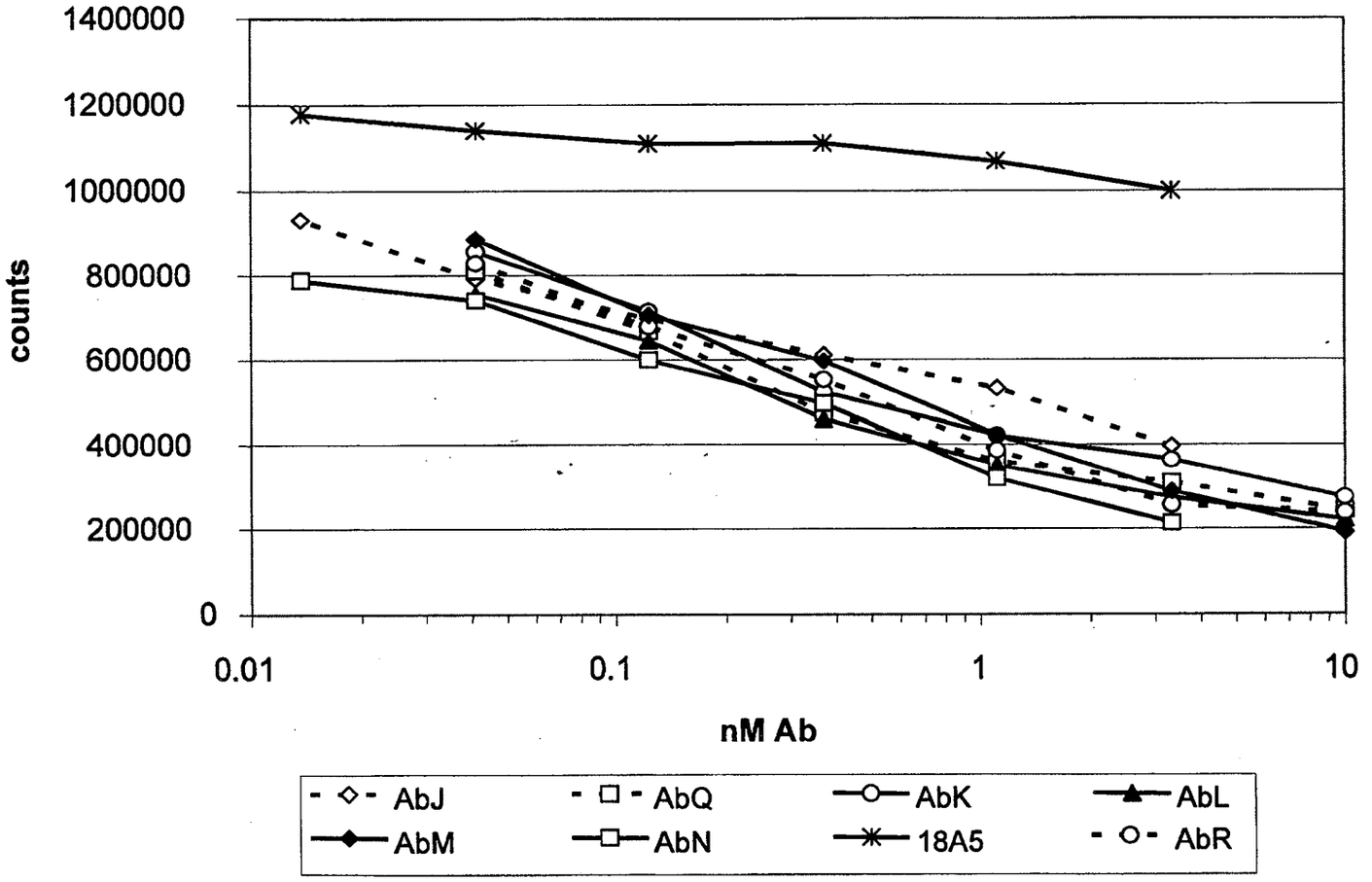

1400000
1200000
1000000
800000
600000
400000
200000
0
counts
0.01
0.1
1
10
nM Ab
AbJ
AbQ
AbK
AbL
AbM
AbN
18A5
AbR

Figure 6a

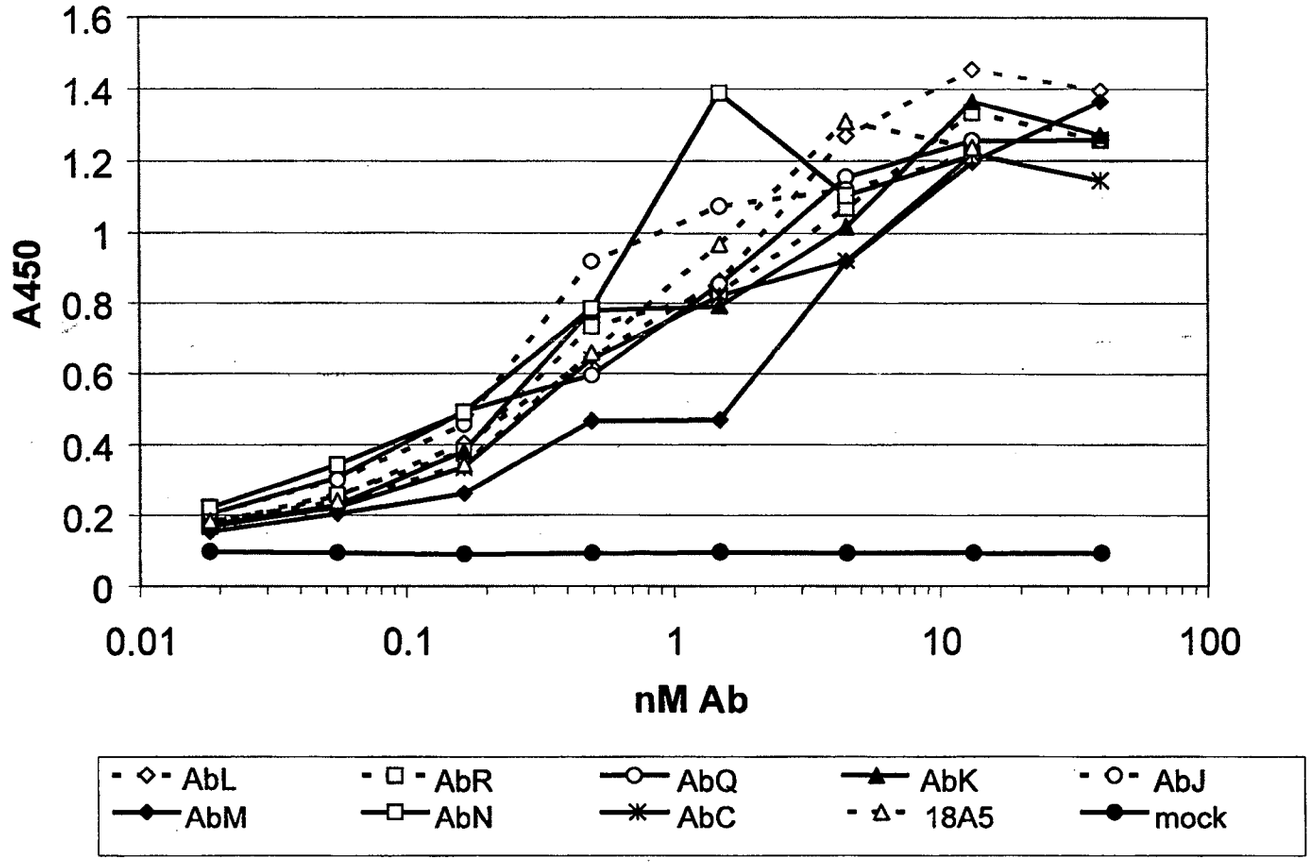

1.6
1.4
1.2
1
0.8
0.6
0.4
0.2
0
A450
0.01
0.1
1
10
100
nM Ab
AbL
AbR
AbQ
AbK
AbJ
AbM
AbN
AbC
18A5
mock

Figure 6b

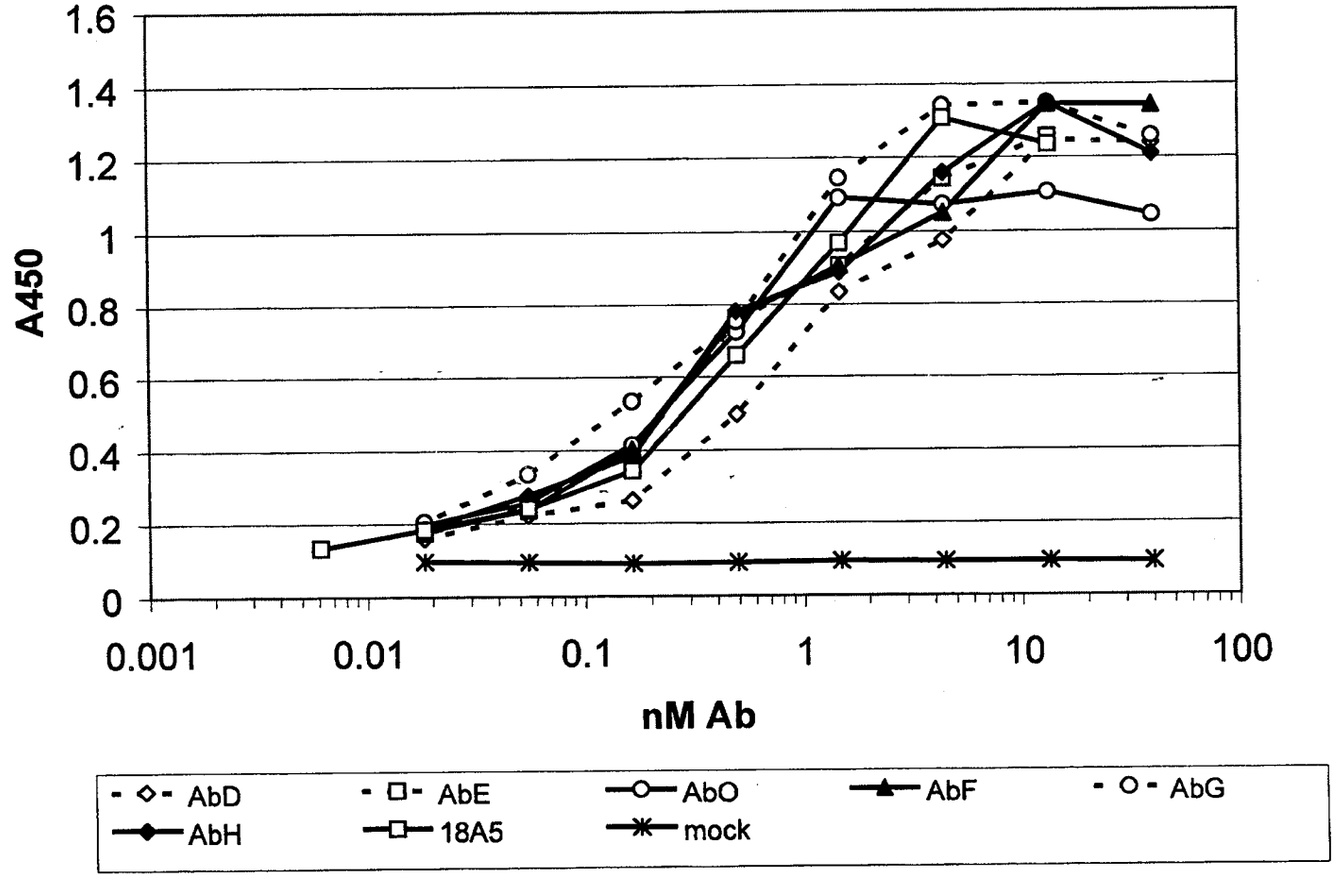

1.6
1.4
1.2
1
0.8
0.6
0.4
0.2
0
A450
0.001
0.01
0.1
1
10
100
nM Ab
AbD
AbE
AbO
AbF
AbG
AbH
18A5
mock

Figure 6c

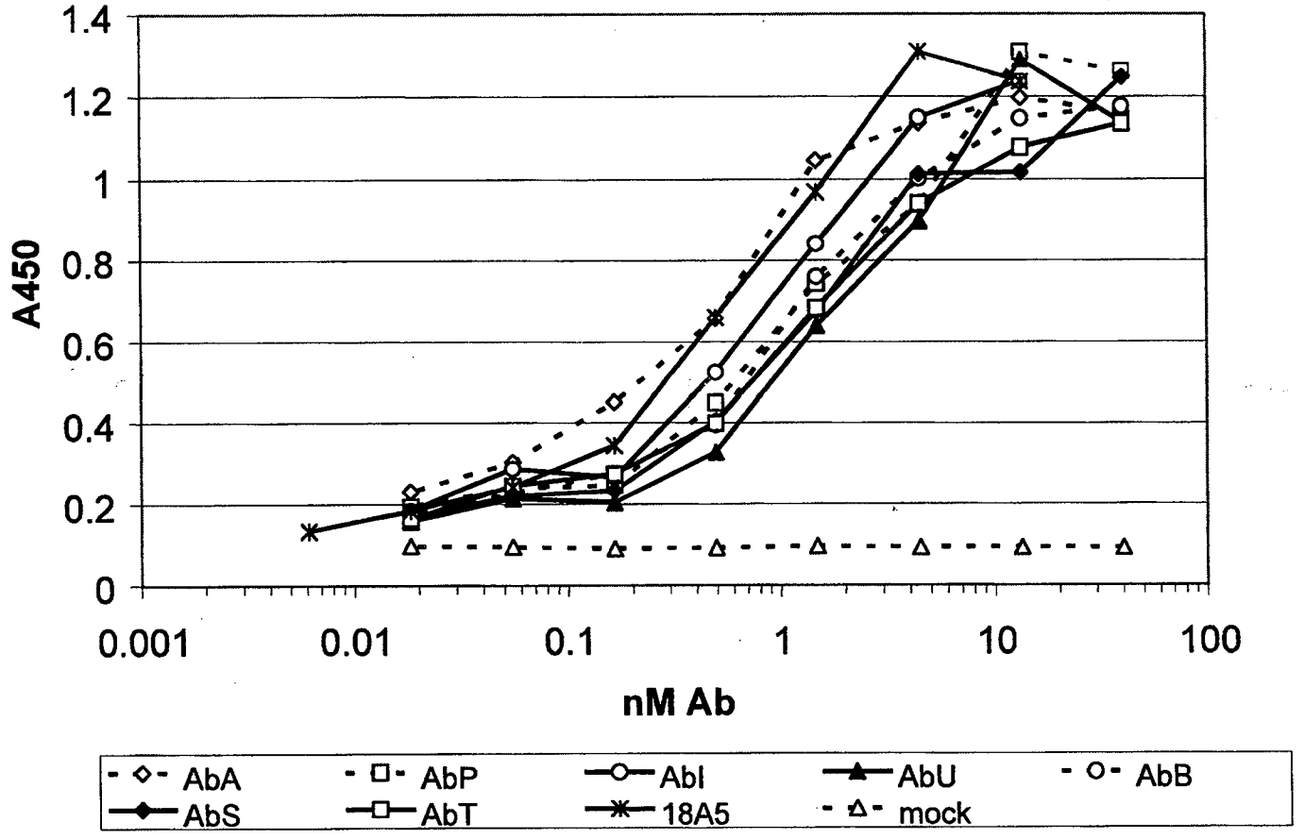

1.4
1.2
1
0.8
0.6
0.4
0.2
0
A450
0.001
0.01
0.1
1
10
100
nM Ab
AbA
AbP
AbI
AbU
AbB
AbS
AbT
18A5
mock

Figure 6d

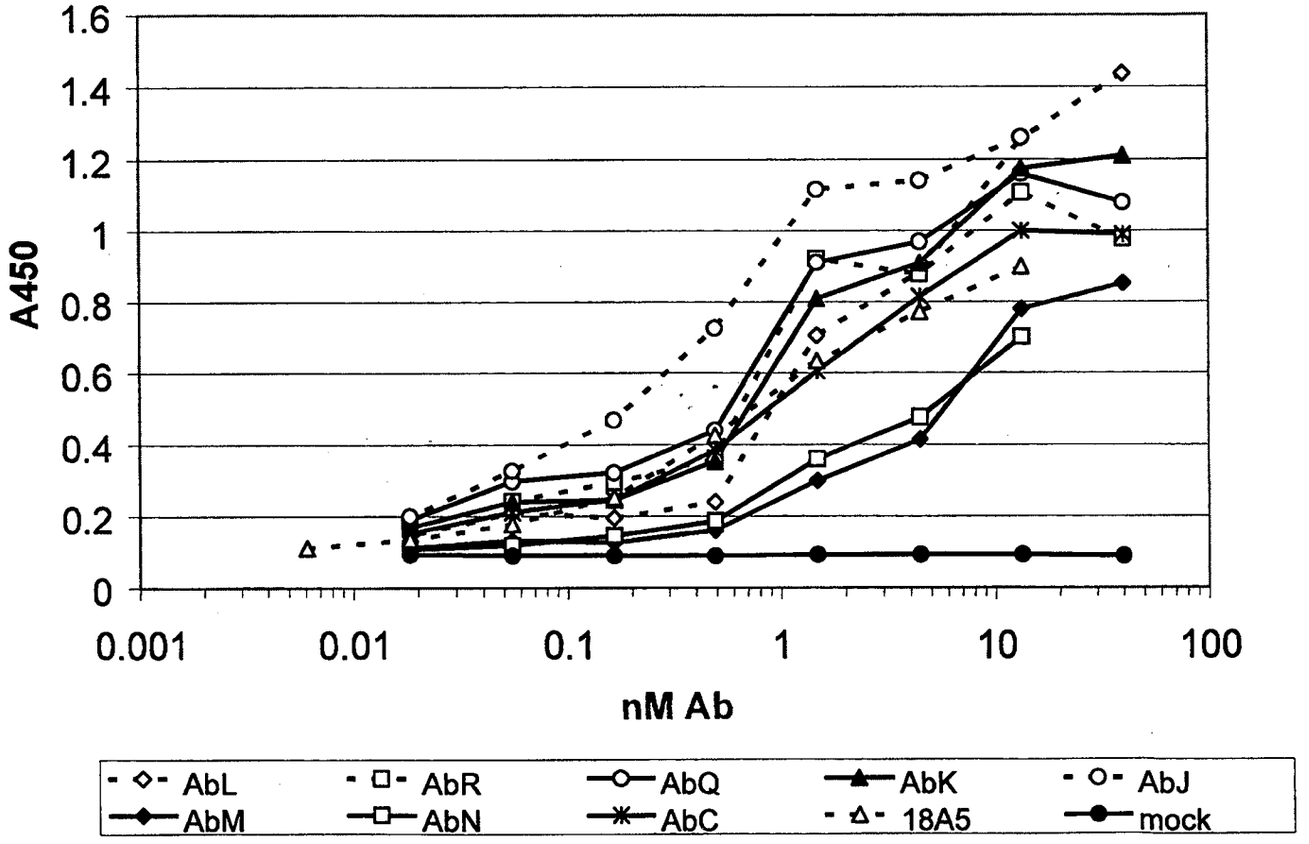

1.6
1.4
1.2
1
0.8
0.6
0.4
0.2
0
A450
0.001
0.01
0.1
1
10
100
nM Ab
AbL
AbR
AbQ
AbK
AbJ
AbM
AbN
AbC
18A5
mock

Figure 6e

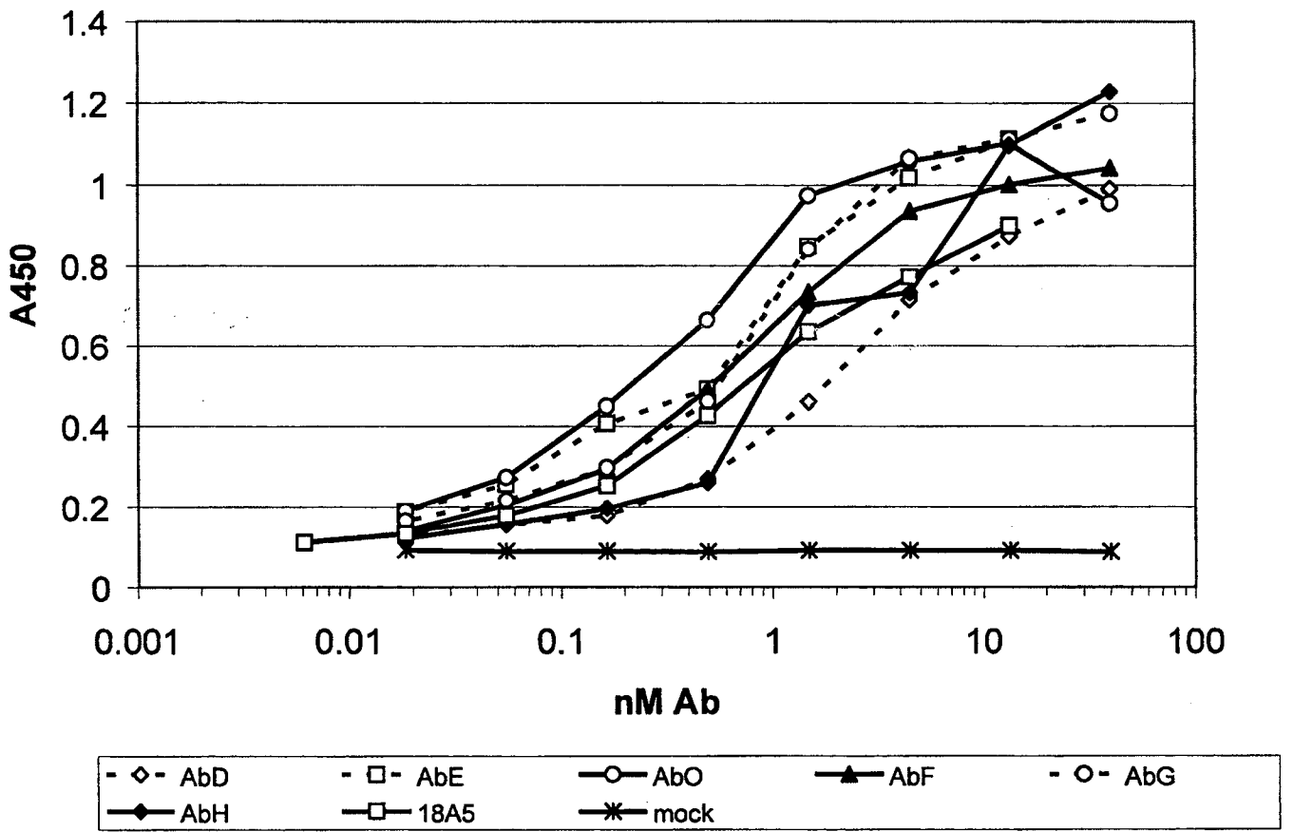

1.4
1.2
1
0.8
0.6
0.4
0.2
0
A450
0.001
0.01
0.1
1
10
100
nM Ab
AbD
AbE
AbO
AbF
AbG
AbH
18A5
mock

Figure 6f

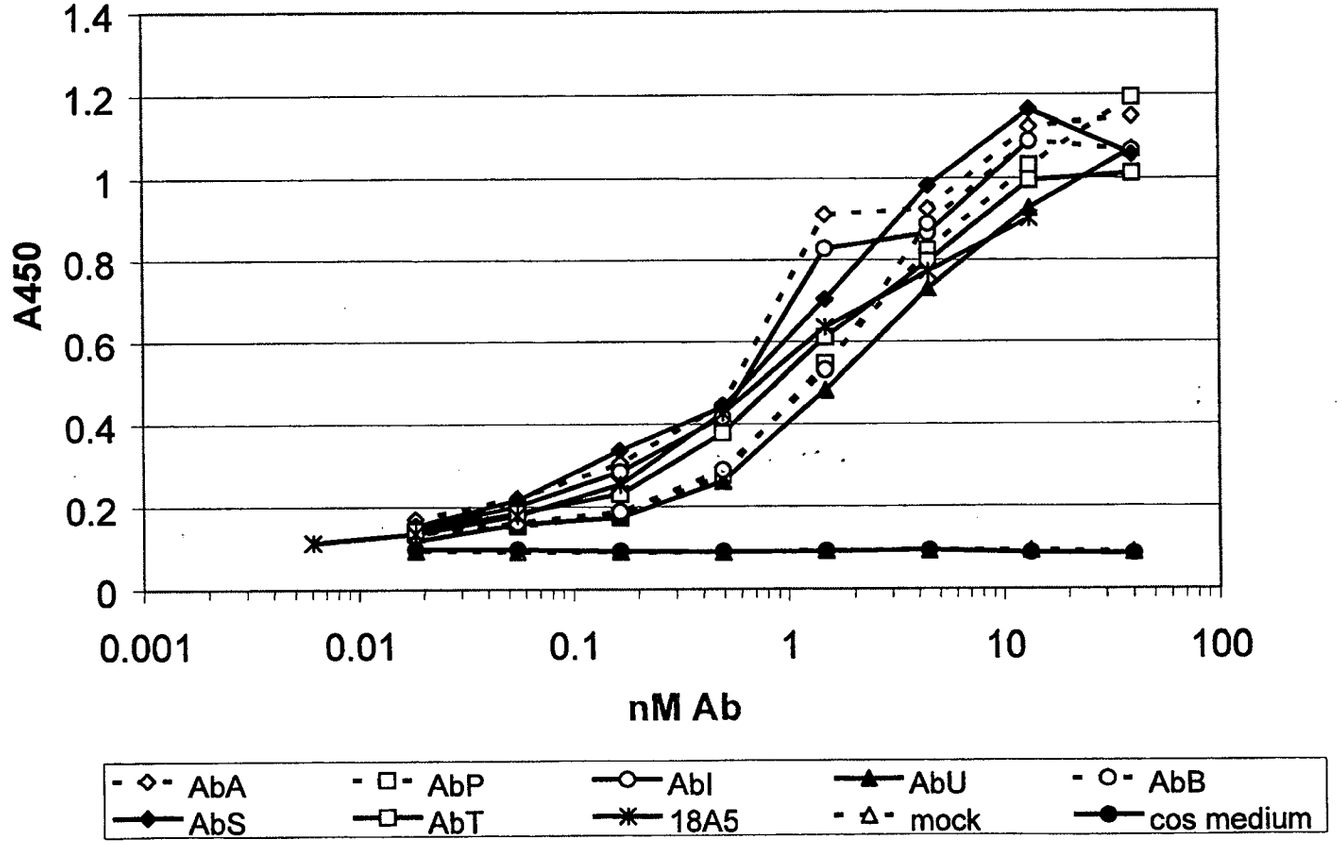

1.4
1.2
1
0.8
0.6
0.4
0.2
0
A450
0.001
0.01
0.1
1
10
100
nM Ab
AbA
AbP
AbI
AbU
AbB
AbS
AbT
18A5
mock
cos medium

Figure 6g

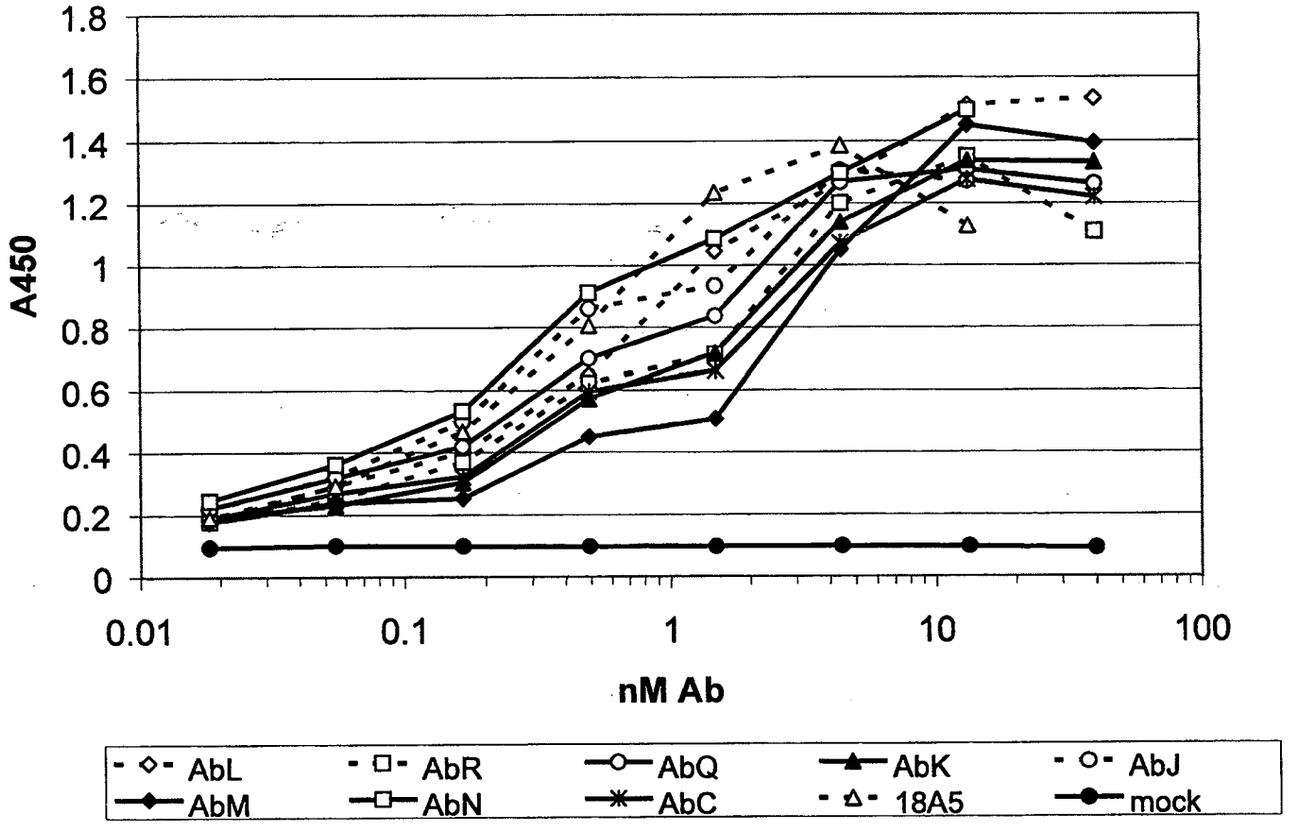

1.8
1.6
1.4
1.2
1
0.8
0.6
0.4
0.2
0
A450
0.01
0.1
1
10
100
nM Ab
AbL
AbR
AbQ
AbK
AbJ
AbM
AbN
AbC
18A5
mock

Figure 6h

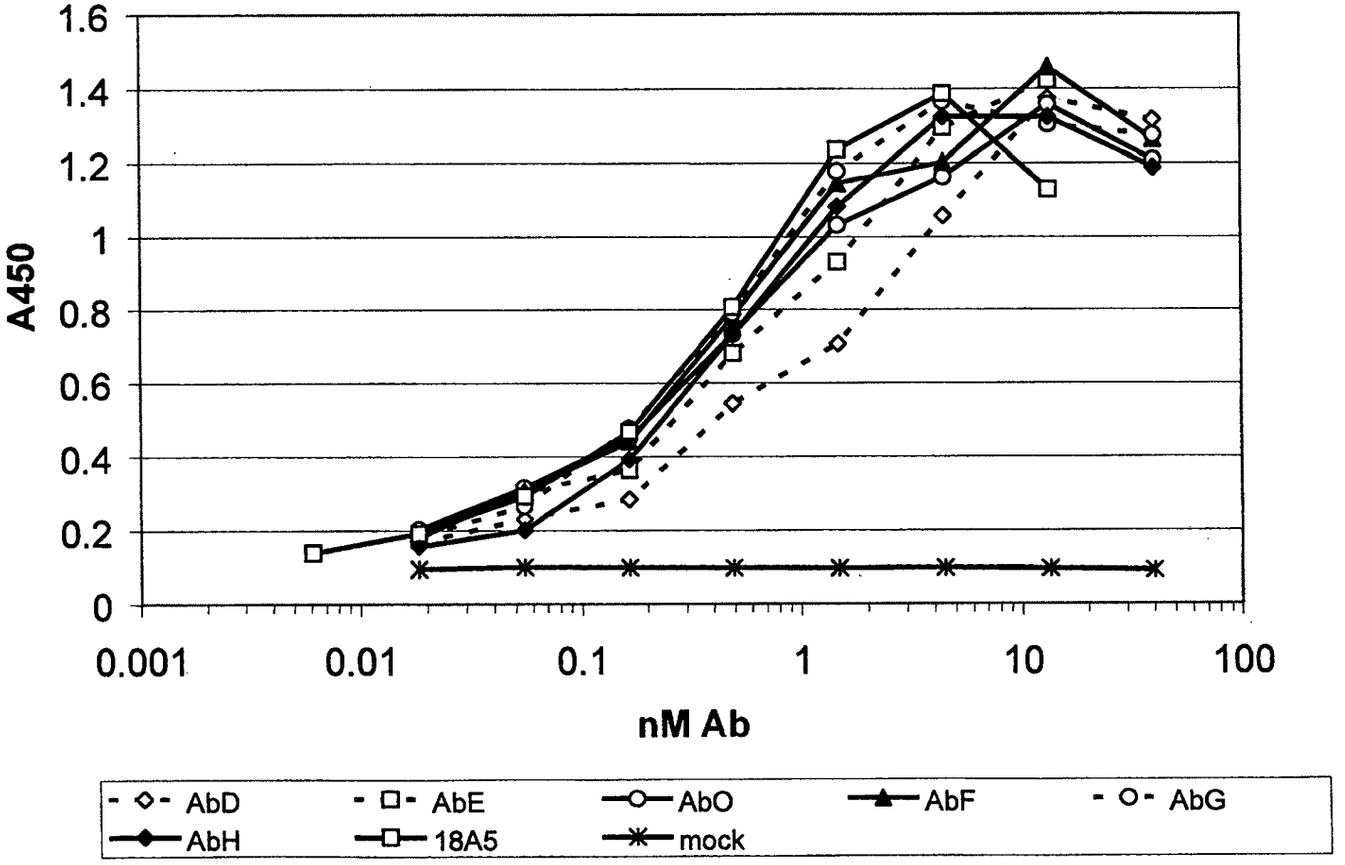

1.6
1.4
1.2
1
0.8
0.6
0.4
0.2
0
A450
0.001
0.01
0.1
1
10
100
nM Ab
AbD
AbE
AbO
AbF
AbG
AbH
18A5
mock

Figure 6i

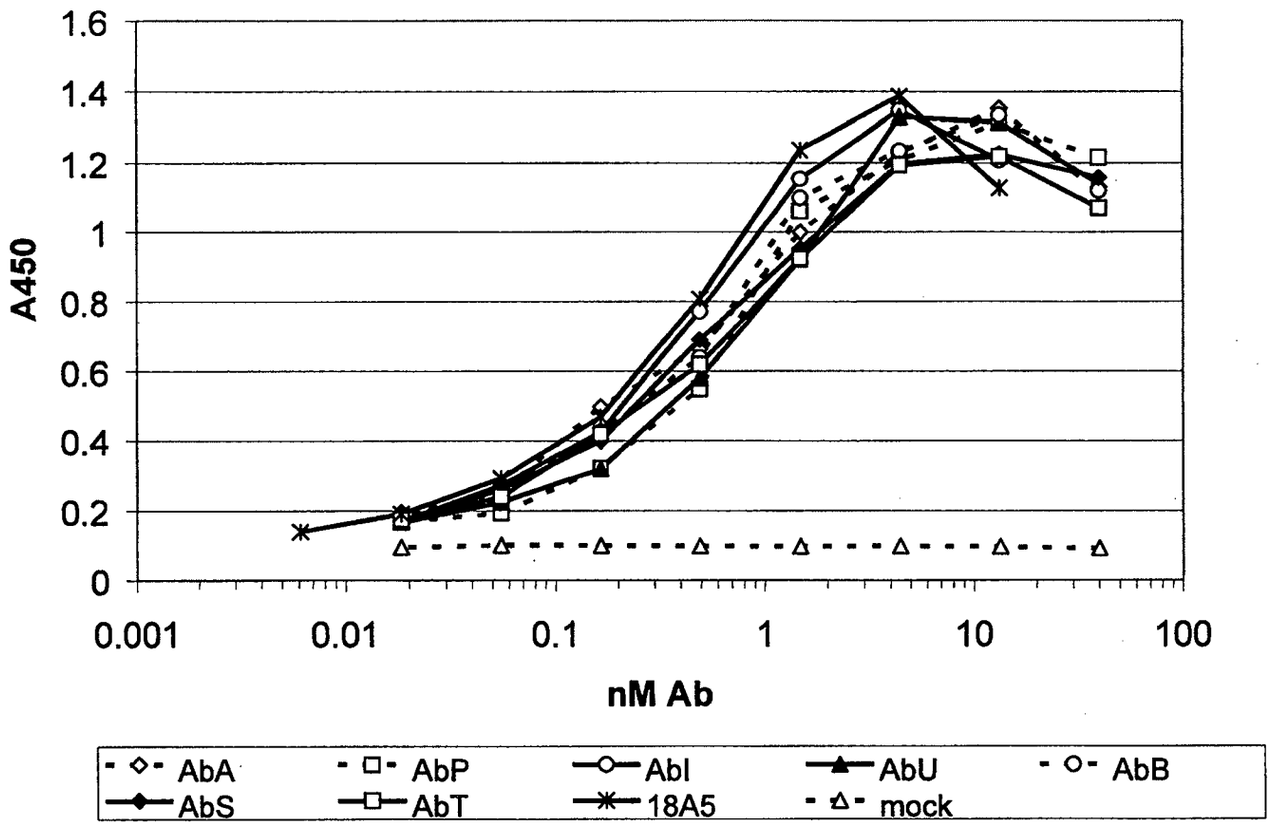

1.6
1.4
1.2
1
0.8
0.6
0.4
0.2
0
A450
0.001
0.01
0.1
1
10
100
nM Ab
AbA
AbP
AbI
AbU
AbB
AbS
AbT
18A5
mock

Figure 6j

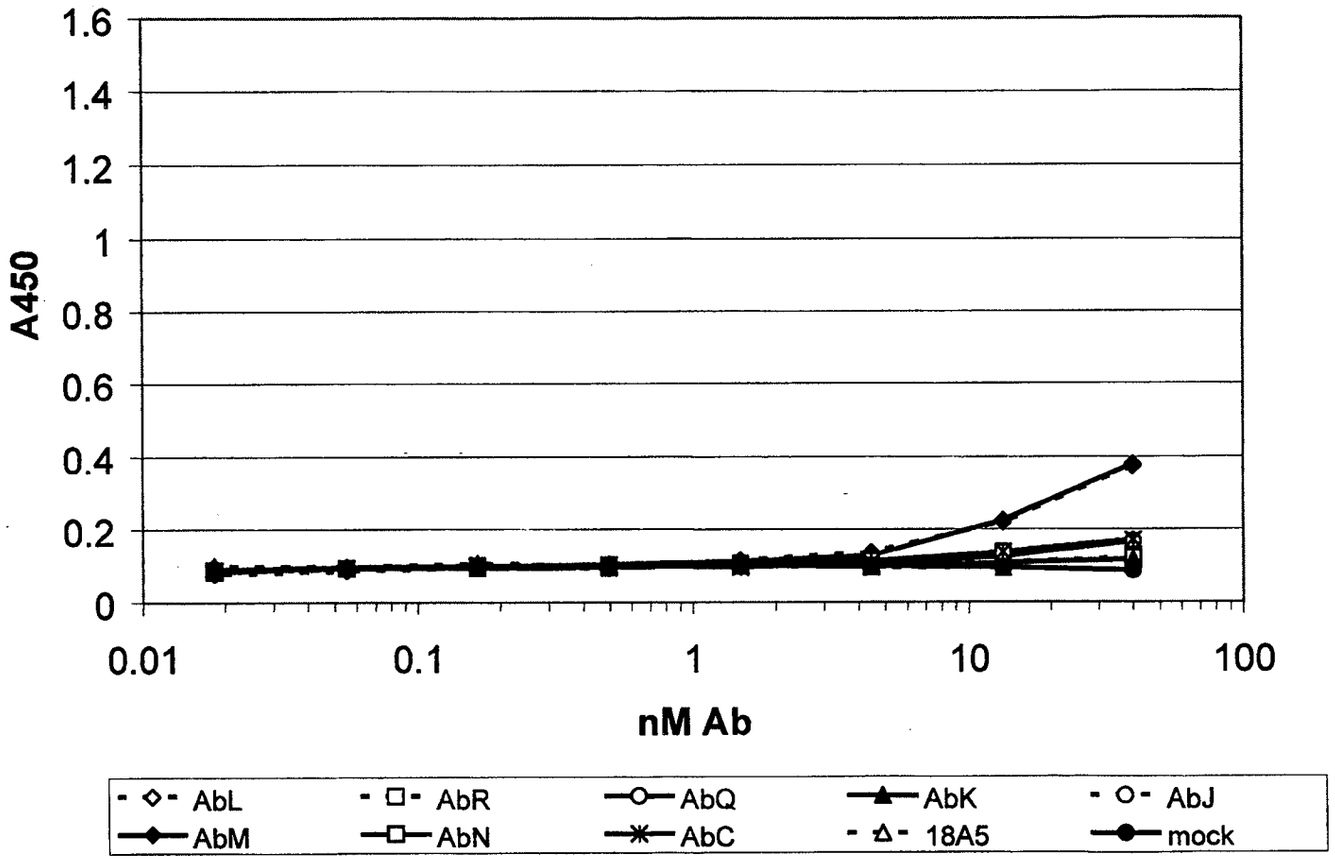

1.6
1.4
1.2
1
0.8
0.6
0.4
0.2
0
A450
0.01
0.1
1
10
100
nM Ab
AbL
AbR
AbQ
AbK
AbJ
AbM
AbN
AbC
18A5
mock

Figure 6k

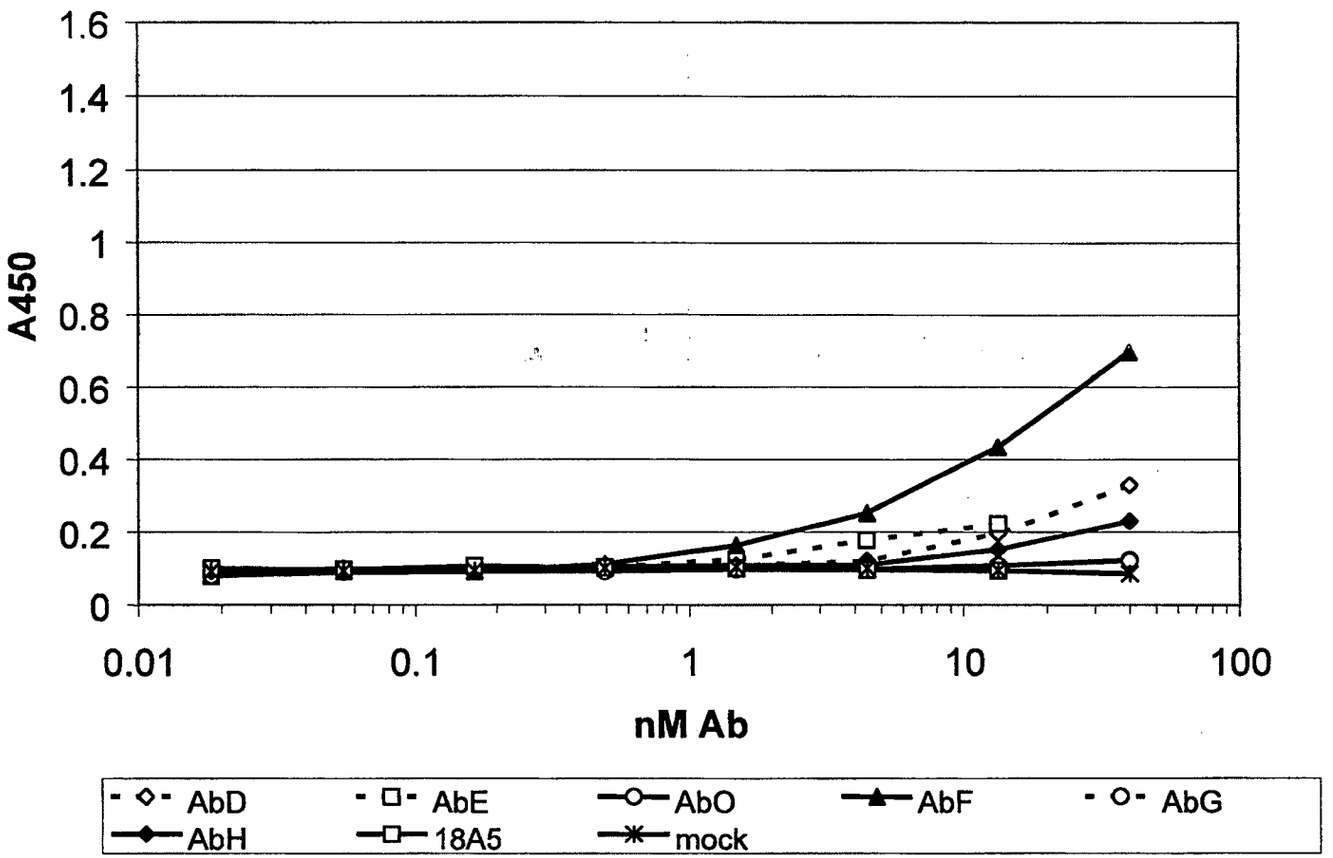

1.6
1.4
1.2
1
0.8
0.6
0.4
0.2
0
A450
0.01
0.1
1
10
100
nM Ab
AbD
AbE
AbO
AbF
AbG
AbH
18A5
mock

Figure 6I

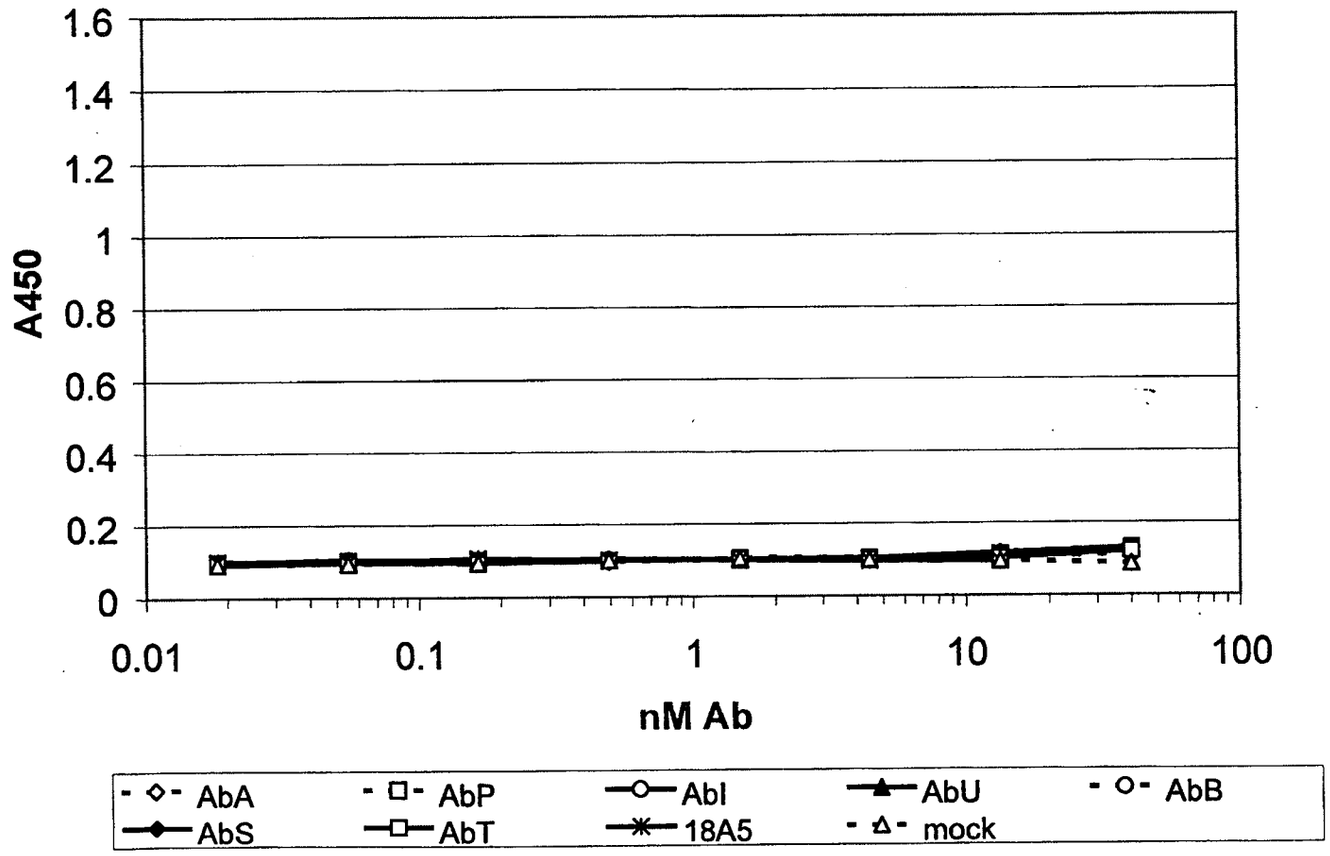

1.6
1.4
1.2
1
0.8
0.6
0.4
0.2
0
A450
0.01
0.1
1
10
100
nM Ab
AbA
AbP
AbI
AbU
AbB
AbS
AbT
18A5
mock

Figure 7a

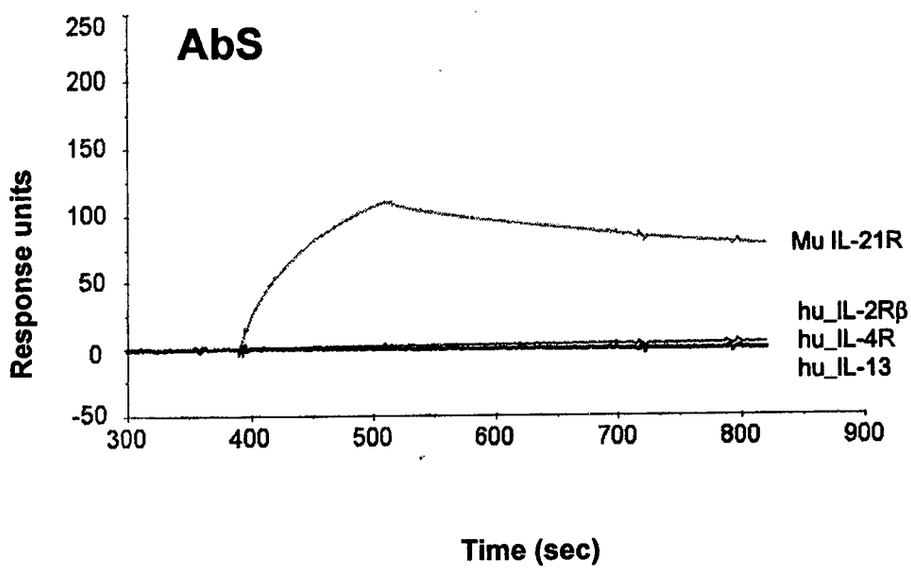

AbS
250
200
150
100
50
0
-50
Response units
300
400
500
600
700
800
900
Time (sec)
Mu IL-21R
hu_IL-2Rβ
hu_IL-4R
hu_IL-13

Figure 7b

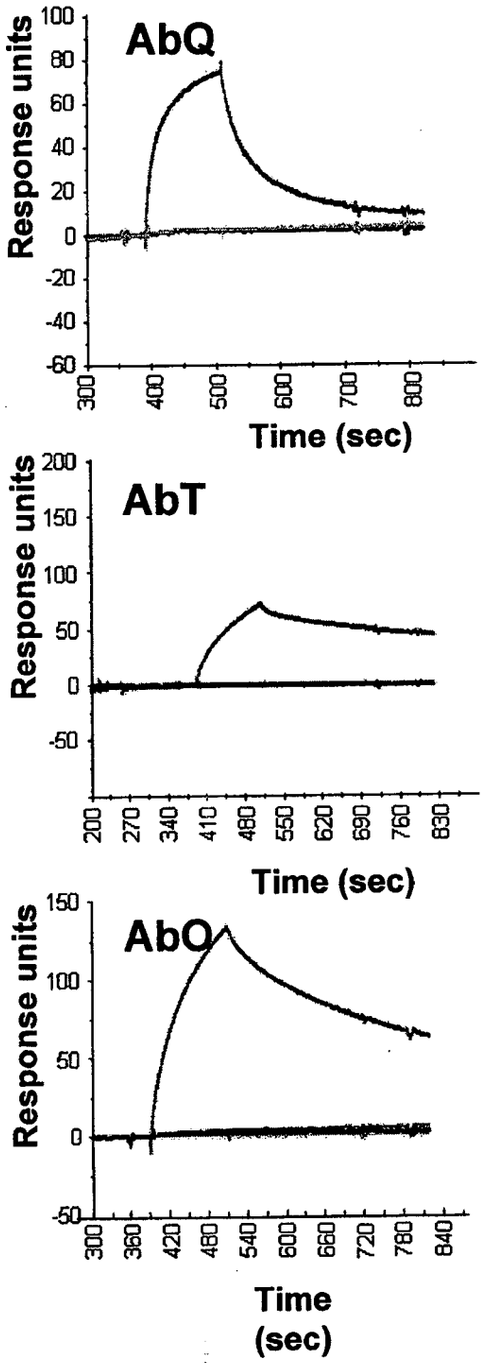
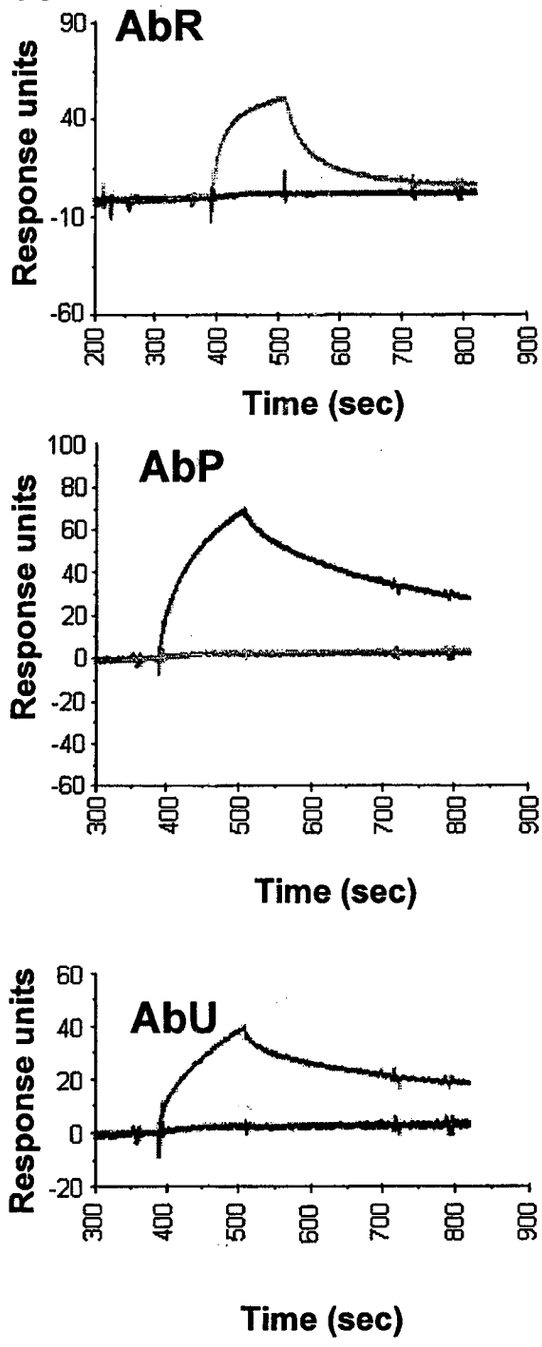

AbQ
Response units
100
80
60
40
20
0
-20
-40
-60
300
400
500
600
700
800
Time (sec)
AbT
Response units
200
150
100
50
0
-50
200
270
340
410
480
550
620
690
760
830
Time (sec)
AbO
Response units
150
100
50
0
-50
300
360
420
480
540
600
660
720
780
840
Time
(sec)

Figure 7c


AbR
Response units
90
40
-10
-60
200
300
400
500
600
700
800
900
Time (sec)
AbP
Response units
100
80
60
40
20
0
-20
-40
-60
300
400
500
600
700
800
900
Time (sec)
AbU
Response units
60
40
20
0
-20
300
400
500
600
700
800
900
Time (sec)

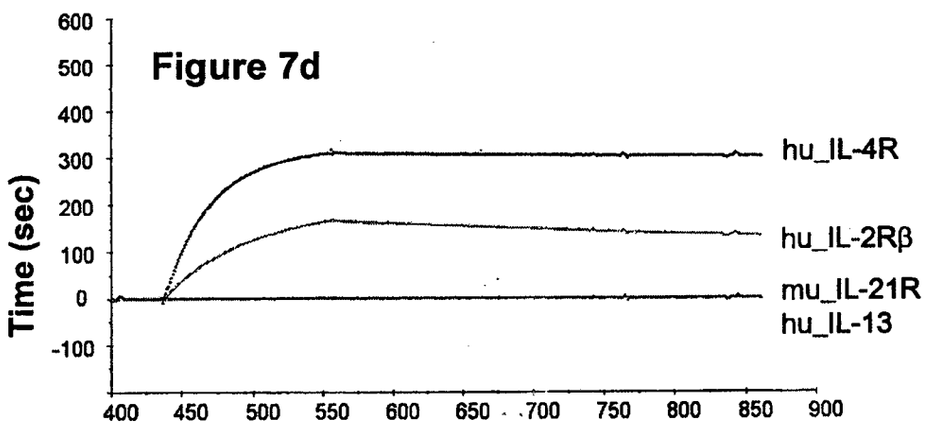
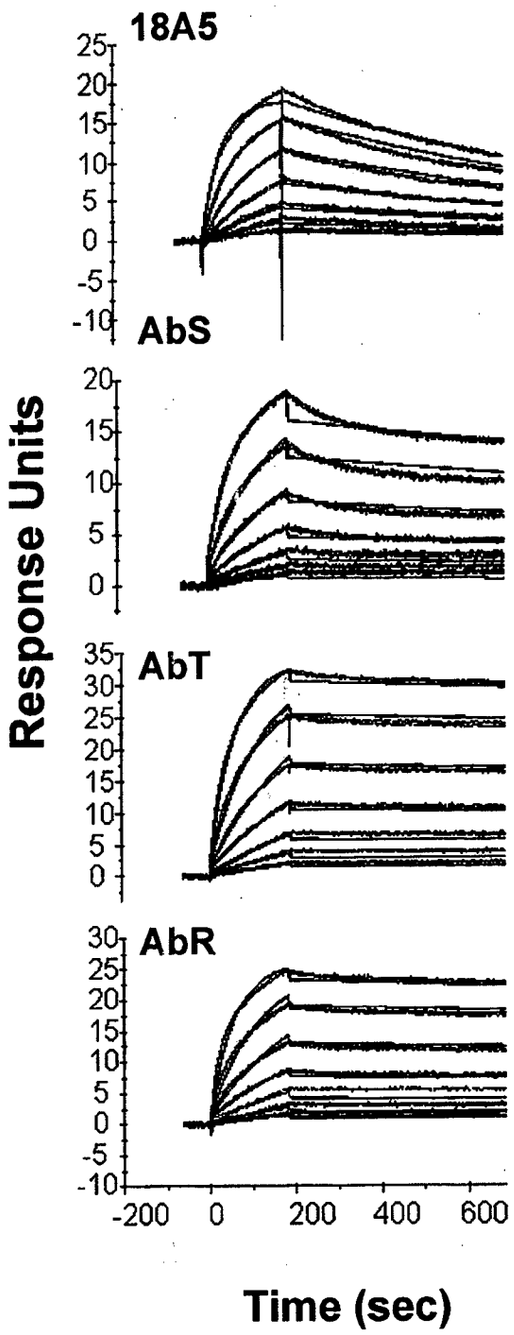

Figure 7d
600
500
400
300
200
100
0
-100
Time (sec)
400
450
500
550
600
650
700
750
800
850
900
hu_IL-4R
hu_IL-2Rβ
mu_IL-21R
hu_IL-13
Time (sec)

Figure 8a


18A5
AbS
AbT
AbR
Response Units
Time (sec)
25
20
15
10
5
0
-5
-10
35
30
-200
0
200
400
600

81

Figure 8b

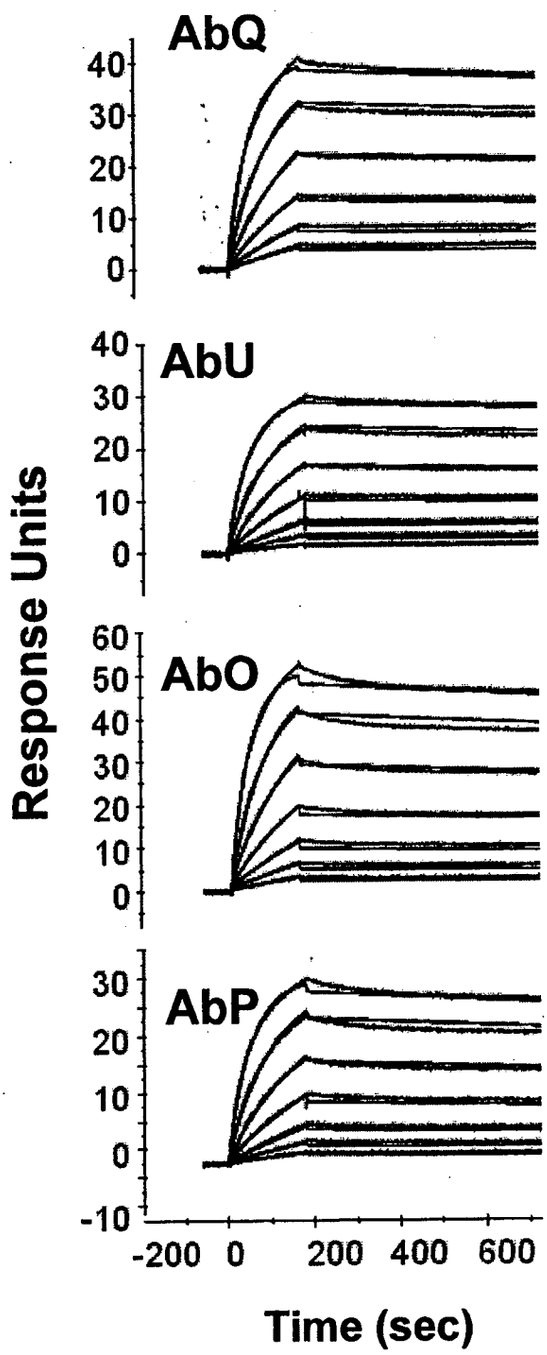

AbQ
AbU
AbO
AbP
Response Units
Time (sec)
40
30
20
10
0
60
50
-10
-200
200
400
600

Figure 8c

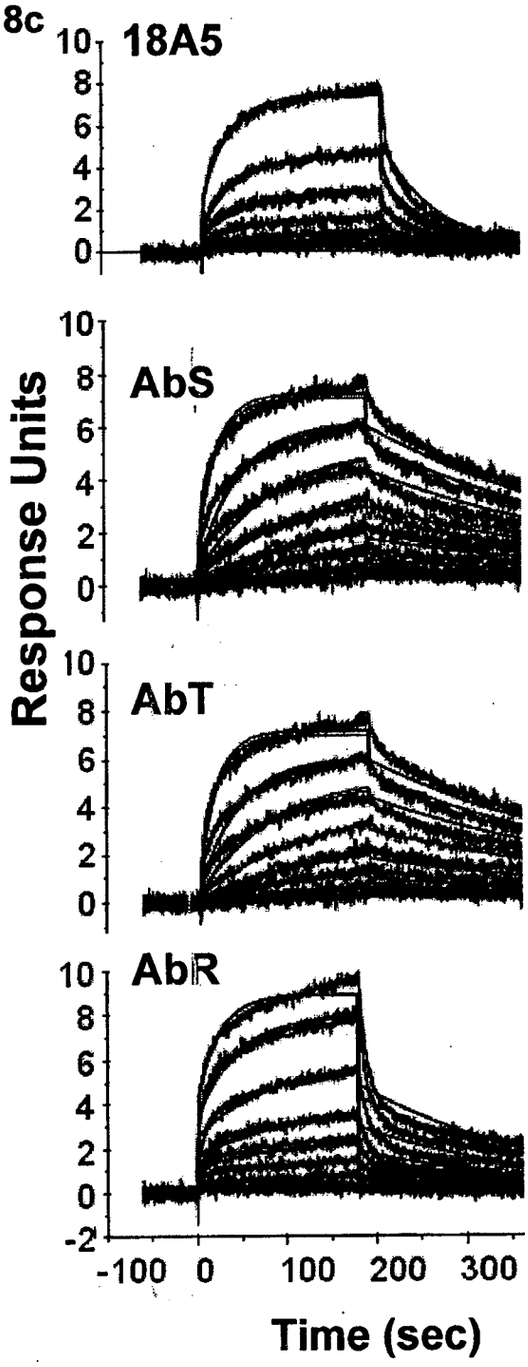
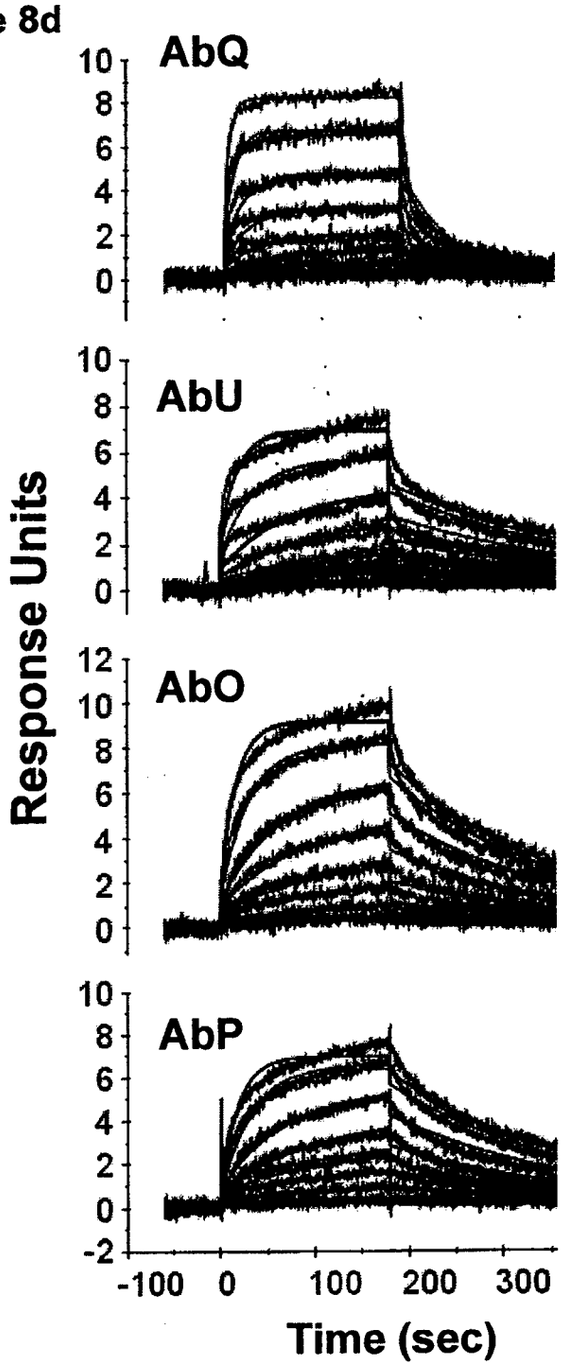

18A5
AbS
AbT
AbR
Response Units
10
8
6
4
2
0
-2
-100
0
100
200
300
Time (sec)

Figure 8d



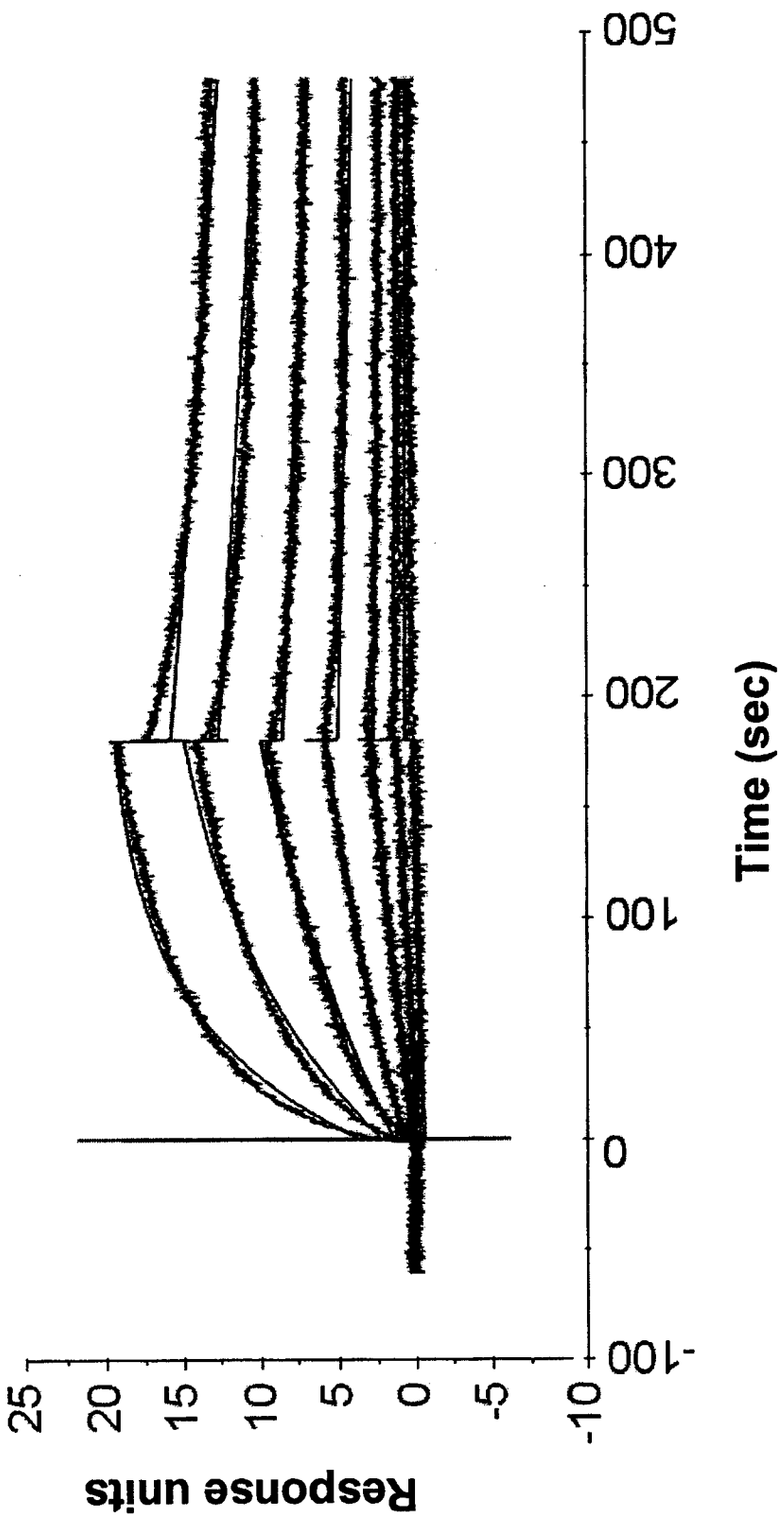

Response units
25
20
15
10
5
0
-5
-10
Time (sec)
500
400
300
200
100
0
-100

Figure 9a

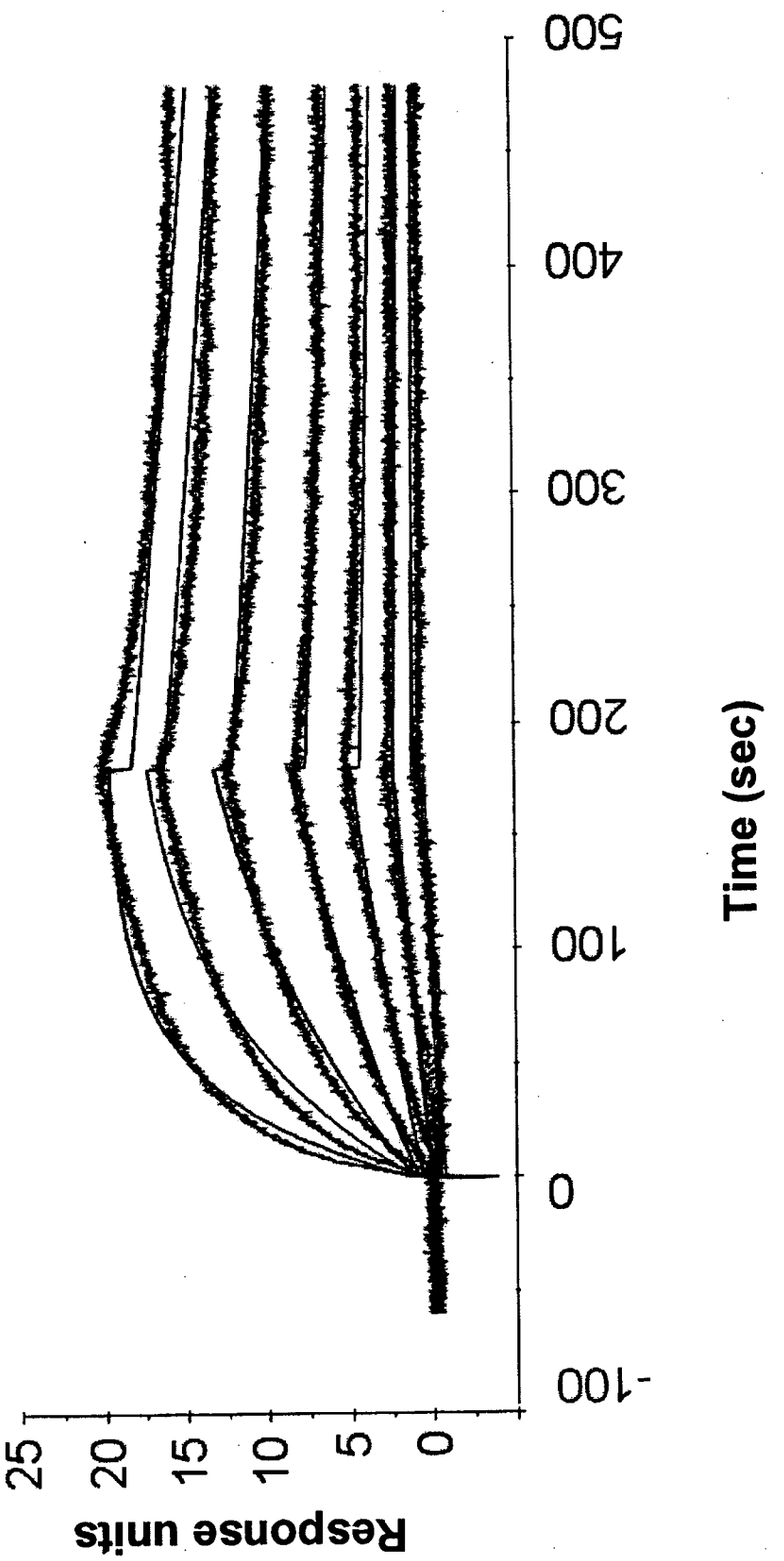


Figure 9b

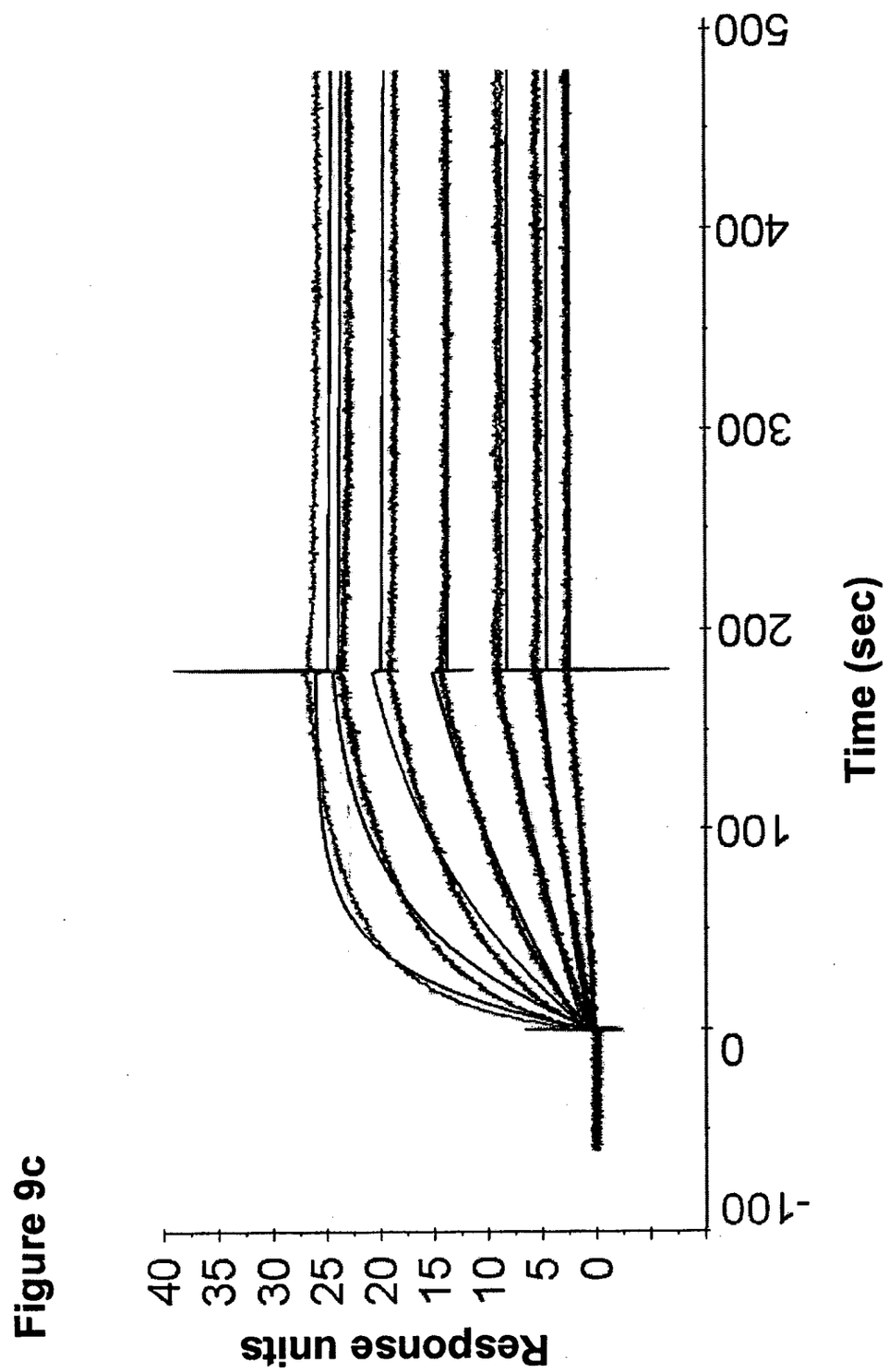

Response units
40
35
30
25
20
15
10
5
0
-100
0
100
200
300
400
500
Time (sec)

Figure 9c

84

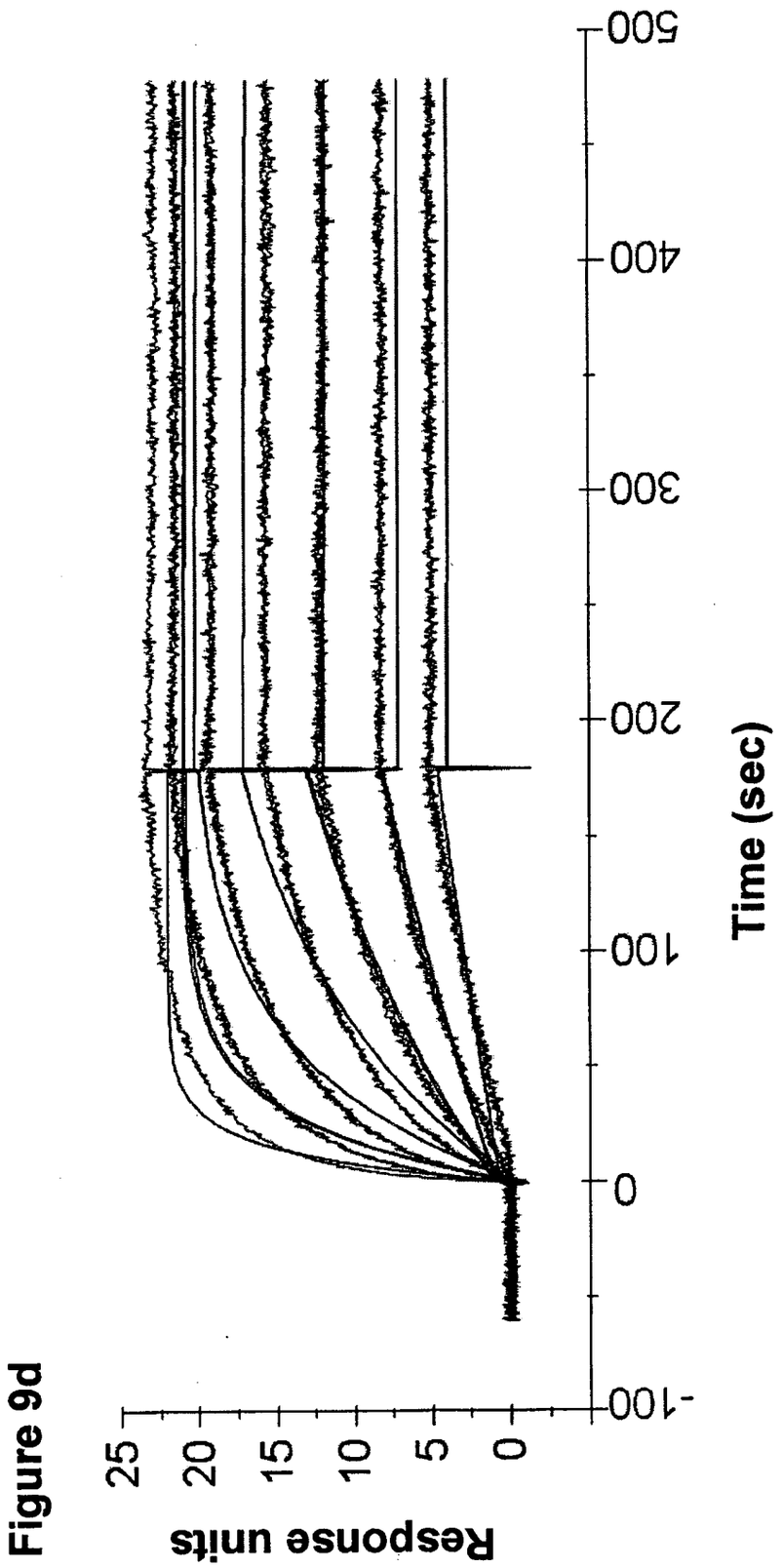
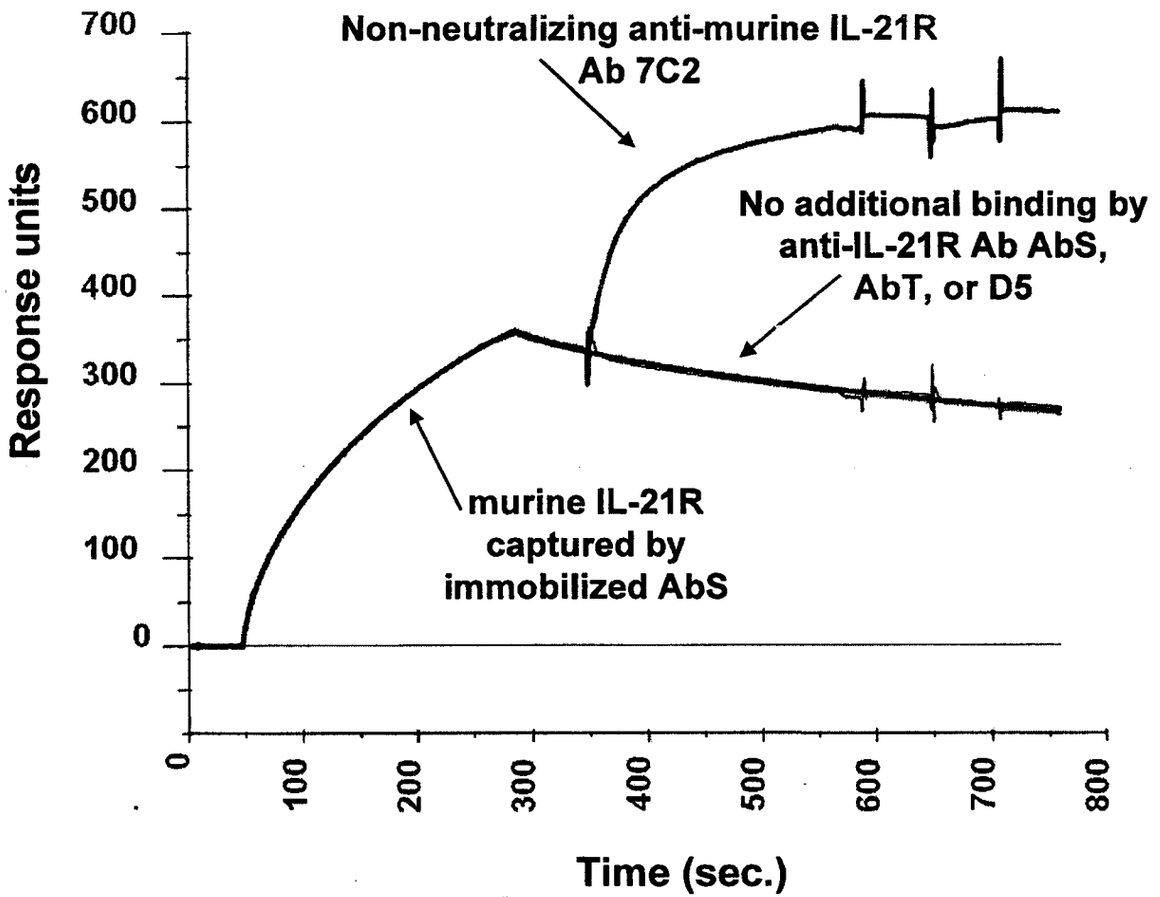


Figure 9d

Figure 10a


Non-neutralizing anti-murine IL-21R
Ab 7C2
No additional binding by
anti-IL-21R Ab AbS,
AbT, or D5
murine IL-21R
captured by
immobilized AbS
Response units
700
600
500
400
300
200
100
0
0
100
200
300
400
500
600
700
800
Time (sec.)

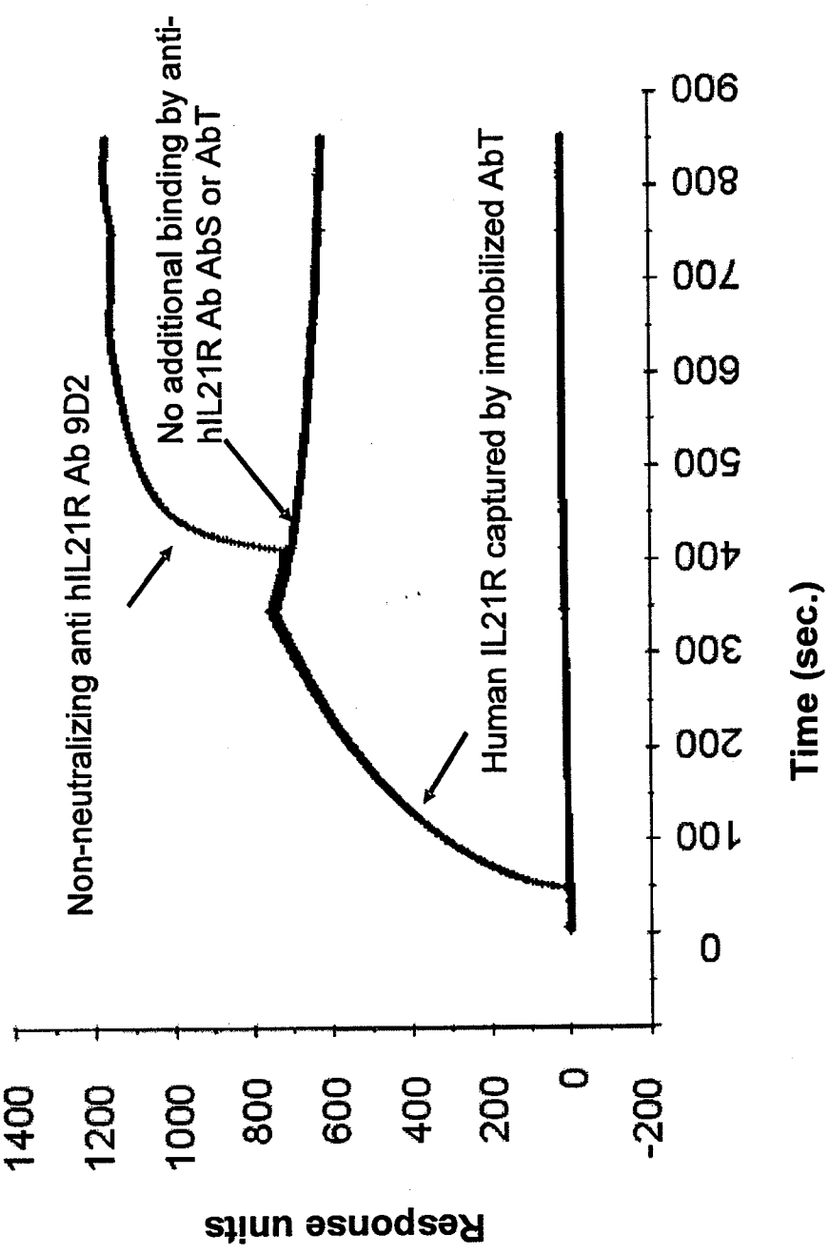

Non-neutralizing anti hIL21R Ab 9D2
No additional binding by anti-hIL21R Ab AbS or AbT
Human IL21R captured by immobilized AbT
Response units
1400
1200
1000
800
600
400
200
0
-200
Time (sec.)
0
100
200
300
400
500
600
700
800
900

Figure 10b

Figure 11a

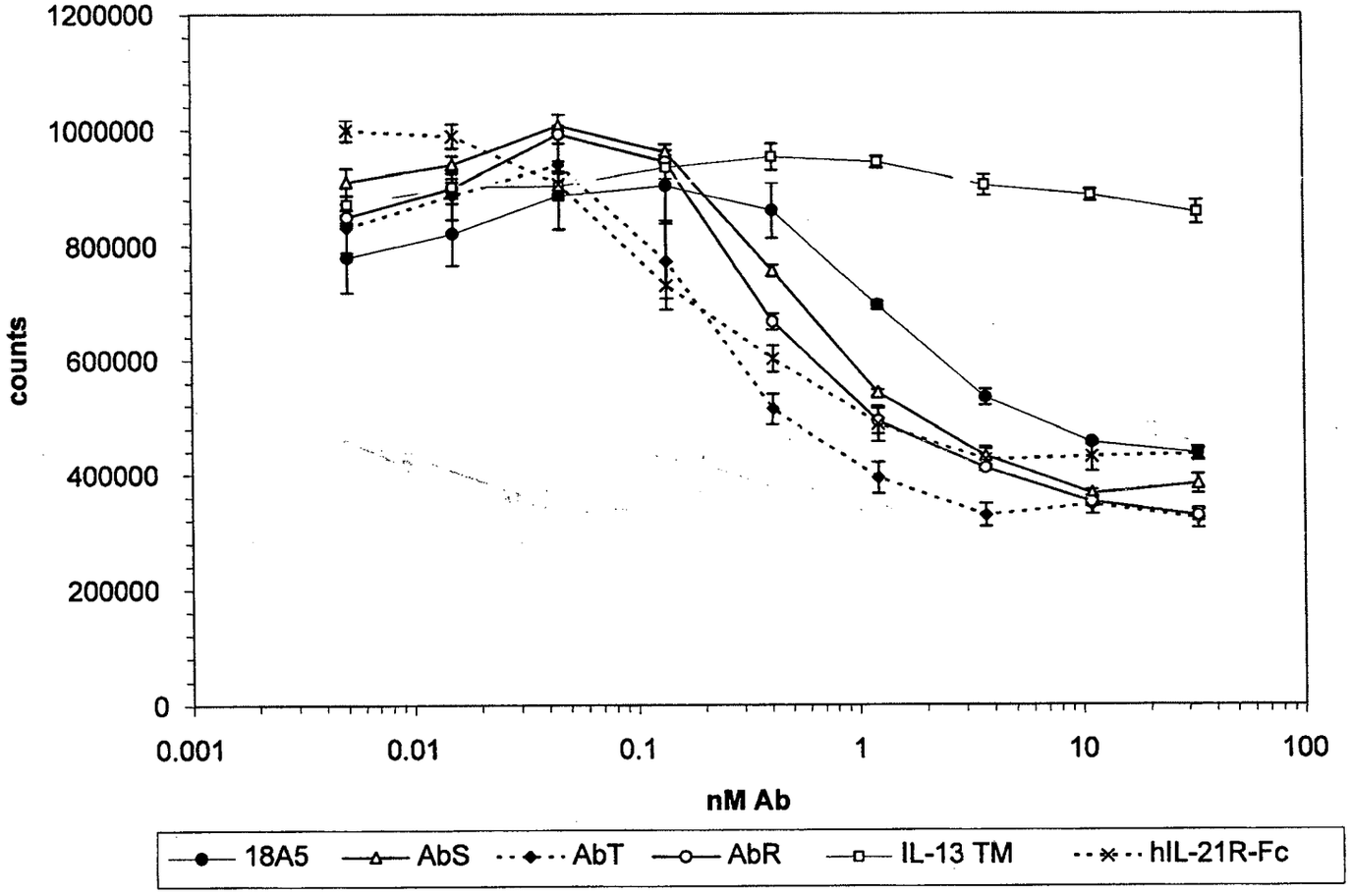

1200000
1000000
800000
600000
400000
200000
0
counts
0.001
0.01
0.1
1
10
100
nM Ab
18A5
AbS
AbT
AbR
IL-13 TM
hIL-21R-Fc

Figure 11b

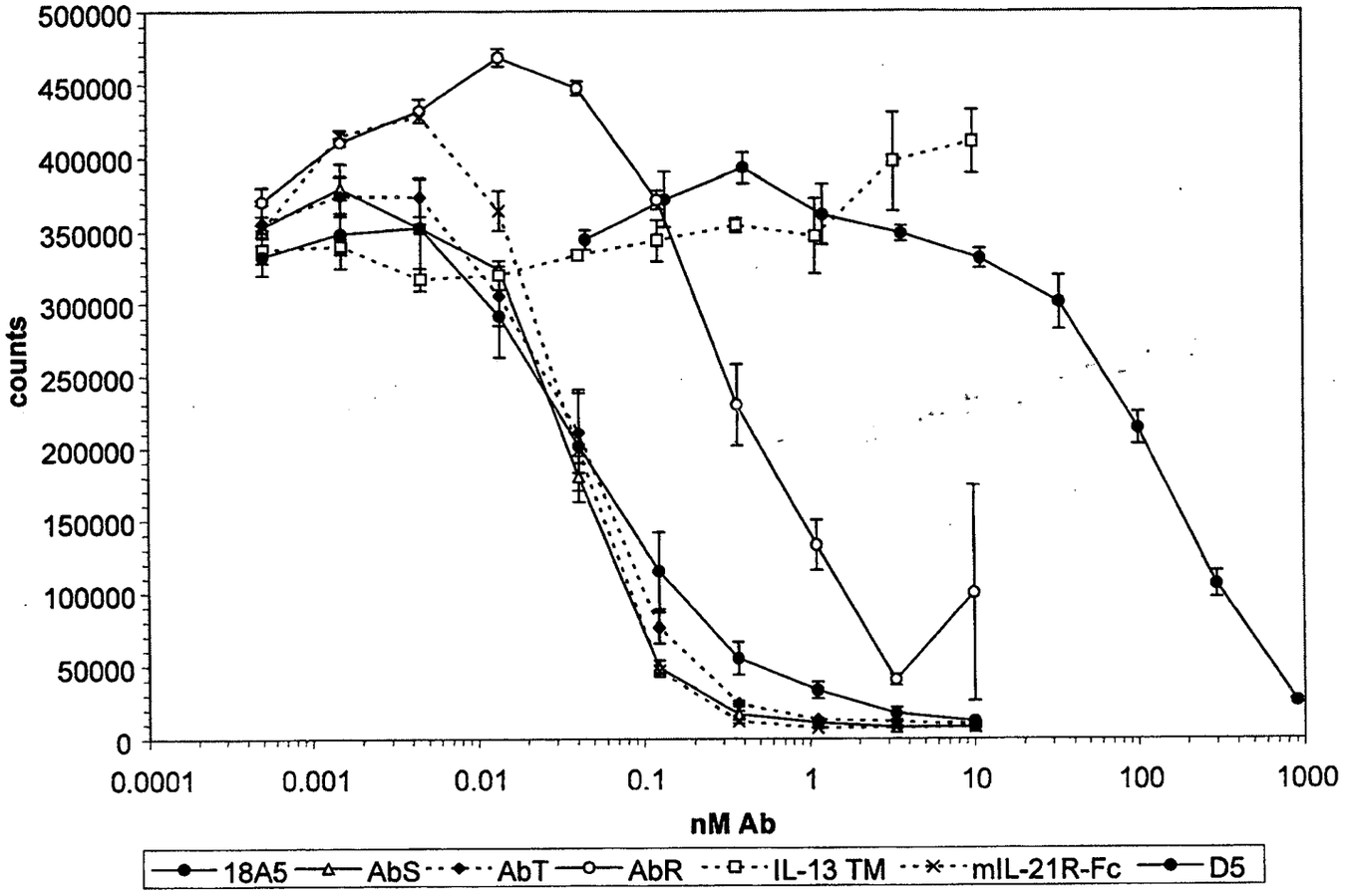

500000
450000
400000
350000
300000
250000
200000
150000
100000
50000
0
counts
0.0001
0.001
0.01
0.1
1
10
100
1000
nM Ab
18A5
AbS
AbT
AbR
IL-13 TM
mIL-21R-Fc
D5

Figure 11c

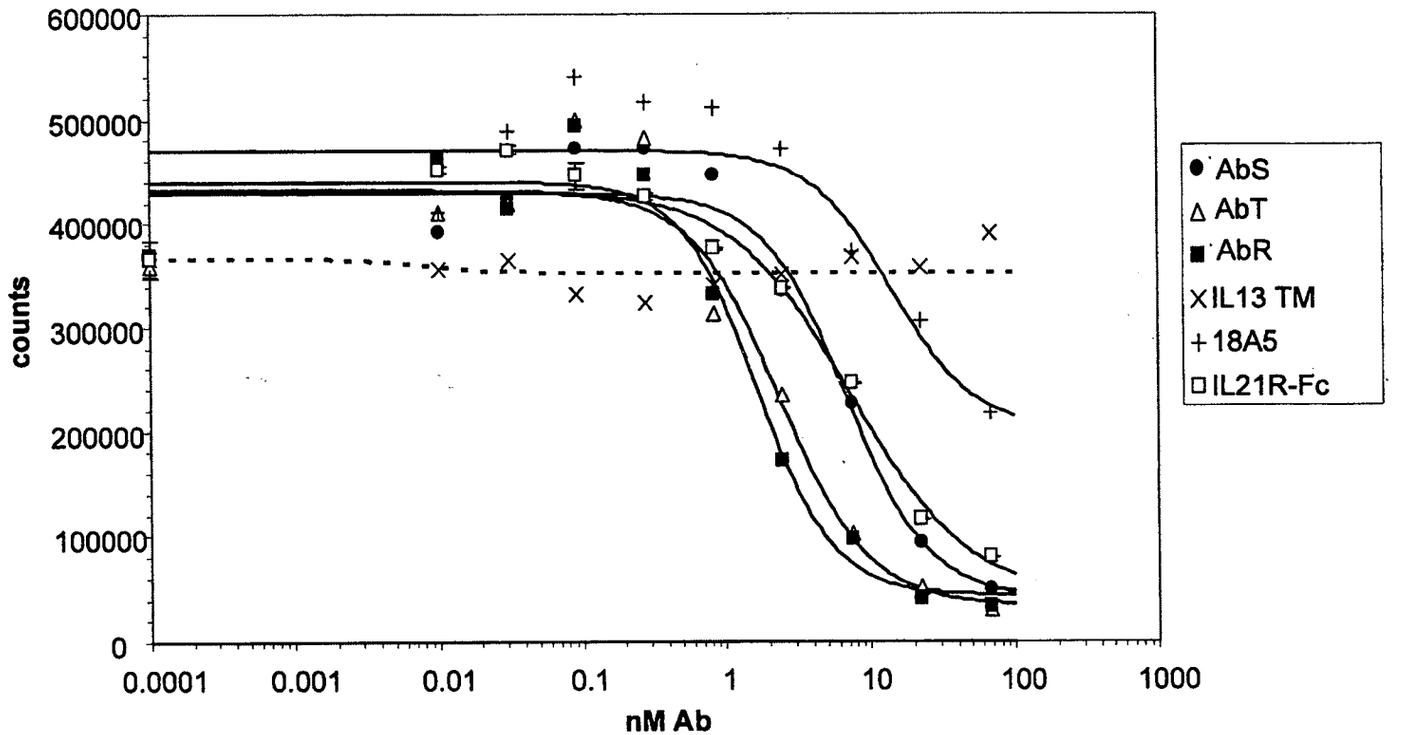
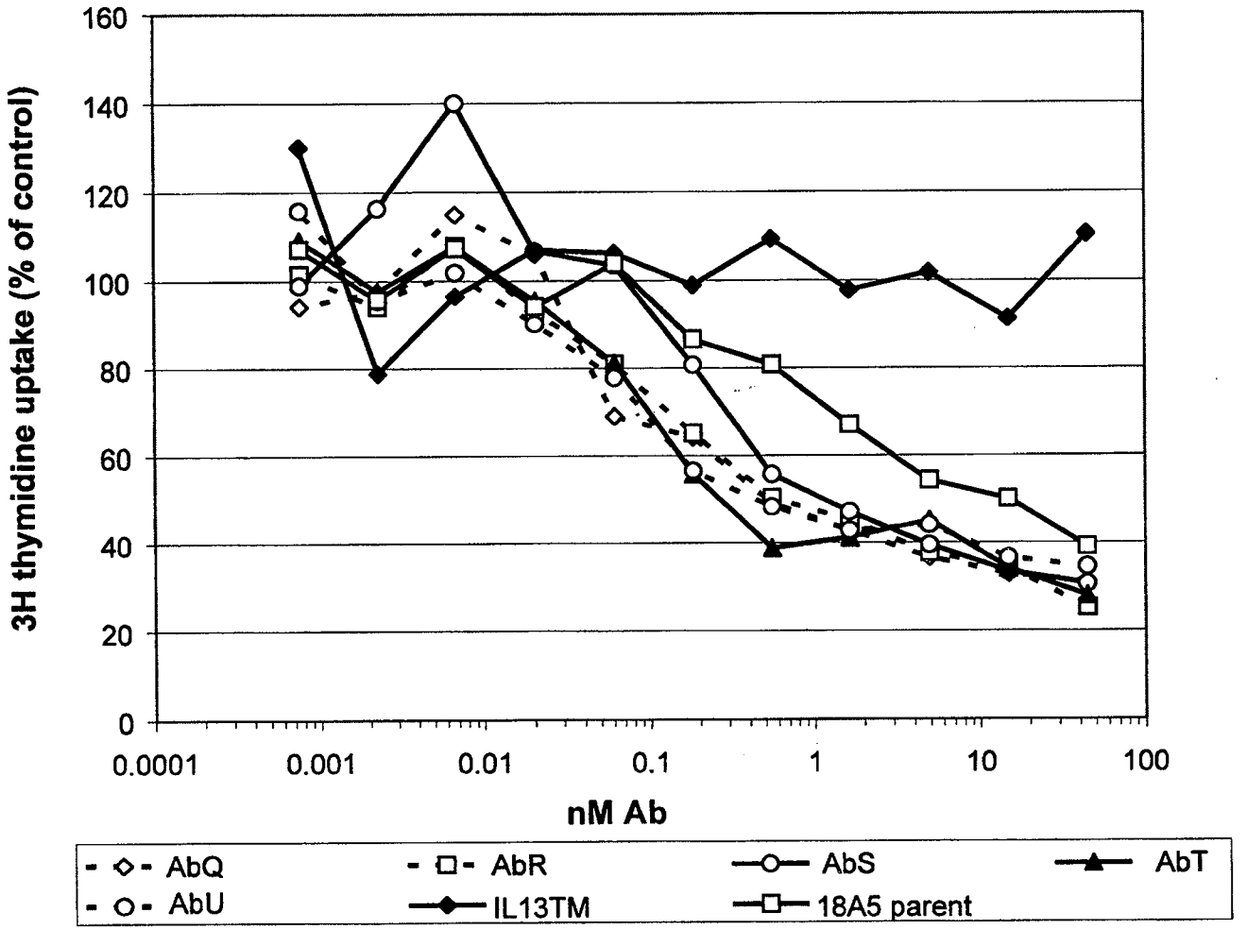

600000
500000
400000
300000
200000
100000
0
counts
0.0001
0.001
0.01
0.1
1
10
100
1000
nM Ab
AbS
AbT
AbR
IL13 TM
18A5
IL21R-Fc

Figure 12a


160
140
120
100
80
60
40
20
0
3H thymidine uptake (% of control)
0.0001
0.001
0.01
0.1
1
10
100
nM Ab
AbQ
AbR
AbS
AbT
AbU
IL13TM
18A5 parent

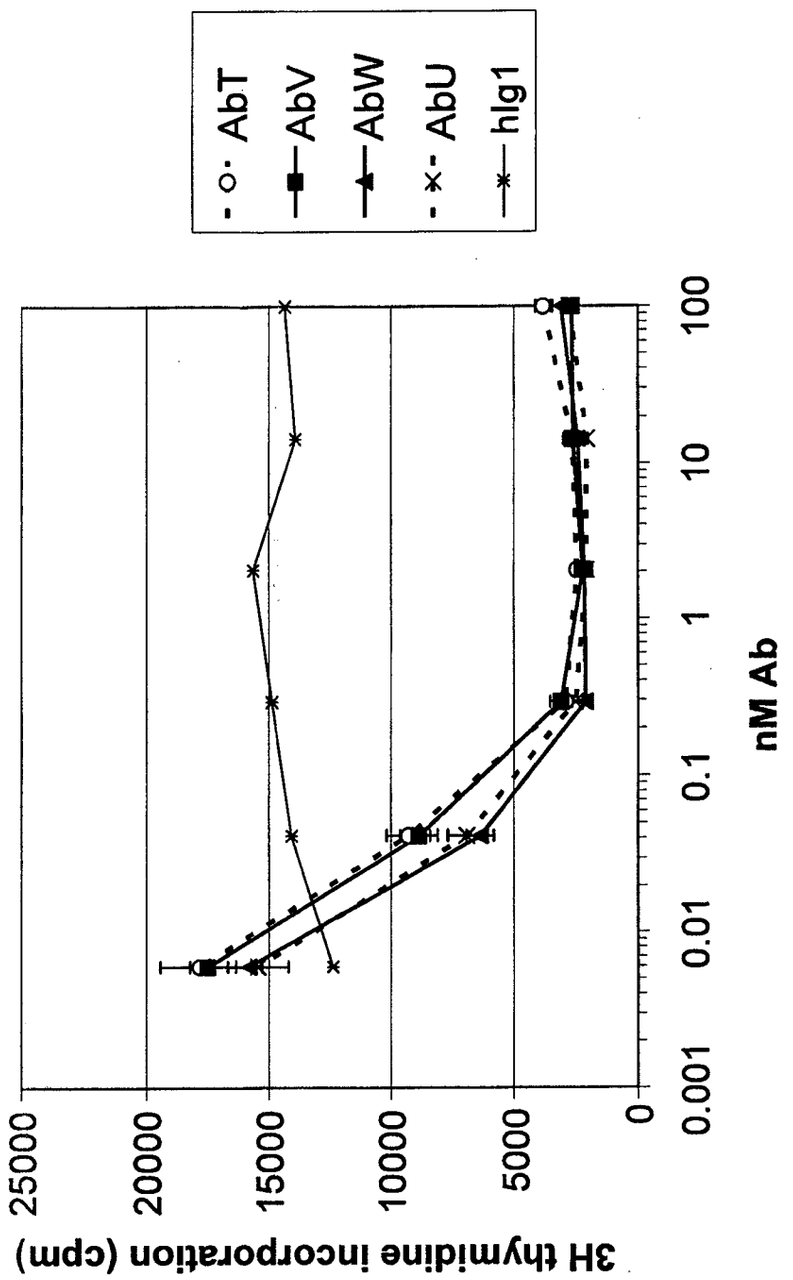

AbT
AbV
AbW
AbU
hIg1
25000
20000
15000
10000
5000
0
0.001
0.01
0.1
1
10
100
nM Ab
3H thymidine incorporation (cpm)

Figure 12b

Figure 13

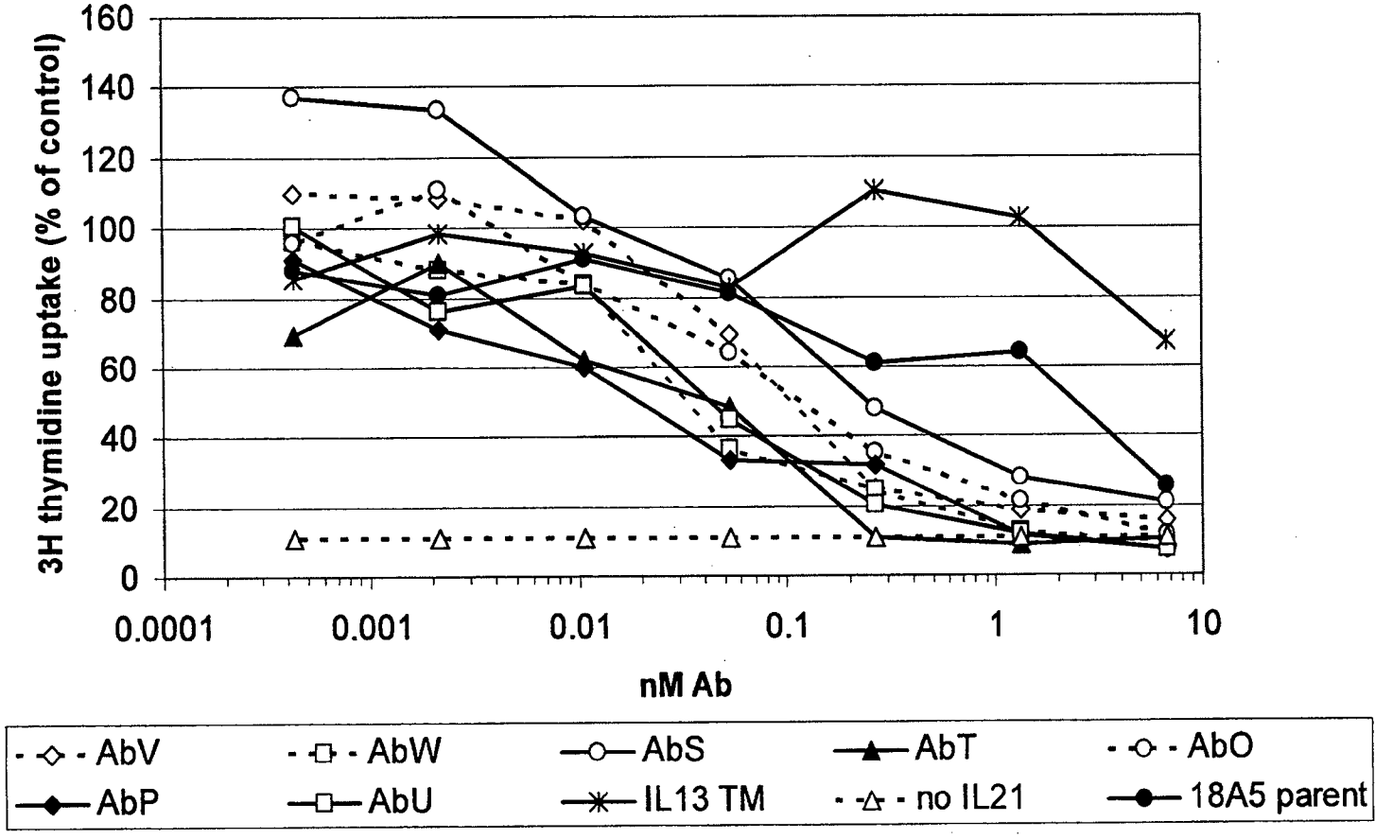
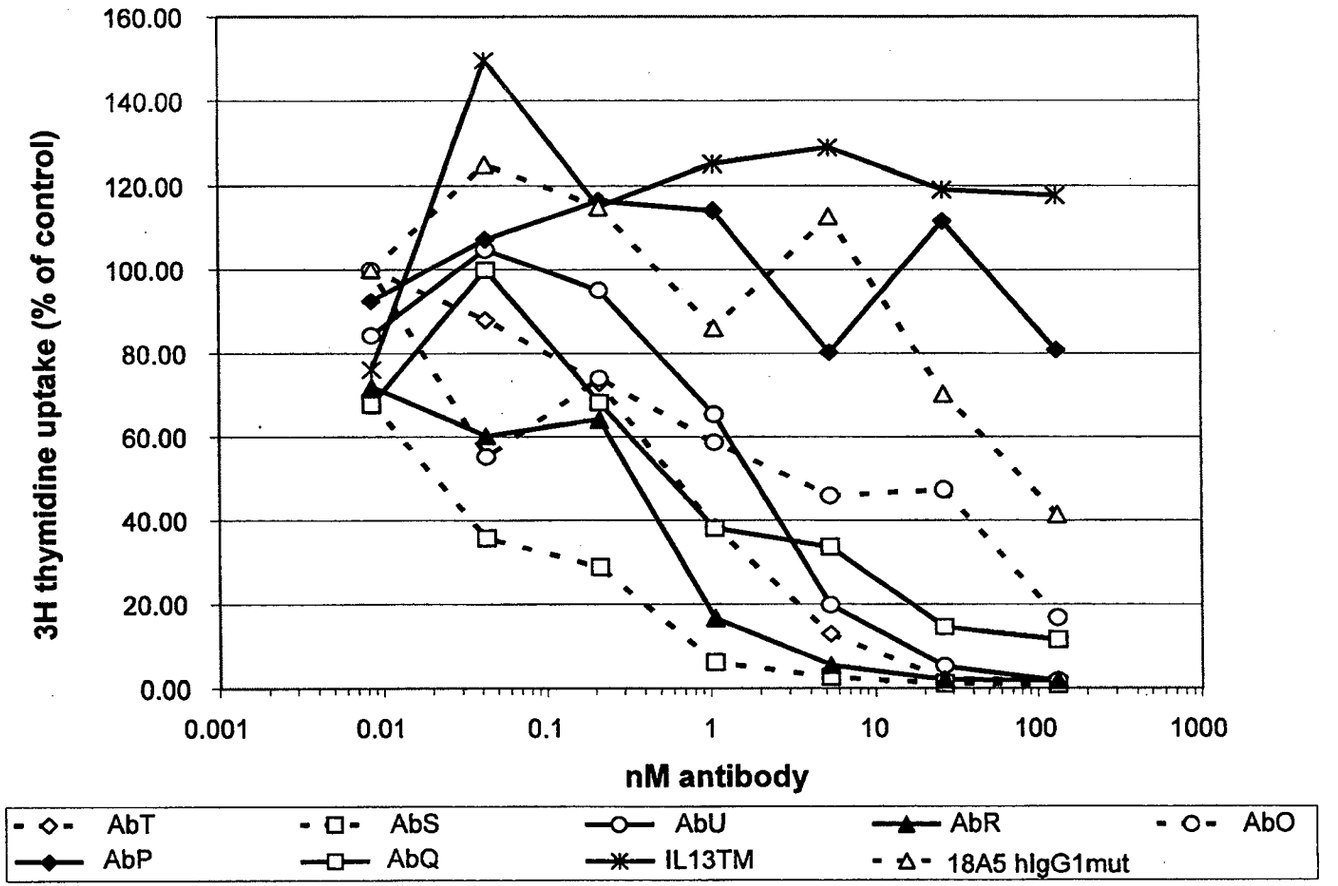

160
140
120
100
80
60
40
20
0
3H thymidine uptake (% of control)
0.0001
0.001
0.01
0.1
1
10
nM Ab
AbV
AbW
AbS
AbT
AbO
AbP
AbU
IL13 TM
no IL21
18A5 parent

Figure 14


160.00
140.00
120.00
100.00
80.00
60.00
40.00
20.00
0.00
3H thymidine uptake (% of control)
0.001
0.01
0.1
1
10
100
1000
nM antibody
AbT
AbS
AbU
AbR
AbO
AbP
AbQ
IL13TM
18A5 hIgG1mut

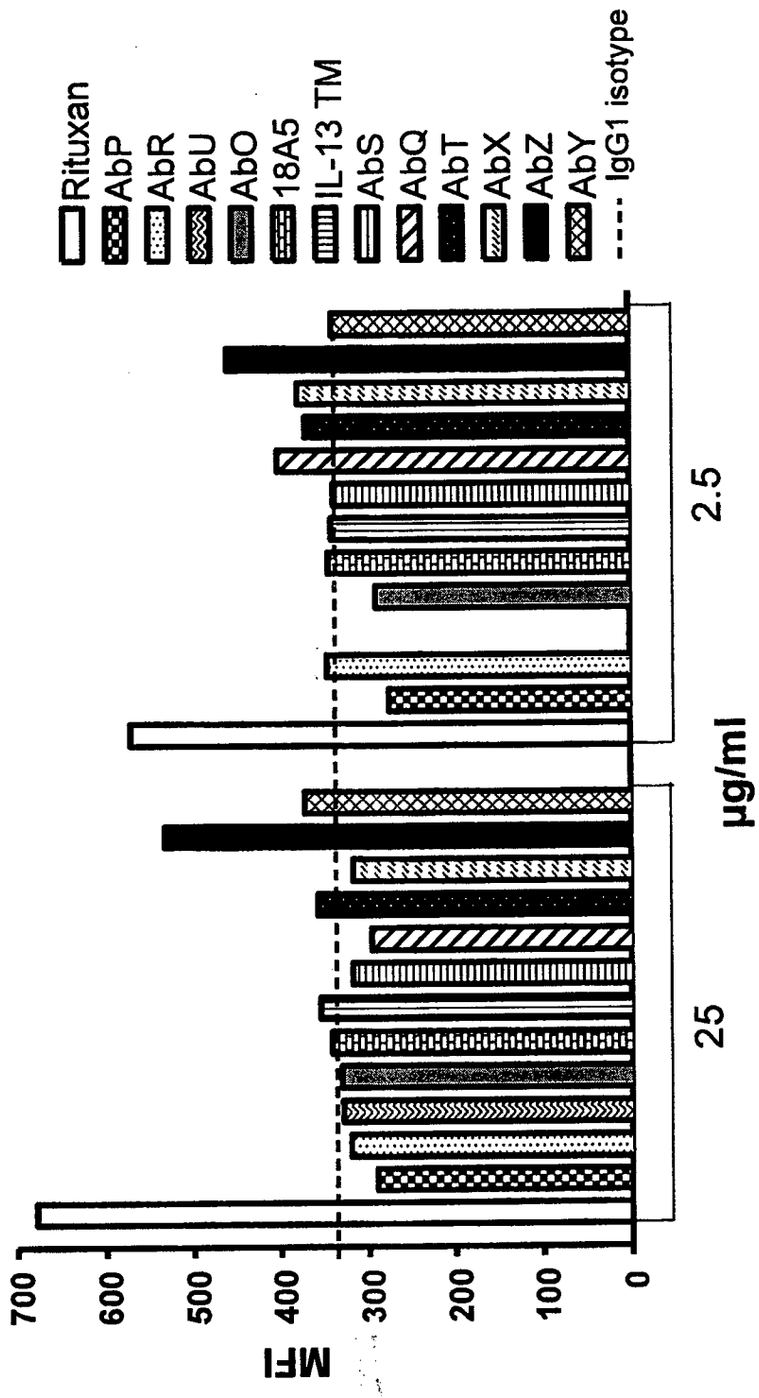

Rituxan
AbP
AbR
AbU
AbO
18A5
IL-13 TM
AbS
AbQ
AbT
AbX
AbZ
AbY
IgG1 isotype
MFI
700
600
500
400
300
200
100
0
25
2.5
µg/ml

Figure 15

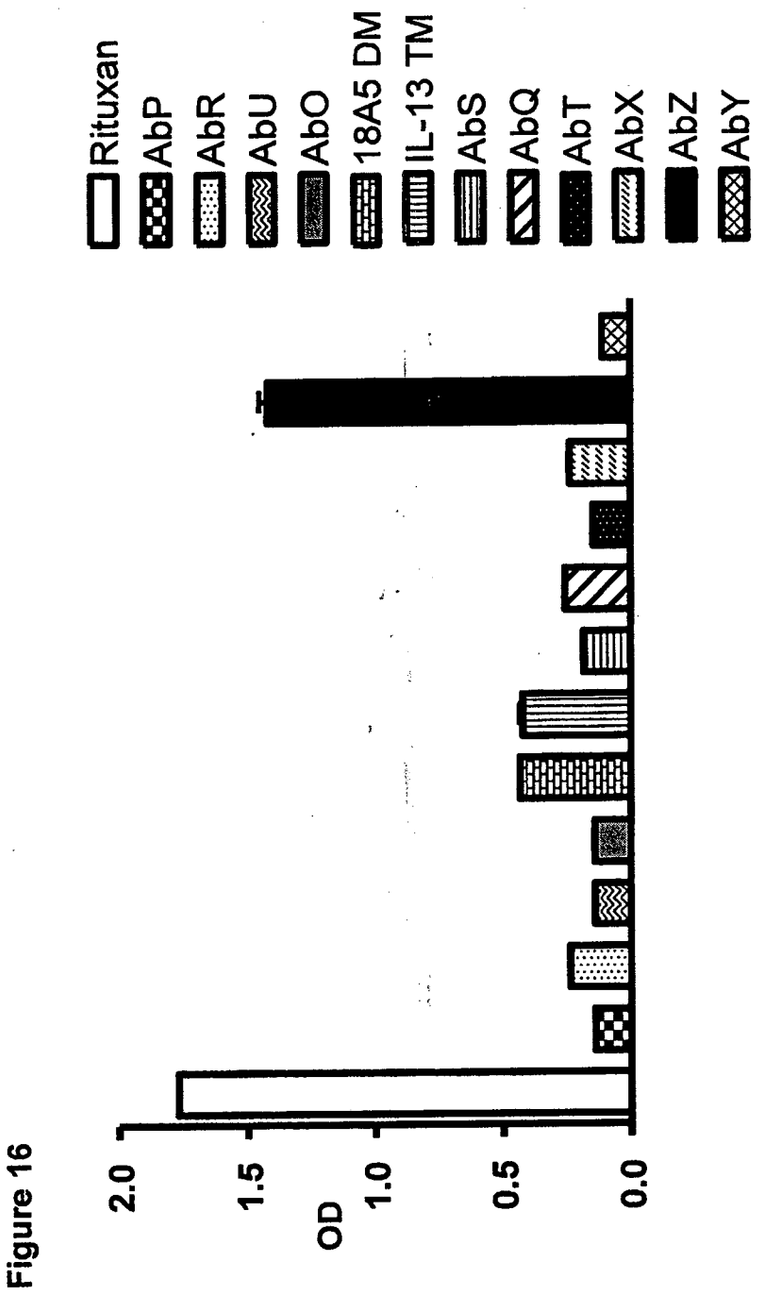

Rituxan
AbP
AbR
AbU
AbO
18A5 DM
IL-13 TM
AbS
AbQ
AbT
AbX
AbZ
AbY
OD
2.0
1.5
1.0
0.5
0.0

Figure 16

Figure 17a

AbQ:

Heavy chain for **AbQ** (SEQ ID NO:213), with CDRs H1, H2, and H3 underlined (SEQ ID NOs:163, 164, and 165, respectively). The heavy chain constant region is shown in lower case italics with the double mutation (L234A G237A) shown in bold lowercase underlined text (SEQ ID NO: 197).

QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCAVSGYSISSGYYWGWIRQPPGKGL
EWIGSISHTGNTYYNPPLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTA
VYYCARFMGFGRPEYWGQGTLVTVSS*astkgpsvfplapsskstsg*
gtaalgclvkdyfpepvtvswnsgaltsgvhtfpavlqssglysls
svvtvpsssl gtqtyicnvnhkpsntkvdkkvepkscdkthtcppc
papealgapsvflfppkpkdtlmisrtpevtcvvvdvshedpevkf
nwyvdgvevhnaktkpreeqynstyrvvsvltvlhqdwlngkeykc
kvsnkalpapiektiskakgqprepqvytlppsreemtknqvsltc
lvkgfypsdiavewesngqpennyk ttppvldsdgsfflyskltvd
ksrwqqgnvfscsvmhealhnhytqkslslspgk

Light chain for **AbQ** (SEQ ID NO: 214), with CDRs L1, L2, and L3 underlined (SEQ ID NOs:194, 195, and 172, respectively). The constant lambda light chain sequence is indicated by lower-case italics (SEQ ID NO:198).

SSELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDSLRTYYASWYQQKPGQAPVLV
IYGKHKRPSGIPDRFSGSSSGNTASLTITGAQAEDEADYYCVARSV
VGNPHVLFGGGTQLTVL*gqpkaapsvtlfppsseelqankatlvcl*
isdfypgavtvawkadsspvkagvetttpskqsnnkyaassylslt
peqwkshrsyscqvthegstvektvaptecs

SEQ ID NO:213 is the full-length heavy chain for **AbQ:**

QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCAVSGYSISSGYYWGWIRQPPGKGL
EWIGSISHTGNTYYNPPLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTA
VYYCARFMGFGRPEYWGQGTLVTVSS*astkgpsvfplapsskstsg*
gtaalgclvkdyfpepvtvswnsgaltsgvhtfpavlqssglysls
svvtvpsssl gtqtyicnvnhkpsntkvdkkvepkscdkthtcppc
papealgapsvflfppkpkdtlmisrtpevtcvvvdvshedpevkf
nwyvdgvevhnaktkpreeqynstyrvvsvltvlhqdwlngkeykc
kvsnkalpapiektiskakgqprepqvytlppsreemtknqvsltc
lvkgfypsdiavewesngqpennyk ttppvldsdgsfflyskltvd
ksrwqqgnvfscsvmhealhnhytqkslslspgk

Figure 17b

SEQ ID NO:14 is the V_H portion of the full-length heavy chain:

QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCAVSGYSISSGYYWGWIRQPPGKGL
EWIGSISHTGNTYYNPPLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTA
VYYCARFMGFGRPEYWGQGTLVTVSS

SEQ ID NO:163 is the CDR H1 portion of the V_H portion of the full-length heavy chain:

SGYYWG

SEQ ID NO:164 is the CDR H2 portion of the V_H portion of the full-length heavy chain:

SISHTGNTYYNPPLKS

SEQ ID NO:165 is the CDR H3 portion of the V_H portion of the full-length heavy chain:

FMGFGRPEY

SEQ ID NO:197 is the heavy chain constant region with the double mutation (L234A G237A) shown in bold lowercase underlined text:

astkgpsvfplapsskstsggtaalgclvkdyfpepvtvswnsgal
tsgvhtfpavlqssglyslssvvtvpssslgtqtyicnvnhkpsnt
*kvdkkvepkscdkthtcppcpape**a**lg**a**psvflfppkpkdtlmisr*
tpevtcvvvdvshedpevkfnwyvdgvevhnaktkpreeqynstyr
vvsvltvlhqdwlngkeykckvsnkalpapiektiskakgqprepq
vytlppsreemtknqvsltclvkgfypsdiavewesngqpennykt
tppvldsdgsfflyskltvdksrwqqgnvfscsvmhealhnhytqk
slslspgk

SEQ ID NO:214 is the full-length light chain for **AbQ:**

SSELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDSLRTYYASWYQQKPGQAPVLV
IYGKHKRPSGIPDRFSGSSSGNTASLTITGAQAEDEADYYCVARSV
VGNPHVLFGGGTQLTVL*gqpkaapsvtlfppsseelqankatlvcl*
isdfypgavtvawkadsspvkagvetttpskqsnnkyaassylslt
peqwkshrsyscqvthegstvektvaptecs

Figure 17c

SEQ ID NO:215 is the V_L portion of the full-length light chain:

SSELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDSLRTYYASWYQQKPGQAPVLV
IYGKHKRPSGIPDRFSGSSSGNTASLTITGAQAEDEADYYCVARSV
VGNPHVLFGGGTQLTVL

SEQ ID NO:194 is the CDR L1 portion of the V_L portion of the full-length light chain:

QGDSLRTYYAS

SEQ ID NO:195 is the CDR L2 portion of the V_L portion of the full-length light chain:

GKHKRPS

SEQ ID NO:172 is the CDR L3 portion of the V_L portion of the full-length light chain:

VARSVVGNPHVL

SEQ ID NO:198 is the lambda light chain constant region:

gqpkaapsvtlfppsseelqankatlvclisdfypgavtvawkads
spvkagvetttpskqsnnkyaassylsltpeqwkshrsyscqvthe
gstvektvaptecs

Figure 18a

AbR:

Heavy chain for **AbR** (SEQ ID NO:213), with CDRs H1, H2, and H3 underlined (SEQ ID NOs:163, 164, and 165, respectively). The heavy chain constant region is shown in lower case italics with the double mutation (L234A G237A) shown in bold lowercase underlined text (SEQ ID NO: 197).

QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCAVSGYSISSGYYWGWIRQPPGKGL
EWIGSISHTGNTYYNPPLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTA
VYYCARFMGFGRPEYWGQGTLVTVSS*astkgpsvfplapsskstsg*
gtaalgclvkdyfpepvtvswnsgaltsgvhtfpavlqssglysls
svvtvpsssl gtqtyicnvnhkpsntkvdkkvepkscdkthtcppc
papealgapsvflfppkpkdtlmisrtpevtcvvvdvshedpevkf
nwyvdgvevhnaktkpreeqynstyrvvsvltvlhqdwlngkeykc
kvsnkalpapiektiskakgqprepqvytlppsreemtknqvsltc
lvkgfypsdiavewesngqpennykttppvldsdgsfflyskltvd
ksrwqqgnvfscsvmhealhnhytqkslslspgk

Light chain for **AbR** (SEQ. ID NO:216), with CDRs L1, L2, and L3 underlined (SEQ. ID NOs:194, 195, and 187, respectively). The constant lambda light chain sequence is indicated by lower-case italics (SEQ. ID. NO:198).

SSELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDSLRTYYASWYQQKPGQAPVLV
IYGKHKRPSGIPDRFSGSSSGNTASLTITGAQAEDEADYYCVTRSV
KGNPHVLFGGGTQLTVL*gqpkaapsvtlfppsseelqankatlvcl*
isdfypgavtvawkadsspvkagvetttpskqsnnkyaassylslt
peqwkshrsyscqvthegstvektvaptecs

SEQ ID NO:213 is the full-length heavy chain for **AbR:**

QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCAVSGYSISSGYYWGWIRQPPGKGL
EWIGSISHTGNTYYNPPLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTA
VYYCARFMGFGRPEYWGQGTLVTVSS*astkgpsvfplapsskstsg*
gtaalgclvkdyfpepvtvswnsgaltsgvhtfpavlqssglysls
svvtvpsssl gtqtyicnvnhkpsntkvdkkvepkscdkthtcppc
papealgapsvflfppkpkdtlmisrtpevtcvvvdvshedpevkf
nwyvdgvevhnaktkpreeqynstyrvvsvltvlhqdwlngkeykc
kvsnkalpapiektiskakgqprepqvytlppsreemtknqvsltc
lvkgfypsdiavewesngqpennykttppvldsdgsfflyskltvd
ksrwqqgnvfscsvmhealhnhytqkslslspgk

q2

Figure 18b

SEQ ID NO:14 is the V_H portion of the full-length heavy chain:

QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCAVSGYSISSGYYWGWIRQPPGKGL
EWIGSISHTGNTYYNPPLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTA
VYYCARFMGFGRPEYWGQGTLVTVSS

SEQ ID NO:163 is the CDR H1 portion of the V_H portion of the full-length heavy chain:

SGYYWG

SEQ ID NO:164 is the CDR H2 portion of the V_H portion of the full-length heavy chain:

SISHTGNTYYNPPLKS

SEQ ID NO:165 is the CDR H3 portion of the V_H portion of the full-length heavy chain:

FMGFGRPEY

SEQ ID NO:197 is the heavy chain constant region with the double mutation (L234A G237A) shown in bold lowercase underlined text:

astkgpsvfplapsskstsggtaalgclvkdyfpepvtvswnsgal
tsgvhtfpavlqssglyslssvvtvpsssl gtqtyicnvnhkpsnt
*kvdkkvepkscdkthtcppcpape**a**l g**a**psvflfppkpkdtlmisr*
tpevtcvvvdvshedpevkfnwyvdgvevhnaktkpreeqynstyr
vvsvltvlhqdwlngkeykckvsnkalpapiektiskakgqprepq
vytlppsreemtknqvsltclvkgfypsdiavewesngqpennykt
tppvldsdgsfflyskltvdksrwqqgnvfscsvmhealhnhytqk
slslspgk

SEQ ID NO:216 is the full-length light chain for **AbR:**

SSELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDSLRTYYASWYQQKPGQAPVLV
IYGKHKRPSGIPDRFSGSSSGNTASLTITGAQAEDEADYYCVTRSV
KGNPHVLFGGGTQLTVL*gqpkaapsvtlfppsseelqankatlvcl*
isdfypgavtvawkadsspvkagvetttpskqsnnkyaassylslt
peqwkshrsyscqvthegstvektvaptecs

Figure 18c

SEQ ID NO:217 is the V_L portion of the full-length light chain:

SSELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDSLRTYYASWYQQKPGQAPVLV
IYGKHKRPSGIPDRFSGSSSGNTASLTITGAQAEDEADYYCVTRSV
KGNPHVLFGGGTQLTVL

SEQ ID NO:194 is the CDR L1 portion of the V_L portion of the full-length light chain:

QGDSLRTYYAS

SEQ ID NO:195 is the CDR L2 portion of the V_L portion of the full-length light chain:

GKHKRPS

SEQ ID NO:187 is the CDR L3 portion of the V_L portion of the full-length light chain:

VTRSVKGNPHVL

SEQ ID NO:198 is the lambda light chain constant region

gqpkaapsvtlfppsseelqankatlvclisdfypgavtvawkads
spvkagvetttpskqsnnkyaassylsltpeqwkshrsyscqvthe
gstvektvaptecs

Figure 19a

AbW:

Heavy chain for **AbW** (SEQ ID NO:218), with CDRs H1, H2, and H3 underlined (SEQ ID NOs:163, 164, and 165, respectively). The heavy chain constant region is shown in lower case italics with the triple mutation (L234A L235A G237A) shown in bold lowercase underlined text (SEQ ID NO:196).

QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCAVSGYSISSGYYWGWIRQPPGKGL
EWIGSISHTGNTYYNPPLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTA
VYYCARFMGFGRPEYWGQGTLVTVSS*astkgpsvfplapsskstsg*
gtaalgclvkdyfpepvtvswnsgaltsgvhtfpavlqssglysls
svvtvpsslgtqtyicnvnhkpsntkvdkkvepkscdkthtcppc
papeaagapsvflfppkpkdtlmisrtpevtcvvvdvshedpevkf
nwyvdgvevhnaktkpreeqynstyrvvsvltvlhqdwlngkeykc
kvsnkalpapiektiskakgqprepqvytlppsreemtknqvsltc
lvkgfypsdiavewesngqpennykttppvldsdgsfflyskltvd
ksrwqqgnvfscsvmhealhnhytqkslslspgk

Light chain for **AbW** (SEQ ID NO:216), with CDRs L1, L2, and L3 underlined (SEQ ID NOs:194, 195, and 187, respectively). The constant lambda light chain sequence is indicated by lower-case italics (SEQ ID NO:198).

SSELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDSLRTYYASWYQQKPGQAPVLV
IYGKHKRPSGIPDRFSGSSSGNTASLTITGAQAEDEADYYCVTRSV
KGNPHVLFGGGTQLTVL*gqpkaapsvtlfppsseelqankatlvcl*
isdfypgavtvawkadsspvkagvetttpskqsnnkyaassylslt
peqwkshrsyscqvthegstvektvaptecs

SEQ ID NO:218 is the full-length heavy chain for **AbW:**

QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCAVSGYSISSGYYWGWIRQPPGKGL
EWIGSISHTGNTYYNPPLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTA
VYYCARFMGFGRPEYWGQGTLVTVSS*astkgpsvfplapsskstsg*
gtaalgclvkdyfpepvtvswnsgaltsgvhtfpavlqssglysls
svvtvpsslgtqtyicnvnhkpsntkvdkkvepkscdkthtcppc
papeaagapsvflfppkpkdtlmisrtpevtcvvvdvshedpevkf
nwyvdgvevhnaktkpreeqynstyrvvsvltvlhqdwlngkeykc
kvsnkalpapiektiskakgqprepqvytlppsreemtknqvsltc
lvkgfypsdiavewesngqpennykttppvldsdgsfflyskltvd
ksrwqqgnvfscsvmhealhnhytqkslslspgk

Figure 19b

SEQ ID NO:14 is the V_H portion of the full-length heavy chain:

QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCAVSGYSISSGYYWGWIRQPPGKGL
EWIGSISHTGNTYYNPPLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTA
VYYCARFMGFGRPEYWGQGTLVTVSS

SEQ ID NO:163 is the CDR H1 portion of the V_H portion of the full-length heavy chain:

SGYYWG

SEQ ID NO:164 is the CDR H2 portion of the V_H portion of the full-length heavy chain:

SISHTGNTYYNPPLKS

SEQ ID NO:165 is the CDR H3 portion of the V_H portion of the full-length heavy chain:

FMGFGRPEY

SEQ ID NO:196 is the heavy chain constant region with the triple mutation (L234A L235A G237A) shown in bold lowercase underlined text:

astkgpsvfplapsskstsggtaalgclvkdyfpepvtvswnsgal
*tsgvhtfpavlqssglyslssvvtvpsssl**gtqtyicnvnhkpsnt***
*kvdkkvepkscdkthtcppcpape**aa**g**a**psvflfppkpkdtlmisr*
tpevtcvvvdvshedpevkfnwyvdgvevhnaktkpreeqynstyr
vvsvltvlhqdwlngkeykckvsnkalpapiektiskakgqprepq
vytlppsreemtknqvsltclvkgfypsdiavewesngqpennykt
tppvldsdgsfflyskltvdksrwqqgnvfscsvmhealhnhytqk
slslspgk

SEQ ID NO:216 is the full-length light chain for **AbW:**

SSELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDSLRTYYASWYQQKPGQAPVLV
IYGKHKRPSGIPDRFSGSSSGNTASLTITGAQAEDEADYYCVTRSV
KGNPHVLFGGGTQLTVL*gqpkaapsvtlfppsseelqankatlvcl*
isdfypgavtvawkadsspvkagvetttpskqsnnkyaassylslt
peqwkshrsyscqvthegstvektvaptecs

Figure 19c

SEQ ID NO:217 is V_L portion of the full-length light chain:

SSELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDSLRTYYASWYQQKPGQAPVLV
IYGKHKRPSGIPDRFSGSSSGNTASLTITGAQAEDEADYYCVTRSV
KGNPHVLFGGGTQLTVL

SEQ ID NO:194 is the CDR L1 portion of the V_L portion of the full-length light chain:

QGDSLRTYYAS

SEQ ID NO:195 is the CDR L2 portion of the V_L portion of the full-length light chain:

GKHKRPS

SEQ ID NO:187 is the CDR L3 portion of the V_L portion of the full-length light chain:

VTRSVKGNPHVL

SEQ ID NO:198 is the lambda light chain constant region

gqpkaapsvtlfppsseelqankatlvclisdfypgavtvawkads
spvkagvetttpskqsnnkyaassylsltpeqwkshrsyscqvthe
gstvektvaptecs

Figure 20a

AbS:

Heavy chain for **AbS** (SEQ ID NO:219), with CDRs H1, H2, and H3 underlined (SEQ ID NOs:163, 164, and 169, respectively). The heavy chain constant region is shown in lower case italics with the triple mutation (L234A L235A G237A) shown in bold lowercase underlined text (SEQ ID NO:196).

QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCAVSGYSISSGYYWGWIRQPPGKGL
EWIGSISHTGNTYYNPPLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTA
VYYCARGGGISRPEYWGQGTLVTVSS*astkgpsvfplapsskstsg*
gtaalgclvkdyfpepvtvswnsgaltsgvhtfpavlqssglysls
svvtvpsssslgtqtyicnvnhkpsntkvdkkvepkscdkthtcppc
papeaagapsvflfppkpkdtlmisrtpevtcvvvdvshedpevkf
nwyvdgvevhnaktkpreeqynstyrvvsvltvlhqdwlngkeykc
kvsnkalpapiektiskakgqprepqvytlppsreemtknqvsltc
lvkgfypsdiavewesngqpennyktppvldsdgsfflyskltvd
ksrwqqgnvfscsvmhealhnhytqkslslspgk

Light chain for **AbS** (SEQ ID NO:220), with CDRs L1, L2, and L3 underlined (SEQ ID NOs:194, 195, and 176, respectively). The constant lambda light chain sequence is indicated by lower-case italics (SEQ ID NO:198).

SSELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDSLRTYYASWYQQKPGQAPVLV
IYGKHKRPSGIPDRFSGSSSGNTASLTITGAQAEDEADYYCMSRSI
WGNPHVLFGGGTQLTVL*gqpkaapsvtlfppsseelqankatlvcl*
isdfypgavtvawkadsspvkagvetttpskqsnnkyaassylslt
peqwkshrsyscqvthegstvektvaptecs

SEQ ID NO:219 is the full-length heavy chain for **AbS:**

QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCAVSGYSISSGYYWGWIRQPPGKGL
EWIGSISHTGNTYYNPPLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTA
VYYCARGGGISRPEYWGQGTLVTVSS*astkgpsvfplapsskstsg*
gtaalgclvkdyfpepvtvswnsgaltsgvhtfpavlqssglysls
svvtvpsssslgtqtyicnvnhkpsntkvdkkvepkscdkthtcppc
papeaagapsvflfppkpkdtlmisrtpevtcvvvdvshedpevkf
nwyvdgvevhnaktkpreeqynstyrvvsvltvlhqdwlngkeykc
kvsnkalpapiektiskakgqprepqvytlppsreemtknqvsltc
lvkgfypsdiavewesngqpennyktppvldsdgsfflyskltvd
ksrwqqgnvfscsvmhealhnhytqkslslspgk

Figure 20b

SEQ ID NO:6 is the V_H portion of the full-length heavy chain:

QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCAVSGYSISSGYYWGWIRQPPGKGL
EWIGSISHTGNTYYNPPLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTA
VYYCARGGGISRPEYWGQGTLVTVSS

SEQ ID NO:163 is the CDR H1 portion of the V_H portion of the full-length heavy chain:

SGYYWG

SEQ ID NO:164 is the CDR H2 portion of the V_H portion of the full-length heavy chain:

SISHTGNTYYNPPLKS

SEQ ID NO:169 is the CDR H3 portion of the V_H portion of the full-length heavy chain:

GGGISRPEY

SEQ ID NO:196 is the heavy chain constant region with the triple mutation (L234A L235A G237A) shown in bold lowercase underlined text:

astkgpsvfplapsskstsggtaalgclvkdyfpepvtvswnsgal
tsgvhtfpavlqssglyslssvvtvpsssl gtqtyicnvnhkpsnt
*kvdkkvepkscdkthtcppcpape**aa**g**a**psvflfppkpkdtlmisr*
tpevtcvvvdvshedpevkfnwyvdgvevhnaktkpreeqynstyr
vvsvltvlhqdwlngkeykckvsnkalpapiektiskakgqprepq
vytlppsreemtknqvsltclvkgfypsdiavewesngqpennykt
tppvldsdgsfflyskltvdksrwqqgnvfscsvmhealhnhytqk
slslspgk

SEQ ID NO:220 is the full-length light chain for **AbS:**

SSELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDSLRTYYASWYQQKPGQAPVLV
IYGKHKRPSGIPDRFSGSSSGNTASLTITGAQAEDEADYYCMSRSI
WGNPHVLFGGGTQLTVL*gqpkaapsvtlfppsseelqankatlvcl*
isdfypgavtvawkadsspvkagvetttpskqsnnkyaassylslt
peqwkshrsyscqvthegstvektvaptecs

Figure 20c

SEQ ID NO:221 is the V_L portion of the full-length light chain:

SSELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDSLRTYYASWYQQKPGQAPVLV
IYGKHKRPSGIPDRFSGSSSGNTASLTITGAQAEDEADYYCMSRSI
WGNPHVLFGGGTQLTVL

SEQ ID NO:194 is the CDR L1 portion of the V_L portion of the full-length light chain:

QGDSLRTYYAS

SEQ ID NO:195 is the CDR L2 portion of the V_L portion of the full-length light chain:

GKHKRPS

SEQ ID NO:176 is the CDR L3 portion of the V_L portion of the full-length light chain:

MSRSIWGNPHVL

SEQ ID NO:198 is the lambda light chain constant region:

gqpkaapsvtlfppsseelqankatlvclisdfypgavtvawkads
spvkagvetttpskqsnnkyaassylsltpeqwkshrsyscqvthe
gstvektvaptecs

96

Figure 21a

AbT:

Heavy chain for **AbT** (SEQ ID NO:219), with CDRs H1, H2, and H3 underlined (SEQ ID NOs:163, 164, and 169, respectively). The heavy chain constant region is shown in lower case italics with the triple mutation (L234A L235A G237A) shown in bold lowercase underlined text (SEQ ID NO:196).

QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCAVSGYSISSGYYWGWIRQPPGKGL
EWIGSISHTGNTYYNPPLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTA
VYYCARGGGISRPEYWGQGTLVTVSS*astkgpsvfplapsskstsg*
gtaalgclvkdyfpepvtvswnsgaltsgvhtfpavlqssglysls
svvtvpsssl gtqtyicnvnhkpsntkvdkkvepkscdkthtcppc
papeaagapsvflfppkpkdtlmisrtpevtcvvvdvshedpevkf
nwyvdgvevhnaktkpreeqynstyrvvsvltvlhqdwlngkeykc
kvsnkalpapiektiskakgqprepqvytlppsreemtknqvsltc
lvkgfypsdiavewesngqpennyk ttppvldsdgsfflyskltvd
ksrwqqgnvfscsvmhealhnhytqkslslspgk

Light chain for **AbT** (SEQ ID NO:222), with CDRs L1, L2, and L3 underlined (SEQ ID NOs:194, 195, and 178, respectively). The constant lambda light chain sequence is indicated by lower-case italics (SEQ ID NO:198).

SSELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDSLRTYYASWYQQKPGQAPVLV
IYGKHKRPSGIPDRFSGSSSGNTASLTITGAQAEDEADYYCVARSN
KGNPHVLFGGGTQLTVL*gqpkaapsvtlfppsseelqankatlvcl*
isdfypgavtvawkadsspvkagvetttpskqsnnkyaassylslt
peqwkshrsyscqvthegstvektvaptecs

SEQ ID NO:219 is the full-length heavy chain for **AbT:**

QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCAVSGYSISSGYYWGWIRQPPGKGL
EWIGSISHTGNTYYNPPLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTA
VYYCARGGGISRPEYWGQGTLVTVSS*astkgpsvfplapsskstsg*
gtaalgclvkdyfpepvtvswnsgaltsgvhtfpavlqssglysls
svvtvpsssl gtqtyicnvnhkpsntkvdkkvepkscdkthtcppc
papeaagapsvflfppkpkdtlmisrtpevtcvvvdvshedpevkf
nwyvdgvevhnaktkpreeqynstyrvvsvltvlhqdwlngkeykc
kvsnkalpapiektiskakgqprepqvytlppsreemtknqvsltc
lvkgfypsdiavewesngqpennyk ttppvldsdgsfflyskltvd
ksrwqqgnvfscsvmhealhnhytqkslslspgk

Figure 21b

SEQ ID NO:6 is the V_H portion of full-length heavy chain:

QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCAVSGYSISSGYYWGWIRQPPGKGL
EWIGSISHTGNTYYNPPLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTA
VYYCARGGGISRPEYWGQGTLVTVSS

SEQ ID NO:163 is the CDR H1 portion of the V_H portion of full-length heavy chain:

SGYYWG

SEQ ID NO:164 is the CDR H2 portion of the V_H portion of full-length heavy chain:

SISHTGNTYYNPPLKS

SEQ ID NO:169 is the CDR H3 portion of the V_H portion of full-length heavy chain:

GGGISRPEY

SEQ ID NO:196 is the heavy chain constant region with the triple mutation (L234A L235A G237A) shown in bold lowercase underlined text:

astkgpsvfplapsskstsggtaalgclvkdyfpepvtvswnsgal
tsgvhtfpavlqssglyslssvvtvpsssl gtqtyicnvnhkpsnt
*kvdkkvepkscdkthtcppcpape**aa**g**a**psvflfppkpkdtlmisr*
tpevtcvvvdvshedpevkfnwyvdgvevhnaktkpreeqynstyr
vvsvltvlhqdwlngkeykckvsnkalpapiektiskakgqprepq
vytlppsreemtknqvsltclvkgfypsdiavewesngqpennykt
tppvldsdgsfflyskltvdksrwqqgnvfscsvmhealhnhytqk
slslspgk

SEQ ID NO:222 is the full-length light chain for **AbT:**

SSELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDSLRTYYASWYQQKPGQAPVLV
IYGKHKRPSGIPDRFSGSSSGNTASLTITGAQAEDEADYYCVARSN
KGNPHVLFGGGTQLTVL*gqpkaapsvtlfppsseelqankatlvcl*
isdfypgavtvawkadsspvkagvetttpskqsnnkyaassylslt
peqwkshrsyscqvthegstvektvaptecs

Figure 21c

SEQ ID NO:223 is the V_L portion of the full-length light chain:

SSELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDSLRTYYASWYQQKPGQAPVLV
IYGKHKRPSGIPDRFSGSSSGNTASLTITGAQAEDEADYYCVARSN
KGNPHVLFGGGTQLTVL

SEQ ID NO:194 is the CDR L1 portion of the V_L portion of the full-length light chain:

QGDSLRTYYAS

SEQ ID NO:195 is the CDR L2 portion of the V_L portion of the full-length light chain:

GKHKRPS

SEQ ID NO:178 is the CDR L3 portion of the V_L portion of the full-length light chain:

VARSNKGNPHVL

SEQ ID NO:198 is the lambda light chain constant region:

gqpkaapsvtlfppsseelqankatlvclisdfypgavtvawkads
spvkagvetttpskqsnnkyaassylsltpeqwkshrsyscqvthe
gstvektvaptecs

Figure 22a

AbO:

Heavy chain for **AbO** (SEQ ID NO:219), with CDRs H1, H2, and H3 underlined (SEQ ID NOs:163, 164, and 169, respectively). The heavy chain constant region is shown in lower case italics with the triple mutation (L234A L235A G237A) shown in bold lowercase underlined text (SEQ ID NO:196).

QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCAVSGYSISSGYYWGWIRQPPGKGL
EWIGSISHTGNTYYNPPLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTA
VYYCARGGGISRPEYWGQGTLVTVSS*astkgpsvfplapsskstsg*
gtaalgclvkdyfpepvtvswnsgaltsgvhtfpavlqssglysls
svvtvpsssslgtqtyicnvnhkpsntkvdkkvepkscdkthtcppc
papeaagapsvflfppkpkdtlmisrtpevtcvvvdvshedpevkf
nwyvdgvevhnaktkpreeqynstyrvvsvltvlhqdwlngkeykc
kvsnkalpapiektiskakgqprepqvytlppsreemtknqvsltc
lvkgfypsdiavewesngqpennykttppvldsdgsfflyskltvd
ksrwqqgnvfscsvmhealhnhytqkslslspgk

Light chain for **AbO** (SEQ ID NO:224), with CDRs L1, L2, and L3 underlined (SEQ ID NOs:194, 195, and 185, respectively). The constant lambda light chain sequence is indicated by lower-case italics (SEQ ID NO:198).

SSELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDSLRTYYASWYQQKPGQAPVLV
IYGKHKRPSGIPDRFSGSSSGNTASLTITGAQAEDEADYYCVTRSA
KGNPHVLFGGGTQLTVL*gqpkaapsvtlfppsseelqankatlvcl*
isdfypgavtvawkadsspvkagvetttpskqsnnkyaassylslt
peqwkshrsyscqvthegstvektvaptecs

SEQ ID NO:219 is the full-length heavy chain for **AbO:**

QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCAVSGYSISSGYYWGWIRQPPGKGL
EWIGSISHTGNTYYNPPLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTA
VYYCARGGGISRPEYWGQGTLVTVSS*astkgpsvfplapsskstsg*
gtaalgclvkdyfpepvtvswnsgaltsgvhtfpavlqssglysls
svvtvpsssslgtqtyicnvnhkpsntkvdkkvepkscdkthtcppc
papeaagapsvflfppkpkdtlmisrtpevtcvvvdvshedpevkf
nwyvdgvevhnaktkpreeqynstyrvvsvltvlhqdwlngkeykc
kvsnkalpapiektiskakgqprepqvytlppsreemtknqvsltc
lvkgfypsdiavewesngqpennykttppvldsdgsfflyskltvd
ksrwqqgnvfscsvmhealhnhytqkslslspgk

Figure 22b

SEQ ID NO:6 is the V_H portion of full-length heavy chain:

QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCAVSGYSISSGYYWGWIRQPPGKGL
EWIGSISHTGNTYYNPPLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTA
VYYCARGGGISRPEYWGQGTLVTVSS

SEQ ID NO:163 is the CDR H1 portion of the V_H portion of full-length heavy chain:

SGYYWG

SEQ ID NO:164 is the CDR H2 portion of the V_H portion of full-length heavy chain:

SISHTGNTYYNPPLKS

SEQ ID NO:169 is the CDR H3 portion of the V_H portion of full-length heavy chain:

GGGISRPEY

SEQ ID NO:196 is the heavy chain constant region with the triple mutation (L234A L235A G237A) shown in bold lowercase underlined text:

astkgpsvfplapsskstsggtaalgclvkdyfpepvtvswnsgal
tsgvhtfpavlqssglyslssvvtvpsssl gtqtyicnvnhkpsnt
kvdkkvepkscdkthtcppcpape**aa**g**a**psvflfppkpkdtlmisr
tpevtcvvvdvshedpevkfnwyvdgvevhnaktkpreeqynstyr
vvsvltvlhqdwlngkeykckvsnkalpapiektiskakgqprepq
vytlppsreemtknqvsltclvkgfypsdiavewesngqpennykt
tppvldsdgsfflyskltvdksrwqqgnvfscsvmhealhnhytqk
slslspgk

SEQ ID NO:224 is the full-length light chain for **AbO:**

SSELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDSLRTYYASWYQQKPGQAPVLV
IYGKHKRPSGIPDRFSGSSSGNTASLTITGAQAEDEADYYCVTRSA
KGNPHVLFGGGTQLTVLgqpkaapsvtlfppsseelqankatlvcl
isdfypgavtvawkadsspvkagvetttpskqsnnkyaassylslt
peqwkshrsyscqvthegstvektvaptecs

Figure 22c

SEQ ID NO:225 is the V_L portion of the full-length light chain:

SSELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDSLRTYYASWYQQKPGQAPVLV
IYGKHKRPSGIPDRFSGSSSGNTASLTITGAQAEDEADYYCVTRSA
KGNPHVLFGGGTQLTVL

SEQ ID NO:194 is the CDR L1 portion of the V_L portion of the full-length light chain:

QGDSLRTYYAS

SEQ ID NO:195 is the CDR L2 portion of the V_L portion of the full-length light chain:

GKHKRPS

SEQ ID NO:185 is the CDR L3 portion of the V_L portion of the full-length light chain:

VTRSAKGNPHVL

SEQ ID NO:198 is the lambda light chain constant region:

gqpkaapsvtlfppsseelqankatlvclisdfypgavtvawkads
spvkagvetttpskqsnnkyaassylsltpeqwkshrsyscqvthe
gstvektvaptecs

Figure 23a

AbP:

Heavy chain for **AbP** (SEQ ID NO:219), with CDRs H1, H2, and H3 underlined (SEQ ID NOs:163, 164, and 169, respectively). The heavy chain constant region is shown in lower case italics with the triple mutation (L234A L235A G237A) shown in bold lowercase underlined text (SEQ ID NO:196).

QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCAVSGYSISSGYYWGWIRQPPGKGL
EWIGSISHTGNTYYNPPLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTA
VYYCARGGGISRPEYWGQGTLVTVSS*astkgpsvfplapsskstsg*
gtaalgclvkdyfpepvtvswnsgaltsgvhtfpavlqssglysls
svvtvpsssl gtqtyicnvnhkpsntkvdkkvepkscdkthtcppc
papeaagapsvflfppkpkdtlmisrtpevtcvvvdvshedpevkf
nwyvdgvevhnaktkpreeqynstyrvvsvltvlhqdwlngkeykc
kvsnkalpapiektiskakgqprepqvytlppsreemtknqvsltc
lvkgfypsdiavewesngqpennykttppvldsdgsfflyskltvd
ksrwqqgnvfscsvmhealhnhytqkslslspgk

Light chain for **AbP** (SEQ ID NO:226), with CDRs L1, L2, and L3 underlined (SEQ ID NOs:194, 195, and 189, respectively). The constant lambda light chain sequence is indicated by lower-case italics (SEQ ID NO:198).

SSELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDSLRTYYASWYQQKPGQAPVLV
IYGKHKRPSGIPDRFSGSSSGNTASLTITGAQAEDEADYYCVSRSA
KGNPHVLFGGGTQLTVL*gqpkaapsvtlfppsseelqankatlvcl*
isdfypgavtvawkadsspvkagvetttpskqsnnkyaassylslt
peqwkshrsyscqvthegstvektvaptecs

SEQ ID NO:219 is the full-length heavy chain for **AbP:**

QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCAVSGYSISSGYYWGWIRQPPGKGL
EWIGSISHTGNTYYNPPLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTA
VYYCARGGGISRPEYWGQGTLVTVSS*astkgpsvfplapsskstsg*
gtaalgclvkdyfpepvtvswnsgaltsgvhtfpavlqssglysls
svvtvpsssl gtqtyicnvnhkpsntkvdkkvepkscdkthtcppc
papeaagapsvflfppkpkdtlmisrtpevtcvvvdvshedpevkf
nwyvdgvevhnaktkpreeqynstyrvvsvltvlhqdwlngkeykc
kvsnkalpapiektiskakgqprepqvytlppsreemtknqvsltc
lvkgfypsdiavewesngqpennykttppvldsdgsfflyskltvd
ksrwqqgnvfscsvmhealhnhytqkslslspgk

Figure 23b

SEQ ID NO:6 is the V_H portion of full-length heavy chain:

QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCAVSGYSISSGYYWGWIRQPPGKGL
EWIGSISHTGNTYYNPPLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTA
VYYCARGGGISRPEYWGQGTLVTVSS

SEQ ID NO:163 is the CDR H1 portion of the V_H portion of full-length heavy chain:

SGYYWG

SEQ ID NO:164 is the CDR H2 portion of the V_H portion of full-length heavy chain:

SISHTGNTYYNPPLKS

SEQ ID NO:169 is the CDR H3 portion of the V_H portion of full-length heavy chain:

GGGISRPEY

SEQ ID NO:196 is the heavy chain constant region with the triple mutation (L234A L235A G237A) shown in bold lowercase underlined text:

astkgpsvfplapsskstsggtaalgclvkdyfpepvtvswnsgal
tsgvhtfpavlqssglyslssvvtvpsssl gtqtyicnvnhkpsnt
kvdkkvepkscdkthtcppcpape**aa**g**a**psvflfppkpkdtlmisr
tpevtcvvvdvshedpevkfnwyvdgvevhnaktkpreeqynstyr
vvsvltvlhqdwlngkeykckvsnkalpapiektiskakgqprepq
vytlppsreemtknqvsltclvkgfypsdiavewesngqpennykt
tppvldsdgsfflyskltvdksrwqqgnvfscsvmhealhnhytqk
slslspgk

SEQ ID NO:226 is the full-length light chain for **AbP:**

SSELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDSLRTYYASWYQQKPGQAPVLV
IYGKHKRPSGIPDRFSGSSSGNTASLTITGAQAEDEADYYCVSRSA
KGNPHVLFGGGTQLTVLgqpkaapsvtlfppsseelqankatlvcl
isdfypgavtvawkadsspvkagvetttpskqsnnkyaassylslt
peqwkshrsyscqvthegstvektvaptecs

Figure 23c

SEQ ID NO:227 is the V_L portion of the full-length light chain:

SSELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDSLRTYYASWYQQKPGQAPVLV
IYGKHKRPSGIPDRFSGSSSGNTASLTITGAQAEDEADYYCVSRSA
KGNPHVLFGGGTQLTVL

SEQ ID NO:194 is the CDR L1 portion of the V_L portion of the full-length light chain:

QGDSLRTYYAS

SEQ ID NO:195 is the CDR L2 portion of the V_L portion of the full-length light chain:

GKHKRPS

SEQ ID NO:189 is the CDR L3 portion of the V_L portion of the full-length light chain:

VSRSAKGNPHVL

SEQ ID NO:198 is the lambda light chain constant region:

gqpkaapsvtlfppsseelqankatlvclisdfypgavtvawkads
spvkagvetttpskqsnnkyaassylsltpeqwkshrsyscqvthe
gstvektvaptecs

Figure 24a

AbU:

Heavy chain for **AbU** (SEQ ID NO:219), with CDRs H1, H2, and H3 underlined (SEQ ID NOs:163, 164, and 169, respectively). The heavy chain constant region is shown in lower case italics with the triple mutation (L234A L235A G237A) shown in bold lowercase underlined text (SEQ ID NO:196).

QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCAVSGYSISSGYYWGWIRQPPGKGL
EWIGSISHTGNTYYNPPLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTA
VYYCARGGGISRPEYWGQGTLVTVSS*astkgpsvfplapsskstsg*
gtaalgclvkdyfpepvtvswnsgaltsgvhtfpavlqssglysls
svvtvpsslgtqtyicnvnhkpsntkvdkkvepkscdkthtcppc
papeaagapsvflfppkpkdtlmisrtpevtcvvvdvshedpevkf
nwyvdgvevhnaktkpreeqynstyrvvsvltvlhqdwlngkeykc
kvsnkalpapiektiskakgqprepqvytlppsreemtknqvsltc
lvkgfypsdiavewesngqpennykttppvldsdgsfflysk1tvd
ksrwqqgnvfscsvmhealhnhytqkslslspgk

Light chain for **AbU** (SEQ ID NO:228), with CDRs L1, L2, and L3 underlined (SEQ ID NOs:194, 195, and 193, respectively). The constant lambda light chain sequence is indicated by lower-case italics (SEQ ID NO:198).

SSELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDSLRTYYASWYQQKPGQAPVLV
IYGKHKRPSGIPDRFSGSSSGNTASLTITGAQAEDEADYYCTTRSN
KGNPHVLFGGGTQLTVL*gqpkaapsvtlfppsseelqankatlvcl*
isdfypgavtvawkadsspvkagvetttpskqsnnkyaassylslt
peqwkshrsyscqvthegstvektvaptecs

SEQ ID NO:219 is the full-length heavy chain for **AbU:**

QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCAVSGYSISSGYYWGWIRQPPGKGL
EWIGSISHTGNTYYNPPLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTA
VYYCARGGGISRPEYWGQGTLVTVSS*astkgpsvfplapsskstsg*
gtaalgclvkdyfpepvtvswnsgaltsgvhtfpavlqssglysls
svvtvpsslgtqtyicnvnhkpsntkvdkkvepkscdkthtcppc
papeaagapsvflfppkpkdtlmisrtpevtcvvvdvshedpevkf
nwyvdgvevhnaktkpreeqynstyrvvsvltvlhqdwlngkeykc
kvsnkalpapiektiskakgqprepqvytlppsreemtknqvsltc
lvkgfypsdiavewesngqpennykttppvldsdgsfflysk1tvd
ksrwqqgnvfscsvmhealhnhytqkslslspgk

101

Figure 24b

SEQ ID NO:6 is the V_H portion of full-length heavy chain:

QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCAVSGYSISSGYYWGWIRQPPGKGL
EWIGSISHTGNTYYNPPLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTA
VYYCARGGGISRPEYWGQGTLVTVSS

SEQ ID NO:163 is the CDR H1 portion of the V_H portion of full-length heavy chain:

SGYYWG

SEQ ID NO:164 is the CDR H2 portion of the V_H portion of full-length heavy chain:

SISHTGNTYYNPPLKS

SEQ ID NO:169 is the CDR H3 portion of the V_H portion of full-length heavy chain:

GGGISRPEY

SEQ ID NO:196 is the heavy chain constant region with the triple mutation (L234A L235A G237A) shown in bold lowercase underlined text:

astkgpsvfplapsskstsggtaalgclvkdyfpepvtvswnsgal
*tsgvhtfpavlqssglyslssvvtvpsssl*gtqtyicnvnhkpsnt
*kvdkkvepkscdkthtcppcpape***aa***g***a***psvflfppkpkdtlmisr*
tpevtcvvvdvshedpevkfnwyvdgvevhnaktkpreeqynstyr
vvsvltvlhqdwlngkeykckvsnkalpapiektiskakgqprepq
vytlppsreemtknqvsltclvkgfypsdiavewesngqpennykt
tppvldsdgsfflyskltvdksrwqqgnvfscsvmhealhnhytqk
slslspgk

SEQ ID NO:228 is the full-length light chain for **AbU:**

SSELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDSLRTYYASWYQQKPGQAPVLV
IYGKHKRPSGIPDRFSGSSSGNTASLTITGAQAEDEADYYCTTRSN
KGNPHVLFGGGTQLTVL*gqpkaapsvtlfppsseelqankatlvcl*
isdfypgavtvawkadsspvkagvetttpskqsnnkyaassylslt
peqwkshrsyscqvthegstvektvaptecs

Figure 24c

SEQ ID NO:229 is the V_L portion of the full-length light chain:

SSELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDSLRTYYASWYQQKPGQAPVLV
IYGKHKRPSGIPDRFSGSSSGNTASLTITGAQAEDEADYYCTTRSN
KGNPHVLFGGGTQLTVL

SEQ ID NO:194 is the CDR L1 portion of the V_L portion of the full-length light chain:

QGDSLRTYYAS

SEQ ID NO:195 is the CDR L2 portion of the V_L portion of the full-length light chain:

GKHKRPS

SEQ ID NO:193 is the CDR L3 portion of the V_L portion of the full-length light chain:

TTRSNKGNPHVL

SEQ ID NO:198 is the lambda light chain constant region:

gqpkaapsvtlfppsseelqankatlvclisdfypgavtvawkads
spvkagvetttpskqsnnkyaassylsltpeqwkshrsyscqvthe
gstvektvaptecs

102

Figure 25a

AbV:

Heavy chain for **AbV** (SEQ ID NO:218), with CDRs H1, H2, and H3 underlined (SEQ ID NOs:163, 164, and 165, respectively). The heavy chain constant region is shown in lower case italics with the triple mutation (L234A L235A G237A) shown in bold lowercase underlined text (SEQ ID NO:196).

QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCAVSGYSISSGYYWGWIRQPPGKGL
EWIGSISHTGNTYYNPPLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTA
VYYCARFMGFGRPEYWGQGTLVTVSS*astkgpsvfplapsskstsg*
gtaalgclvkdyfpepvtvswnsgaltsgvhtfpavlqssglysls
svvtvpsslgtqtyicnvnhkpsntkvdkkvepkscdkthtcppc
papeaagapsvflfppkpkdtlmisrtpevtcvvvdvshedpevkf
nwyvdgvevhnaktkpreeqynstyrvvsvltvlhqdwlngkeykc
kvsnkalpapiektiskakgqprepqvytlppsreemtknqvsltc
lvkgfypsdiavewesngqpennyktppvldsdgsfflyskltvd
ksrwqqgnvfscsvmhealhnhytqkslslspgkk

Light chain for **AbV** (SEQ ID NO:214), with CDRs L1, L2, and L3 underlined (SEQ ID NOs:194, 195, and 172, respectively). The constant lambda light chain sequence is indicated by lower-case italics (SEQ ID NO:198).

SSELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDSLRTYYASWYQQKPGQAPVLV
IYGKHKRPSGIPDRFSGSSSGNTASLTITGAQAEDEADYYCVARSV
VGNPHVLFGGGTQLTVL*gqpkaapsvtlfppsseelqankatlvcl*
isdfypgavtvawkadsspvkagvetttpskqsnnkyaassylslt
peqwkshrsyscqvthegstvektvaptecs

SEQ ID NO:218 is the full-length heavy chain for **AbV:**

QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCAVSGYSISSGYYWGWIRQPPGKGL
EWIGSISHTGNTYYNPPLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTA
VYYCARFMGFGRPEYWGQGTLVTVSS*astkgpsvfplapsskstsg*
gtaalgclvkdyfpepvtvswnsgaltsgvhtfpavlqssglysls
svvtvpsslgtqtyicnvnhkpsntkvdkkvepkscdkthtcppc
papeaagapsvflfppkpkdtlmisrtpevtcvvvdvshedpevkf
nwyvdgvevhnaktkpreeqynstyrvvsvltvlhqdwlngkeykc
kvsnkalpapiektiskakgqprepqvytlppsreemtknqvsltc
lvkgfypsdiavewesngqpennyktppvldsdgsfflyskltvd
ksrwqqgnvfscsvmhealhnhytqkslslspgk

Figure 25b

SEQ ID NO:14 is the V_H portion of the full-length heavy chain:

QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCAVSGYSISSGYYWGWIRQPPGKGL
EWIGSISHTGNTYYNPPLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTA
VYYCARFMGFGRPEYWGQGTLVTVSS

SEQ ID NO:163 is the CDR H1 portion of the V_H portion of the full-length heavy chain:

SGYYWG

SEQ ID NO:164 is the CDR H2 portion of the V_H portion of the full-length heavy chain:

SISHTGNTYYNPPLKS

SEQ ID NO:165 is the CDR H3 portion of the V_H portion of the full-length heavy chain:

FMGFGRPEY

SEQ ID NO:196 is the heavy chain constant region with the triple mutation (L234A L235A G237A) shown in bold lowercase underlined text:

astkgpsvfplapsskstsggtaalgclvkdyfpepvtvswnsgal
tsgvhtfpavlqssglyslssvvtvpsssl gtqtyicnvnhkpsnt
kvdkkvepkscdkthtcppcpape**aa**g**a**psvflfppkpkdtlmisr
tpevtcvvvdvshedpevkfnwyvdgvevhnaktkpreeqynstyr
vvsvltvlhqdwlngkeykckvsnkalpapiektiskakgqprepq
vytlppsreemtknqvsltclvkgfypsdiavewesngqpennykt
tppvldsdgsfflyskltvdksrwqqgnvfscsvmhealhnhytqk
slslspgk

SEQ ID NO:214 is the full-length light chain for **AbV:**

SSELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDSLRTYYASWYQQKPGQAPVLV
IYGKHKRPSGIPDRFSGSSSGNTASLTITGAQAEDEADYYCVARSV
VGNPHVLFGGGTQLTVLgqpkaapsvtlfppsseelqankatlvcl
isdfypgavtvawkadsspvkagvetttpskqsnnkyaassylslt
peqwkshrsyscqvthegstvektvaptecs

Figure 25c

SEQ ID NO:215 is the V_L portion of the full-length light chain:

SSELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDSLRTYYASWYQQKPGQAPVLV
IYGKHKRPSGIPDRFSGSSSGNTASLTITGAQAEDEADYYCVARSV
VGNPHVLFGGGTQLTVL

SEQ ID NO:194 is the CDR L1 portion of the V_L portion of the full-length light chain:

QGDSLRTYYAS

SEQ ID NO:195 is the CDR L2 portion of the V_L portion of the full-length light chain:

GKHKRPS

SEQ ID NO:172 is the CDR L3 portion of the V_L portion of the full-length light chain:

VARSVVGNPHVL

SEQ ID NO:198 is the lambda light chain constant region:

gqpkaapsvtlfppsseelqankatlvclisdfypgavtvawkads
spvkagvetttpskqsnnkyaassylsltpeqwkshrsyscqvthe
gstvektvaptecs

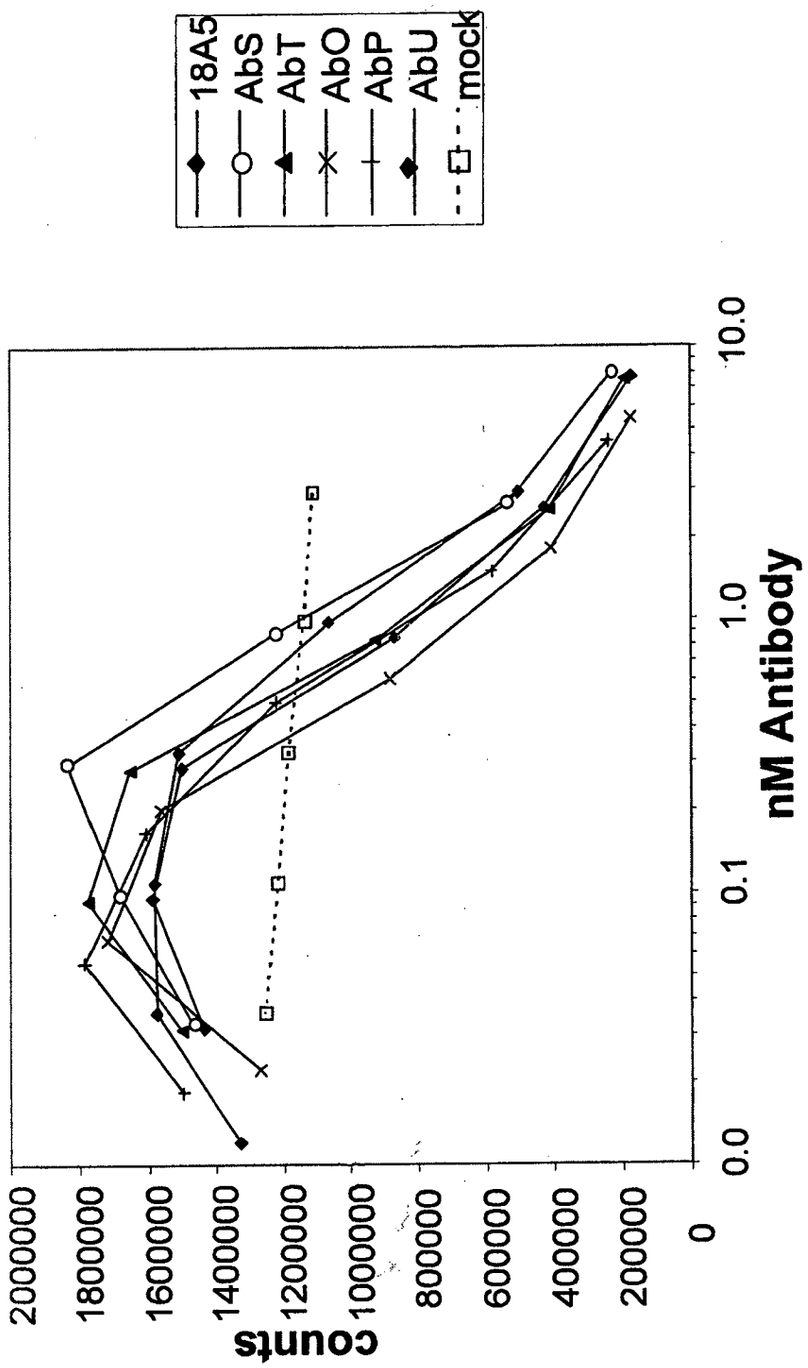

18A5
AbS
AbT
AbO
AbP
AbU
mock
counts
2000000
1800000
1600000
1400000
1200000
1000000
800000
600000
400000
200000
0
0.0
0.1
1.0
10.0
nM Antibody

Figure 26a

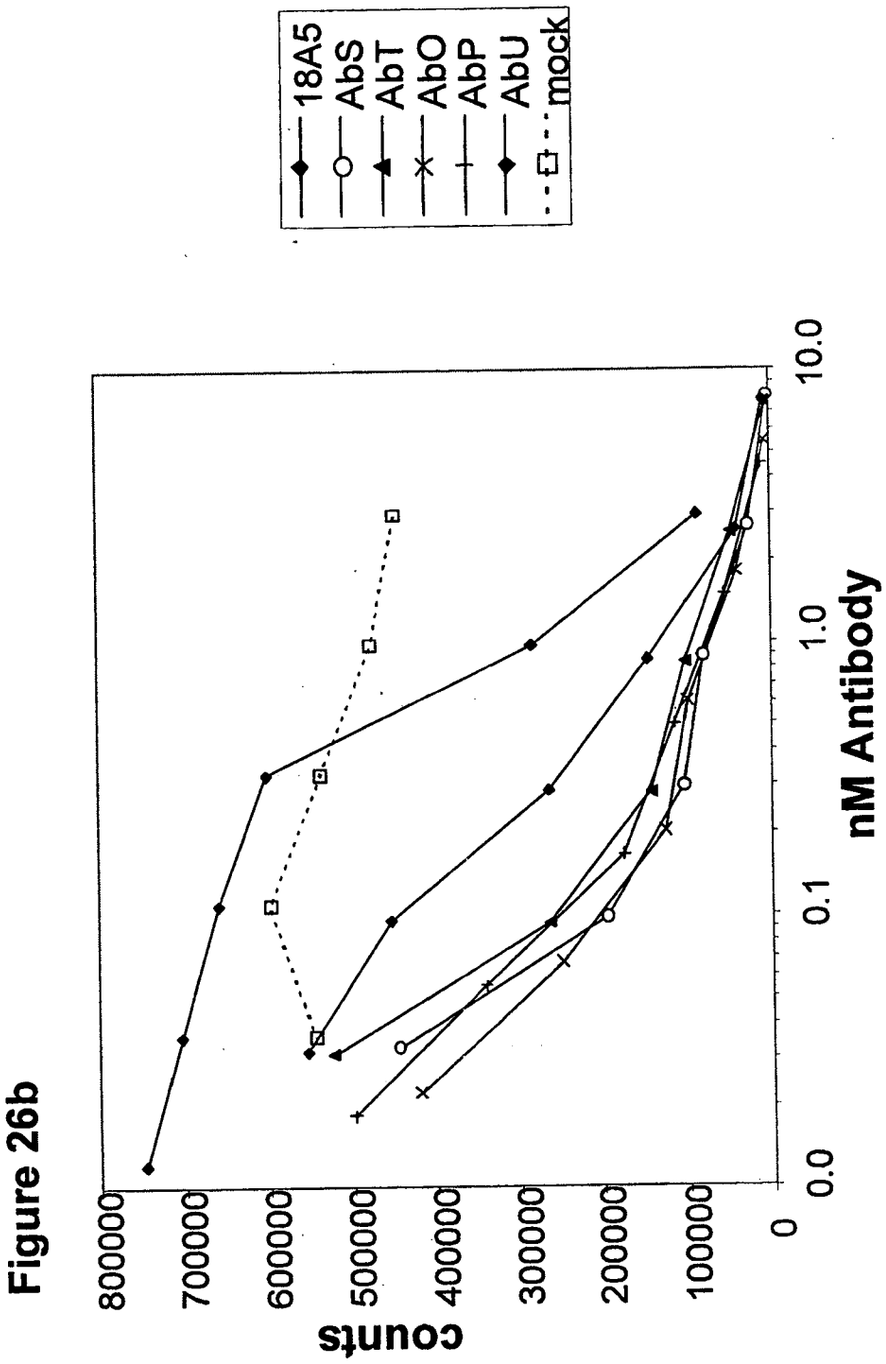

18A5
AbS
AbT
AbO
AbP
AbU
mock
counts
800000
700000
600000
500000
400000
300000
200000
100000
0
0.0
0.1
1.0
10.0
nM Antibody

Figure 26b

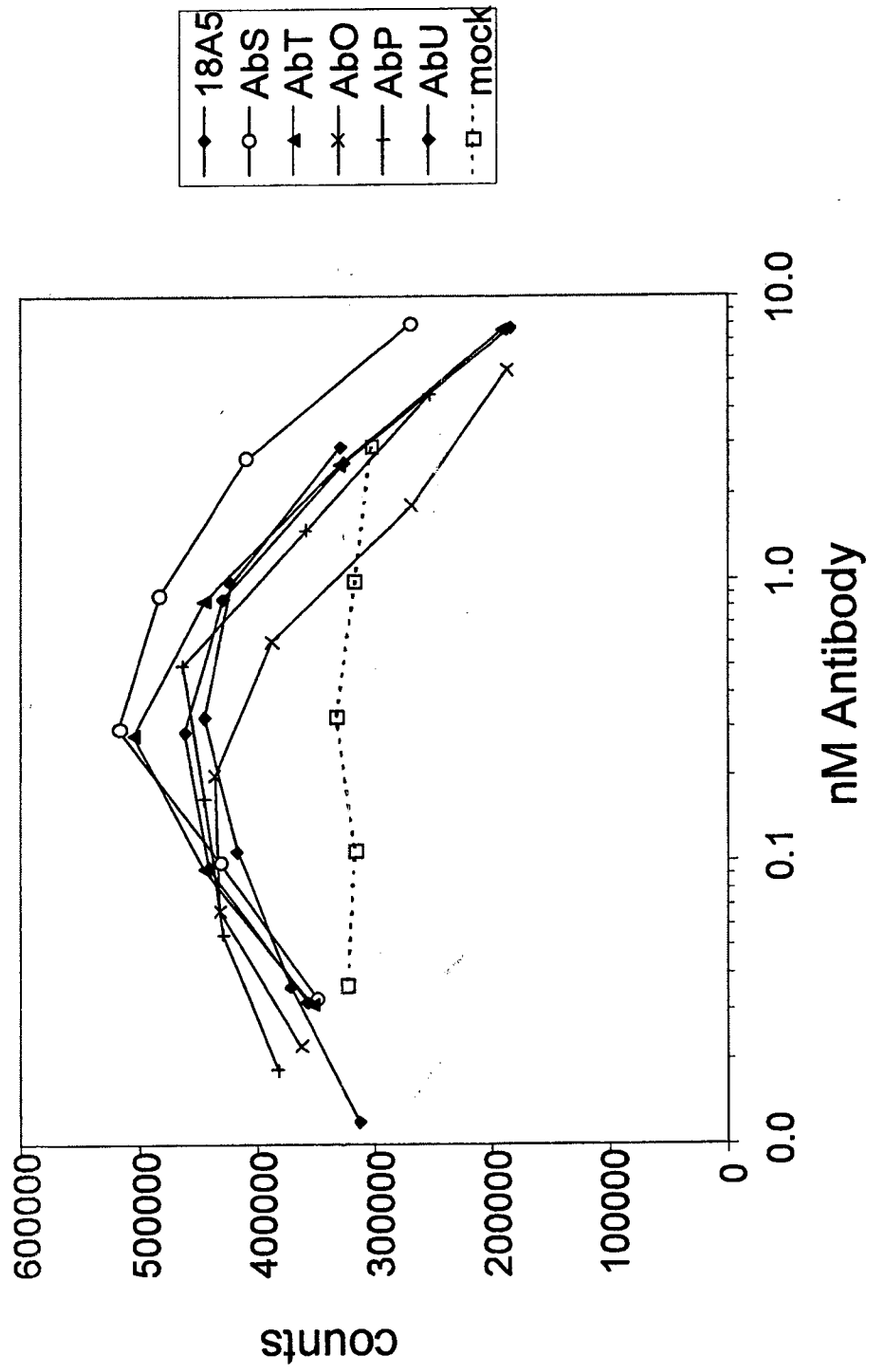

18A5
AbS
AbT
AbO
AbP
AbU
mock
counts
600000
500000
400000
300000
200000
100000
0
0.0
0.1
1.0
10.0
nM Antibody

Figure 26c

Figure 26d

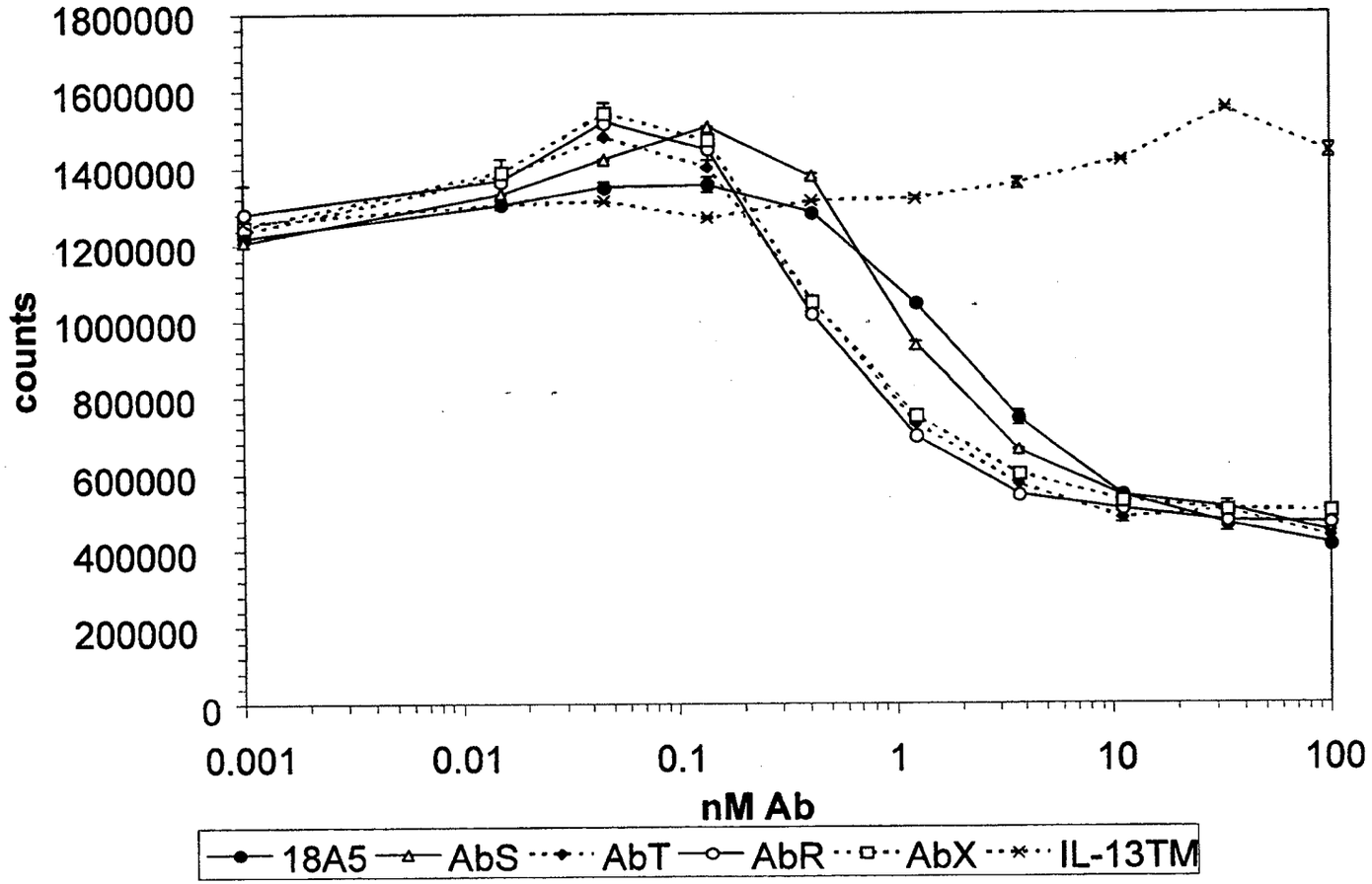

1800000
1600000
1400000
1200000
1000000
800000
600000
400000
200000
0
counts
0.001
0.01
0.1
1
10
100
nM Ab
18A5
AbS
AbT
AbR
AbX
IL-13TM

Figure 26e

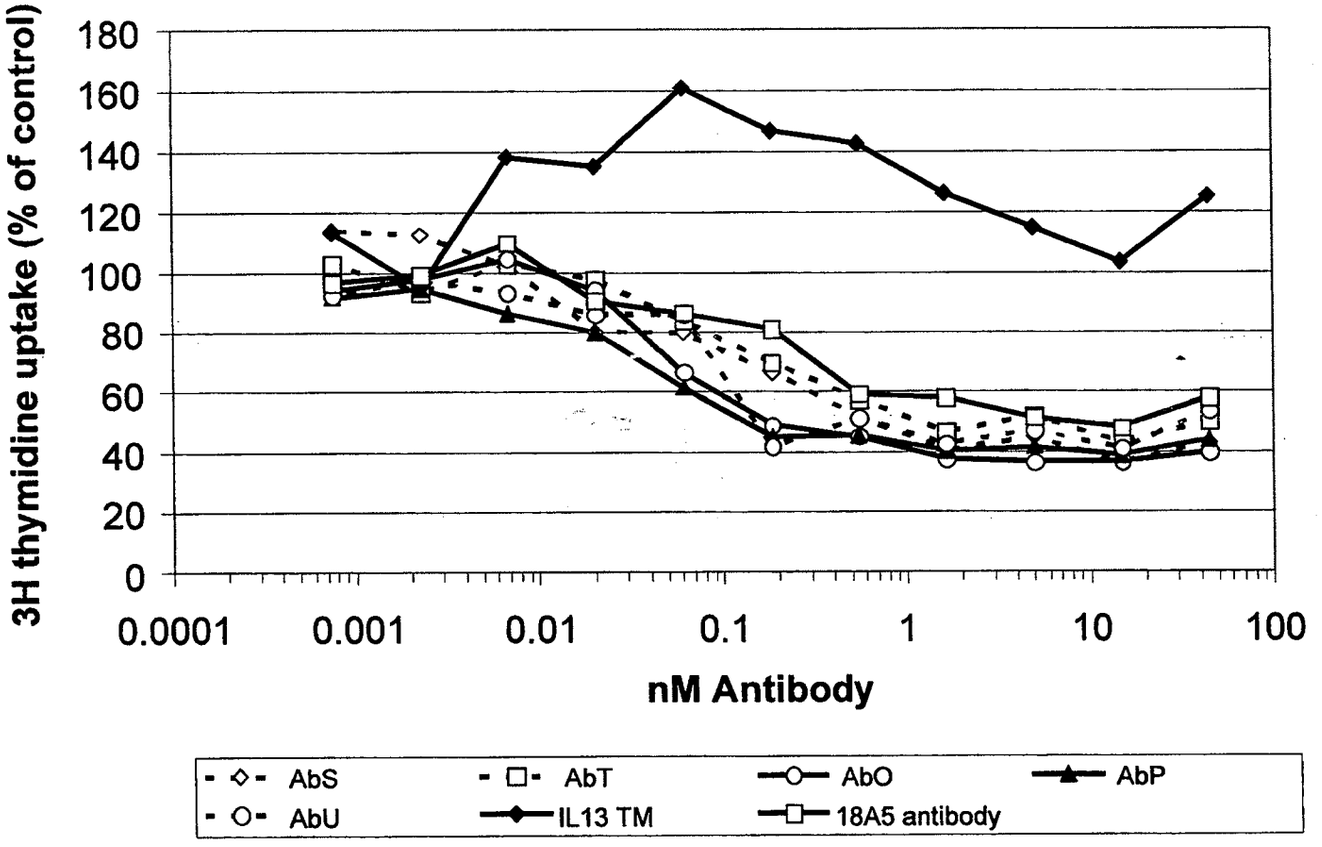

3H thymidine uptake (% of control)
180
160
140
120
100
80
60
40
20
0
0.0001
0.001
0.01
0.1
1
10
100
nM Antibody
AbS
AbT
AbO
AbP
AbU
IL13 TM
18A5 antibody

Figure 26f

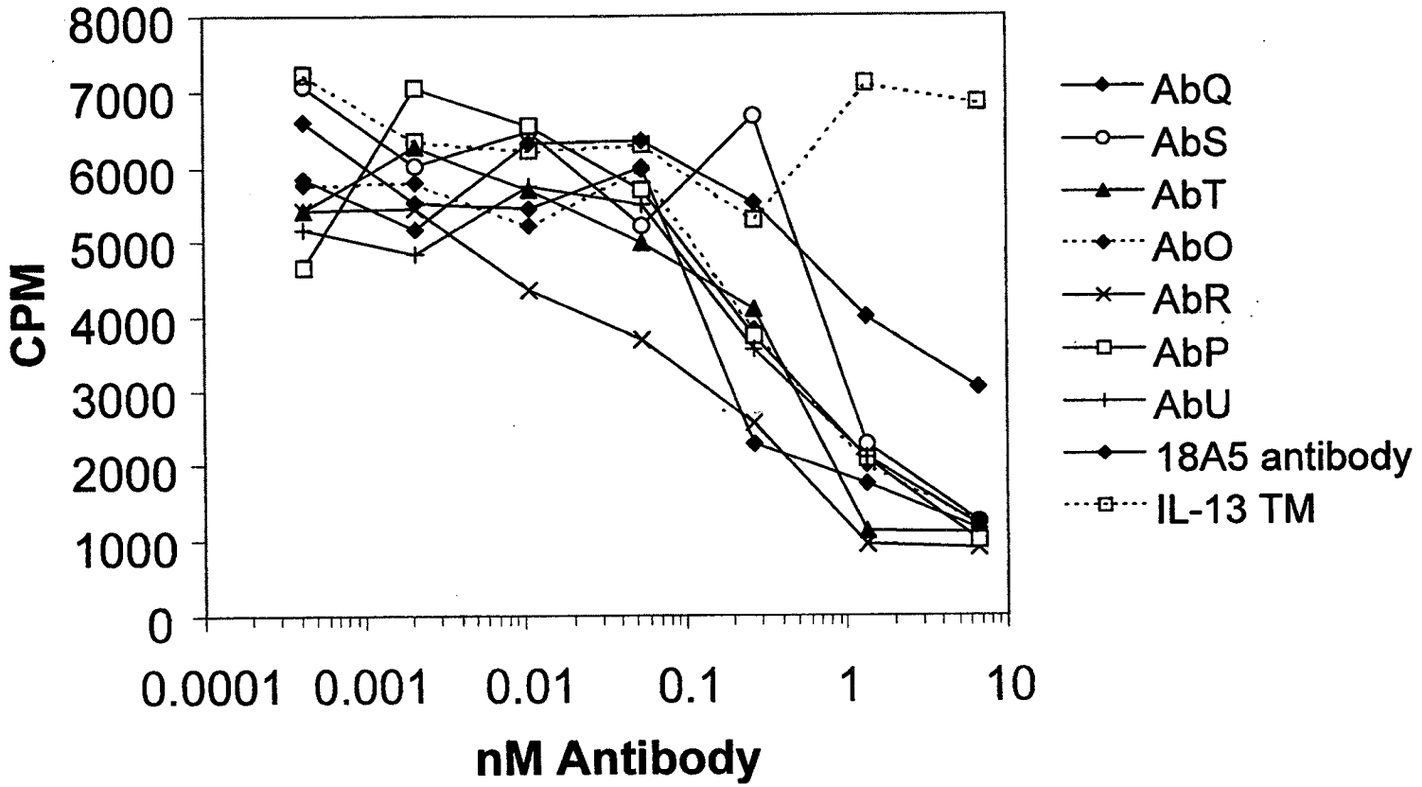
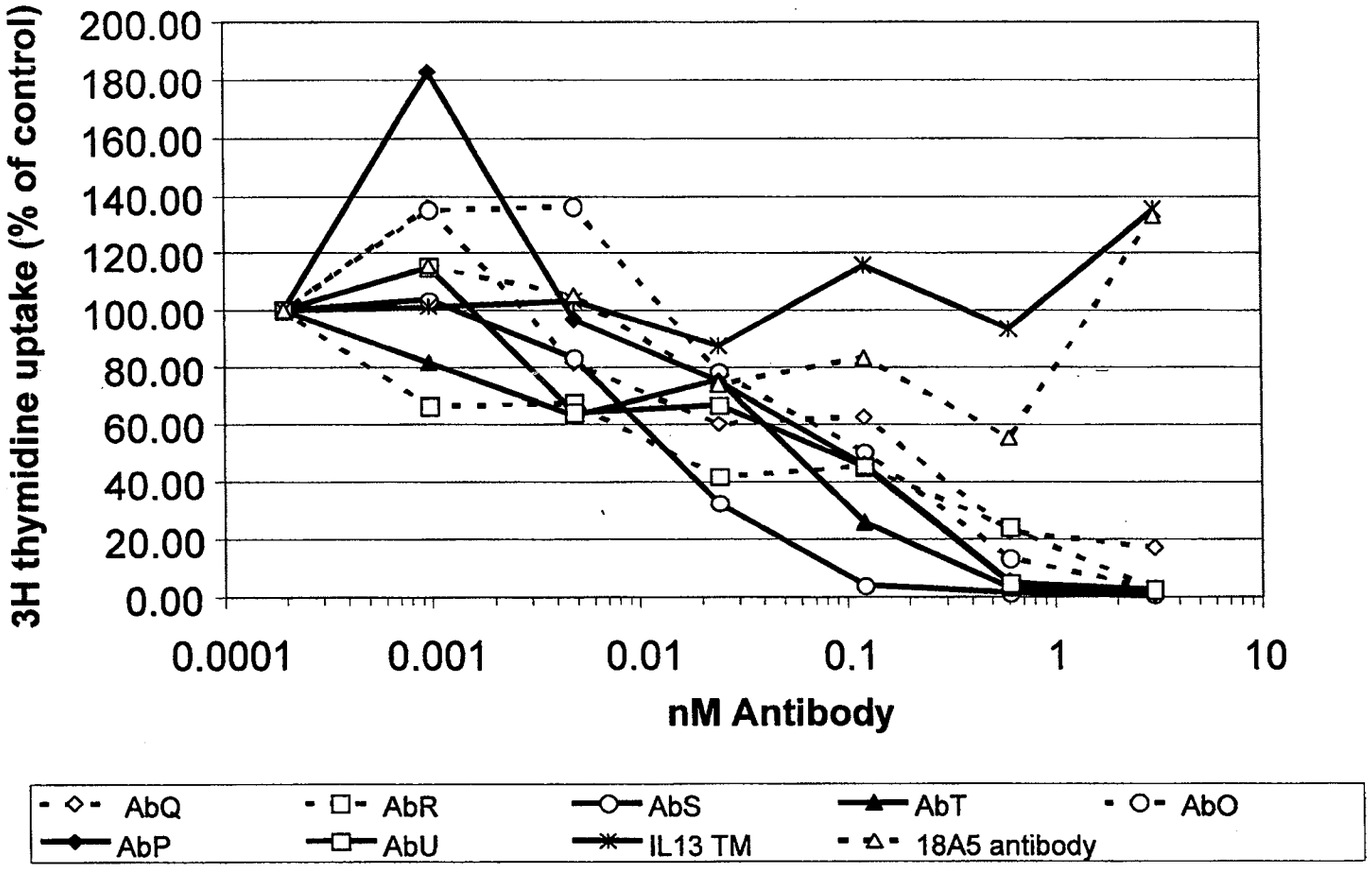

8000
7000
6000
5000
4000
3000
2000
1000
0
CPM
0.0001
0.001
0.01
0.1
1
10
nM Antibody
AbQ
AbS
AbT
AbO
AbR
AbP
AbU
18A5 antibody
IL-13 TM

Figure 26g


3H thymidine uptake (% of control)
200.00
180.00
160.00
140.00
120.00
100.00
80.00
60.00
40.00
20.00
0.00
0.0001
0.001
0.01
0.1
1
10
nM Antibody
AbQ
AbR
AbS
AbT
AbO
AbP
AbU
IL13 TM
18A5 antibody

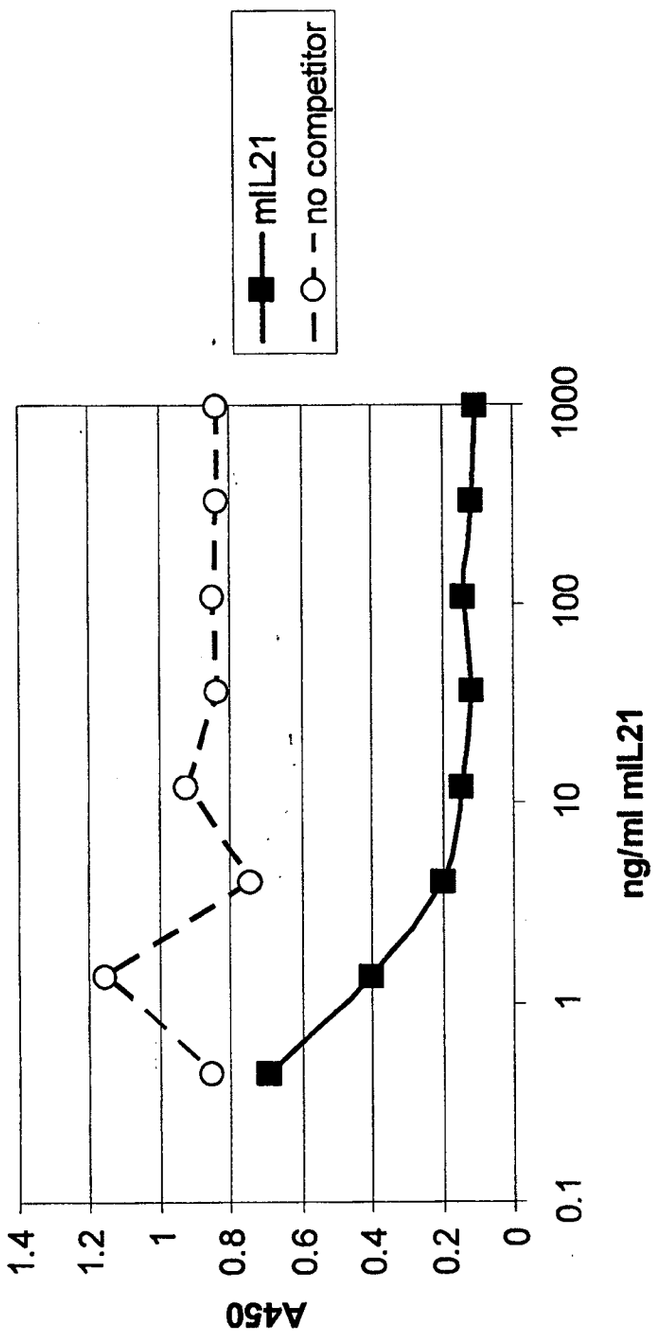

mIL21
no competitor
A450
1.4
1.2
1
0.8
0.6
0.4
0.2
0
0.1
1
10
100
1000
ng/ml mIL21

Figure 27a

Figure 27b

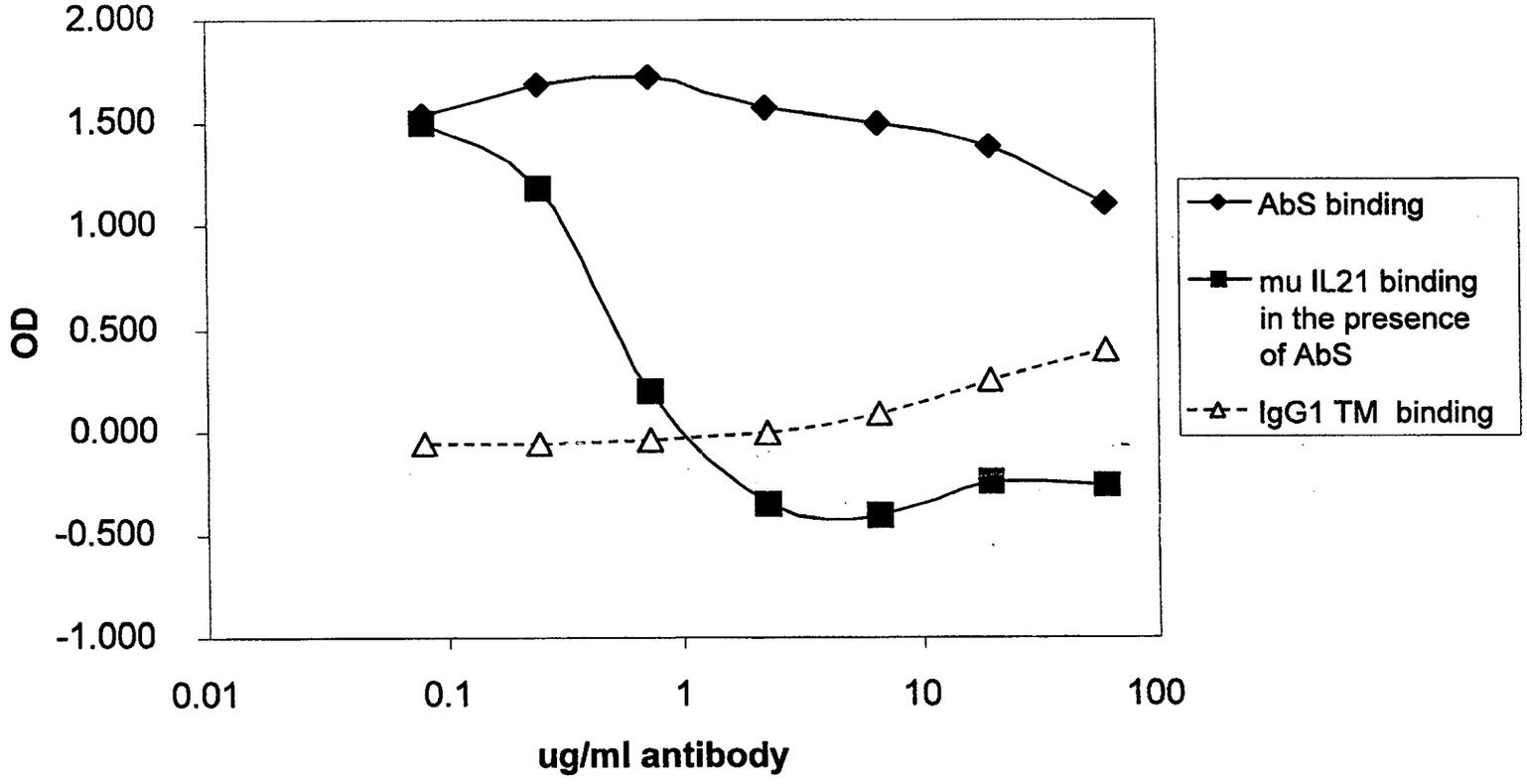
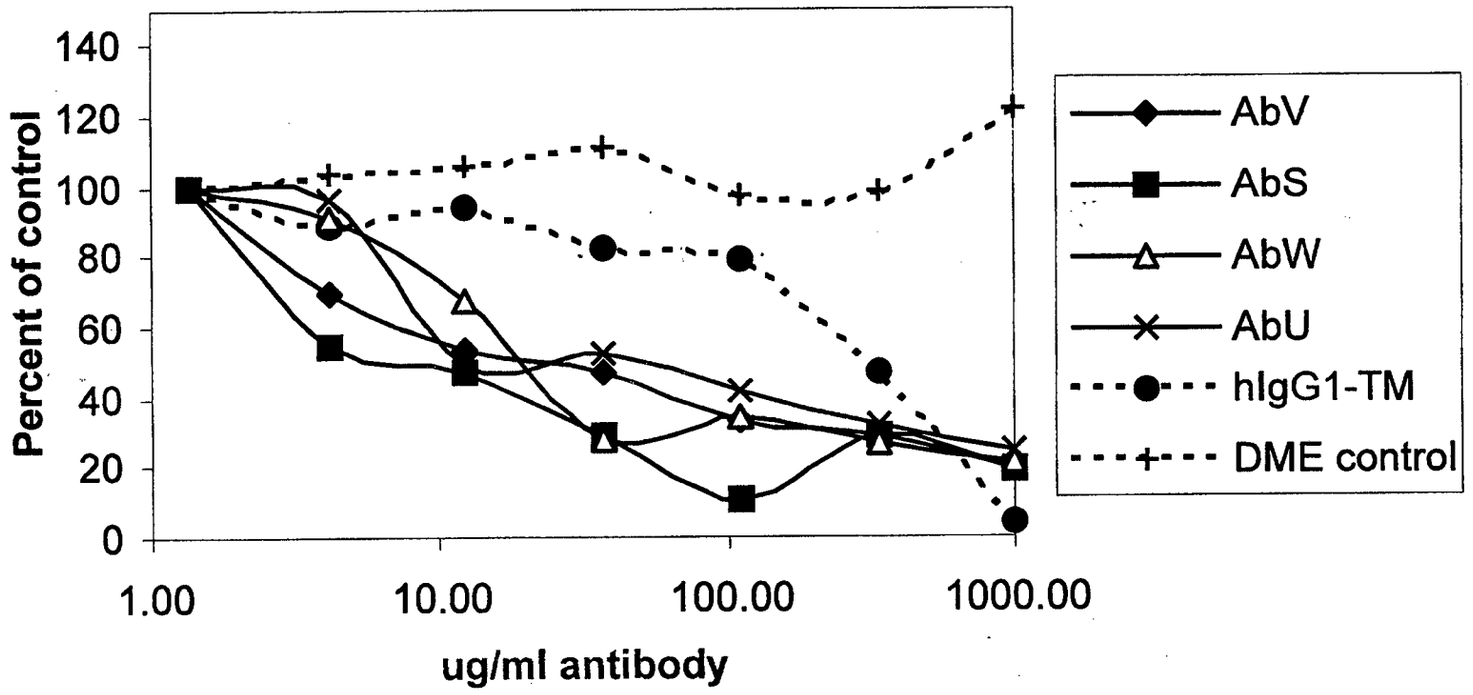

2.000
1.500
1.000
0.500
0.000
-0.500
-1.000
OD
0.01
0.1
1
10
100
ug/ml antibody
AbS binding
mu IL21 binding in the presence of AbS
IgG1 TM binding

Figure 28


140
120
100
80
60
40
20
0
Percent of control
1.00
10.00
100.00
1000.00
ug/ml antibody
AbV
AbS
AbW
AbU
hIgG1-TM
DME control

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2009/045182

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
INV. C07K14/715 C07K16/28

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
C07K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)
EPO-Internal, EMBL, WPI Data, EMBASE; MEDLINE, BIOSIS

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 2004/083249 A (WYETH CORP [US]; CAMBRIDGE ANTIBODY TECH [GB]; YOUNG DEBORAH A [US]; W) 30 September 2004 (2004-09-30) the whole document	1-49
X	US 2004/265960 A1 (VALGE-ARCHER VIIA [GB] ET AL) 30 December 2004 (2004-12-30) the whole document	1-49

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☒ See patent family annex.

* Special categories of cited documents :

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier document but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
2 October 2009	13/10/2009

Name and mailing address of the ISA/	Authorized officer
European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL – 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016	Sommerfeld, Teresa

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No
PCT/US2009/045182

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2004083249 A	30-09-2004	AU 2004221876 A1	30-09-2004
		BR PI0408315 A	07-03-2006
		CA 2518371 A1	30-09-2004
		CL 5342004 A1	04-03-2005
		CN 1777621 A	24-05-2006
		EP 1603949 A2	14-12-2005
		JP 2007525159 T	06-09-2007
		KR 20050119120 A	20-12-2005
		MX PA05009556 A	16-11-2005
		NZ 542306 A	30-04-2008
		ZA 200507067 A	27-12-2006
US 2004265960 A1	30-12-2004	NONE	

10-1660384-

SEQUENCE LISTING

<110> Wyeth
MedImmune Limited

<120> INTERLEUKIN-21 RECEPTOR BINDING PROTEINS

<130> 01997.069000

<150> US 61/055,500
<151> 2008-05-23

<160> 248

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1
<211> 2665
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> CDS
<222> (236)..(1849)

<400> 1
gtcgactgga ggcccagctg cccgtcatca gagtgacagg tcttatgaca gcctgattgg 60

tgactcgggc tgggtgtgga ttctcacccc aggcctctgc ctgctttctc agaccctcat 120

ctgtcacccc cacgctgaac ccagctgcca cccccagaag cccatcagac tgccccagc 180

acacggaatg gatttctgag aaagaagccg aaacagaagg cccgtgggag tcagc atg 238
Met
1

ccg cgt ggc tgg gcc gcc ccc ttg ctc ctg ctg ctg ctc cag gga ggc 286
Pro Arg Gly Trp Ala Ala Pro Leu Leu Leu Leu Leu Gln Gly Gly
5 10 15

tgg ggc tgc ccc gac ctc gtc tgc tac acc gat tac ctc cag acg gtc 334
Trp Gly Cys Pro Asp Leu Val Cys Tyr Thr Asp Tyr Leu Gln Thr Val
20 25 30

atc tgc atc ctg gaa atg tgg aac ctc cac ccc agc acg ctc acc ctt 382
Ile Cys Ile Leu Glu Met Trp Asn Leu His Pro Ser Thr Leu Thr Leu
35 40 45

acc tgg caa gac cag tat gaa gag ctg aag gac gag gcc acc tcc tgc 430
Thr Trp Gln Asp Gln Tyr Glu Glu Leu Lys Asp Glu Ala Thr Ser Cys
50 55 60 65

agc ctc cac agg tcg gcc cac aat gcc acg cat gcc acc tac acc tgc 478
Ser Leu His Arg Ser Ala His Asn Ala Thr His Ala Thr Tyr Thr Cys
70 75 80

cac atg gat gta ttc cac ttc atg gcc gac gac att ttc agt gtc aac 526
His Met Asp Val Phe His Phe Met Ala Asp Asp Ile Phe Ser Val Asn
85 90 95

atc aca gac cag tct ggc aac tac tcc cag gag tgt ggc agc ttt ctc 574
Ile Thr Asp Gln Ser Gly Asn Tyr Ser Gln Glu Cys Gly Ser Phe Leu
100 105 110

```
ctg gct gag agc atc aag ccg gct ccc cct ttc aac gtg act gtg acc        622
Leu Ala Glu Ser Ile Lys Pro Ala Pro Pro Phe Asn Val Thr Val Thr
    115                 120                 125

ttc tca gga cag tat aat atc tcc tgg cgc tca gat tac gaa gac cct        670
Phe Ser Gly Gln Tyr Asn Ile Ser Trp Arg Ser Asp Tyr Glu Asp Pro
130                 135                 140                 145

gcc ttc tac atg ctg aag ggc aag ctt cag tat gag ctg cag tac agg        718
Ala Phe Tyr Met Leu Lys Gly Lys Leu Gln Tyr Glu Leu Gln Tyr Arg
                150                 155                 160

aac cgg gga gac ccc tgg gct gtg agt ccg agg aga aag ctg atc tca        766
Asn Arg Gly Asp Pro Trp Ala Val Ser Pro Arg Arg Lys Leu Ile Ser
            165                 170                 175

gtg gac tca aga agt gtc tcc ctc ctc ccc ctg gag ttc cgc aaa gac        814
Val Asp Ser Arg Ser Val Ser Leu Leu Pro Leu Glu Phe Arg Lys Asp
        180                 185                 190

tcg agc tat gag ctg cag gtg cgg gca ggg ccc atg cct ggc tcc tcc        862
Ser Ser Tyr Glu Leu Gln Val Arg Ala Gly Pro Met Pro Gly Ser Ser
    195                 200                 205

tac cag ggg acc tgg agt gaa tgg agt gac ccg gtc atc ttt cag acc        910
Tyr Gln Gly Thr Trp Ser Glu Trp Ser Asp Pro Val Ile Phe Gln Thr
210                 215                 220                 225

cag tca gag gag tta aag gaa ggc tgg aac cct cac ctg ctg ctt ctc        958
Gln Ser Glu Glu Leu Lys Glu Gly Trp Asn Pro His Leu Leu Leu Leu
                230                 235                 240

ctc ctg ctt gtc ata gtc ttc att cct gcc ttc tgg agc ctg aag acc       1006
Leu Leu Leu Val Ile Val Phe Ile Pro Ala Phe Trp Ser Leu Lys Thr
            245                 250                 255

cat cca ttg tgg agg cta tgg aag aag ata tgg gcc gtc ccc agc cct       1054
His Pro Leu Trp Arg Leu Trp Lys Lys Ile Trp Ala Val Pro Ser Pro
        260                 265                 270

gag cgg ttc ttc atg ccc ctg tac aag ggc tgc agc gga gac ttc aag       1102
Glu Arg Phe Phe Met Pro Leu Tyr Lys Gly Cys Ser Gly Asp Phe Lys
    275                 280                 285

aaa tgg gtg ggt gca ccc ttc act ggc tcc agc ctg gag ctg gga ccc       1150
Lys Trp Val Gly Ala Pro Phe Thr Gly Ser Ser Leu Glu Leu Gly Pro
290                 295                 300                 305

tgg agc cca gag gtg ccc tcc acc ctg gag gtg tac agc tgc cac cca       1198
Trp Ser Pro Glu Val Pro Ser Thr Leu Glu Val Tyr Ser Cys His Pro
                310                 315                 320

cca cgg agc ccg gcc aag agg ctg cag ctc acg gag cta caa gaa cca       1246
Pro Arg Ser Pro Ala Lys Arg Leu Gln Leu Thr Glu Leu Gln Glu Pro
            325                 330                 335

gca gag ctg gtg gag tct gac ggt gtg ccc aag ccc agc ttc tgg ccg       1294
Ala Glu Leu Val Glu Ser Asp Gly Val Pro Lys Pro Ser Phe Trp Pro
        340                 345                 350

aca gcc cag aac tcg ggg ggc tca gct tac agt gag gag agg gat cgg       1342
Thr Ala Gln Asn Ser Gly Gly Ser Ala Tyr Ser Glu Glu Arg Asp Arg
    355                 360                 365

cca tac ggc ctg gtg tcc att gac aca gtg act gtg cta gat gca gag       1390
```

```
Pro Tyr Gly Leu Val Ser Ile Asp Thr Val Thr Val Leu Asp Ala Glu
370                 375                 380                 385

ggg cca tgc acc tgg ccc tgc agc tgt gag gat gac ggc tac cca gcc        1438
Gly Pro Cys Thr Trp Pro Cys Ser Cys Glu Asp Asp Gly Tyr Pro Ala
                390                 395                 400

ctg gac ctg gat gct ggc ctg gag ccc agc cca ggc cta gag gac cca        1486
Leu Asp Leu Asp Ala Gly Leu Glu Pro Ser Pro Gly Leu Glu Asp Pro
            405                 410                 415

ctc ttg gat gca ggg acc aca gtc ctg tcc tgt ggc tgt gtc tca gct        1534
Leu Leu Asp Ala Gly Thr Thr Val Leu Ser Cys Gly Cys Val Ser Ala
        420                 425                 430

ggc agc cct ggg cta gga ggg ccc ctg gga agc ctc ctg gac aga cta        1582
Gly Ser Pro Gly Leu Gly Gly Pro Leu Gly Ser Leu Leu Asp Arg Leu
    435                 440                 445

aag cca ccc ctt gca gat ggg gag gac tgg gct ggg gga ctg ccc tgg        1630
Lys Pro Pro Leu Ala Asp Gly Glu Asp Trp Ala Gly Gly Leu Pro Trp
450                 455                 460                 465

ggt ggc cgg tca cct gga ggg gtc tca gag agt gag gcg ggc tca ccc        1678
Gly Gly Arg Ser Pro Gly Gly Val Ser Glu Ser Glu Ala Gly Ser Pro
                470                 475                 480

ctg gcc ggc ctg gat atg gac acg ttt gac agt ggc ttt gtg ggc tct        1726
Leu Ala Gly Leu Asp Met Asp Thr Phe Asp Ser Gly Phe Val Gly Ser
            485                 490                 495

gac tgc agc agc cct gtg gag tgt gac ttc acc agc ccc ggg gac gaa        1774
Asp Cys Ser Ser Pro Val Glu Cys Asp Phe Thr Ser Pro Gly Asp Glu
        500                 505                 510

gga ccc ccc cgg agc tac ctc cgc cag tgg gtg gtc att cct ccg cca        1822
Gly Pro Pro Arg Ser Tyr Leu Arg Gln Trp Val Val Ile Pro Pro Pro
    515                 520                 525

ctt tcg agc cct gga ccc cag gcc agc taatgaggct gactggatgt             1869
Leu Ser Ser Pro Gly Pro Gln Ala Ser
530                 535

ccagagctgg ccaggccact gggccctgag ccagagacaa ggtcacctgg gctgtgatgt     1929

gaagacacct gcagcctttg gtctcctgga tgggcctttg agcctgatgt ttacagtgtc     1989

tgtgtgtgtg tgtgcatatg tgtgtgtgtg catatgcatg tgtgtgtgtg tgtgtgtctt     2049

aggtgcgcag tggcatgtcc acgtgtgtgt gtgattgcac gtgcctgtgg gcctgggata     2109

atgcccatgg tactccatgc attcacctgc cctgtgcatg tctggactca cggagctcac     2169

ccatgtgcac aagtgtgcac agtaaacgtg tttgtggtca acagatgaca acagccgtcc     2229

tccctcctag ggtcttgtgt tgcaagttgg tccacagcat ctccggggct ttgtgggatc     2289

agggcattgc ctgtgactga ggcggagccc agccctccag cgtctgcctc caggagctgc     2349

aagaagtcca tattgttcct tatcacctgc caacaggaag cgaaagggga tggagtgagc     2409

ccatggtgac ctcgggaatg gcaatttttt gggcggcccc tggacgaagg tctgaatccc     2469

gactctgata ccttctggct gtgctacctg agccaagtcg cctcccctct ctgggctaga     2529
```

gtttccttat ccagacagtg gggaaggcat gacacacctg ggggaaattg gcgatgtcac 2589

ccgtgtacgg tacgcagccc agagcagacc ctcaataaac gtcagcttcc ttcaaaaaaa 2649

aaaaaaaaaa tctaga 2665

<210> 2
<211> 538
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 2

Met Pro Arg Gly Trp Ala Ala Pro Leu Leu Leu Leu Leu Leu Gln Gly
1 5 10 15

Gly Trp Gly Cys Pro Asp Leu Val Cys Tyr Thr Asp Tyr Leu Gln Thr
20 25 30

Val Ile Cys Ile Leu Glu Met Trp Asn Leu His Pro Ser Thr Leu Thr
35 40 45

Leu Thr Trp Gln Asp Gln Tyr Glu Glu Leu Lys Asp Glu Ala Thr Ser
50 55 60

Cys Ser Leu His Arg Ser Ala His Asn Ala Thr His Ala Thr Tyr Thr
65 70 75 80

Cys His Met Asp Val Phe His Phe Met Ala Asp Asp Ile Phe Ser Val
85 90 95

Asn Ile Thr Asp Gln Ser Gly Asn Tyr Ser Gln Glu Cys Gly Ser Phe
100 105 110

Leu Leu Ala Glu Ser Ile Lys Pro Ala Pro Pro Phe Asn Val Thr Val
115 120 125

Thr Phe Ser Gly Gln Tyr Asn Ile Ser Trp Arg Ser Asp Tyr Glu Asp
130 135 140

Pro Ala Phe Tyr Met Leu Lys Gly Lys Leu Gln Tyr Glu Leu Gln Tyr
145 150 155 160

Arg Asn Arg Gly Asp Pro Trp Ala Val Ser Pro Arg Arg Lys Leu Ile
165 170 175

Ser Val Asp Ser Arg Ser Val Ser Leu Leu Pro Leu Glu Phe Arg Lys
180 185 190

Asp Ser Ser Tyr Glu Leu Gln Val Arg Ala Gly Pro Met Pro Gly Ser
195 200 205

```
Ser Tyr Gln Gly Thr Trp Ser Glu Trp Ser Asp Pro Val Ile Phe Gln
    210                 215                 220

Thr Gln Ser Glu Glu Leu Lys Glu Gly Trp Asn Pro His Leu Leu Leu
225                 230                 235                 240

Leu Leu Leu Leu Val Ile Val Phe Ile Pro Ala Phe Trp Ser Leu Lys
                245                 250                 255

Thr His Pro Leu Trp Arg Leu Trp Lys Lys Ile Trp Ala Val Pro Ser
            260                 265                 270

Pro Glu Arg Phe Phe Met Pro Leu Tyr Lys Gly Cys Ser Gly Asp Phe
        275                 280                 285

Lys Lys Trp Val Gly Ala Pro Phe Thr Gly Ser Ser Leu Glu Leu Gly
    290                 295                 300

Pro Trp Ser Pro Glu Val Pro Ser Thr Leu Glu Val Tyr Ser Cys His
305                 310                 315                 320

Pro Pro Arg Ser Pro Ala Lys Arg Leu Gln Leu Thr Glu Leu Gln Glu
                325                 330                 335

Pro Ala Glu Leu Val Glu Ser Asp Gly Val Pro Lys Pro Ser Phe Trp
            340                 345                 350

Pro Thr Ala Gln Asn Ser Gly Gly Ser Ala Tyr Ser Glu Glu Arg Asp
        355                 360                 365

Arg Pro Tyr Gly Leu Val Ser Ile Asp Thr Val Thr Val Leu Asp Ala
    370                 375                 380

Glu Gly Pro Cys Thr Trp Pro Cys Ser Cys Glu Asp Asp Gly Tyr Pro
385                 390                 395                 400

Ala Leu Asp Leu Asp Ala Gly Leu Glu Pro Ser Pro Gly Leu Glu Asp
                405                 410                 415

Pro Leu Leu Asp Ala Gly Thr Thr Val Leu Ser Cys Gly Cys Val Ser
            420                 425                 430

Ala Gly Ser Pro Gly Leu Gly Gly Pro Leu Gly Ser Leu Leu Asp Arg
        435                 440                 445

Leu Lys Pro Pro Leu Ala Asp Gly Glu Asp Trp Ala Gly Gly Leu Pro
    450                 455                 460
```

```
Trp Gly Gly Arg Ser Pro Gly Gly Val Ser Glu Ser Glu Ala Gly Ser
465                 470                 475                 480

Pro Leu Ala Gly Leu Asp Met Asp Thr Phe Asp Ser Gly Phe Val Gly
                485                 490                 495

Ser Asp Cys Ser Ser Pro Val Glu Cys Asp Phe Thr Ser Pro Gly Asp
            500                 505                 510

Glu Gly Pro Pro Arg Ser Tyr Leu Arg Gln Trp Val Val Ile Pro Pro
        515                 520                 525

Pro Leu Ser Ser Pro Gly Pro Gln Ala Ser
    530                 535
```

<210> 3
<211> 2628
<212> DNA
<213> Mus musculus

<220>
<221> CDS
<222> (407)..(1993)

<400> 3

```
gtcgacgcgg cggtaccagc tgtctgccca cttctcctgt ggtgtgcctc acggtcactt       60

gcttgtctga ccgcaagtct gcccatccct ggggcagcca actggcctca gcccgtgccc      120

caggcgtgcc ctgtctctgt ctggctgccc cagccctact gtcttcctct gtgtaggctc      180

tgcccagatg cccggctggt cctcagcctc aggactatct cagcagtgac tcccctgatt      240

ctggacttgc acctgactga actcctgccc acctcaaacc ttcacctccc accaccacca      300

ctccgagtcc cgctgtgact cccacgccca ggagaccacc caagtgcccc agcctaaaga      360

atggctttct gagaaagacc ctgaaggagt aggtctggga cacagc atg ccc cgg         415
                                                    Met Pro Arg
                                                    1

ggc cca gtg gct gcc tta ctc ctg ctg att ctc cat gga gct tgg agc         463
Gly Pro Val Ala Ala Leu Leu Leu Leu Ile Leu His Gly Ala Trp Ser
    5                   10                  15

tgc ctg gac ctc act tgc tac act gac tac ctc tgg acc atc acc tgt         511
Cys Leu Asp Leu Thr Cys Tyr Thr Asp Tyr Leu Trp Thr Ile Thr Cys
20                  25                  30                  35

gtc ctg gag aca cgg agc ccc aac ccc agc ata ctc agt ctc acc tgg         559
Val Leu Glu Thr Arg Ser Pro Asn Pro Ser Ile Leu Ser Leu Thr Trp
                40                  45                  50

caa gat gaa tat gag gaa ctt cag gac caa gag acc ttc tgc agc cta         607
Gln Asp Glu Tyr Glu Glu Leu Gln Asp Gln Glu Thr Phe Cys Ser Leu
            55                  60                  65

cac agg tct ggc cac aac acc aca cat ata tgg tac acg tgc cat atg         655
His Arg Ser Gly His Asn Thr Thr His Ile Trp Tyr Thr Cys His Met
```

```
        70                  75                  80

cgc ttg tct caa ttc ctg tcc gat gaa gtt ttc att gtc aat gtg acg        703
Arg Leu Ser Gln Phe Leu Ser Asp Glu Val Phe Ile Val Asn Val Thr
    85                  90                  95

gac cag tct ggc aac aac tcc caa gag tgt ggc agc ttt gtc ctg gct        751
Asp Gln Ser Gly Asn Asn Ser Gln Glu Cys Gly Ser Phe Val Leu Ala
100                 105                 110                 115

gag agc atc aaa cca gct ccc ccc ttg aac gtg act gtg gcc ttc tca        799
Glu Ser Ile Lys Pro Ala Pro Pro Leu Asn Val Thr Val Ala Phe Ser
                120                 125                 130

gga cgc tat gat atc tcc tgg gac tca gct tat gac gaa ccc tcc aac        847
Gly Arg Tyr Asp Ile Ser Trp Asp Ser Ala Tyr Asp Glu Pro Ser Asn
            135                 140                 145

tac gtg ctg agg ggc aag cta caa tat gag ctg cag tat cgg aac ctc        895
Tyr Val Leu Arg Gly Lys Leu Gln Tyr Glu Leu Gln Tyr Arg Asn Leu
        150                 155                 160

aga gac ccc tat gct gtg agg ccg gtg acc aag ctg atc tca gtg gac        943
Arg Asp Pro Tyr Ala Val Arg Pro Val Thr Lys Leu Ile Ser Val Asp
    165                 170                 175

tca aga aac gtc tct ctt ctc cct gaa gag ttc cac aaa gat tct agc        991
Ser Arg Asn Val Ser Leu Leu Pro Glu Glu Phe His Lys Asp Ser Ser
180                 185                 190                 195

tac cag ctg cag gtg cgg gca gcg cct cag cca ggc act tca ttc agg       1039
Tyr Gln Leu Gln Val Arg Ala Ala Pro Gln Pro Gly Thr Ser Phe Arg
                200                 205                 210

ggg acc tgg agt gag tgg agt gac ccc gtc atc ttt cag acc cag gct       1087
Gly Thr Trp Ser Glu Trp Ser Asp Pro Val Ile Phe Gln Thr Gln Ala
            215                 220                 225

ggg gag ccc gag gca ggc tgg gac cct cac atg ctg ctg ctc ctg gct       1135
Gly Glu Pro Glu Ala Gly Trp Asp Pro His Met Leu Leu Leu Leu Ala
        230                 235                 240

gtc ttg atc att gtc ctg gtt ttc atg ggt ctg aag atc cac ctg cct       1183
Val Leu Ile Ile Val Leu Val Phe Met Gly Leu Lys Ile His Leu Pro
    245                 250                 255

tgg agg cta tgg aaa aag ata tgg gca cca gtg ccc acc cct gag agt       1231
Trp Arg Leu Trp Lys Lys Ile Trp Ala Pro Val Pro Thr Pro Glu Ser
260                 265                 270                 275

ttc ttc cag ccc ctg tac agg gag cac agc ggg aac ttc aag aaa tgg       1279
Phe Phe Gln Pro Leu Tyr Arg Glu His Ser Gly Asn Phe Lys Lys Trp
                280                 285                 290

gtt aat acc cct ttc acg gcc tcc agc ata gag ttg gtg cca cag agt       1327
Val Asn Thr Pro Phe Thr Ala Ser Ser Ile Glu Leu Val Pro Gln Ser
            295                 300                 305

tcc aca aca aca tca gcc tta cat ctg tca ttg tat cca gcc aag gag       1375
Ser Thr Thr Thr Ser Ala Leu His Leu Ser Leu Tyr Pro Ala Lys Glu
        310                 315                 320

aag aag ttc ccg ggg ctg ccg ggt ctg gaa gag caa ctg gag tgt gat       1423
Lys Lys Phe Pro Gly Leu Pro Gly Leu Glu Glu Gln Leu Glu Cys Asp
    325                 330                 335
```

```
gga atg tct gag cct ggt cac tgg tgc ata atc ccc ttg gca gct ggc       1471
Gly Met Ser Glu Pro Gly His Trp Cys Ile Ile Pro Leu Ala Ala Gly
340                 345                 350                 355

caa gcg gtc tca gcc tac agt gag gag aga gac cgg cca tat ggt ctg       1519
Gln Ala Val Ser Ala Tyr Ser Glu Glu Arg Asp Arg Pro Tyr Gly Leu
                360                 365                 370

gtg tcc att gac aca gtg act gtg gga gat gca gag ggc ctg tgt gtc       1567
Val Ser Ile Asp Thr Val Thr Val Gly Asp Ala Glu Gly Leu Cys Val
            375                 380                 385

tgg ccc tgt agc tgt gag gat gat ggc tat cca gcc atg aac ctg gat       1615
Trp Pro Cys Ser Cys Glu Asp Asp Gly Tyr Pro Ala Met Asn Leu Asp
        390                 395                 400

gct ggc cga gag tct ggc cct aat tca gag gat ctg ctc ttg gtc aca       1663
Ala Gly Arg Glu Ser Gly Pro Asn Ser Glu Asp Leu Leu Leu Val Thr
    405                 410                 415

gac cct gct ttt ctg tct tgc ggc tgt gtc tca ggt agt ggt ctc agg       1711
Asp Pro Ala Phe Leu Ser Cys Gly Cys Val Ser Gly Ser Gly Leu Arg
420                 425                 430                 435

ctt gga ggc tcc cca ggc agc cta ctg gac agg ttg agg ctg tca ttt       1759
Leu Gly Gly Ser Pro Gly Ser Leu Leu Asp Arg Leu Arg Leu Ser Phe
                440                 445                 450

gca aag gaa ggg gac tgg aca gca gac cca acc tgg aga act ggg tcc       1807
Ala Lys Glu Gly Asp Trp Thr Ala Asp Pro Thr Trp Arg Thr Gly Ser
            455                 460                 465

cca gga ggg ggc tct gag agt gaa gca ggt tcc ccc cct ggt ctg gac       1855
Pro Gly Gly Gly Ser Glu Ser Glu Ala Gly Ser Pro Pro Gly Leu Asp
        470                 475                 480

atg gac aca ttt gac agt ggc ttt gca ggt tca gac tgt ggc agc ccc       1903
Met Asp Thr Phe Asp Ser Gly Phe Ala Gly Ser Asp Cys Gly Ser Pro
    485                 490                 495

gtg gag act gat gaa gga ccc cct cga agc tat ctc cgc cag tgg gtg       1951
Val Glu Thr Asp Glu Gly Pro Pro Arg Ser Tyr Leu Arg Gln Trp Val
500                 505                 510                 515

gtc agg acc cct cca cct gtg gac agt gga gcc cag agc agc               1993
Val Arg Thr Pro Pro Pro Val Asp Ser Gly Ala Gln Ser Ser
                520                 525

tagcatataa taaccagcta tagtgagaag aggcctctga gcctggcatt tacagtgtga     2053

acatgtaggg gtgtgtgtgt gtgtgtgtgt gtgtgtgtgt gtgtgtgtgt gtgtgtgtgt     2113

gtgtgtgtgt cttgggttgt gtgttagcac atccatgttg ggatttggtc tgttgctatg     2173

tattgtaatg ctaaattctc tacccaaagt tctaggccta cgagtgaatt ctcatgttta     2233

caaacttgct gtgtaaacct tgttccttaa tttaatacca ttggttaaat aaaattggct     2293

gcaaccaatt actggaggga ttagaggtag ggggcttttg agttacctgt ttggagatgg     2353

agaaggagag aggagagacc aagaggagaa ggaggaagga gaggagagga gaggagagga     2413

gaggagagga gaggagagga gaggagaggc tgccgtgagg ggagagggac               2473
```

catgagcctg tggccaggag aaacagcaag tatctggggt acactggtga ggaggtggcc 2533

aggccagcag ttagaagagt agattagggg tgacctccag tatttgtcaa agccaattaa 2593

aataacaaaa aaaaaaaaaa agcggccgct ctaga 2628

<210> 4
<211> 529
<212> PRT
<213> Mus musculus

<400> 4

Met Pro Arg Gly Pro Val Ala Ala Leu Leu Leu Leu Ile Leu His Gly
1 5 10 15

Ala Trp Ser Cys Leu Asp Leu Thr Cys Tyr Thr Asp Tyr Leu Trp Thr
20 25 30

Ile Thr Cys Val Leu Glu Thr Arg Ser Pro Asn Pro Ser Ile Leu Ser
35 40 45

Leu Thr Trp Gln Asp Glu Tyr Glu Glu Leu Gln Asp Gln Glu Thr Phe
50 55 60

Cys Ser Leu His Arg Ser Gly His Asn Thr Thr His Ile Trp Tyr Thr
65 70 75 80

Cys His Met Arg Leu Ser Gln Phe Leu Ser Asp Glu Val Phe Ile Val
85 90 95

Asn Val Thr Asp Gln Ser Gly Asn Asn Ser Gln Glu Cys Gly Ser Phe
100 105 110

Val Leu Ala Glu Ser Ile Lys Pro Ala Pro Pro Leu Asn Val Thr Val
115 120 125

Ala Phe Ser Gly Arg Tyr Asp Ile Ser Trp Asp Ser Ala Tyr Asp Glu
130 135 140

Pro Ser Asn Tyr Val Leu Arg Gly Lys Leu Gln Tyr Glu Leu Gln Tyr
145 150 155 160

Arg Asn Leu Arg Asp Pro Tyr Ala Val Arg Pro Val Thr Lys Leu Ile
165 170 175

Ser Val Asp Ser Arg Asn Val Ser Leu Leu Pro Glu Glu Phe His Lys
180 185 190

Asp Ser Ser Tyr Gln Leu Gln Val Arg Ala Ala Pro Gln Pro Gly Thr
195 200 205

```
Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95

Ala Arg Gly Gly Gly Ile Ser Arg Pro Glu Tyr Trp Gly Lys Gly Thr
            100                 105                 110

Leu Val Thr Val Ser Ser
        115
```

<210> 7
<211> 354
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 7

```
caggtgcagc tgcaggagtc tggccctggc ctggtgaagc cttccgagac cctgtctctg       60

acctgtgccg tgtccggcta ctccatctcc tccggctact actggggctg gatcagacag      120

cctcctggca agggcctgga gtggatcggc tccatctctc acaccggcaa cacctactac      180

aaccccctc tgaagtccag agtgaccatc tccgtggaca cctccaagaa ccagttctcc       240

ctgaagctgt cctctgtgac cgctgccgat accgccgtgt actactgtgc cagaggcggc       300

ggaatctcca gacctgagta ctggggccag ggcaccctgg tgaccgtgtc ctct            354
```

<210> 8
<211> 118
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 8

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

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

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

Ile Gly Ser Ile Ser His Thr Gly Asn Thr Tyr Tyr Asn Pro Pro Leu
    50                  55                  60

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

Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95

Ala Arg Gly Gly Gly Ile Ser Arg Pro Glu Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
            100                 105                 110
```

Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 9
<211> 327
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 9
tcttctgagc tgactcagga ccctcctgtg tctgtggcct tgggacagac agtcacgctc 60

acatgccaag gagacagcct cagaacctat tatgcaagct ggtaccagca gaagtcagga 120

caggccccta tacttctcct ctatggtaaa cacaaacggc cctcagggat cccagaccgc 180

ttctctggct ccacctcagg agacacagct tccttgacca tcactggggc tcaggcggaa 240

gacgaggctg actattactg taactcccgg gactccagtg gcaaccccca tgttctgttc 300

ggcggaggga cccagctcac cgtttta 327

<210> 10
<211> 109
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 10

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

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

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

Gly Lys His Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60

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

Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Asn Ser Arg Asp Ser Ser Gly Asn Pro
85 90 95

His Val Leu Phe Gly Gly Gly Thr Gln Leu Thr Val Leu
100 105

<210> 11
<211> 327
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 11
tcctctgagc tgacccagga tcctgctgtg tctgtggccc tgggccagac cgtcaggatc 60

acctgccagg gcgatagcct gagaacctac tacgcctcct ggtatcagca gaagcctgga 120

caggcccctg tgctggtgat ctacggcaag cacaagaggc catccggcat ccctgacaga 180

ttctccggct cctcctctgg caataccgcc tccctgacca tcaccggcgc tcaggccgag 240

gacgaggccg actactactg taactcccgg gactcttccg gcaaccctca cgtgctgttt 300

ggcggcggaa cccagctgac cgtgcta 327

<210> 12
<211> 109
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 12

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

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

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

Gly Lys His Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60

Ser Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Thr Gly Ala Gln Ala Glu
65 70 75 80

Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Asn Ser Arg Asp Ser Ser Gly Asn Pro
85 90 95

His Val Leu Phe Gly Gly Gly Thr Gln Leu Thr Val Leu
100 105

<210> 13
<211> 354
<212> DNA
<213> artificial

<220>
<223> H3 VH

<400> 13
caggtgcagc tgcaggagtc gggcccagga ctggtgaaga cttcggagac cctgtccctc 60

acctgcgctg tctctggtta ctccatcagc agtggttact actggggctg gatccggcag 120

cccccaggga aggggttgga gtggattggg agtatctctc atactgggaa cacctactac 180

aacccgcccc tcaagagtcg cgtcaccata tcagtagaca cgtccaagaa ccagttctcc 240

ctgaaactga gctctgtgac cgccgcagac acggccgtgt attactgtgc gcgattcatg 300

gggttcggcc gcccggagta ctggggcaaa ggcaccctgg tcaccgtctc gagt 354

<210> 14
<211> 118
<212> PRT
<213> artificial

<220>
<223> H3 VH

<400> 14

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

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

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

Ile Gly Ser Ile Ser His Thr Gly Asn Thr Tyr Tyr Asn Pro Pro Leu
50 55 60

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

Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Phe Met Gly Phe Gly Arg Pro Glu Tyr Trp Gly Lys Gly Thr
100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 15
<211> 354
<212> DNA
<213> artificial

<220>
<223> H4 VH

<400> 15
caggtgcagc tgcaggagtc gggcccagga ctggtgaaga cttcggagac cctgtccctc 60

acctgcgctg tctctggtta ctccatcagc agtggttact actggggctg gatccggcag 120

cccccaggga aggggttgga gtggattggg agtatctctc atactgggaa cacctactac 180

aacccgcccc tcaagagtcg cgtcaccata tcagtagaca cgtccaagaa ccagttctcc 240

ctgaaactga gctctgtgac cgccgcagac acggccgtgt attactgtgc gcgatggctc 300

gggttcggcc gcccggagta ctggggcaaa ggcaccctgg tcaccgtctc gagt 354

<210> 16
<211> 118
<212> PRT
<213> artificial

<220>
<223> H4 VH

<400> 16

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

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

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

Ile Gly Ser Ile Ser His Thr Gly Asn Thr Tyr Tyr Asn Pro Pro Leu
50 55 60

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

Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Trp Leu Gly Phe Gly Arg Pro Glu Tyr Trp Gly Lys Gly Thr
100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 17
<211> 354
<212> DNA
<213> artificial

<220>
<223> H5 VH

<400> 17
caggtgcagc tgcaggagtc gggcccagga ctggtgaaga cttcggagac cctgtccctc 60

acctgcgctg tctctggtta ctccatcagc agtggttact actggggctg gatccggcag 120

cccccaggga aggggttgga gtggattggg agtatctctc atactgggaa cacctactac 180

aacccgcccc tcaagagtcg cgtcaccata tcagtagaca cgtccaagaa ccagttctcc 240

ctgaaactga gctctgtgac cgccgcagac acggccgtgt attactgtgc gcgattcttg 300

ggcttcggcc ggccggagta ctggggcaaa ggcaccctgg tcaccgtctc gagt 354

<210> 18
<211> 118
<212> PRT
<213> artificial

<220>
<223> H5 VH

<400> 18

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

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

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

Ile Gly Ser Ile Ser His Thr Gly Asn Thr Tyr Tyr Asn Pro Pro Leu
50 55 60

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

Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Phe Leu Gly Phe Gly Arg Pro Glu Tyr Trp Gly Lys Gly Thr
100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 19
<211> 354
<212> DNA
<213> artificial

<220>
<223> H6 VH

<400> 19
caggtgcagc tgcaggagtc gggcccagga ctggtgaaga cttcggagac cctgtccctc 60

acctgcgctg tctctggtta ctccatcagc agtggttact actggggctg gatccggcag 120

cccccaggga aggggttgga gtggattggg agtatctctc atactgggaa cacctactac 180

aacccgcccc tcaagagtcg cgtcaccata tcagtagaca cgtccaagaa ccagttctcc 240

ctgaaactga gctctgtgac cgccgcagac acggccgtgt attactgtgc gcgattcttc 300

ggcttcggcc gcccggagta ctggggcaaa ggcaccctgg tcaccgtctc gagt 354

<210> 20
<211> 118
<212> PRT
<213> artificial

<220>
<223> H6 VH

<400> 20

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

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

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

Ile Gly Ser Ile Ser His Thr Gly Asn Thr Tyr Tyr Asn Pro Pro Leu
50 55 60

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

Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Phe Phe Gly Phe Gly Arg Pro Glu Tyr Trp Gly Lys Gly Thr
100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 21
<211> 327
<212> DNA
<213> artificial

<220>
<223> L1 VL

<400> 21
tcttctgagc tgactcagga ccctcctgtg tctgtggcct tgggacagac agtcacgctc 60

acatgccaag gagacagcct cagaacctat tatgcaagct ggtaccagca gaagtcagga 120

caggccccta tacttctcct ctatggtaaa cacaaacggc cctcagggat cccagaccgc 180

ttctctggct ccacctcagg agacacagct tccttgacca tcactggggc tcaggcggaa 240

gacgaggctg actattactg tgcgtcccgg tcggtgagcg gcaaccccca tgttctgttc 300

ggcggaggga cccagctcac cgtttta 327

<210> 22
<211> 109
<212> PRT
<213> artificial

<220>
<223> L1 VL

<400> 22

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

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

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

Gly Lys His Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60

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

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

His Val Leu Phe Gly Gly Gly Thr Gln Leu Thr Val Leu
100 105

<210> 23
<211> 327
<212> DNA
<213> artificial

<220>
<223> L2 VL

<400> 23
tcttctgagc tgactcagga ccctcctgtg tctgtggcct tgggacagac agtcacgctc 60

acatgccaag gagacagcct cagaacctat tatgcaagct ggtaccagca gaagtcagga 120

caggccccta tacttctcct ctatggtaaa cacaaacggc cctcagggat cccagaccgc 180

ttctctggct ccacctcagg agacacagct tccttgacca tcactggggc tcaggcggaa 240

gacgaggctg actattactg tgtcgcccgg tcggtggtgg gcaaccccca tgttctgttc 300

ggcggaggga cccagctcac cgtttta 327

<210> 24
<211> 109
<212> PRT

<213> artificial

<220>
<223> L2 VL

<400> 24

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

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

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

Gly Lys His Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60

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

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

His Val Leu Phe Gly Gly Gly Thr Gln Leu Thr Val Leu
100 105

<210> 25
<211> 327
<212> DNA
<213> artificial

<220>
<223> L3 VL

<400> 25
tcttctgagc tgactcagga ccctcctgtg tctgtggcct tgggacagac agtcacgctc 60

acatgccaag gagacagcct cagaacctat tatgcaagct ggtaccagca gaagtcagga 120

caggccccta tacttctcct ctatggtaaa cacaaacggc cctcagggat cccagaccgc 180

ttctctggct ccacctcagg agacacagct tccttgacca tcactggggc tcaggcggaa 240

gacgaggctg actattactg tgtcagcagg gcggtggtgg gcaaccccca tgttctgttc 300

ggcggaggga cccagctcac cgtttta 327

<210> 26
<211> 109
<212> PRT
<213> artificial

<220>
<223> L3 VL

<400> 26

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

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

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

Gly Lys His Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60

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

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

His Val Leu Phe Gly Gly Gly Thr Gln Leu Thr Val Leu
100 105

<210> 27
<211> 327
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> L4 VL

<400> 27
tcttctgagc tgactcagga ccctcctgtg tctgtggcct tgggacagac agtcacgctc 60

acatgccaag gagacagcct cagaacctat tatgcaagct ggtaccagca gaagtcagga 120

caggccccta tacttctcct ctatggtaaa cacaaacggc cctcagggat cccagaccgc 180

ttctctggct ccacctcagg agacacagct tccttgacca tcactggggc tcaggcggaa 240

gacgaggctg actattactg tagcacccgc agcagcaagg gcaaccccca tgttctgttc 300

ggcggaggga cccagctcac cgtttta 327

<210> 28
<211> 109
<212> PRT
<213> artificial

<220>
<223> L4 VL

<400> 28

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

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

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

Gly Lys His Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser
    50                  55                  60

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

Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ser Thr Arg Ser Ser Lys Gly Asn Pro
                85                  90                  95

His Val Leu Phe Gly Gly Gly Thr Gln Leu Thr Val Leu
            100                 105
```

<210> 29
<211> 327
<212> DNA
<213> artificial

<220>
<223> L5 VL

<400> 29

```
tcttctgagc tgactcagga ccctcctgtg tctgtggcct tgggacagac agtcacgctc       60

acatgccaag gagacagcct cagaacctat tatgcaagct ggtaccagca gaagtcagga      120

caggccccta tacttctcct ctatggtaaa cacaaacggc cctcagggat cccagaccgc      180

ttctctggct ccacctcagg agacacagct tccttgacca tcactggggc tcaggcggaa      240

gacgaggctg actattactg tgccagcagg tcctccaagg gcaaccccca tgttctgttc      300

ggcggaggga cccagctcac cgtttta                                          327
```

<210> 30
<211> 109
<212> PRT
<213> artificial

<220>
<223> L5 VL

<400> 30

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

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

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

Gly Lys His Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser
    50                  55                  60

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

Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Ser Arg Ser Ser Lys Gly Asn Pro
                85                  90                  95

His Val Leu Phe Gly Gly Gly Thr Gln Leu Thr Val Leu
            100                 105
```

<210> 31
<211> 327
<212> DNA
<213> artificial

<220>
<223> L6 VL

<400> 31

```
tcttctgagc tgactcagga ccctcctgtg tctgtggcct tgggacagac agtcacgctc       60

acatgccaag gagacagcct cagaacctat tatgcaagct ggtaccagca gaagtcagga      120

caggccccta tacttctcct ctatggtaaa cacaaacggc cctcagggat cccagaccgc      180

ttctctggct ccacctcagg agacacagct tccttgacca tcactggggc tcaggcggaa      240

gacgaggctg actattactg tatgagcagg agcatctggg gcaaccccca tgttctgttc      300

ggcggaggga cccagctcac cgtttta                                          327
```

<210> 32
<211> 109
<212> PRT
<213> artificial

<220>
<223> L6 VL

<400> 32

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

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

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

Gly Lys His Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser
```

50 55 60

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

Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Met Ser Arg Ser Ile Trp Gly Asn Pro
85 90 95

His Val Leu Phe Gly Gly Gly Thr Gln Leu Thr Val Leu
100 105

<210> 33
<211> 327
<212> DNA
<213> artificial

<220>
<223> L8 VL

<400> 33
tcttctgagc tgactcagga ccctcctgtg tctgtggcct tgggacagac agtcacgctc 60

acatgccaag gagacagcct cagaacctat tatgcaagct ggtaccagca gaagtcagga 120

caggccccta tacttctcct ctatggtaaa cacaaacggc cctcagggat cccagaccgc 180

ttctctggct ccacctcagg agacacagct tccttgacca tcactggggc tcaggcggaa 240

gacgaggctg actattactg taccacgcgc tccacccagg gcaacccccа tgttctgttc 300

ggcggaggga cccagctcac cgtttta 327

<210> 34
<211> 109
<212> PRT
<213> artificial

<220>
<223> L8 VL

<400> 34

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

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

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

Gly Lys His Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60

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

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

His Val Leu Phe Gly Gly Gly Thr Gln Leu Thr Val Leu
100 105

<210> 35
<211> 327
<212> DNA
<213> artificial

<220>
<223> L9 VL

<400> 35
tcttctgagc tgactcagga ccctcctgtg tctgtggcct tgggacagac agtcacgctc 60

acatgccaag gagacagcct cagaacctat tatgcaagct ggtaccagca gaagtcagga 120

caggccccta tacttctcct ctatggtaaa cacaaacggc cctcagggat cccagaccgc 180

ttctctggct ccacctcagg agacacagct tccttgacca tcactggggc tcaggcggaa 240

gacgaggctg actattactg tgtcgccagg tccaacaagg gcaaccccca tgttctgttc 300

ggcggaggga cccagctcac cgtttta 327

<210> 36
<211> 109
<212> PRT
<213> artificial

<220>
<223> L9 VL

<400> 36

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

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

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

Gly Lys His Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60

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

Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Val Ala Arg Ser Asn Lys Gly Asn Pro
85 90 95

```
His Val Leu Phe Gly Gly Gly Thr Gln Leu Thr Val Leu
            100                 105


<210>  37
<211>  327
<212>  DNA
<213>  artificial

<220>
<223>  L10 VL

<400>  37
tcttctgagc tgactcagga ccctcctgtg tctgtggcct tgggacagac agtcacgctc       60

acatgccaag gagacagcct cagaacctat tatgcaagct ggtaccagca gaagtcagga      120

caggccccta tacttctcct ctatggtaaa cacaaacggc cctcagggat cccagaccgc      180

ttctctggct ccacctcagg agacacagct tccttgacca tcactggggc tcaggcggaa      240

gacgaggctg actattactg tatcagccgg tcgatctacg gcaacccccа tgttctgttc      300

ggcggaggga cccagctcac cgtttta                                          327


<210>  38
<211>  109
<212>  PRT
<213>  artificial

<220>
<223>  L10 VL

<400>  38

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


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


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


Gly Lys His Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser
    50                  55                  60


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


Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ile Ser Arg Ser Ile Tyr Gly Asn Pro
                85                  90                  95


His Val Leu Phe Gly Gly Gly Thr Gln Leu Thr Val Leu
            100                 105
```

<210> 39
<211> 327
<212> DNA
<213> artificial

<220>
<223> L11 VL

<400> 39
tcttctgagc tgactcagga ccctcctgtg tctgtggcct tgggacagac agtcacgctc 60

acatgccaag gagacagcct cagaacctat tatgcaagct ggtaccagca gaagtcagga 120

caggccccta tacttctcct ctatggtaaa cacaaacggc cctcagggat cccagaccgc 180

ttctctggct ccacctcagg agacacagct tccttgacca tcactggggc tcaggcggaa 240

gacgaggctg actattactg ttcctcccgc tcccgccacg gcaacccccа tgttctgttc 300

ggcggaggga cccagctcac cgtttta 327

<210> 40
<211> 109
<212> PRT
<213> artificial

<220>
<223> L11 VL

<400> 40

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

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

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

Gly Lys His Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60

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

Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ser Ser Arg Ser Arg His Gly Asn Pro
85 90 95

His Val Leu Phe Gly Gly Gly Thr Gln Leu Thr Val Leu
100 105

<210> 41
<211> 327
<212> DNA
<213> artificial

<220>
<223> L12 VL

<400> 41
tcttctgagc tgactcagga ccctcctgtg tctgtggcct tgggacagac agtcacgctc 60

acatgccaag gagacagcct cagaacctat tatgcaagct ggtaccagca gaagtcagga 120

caggccccta tacttctcct ctatggtaaa cacaaacggc cctcagggat cccagaccgc 180

ttctctggct ccacctcagg agacacagct tccttgacca tcactggggc tcaggcggaa 240

gacgaggctg actattactg tgtcgcgagg gggacgaggg gcaaccccca tgttctgttc 300

ggcggaggga cccagctcac cgtttta 327

<210> 42
<211> 109
<212> PRT
<213> artificial

<220>
<223> L12 VL

<400> 42

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

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

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

Gly Lys His Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60

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

Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Val Ala Arg Gly Thr Arg Gly Asn Pro
85 90 95

His Val Leu Phe Gly Gly Gly Thr Gln Leu Thr Val Leu
100 105

<210> 43
<211> 327
<212> DNA
<213> artificial

<220>
<223> L13 VL

<400> 43
tcttctgagc tgactcagga ccctcctgtg tctgtggcct tgggacagac agtcacgctc 60

acatgccaag gagacagcct cagaacctat tatgcaagct ggtaccagca gaagtcagga 120

caggccccta tacttctcct ctatggtaaa cacaaacggc cctcagggat cccagaccgc 180

ttctctggct ccacctcagg agacacagct tccttgacca tcactggggc tcaggcggaa 240

gacgaggctg actattactg tgtcacccgc aaccgctacg gcaacccccа tgttctgttc 300

ggcggaggga cccagctcac cgtttta 327

<210> 44
<211> 109
<212> PRT
<213> artificial

<220>
<223> L13 VL

<400> 44

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

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

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

Gly Lys His Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60

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

Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Val Thr Arg Asn Arg Tyr Gly Asn Pro
85 90 95

His Val Leu Phe Gly Gly Gly Thr Gln Leu Thr Val Leu
100 105

<210> 45
<211> 327
<212> DNA
<213> artificial

<220>
<223> L14 VL

<400> 45
tcttctgagc tgactcagga ccctcctgtg tctgtggcct tgggacagac agtcacgctc 60

acatgccaag gagacagcct cagaacctat tatgcaagct ggtaccagca gaagtcagga 120

caggccccta tacttctcct ctatggtaaa cacaaacggc cctcagggat cccagaccgc 180

ttctctggct ccacctcagg agacacagct tccttgacca tcactggggc tcaggcggaa 240

gacgaggctg actattactg tatggcgagg tcgaggaagg gcaaccccca tgttctgttc 300

ggcggaggga cccagctcac cgtttta 327

<210> 46
<211> 109
<212> PRT
<213> artificial

<220>
<223> L14 VL

<400> 46

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

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

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

Gly Lys His Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60

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

Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Met Ala Arg Ser Arg Lys Gly Asn Pro
85 90 95

His Val Leu Phe Gly Gly Gly Thr Gln Leu Thr Val Leu
100 105

<210> 47
<211> 327
<212> DNA
<213> artificial

<220>
<223> L15 VL

<400> 47
tcttctgagc tgactcagga ccctcctgtg tctgtggcct tgggacagac agtcacgctc 60

acatgccaag gagacagcct cagaacctat tatgcaagct ggtaccagca gaagtcagga 120

caggccccta tacttctcct ctatggtaaa cacaaacggc cctcagggat cccagaccgc 180

ttctctggct ccacctcagg agacacagct tccttgacca tcactggggc tcaggcggaa 240

gacgaggctg actattactg ttccacccgc gccatccacg gcaaccccca tgttctgttc 300

ggcggaggga cccagctcac cgtttta 327

<210> 48
<211> 109
<212> PRT
<213> artificial

<220>
<223> L15 VL

<400> 48

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

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

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

Gly Lys His Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60

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

Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ser Thr Arg Ala Ile His Gly Asn Pro
85 90 95

His Val Leu Phe Gly Gly Gly Thr Gln Leu Thr Val Leu
100 105

<210> 49
<211> 327
<212> DNA
<213> artificial

<220>
<223> L16 VL

<400> 49
tcttctgagc tgactcagga ccctcctgtg tctgtggcct tgggacagac agtcacgctc 60

acatgccaag gagacagcct cagaacctat tatgcaagct ggtaccagca gaagtcagga 120

caggccccta tacttctcct ctatggtaaa cacaaacggc cctcagggat cccagaccgc 180

ttctctggct ccacctcagg agacacagct tccttgacca tcactggggc tcaggcggaa 240

gacgaggctg actattactg tgtgacgagg agcgcgaagg gcaaccccca tgttctgttc 300

ggcggaggga cccagctcac cgtttta 327

<210> 50
<211> 109
<212> PRT

<213> artificial

<220>
<223> L16 VL

<400> 50

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

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

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

Gly Lys His Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60

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

Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Val Thr Arg Ser Ala Lys Gly Asn Pro
85 90 95

His Val Leu Phe Gly Gly Gly Thr Gln Leu Thr Val Leu
100 105

<210> 51
<211> 327
<212> DNA
<213> artificial

<220>
<223> L17 VL

<400> 51
tcttctgagc tgactcagga ccctcctgtg tctgtggcct tgggacagac agtcacgctc 60

acatgccaag gagacagcct cagaacctat tatgcaagct ggtaccagca gaagtcagga 120

caggccccta tacttctcct ctatggtaaa cacaaacggc cctcagggat cccagaccgc 180

ttctctggct ccacctcagg agacacagct tccttgacca tcactggggc tcaggcggaa 240

gacgaggctg actattactg tagcacgagg tcgaggaagg gcaaccccca tgttctgttc 300

ggcggaggga cccagctcac cgtttta 327

<210> 52
<211> 109
<212> PRT
<213> artificial

<220>
<223> L17 VL

<400> 52

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

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

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

Gly Lys His Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60

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

Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ser Thr Arg Ser Arg Lys Gly Asn Pro
85 90 95

His Val Leu Phe Gly Gly Gly Thr Gln Leu Thr Val Leu
100 105

<210> 53
<211> 327
<212> DNA
<213> artificial

<220>
<223> L18 VL

<400> 53
tcttctgagc tgactcagga ccctcctgtg tctgtggcct tgggacagac agtcacgctc 60

acatgccaag gagacagcct cagaacctat tatgcaagct ggtaccagca gaagtcagga 120

caggccccta tacttctcct ctatggtaaa cacaaacggc cctcagggat cccagaccgc 180

ttctctggct ccacctcagg agacacagct tccttgacca tcactggggc tcaggcggaa 240

gacgaggctg actattactg tgtcacgagg agcgtgaagg gcaaccccca tgttctgttc 300

ggcggaggga cccagctcac cgtttta 327

<210> 54
<211> 109
<212> PRT
<213> artificial

<220>
<223> L18 VL

<400> 54

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

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

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

Gly Lys His Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser
    50                  55                  60

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

Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Val Thr Arg Ser Val Lys Gly Asn Pro
                85                  90                  95

His Val Leu Phe Gly Gly Gly Thr Gln Leu Thr Val Leu
            100                 105
```

<210> 55
<211> 327
<212> DNA
<213> artificial

<220>
<223> L19 VL

<400> 55

```
tcttctgagc tgactcagga ccctcctgtg tctgtggcct tgggacagac agtcacgctc       60

acatgccaag gagacagcct cagaacctat tatgcaagct ggtaccagca gaagtcagga      120

caggccccta tacttctcct ctatggtaaa cacaaacggc cctcagggat cccagaccgc      180

ttctctggct ccacctcagg agacacagct tccttgacca tcactggggc tcaggcggaa      240

gacgaggctg actattactg tgtcgcgcgg gcggtgaggg gcaaccccca tgttctgttc      300

ggcggaggga cccagctcac cgtttta                                          327
```

<210> 56
<211> 109
<212> PRT
<213> artificial

<220>
<223> L19 VL

<400> 56

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

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

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

Gly Lys His Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60

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

Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Val Ala Arg Ala Val Arg Gly Asn Pro
85 90 95

His Val Leu Phe Gly Gly Gly Thr Gln Leu Thr Val Leu
100 105

<210> 57
<211> 327
<212> DNA
<213> artificial

<220>
<223> L20 VL

<400> 57
tcttctgagc tgactcagga ccctcctgtg tctgtggcct tgggacagac agtcacgctc 60

acatgccaag gagacagcct cagaacctat tatgcaagct ggtaccagca gaagtcagga 120

caggccccta tacttctcct ctatggtaaa cacaaacggc cctcagggat cccagaccgc 180

ttctctggct ccacctcagg agacacagct tccttgacca tcactggggc tcaggcggaa 240

gacgaggctg actattactg tgtctcccgc agcgcgaagg gcaacccccа tgttctgttc 300

ggcggaggga cccagctcac cgtttta 327

<210> 58
<211> 109
<212> PRT
<213> artificial

<220>
<223> L20 VL

<400> 58

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

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

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

Gly Lys His Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser

```
    50                  55                  60

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

Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Val Ser Arg Ser Ala Lys Gly Asn Pro
                85                  90                  95

His Val Leu Phe Gly Gly Gly Thr Gln Leu Thr Val Leu
            100                 105

<210>  59
<211>  327
<212>  DNA
<213>  artificial

<220>
<223>  L21 VL

<400>  59
tcttctgagc tgactcagga ccctcctgtg tctgtggcct tgggacagac agtcacgctc       60

acatgccaag gagacagcct cagaacctat tatgcaagct ggtaccagca gaagtcagga      120

caggccccta tacttctcct ctatggtaaa cacaaacggc cctcagggat cccagaccgc      180

ttctctggct ccacctcagg agacacagct tccttgacca tcactggggc tcaggcggaa      240

gacgaggctg actattactg tgccacccgg gcggtccggg gcaacccccа tgttctgttc      300

ggcggaggga cccagctcac cgtttta                                          327

<210>  60
<211>  109
<212>  PRT
<213>  artificial

<220>
<223>  L21 VL

<400>  60

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

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

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

Gly Lys His Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser
    50                  55                  60

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

Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Thr Arg Ala Val Arg Gly Asn Pro
85 90 95

His Val Leu Phe Gly Gly Gly Thr Gln Leu Thr Val Leu
100 105

<210> 61
<211> 327
<212> DNA
<213> artificial

<220>
<223> L23 VL

<400> 61
tcttctgagc tgactcagga ccctcctgtg tctgtggcct tgggacagac agtcacgctc 60

acatgccaag gagacagcct cagaacctat tatgcaagct ggtaccagca gaagtcagga 120

caggccccta tacttctcct ctatggtaaa cacaaacggc cctcagggat cccagaccgc 180

ttctctggct ccacctcagg agacacagct tccttgacca tcactggggc tcaggcggaa 240

gacgaggctg actattactg ttcggcgcgg tcggtgaggg gcaaccccca tgttctgttc 300

ggcggaggga cccagctcac cgtttta 327

<210> 62
<211> 109
<212> PRT
<213> artificial

<220>
<223> L23 VL

<400> 62

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

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

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

Gly Lys His Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60

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

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

```
His Val Leu Phe Gly Gly Gly Thr Gln Leu Thr Val Leu
            100                 105
```

<210> 63
<211> 327
<212> DNA
<213> artificial

<220>
<223> L24 VL

<400> 63
tcttctgagc tgactcagga ccctcctgtg tctgtggcct tgggacagac agtcacgctc 60

acatgccaag gagacagcct cagaacctat tatgcaagct ggtaccagca gaagtcagga 120

caggccccta tacttctcct ctatggtaaa cacaaacggc cctcagggat cccagaccgc 180

ttctctggct ccacctcagg agacacagct tccttgacca tcactggggc tcaggcggaa 240

gacgaggctg actattactg tatcgccagg agcaacaagg gcaaccccca tgttctgttc 300

ggcggaggga cccagctcac cgtttta 327

<210> 64
<211> 109
<212> PRT
<213> artificial

<220>
<223> L24 VL

<400> 64

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

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

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

Gly Lys His Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser
    50                  55                  60

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

Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ile Ala Arg Ser Asn Lys Gly Asn Pro
                85                  90                  95

His Val Leu Phe Gly Gly Gly Thr Gln Leu Thr Val Leu
            100                 105
```

<210> 65
<211> 327
<212> DNA
<213> artificial

<220>
<223> L25 VL

<400> 65
tcttctgagc tgactcagga ccctcctgtg tctgtggcct tgggacagac agtcacgctc 60

acatgccaag gagacagcct cagaacctat tatgcaagct ggtaccagca gaagtcagga 120

caggccccta tacttctcct ctatggtaaa cacaaacggc cctcagggat cccagaccgc 180

ttctctggct ccacctcagg agacacagct tccttgacca tcactggggc tcaggcggaa 240

gacgaggctg actattactg tacgacgcgg agcaacaagg gcaaccccca tgttctgttc 300

ggcggaggga cccagctcac cgtttta 327

<210> 66
<211> 109
<212> PRT
<213> artificial

<220>
<223> L25 VL

<400> 66

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

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

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

Gly Lys His Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60

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

Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Thr Thr Arg Ser Asn Lys Gly Asn Pro
85 90 95

His Val Leu Phe Gly Gly Gly Thr Gln Leu Thr Val Leu
100 105

<210> 67
<211> 1401
<212> DNA
<213> artificial

<220>
<223> VH4 heavy chain

<400> 67
atgggatgga gctgtatcat cctcttcttg gtagcaacag ctacaggcgc gcactctcag 60

gtgcagctgc aggagtctgg ccctggcctg gtgaagcctt ccgagaccct gtctctgacc 120

tgtgccgtgt ccggctactc catctcctcc ggctactact ggggctggat cagacagcct 180

cctggcaagg gcctggagtg gatcggctcc atctctcaca ccggcaacac ctactacaac 240

ccccctctga agtccagagt gaccatctcc gtggacacct ccaagaacca gttctccctg 300

aagctgtcct ctgtgaccgc tgccgatacc gccgtgtact actgtgccag atggctcggg 360

ttcggccgcc cggagtactg gggcaaaggc accctggtga ccgtgtcctc tgcctccacc 420

aagggcccat cggtcttccc cctggcaccc tcctccaaga gcacctctgg gggcacagcg 480

gccctgggct gcctggtcaa ggactacttc cccgaaccgg tgacggtgtc gtggaactca 540

ggcgccctga ccagcggcgt gcacaccttc ccggctgtcc tacagtcctc aggactctac 600

tccctcagca gcgtggtgac cgtgccctcc agcagcttgg gcacccagac ctacatctgc 660

aacgtgaatc acaagcccag caacaccaag gtggacaaga aagttgagcc caaatcttgt 720

gacaaaactc acacatgccc accgtgccca gcacctgaag ccgcgggggc accgtcagtc 780

ttcctcttcc ccccaaaacc caaggacacc ctcatgatct cccggacccc tgaggtcaca 840

tgcgtggtgg tggacgtgag ccacgaagac cctgaggtca agttcaactg gtacgtggac 900

ggcgtggagg tgcataatgc caagacaaag ccgcgggagg agcagtacaa cagcacgtac 960

cgtgtggtca gcgtcctcac cgtcctgcac caggactggc tgaatggcaa ggagtacaag 1020

tgcaaggtct ccaacaaagc cctcccagcc cccatcgaga aaaccatctc caaagccaaa 1080

ggtcagcccc gagaaccaca ggtgtacacc ctgcccccat cccgggagga gatgaccaag 1140

aaccaggtca gcctgacctg cctggtcaaa ggcttctatc ccagcgacat cgccgtggag 1200

tgggagagca atgggcagcc ggagaacaac tacaagacca cgcctcccgt gctggactcc 1260

gacggctcct tcttcctcta tagcaagctc accgtggaca agagcaggtg gcagcagggg 1320

aacgtcttct catgctccgt gatgcatgag gctctgcaca accactacac gcagaagagc 1380

ctctccctgt ccccgggtaa a 1401

<210> 68
<211> 467
<212> PRT
<213> artificial

<220>
<223> VH4 heavy chain

<400> 68

Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly
1 5 10 15

```
Ala His Ser Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys
            20                  25                  30

Pro Ser Glu Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Ser Gly Tyr Ser Ile
        35                  40                  45

Ser Ser Gly Tyr Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly
    50                  55                  60

Leu Glu Trp Ile Gly Ser Ile Ser His Thr Gly Asn Thr Tyr Tyr Asn
65                  70                  75                  80

Pro Pro Leu Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn
                85                  90                  95

Gln Phe Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val
            100                 105                 110

Tyr Tyr Cys Ala Arg Trp Leu Gly Phe Gly Arg Pro Glu Tyr Trp Gly
        115                 120                 125

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

Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala
145                 150                 155                 160

Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val
                165                 170                 175

Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala
            180                 185                 190

Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val
        195                 200                 205

Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His
    210                 215                 220

Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys
225                 230                 235                 240

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly
                245                 250                 255

Ala Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
            260                 265                 270
```

```
Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
        275                 280                 285

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
    290                 295                 300

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
305                 310                 315                 320

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
                325                 330                 335

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
            340                 345                 350

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
        355                 360                 365

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser
    370                 375                 380

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
385                 390                 395                 400

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
                405                 410                 415

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
            420                 425                 430

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
        435                 440                 445

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
    450                 455                 460

Pro Gly Lys
465
```

<210> 69
<211> 1401
<212> DNA
<213> artificial

<220>
<223> VH5 heavy chain

<400> 69
atgggatgga gctgtatcat cctcttcttg gtagcaacag ctacaggcgc gcactctcag 60

gtgcagctgc aggagtctgg ccctggcctg gtgaagcctt ccgagaccct gtctctgacc 120

tgtgccgtgt ccggctactc catctcctcc ggctactact ggggctggat cagacagcct 180

cctggcaagg gcctggagtg gatcggctcc atctctcaca ccggcaacac ctactacaac 240

ccccctctga agtccagagt gaccatctcc gtggacacct ccaagaacca gttctccctg 300

aagctgtcct ctgtgaccgc tgccgatacc gccgtgtact actgtgccag attcttgggc 360

ttcggccggc cggagtactg gggcaaaggc accctggtga ccgtgtcctc tgcctccacc 420

aagggcccat cggtcttccc cctggcaccc tcctccaaga gcacctctgg gggcacagcg 480

gccctgggct gcctggtcaa ggactacttc cccgaaccgg tgacggtgtc gtggaactca 540

ggcgccctga ccagcggcgt gcacaccttc ccggctgtcc tacagtcctc aggactctac 600

tccctcagca gcgtggtgac cgtgccctcc agcagcttgg gcacccagac ctacatctgc 660

aacgtgaatc acaagcccag caacaccaag gtggacaaga aagttgagcc caaatcttgt 720

gacaaaactc acacatgccc accgtgccca gcacctgaag ccgcgggggc accgtcagtc 780

ttcctcttcc ccccaaaacc caaggacacc ctcatgatct cccggacccc tgaggtcaca 840

tgcgtggtgg tggacgtgag ccacgaagac cctgaggtca agttcaactg gtacgtggac 900

ggcgtggagg tgcataatgc caagacaaag ccgcgggagg agcagtacaa cagcacgtac 960

cgtgtggtca gcgtcctcac cgtcctgcac caggactggc tgaatggcaa ggagtacaag 1020

tgcaaggtct ccaacaaagc cctcccagcc cccatcgaga aaaccatctc caaagccaaa 1080

ggtcagcccc gagaaccaca ggtgtacacc ctgcccccat cccgggagga gatgaccaag 1140

aaccaggtca gcctgacctg cctggtcaaa ggcttctatc ccagcgacat cgccgtggag 1200

tgggagagca atgggcagcc ggagaacaac tacaagacca cgcctcccgt gctggactcc 1260

gacggctcct tcttcctcta tagcaagctc accgtggaca agagcaggtg gcagcagggg 1320

aacgtcttct catgctccgt gatgcatgag gctctgcaca accactacac gcagaagagc 1380

ctctccctgt ccccgggtaa a 1401

<210> 70
<211> 467
<212> PRT
<213> artificial

<220>
<223> VH5 heavy chain

<400> 70

Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly
1 5 10 15

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

Pro Ser Glu Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Ser Gly Tyr Ser Ile

```
        35                  40                  45

Ser Ser Gly Tyr Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly
    50                  55                  60

Leu Glu Trp Ile Gly Ser Ile Ser His Thr Gly Asn Thr Tyr Tyr Asn
65                  70                  75                  80

Pro Pro Leu Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn
                85                  90                  95

Gln Phe Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val
            100                 105                 110

Tyr Tyr Cys Ala Arg Phe Leu Gly Phe Gly Arg Pro Glu Tyr Trp Gly
        115                 120                 125

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

Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala
145                 150                 155                 160

Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val
                165                 170                 175

Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala
            180                 185                 190

Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val
        195                 200                 205

Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His
    210                 215                 220

Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys
225                 230                 235                 240

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly
                245                 250                 255

Ala Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
            260                 265                 270

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
        275                 280                 285

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
    290                 295                 300
```

```
His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
305                 310                 315                 320

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
                325                 330                 335

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
            340                 345                 350

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
        355                 360                 365

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser
    370                 375                 380

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
385                 390                 395                 400

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
                405                 410                 415

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
            420                 425                 430

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
        435                 440                 445

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
    450                 455                 460

Pro Gly Lys
465
```

<210> 71
<211> 1401
<212> DNA
<213> artificial

<220>
<223> VH6 heavy chain

<400> 71

```
atgggatgga gctgtatcat cctcttcttg gtagcaacag ctacaggcgc gcactctcag       60

gtgcagctgc aggagtctgg ccctggcctg gtgaagcctt ccgagaccct gtctctgacc      120

tgtgccgtgt ccggctactc catctcctcc ggctactact ggggctggat cagacagcct      180

cctggcaagg gcctggagtg gatcggctcc atctctcaca ccggcaacac ctactacaac      240

ccccctctga agtccagagt gaccatctcc gtggacacct ccaagaacca gttctccctg      300
```

```
aagctgtcct ctgtgaccgc tgccgatacc gccgtgtact actgtgccag attcttcggc      360
ttcggccgcc cggagtactg gggcaaaggc accctggtga ccgtgtcctc tgcctccacc      420
aagggcccat cggtcttccc cctggcaccc tcctccaaga gcacctctgg gggcacagcg      480
gccctgggct gcctggtcaa ggactacttc cccgaaccgg tgacggtgtc gtggaactca      540
ggcgccctga ccagcggcgt gcacaccttc ccggctgtcc tacagtcctc aggactctac      600
tccctcagca gcgtggtgac cgtgccctcc agcagcttgg gcacccagac ctacatctgc      660
aacgtgaatc acaagcccag caacaccaag gtggacaaga aagttgagcc caaatcttgt      720
gacaaaactc acacatgccc accgtgccca gcacctgaag ccgcgggggc accgtcagtc      780
ttcctcttcc ccccaaaacc caaggacacc ctcatgatct cccggacccc tgaggtcaca      840
tgcgtggtgg tggacgtgag ccacgaagac cctgaggtca agttcaactg gtacgtggac      900
ggcgtggagg tgcataatgc caagacaaag ccgcgggagg agcagtacaa cagcacgtac      960
cgtgtggtca gcgtcctcac cgtcctgcac caggactggc tgaatggcaa ggagtacaag     1020
tgcaaggtct ccaacaaagc cctcccagcc cccatcgaga aaaccatctc caaagccaaa     1080
ggtcagcccc gagaaccaca ggtgtacacc ctgcccccat cccgggagga gatgaccaag     1140
aaccaggtca gcctgacctg cctggtcaaa ggcttctatc ccagcgacat cgccgtggag     1200
tgggagagca atgggcagcc ggagaacaac tacaagacca cgcctcccgt gctggactcc     1260
gacggctcct tcttcctcta tagcaagctc accgtggaca agagcaggtg gcagcagggg     1320
aacgtcttct catgctccgt gatgcatgag gctctgcaca accactacac gcagaagagc     1380
ctctccctgt ccccgggtaa a                                               1401
```

<210> 72
<211> 467
<212> PRT
<213> artificial

<220>
<223> VH6 heavy chain

<400> 72

```
Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly
1               5                  10                  15

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

Pro Ser Glu Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Ser Gly Tyr Ser Ile
        35                  40                  45

Ser Ser Gly Tyr Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly
    50                  55                  60
```

Leu Glu Trp Ile Gly Ser Ile Ser His Thr Gly Asn Thr Tyr Tyr Asn
65 70 75 80

Pro Pro Leu Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn
85 90 95

Gln Phe Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val
100 105 110

Tyr Tyr Cys Ala Arg Phe Phe Gly Phe Gly Arg Pro Glu Tyr Trp Gly
115 120 125

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

Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala
145 150 155 160

Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val
165 170 175

Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala
180 185 190

Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val
195 200 205

Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His
210 215 220

Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys
225 230 235 240

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly
245 250 255

Ala Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
260 265 270

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
275 280 285

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
290 295 300

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
305 310 315 320

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly

325 330 335

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
340 345 350

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
355 360 365

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser
370 375 380

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
385 390 395 400

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
405 410 415

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
420 425 430

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
435 440 445

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
450 455 460

Pro Gly Lys
465

<210> 73
<211> 702
<212> DNA
<213> artificial

<220>
<223> VL3 light chain

<400> 73
atgggatgga gctgtatcat cctcttcttg gtagcaacag ctacaggcgc gcactcttcc 60

tctgagctga cccaggatcc tgctgtgtct gtggccctgg gccagaccgt caggatcacc 120

tgccagggcg atagcctgag aacctactac gcctcctggt atcagcagaa gcctggacag 180

gcccctgtgc tggtgatcta cggcaagcac aagaggccat ccggcatccc tgacagattc 240

tccggctcct cctctggcaa taccgcctcc ctgaccatca ctggggctca ggcggaagac 300

gaggctgact attactgtgt cagcagggcg gtggtgggca acccccatgt tctgttcggc 360

ggagggaccc agctcaccgt tttaggtcag cccaaggctg ccccctcggt cactctgttc 420

ccgccctcct ctgaggagct tcaagccaac aaggccacac tggtgtgtct cataagtgac 480

ttctacccgg gagccgtgac agtggcctgg aaggcagata gcagccccgt caaggcggga 540

gtggagacca ccacaccctc caaacaaagc aacaacaagt acgcggccag cagctatctg 600

agcctgacgc ctgagcagtg gaagtcccac agaagctaca gctgccaggt cacgcatgaa 660

gggagcaccg tggagaagac agtggcccct acagaatgtt ca 702

<210> 74
<211> 234
<212> PRT
<213> artificial

<220>
<223> VL3 light chain

<400> 74

Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly
1 5 10 15

Ala His Ser Ser Ser Glu Leu Thr Gln Asp Pro Ala Val Ser Val Ala
20 25 30

Leu Gly Gln Thr Val Arg Ile Thr Cys Gln Gly Asp Ser Leu Arg Thr
35 40 45

Tyr Tyr Ala Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Leu
50 55 60

Val Ile Tyr Gly Lys His Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe
65 70 75 80

Ser Gly Ser Ser Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Thr Gly Ala
85 90 95

Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Val Ser Arg Ala Val Val
100 105 110

Gly Asn Pro His Val Leu Phe Gly Gly Gly Thr Gln Leu Thr Val Leu
115 120 125

Gly Gln Pro Lys Ala Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser
130 135 140

Glu Glu Leu Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp
145 150 155 160

Phe Tyr Pro Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro
165 170 175

Val Lys Ala Gly Val Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn
180 185 190

```
Lys Tyr Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys
        195                 200                 205

Ser His Arg Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val
    210                 215                 220

Glu Lys Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser
225                 230
```

<210> 75
<211> 702
<212> DNA
<213> artificial

<220>
<223> VL11 light chain

<400> 75

```
atgggatgga gctgtatcat cctcttcttg gtagcaacag ctacaggcgc gcactcttcc       60

tctgagctga cccaggatcc tgctgtgtct gtggccctgg gccagaccgt caggatcacc      120

tgccagggcg atagcctgag aacctactac gcctcctggt atcagcagaa gcctggacag      180

gcccctgtgc tggtgatcta cggcaagcac aagaggccat ccggcatccc tgacagattc      240

tccggctcct cctctggcaa taccgcctcc ctgaccatca ctggggctca ggcggaagac      300

gaggctgact attactgttc ctcccgctcc cgccacggca acccccatgt tctgttcggc      360

ggagggaccc agctcaccgt tttaggtcag cccaaggctg ccccctcggt cactctgttc      420

ccgccctcct ctgaggagct tcaagccaac aaggccacac tggtgtgtct cataagtgac      480

ttctacccgg gagccgtgac agtggcctgg aaggcagata gcagccccgt caaggcggga      540

gtggagacca ccacaccctc caaacaaagc aacaacaagt acgcggccag cagctatctg      600

agcctgacgc ctgagcagtg gaagtcccac agaagctaca gctgccaggt cacgcatgaa      660

gggagcaccg tggagaagac agtggccct acagaatgtt ca                          702
```

<210> 76
<211> 234
<212> PRT
<213> artificial

<220>
<223> VL11 light chain

<400> 76

```
Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly
1               5                   10                  15

Ala His Ser Ser Ser Glu Leu Thr Gln Asp Pro Ala Val Ser Val Ala
            20                  25                  30
```

Leu Gly Gln Thr Val Arg Ile Thr Cys Gln Gly Asp Ser Leu Arg Thr
35 40 45

Tyr Tyr Ala Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Leu
50 55 60

Val Ile Tyr Gly Lys His Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe
65 70 75 80

Ser Gly Ser Ser Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Thr Gly Ala
85 90 95

Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ser Ser Arg Ser Arg His
100 105 110

Gly Asn Pro His Val Leu Phe Gly Gly Gly Thr Gln Leu Thr Val Leu
115 120 125

Gly Gln Pro Lys Ala Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser
130 135 140

Glu Glu Leu Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp
145 150 155 160

Phe Tyr Pro Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro
165 170 175

Val Lys Ala Gly Val Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn
180 185 190

Lys Tyr Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys
195 200 205

Ser His Arg Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val
210 215 220

Glu Lys Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser
225 230

<210> 77
<211> 702
<212> DNA
<213> artificial

<220>
<223> VL13 light chain

<400> 77
atgggatgga gctgtatcat cctcttcttg gtagcaacag ctacaggcgc gcactcttcc 60

tctgagctga cccaggatcc tgctgtgtct gtggccctgg gccagaccgt caggatcacc 120

tgccagggcg atagcctgag aacctactac gcctcctggt atcagcagaa gcctggacag 180

gcccctgtgc tggtgatcta cggcaagcac aagaggccat ccggcatccc tgacagattc 240

tccggctcct cctctggcaa taccgcctcc ctgaccatca ctggggctca ggcggaagac 300

gaggctgact attactgtgt cacccgcaac cgctacggca acccccatgt tctgttcggc 360

ggagggaccc agctcaccgt tttaggtcag cccaaggctg ccccctcggt cactctgttc 420

ccgccctcct ctgaggagct tcaagccaac aaggccacac tggtgtgtct cataagtgac 480

ttctacccgg gagccgtgac agtggcctgg aaggcagata gcagccccgt caaggcggga 540

gtggagacca ccacaccctc caaacaaagc aacaacaagt acgcggccag cagctatctg 600

agcctgacgc ctgagcagtg gaagtcccac agaagctaca gctgccaggt cacgcatgaa 660

gggagcaccg tggagaagac agtggcccct acagaatgtt ca 702

<210> 78
<211> 234
<212> PRT
<213> artificial

<220>
<223> VL13 light chain

<400> 78

Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly
1 5 10 15

Ala His Ser Ser Ser Glu Leu Thr Gln Asp Pro Ala Val Ser Val Ala
20 25 30

Leu Gly Gln Thr Val Arg Ile Thr Cys Gln Gly Asp Ser Leu Arg Thr
35 40 45

Tyr Tyr Ala Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Leu
50 55 60

Val Ile Tyr Gly Lys His Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe
65 70 75 80

Ser Gly Ser Ser Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Thr Gly Ala
85 90 95

Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Val Thr Arg Asn Arg Tyr
100 105 110

Gly Asn Pro His Val Leu Phe Gly Gly Gly Thr Gln Leu Thr Val Leu
115 120 125

Gly Gln Pro Lys Ala Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser
130 135 140

Glu Glu Leu Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp
145 150 155 160

Phe Tyr Pro Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro
165 170 175

Val Lys Ala Gly Val Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn
180 185 190

Lys Tyr Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys
195 200 205

Ser His Arg Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val
210 215 220

Glu Lys Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser
225 230

<210> 79
<211> 702
<212> DNA
<213> artificial

<220>
<223> VL14 light chain

<400> 79
atgggatgga gctgtatcat cctcttcttg gtagcaacag ctacaggcgc gcactcttcc 60

tctgagctga cccaggatcc tgctgtgtct gtggccctgg gccagaccgt caggatcacc 120

tgccagggcg atagcctgag aacctactac gcctcctggt atcagcagaa gcctggacag 180

gcccctgtgc tggtgatcta cggcaagcac aagaggccat ccggcatccc tgacagattc 240

tccggctcct cctctggcaa taccgcctcc ctgaccatca ctggggctca ggcggaagac 300

gaggctgact attactgtat ggcgaggtcg aggaagggca acccccatgt tctgttcggc 360

ggagggaccc agctcaccgt tttaggtcag cccaaggctg ccccctcggt cactctgttc 420

ccgccctcct ctgaggagct tcaagccaac aaggccacac tggtgtgtct cataagtgac 480

ttctacccgg gagccgtgac agtggcctgg aaggcagata gcagccccgt caaggcggga 540

gtggagacca ccacaccctc caaacaaagc aacaacaagt acgcggccag cagctatctg 600

agcctgacgc ctgagcagtg gaagtcccac agaagctaca gctgccaggt cacgcatgaa 660

gggagcaccg tggagaagac agtggcccct acagaatgtt ca 702

<210> 80
<211> 234
<212> PRT
<213> artificial

<220>
<223> VL14 light chain

<400> 80

```
Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly
1               5                  10                  15

Ala His Ser Ser Ser Glu Leu Thr Gln Asp Pro Ala Val Ser Val Ala
            20                  25                  30

Leu Gly Gln Thr Val Arg Ile Thr Cys Gln Gly Asp Ser Leu Arg Thr
        35                  40                  45

Tyr Tyr Ala Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Leu
    50                  55                  60

Val Ile Tyr Gly Lys His Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe
65                  70                  75                  80

Ser Gly Ser Ser Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Thr Gly Ala
                85                  90                  95

Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Met Ala Arg Ser Arg Lys
            100                 105                 110

Gly Asn Pro His Val Leu Phe Gly Gly Gly Thr Gln Leu Thr Val Leu
        115                 120                 125

Gly Gln Pro Lys Ala Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser
    130                 135                 140

Glu Glu Leu Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp
145                 150                 155                 160

Phe Tyr Pro Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro
                165                 170                 175

Val Lys Ala Gly Val Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn
            180                 185                 190

Lys Tyr Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys
        195                 200                 205

Ser His Arg Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val
    210                 215                 220

Glu Lys Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser
225                 230
```

<210> 81
<211> 702
<212> DNA
<213> artificial

<220>
<223> VL17 light chain

<400> 81
atgggatgga gctgtatcat cctcttcttg gtagcaacag ctacaggcgc gcactcttcc 60

tctgagctga cccaggatcc tgctgtgtct gtggccctgg gccagaccag aatcctgacc 120

tgccagggcg atagcctgag aacctactac gcctcctggt atcagcagaa gcctggacag 180

gcccctgtgc tggtgatcta cggcaagcac aagaggccat ccggcatccc tgacagattc 240

tccggctcct cctctggcaa taccgcctcc ctgaccatca ctggggctca ggcggaagac 300

gaggctgact attactgtag cacgaggtcg aggaagggca acccccatgt tctgttcggc 360

ggagggaccc agctcaccgt tttaggtcag cccaaggctg ccccctcggt cactctgttc 420

ccgccctcct ctgaggagct tcaagccaac aaggccacac tggtgtgtct cataagtgac 480

ttctacccgg gagccgtgac agtggcctgg aaggcagata gcagccccgt caaggcggga 540

gtggagacca ccacaccctc caaacaaagc aacaacaagt acgcggccag cagctatctg 600

agcctgacgc ctgagcagtg gaagtcccac agaagctaca gctgccaggt cacgcatgaa 660

gggagcaccg tggagaagac agtggccccct acagaatgtt ca 702

<210> 82
<211> 234
<212> PRT
<213> artificial

<220>
<223> VL17 light chain

<400> 82

Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly
1 5 10 15

Ala His Ser Ser Ser Glu Leu Thr Gln Asp Pro Ala Val Ser Val Ala
20 25 30

Leu Gly Gln Thr Arg Ile Leu Thr Cys Gln Gly Asp Ser Leu Arg Thr
35 40 45

Tyr Tyr Ala Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Leu
50 55 60

Val Ile Tyr Gly Lys His Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe
65 70 75 80

Ser Gly Ser Ser Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Thr Gly Ala

85 90 95

Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ser Thr Arg Ser Arg Lys
100 105 110

Gly Asn Pro His Val Leu Phe Gly Gly Gly Thr Gln Leu Thr Val Leu
115 120 125

Gly Gln Pro Lys Ala Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser
130 135 140

Glu Glu Leu Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp
145 150 155 160

Phe Tyr Pro Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro
165 170 175

Val Lys Ala Gly Val Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn
180 185 190

Lys Tyr Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys
195 200 205

Ser His Arg Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val
210 215 220

Glu Lys Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser
225 230

<210> 83
<211> 702
<212> DNA
<213> artificial

<220>
<223> VL23 light chain

<400> 83
atgggatgga gctgtatcat cctcttcttg gtagcaacag ctacaggcgc gcactcttcc 60

tctgagctga cccaggatcc tgctgtgtct gtggccctgg gccagaccgt caggatcacc 120

tgccagggcg atagcctgag aacctactac gcctcctggt atcagcagaa gcctggacag 180

gcccctgtgc tggtgatcta cggcaagcac aagaggccat ccggcatccc tgacagattc 240

tccggctcct cctctggcaa taccgcctcc ctgaccatca ctggggctca ggcggaagac 300

gaggctgact attactgttc ggcgcggtcg gtgaggggca acccccatgt tctgttcggc 360

ggagggaccc agctcaccgt tttaggtcag cccaaggctg ccccctcggt cactctgttc 420

ccgccctcct ctgaggagct tcaagccaac aaggccacac tggtgtgtct cataagtgac 480

ttctacccgg gagccgtgac agtggcctgg aaggcagata gcagccccgt caaggcggga 540

gtggagacca ccacaccctc caaacaaagc aacaacaagt acgcggccag cagctatctg 600

agcctgacgc ctgagcagtg gaagtcccac agaagctaca gctgccaggt cacgcatgaa 660

gggagcaccg tggagaagac agtggcccct acagaatgtt ca 702

<210> 84
<211> 234
<212> PRT
<213> artificial

<220>
<223> VL23 light chain

<400> 84

Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly
1 5 10 15

Ala His Ser Ser Ser Glu Leu Thr Gln Asp Pro Ala Val Ser Val Ala
20 25 30

Leu Gly Gln Thr Val Arg Ile Thr Cys Gln Gly Asp Ser Leu Arg Thr
35 40 45

Tyr Tyr Ala Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Leu
50 55 60

Val Ile Tyr Gly Lys His Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe
65 70 75 80

Ser Gly Ser Ser Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Thr Gly Ala
85 90 95

Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ser Ala Arg Ser Val Arg
100 105 110

Gly Asn Pro His Val Leu Phe Gly Gly Gly Thr Gln Leu Thr Val Leu
115 120 125

Gly Gln Pro Lys Ala Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser
130 135 140

Glu Glu Leu Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp
145 150 155 160

Phe Tyr Pro Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro
165 170 175

Val Lys Ala Gly Val Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn
180 185 190

```
Lys Tyr Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys
        195                 200                 205

Ser His Arg Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val
    210                 215                 220

Glu Lys Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser
225                 230
```

<210> 85
<211> 702
<212> DNA
<213> artificial

<220>
<223> VL24 light chain

<400> 85

```
atgggatgga gctgtatcat cctcttcttg gtagcaacag ctacaggcgc gcactcttcc       60

tctgagctga cccaggatcc tgctgtgtct gtggccctgg gccagaccgt caggatcacc      120

tgccagggcg atagcctgag aacctactac gcctcctggt atcagcagaa gcctggacag      180

gcccctgtgc tggtgatcta cggcaagcac aagaggccat ccggcatccc tgacagattc      240

tccggctcct cctctggcaa taccgcctcc ctgaccatca ctggggctca ggcggaagac      300

gaggctgact attactgtat cgccaggagc aacaagggca acccccatgt tctgttcggc      360

ggagggaccc agctcaccgt tttaggtcag cccaaggctg ccccctcggt cactctgttc      420

ccgccctcct ctgaggagct tcaagccaac aaggccacac tggtgtgtct cataagtgac      480

ttctacccgg gagccgtgac agtggcctgg aaggcagata gcagccccgt caaggcggga      540

gtggagacca ccacaccctc caaacaaagc aacaacaagt acgcggccag cagctatctg      600

agcctgacgc ctgagcagtg gaagtcccac agaagctaca gctgccaggt cacgcatgaa      660

gggagcaccg tggagaagac agtggccccct acagaatgtt ca                        702
```

<210> 86
<211> 234
<212> PRT
<213> artificial

<220>
<223> VL24 light chain

<400> 86

```
Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly
1               5                   10                  15

Ala His Ser Ser Ser Glu Leu Thr Gln Asp Pro Ala Val Ser Val Ala
            20                  25                  30
```

Leu Gly Gln Thr Val Arg Ile Thr Cys Gln Gly Asp Ser Leu Arg Thr
35 40 45

Tyr Tyr Ala Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Leu
50 55 60

Val Ile Tyr Gly Lys His Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe
65 70 75 80

Ser Gly Ser Ser Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Thr Gly Ala
85 90 95

Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ile Ala Arg Ser Asn Lys
100 105 110

Gly Asn Pro His Val Leu Phe Gly Gly Gly Thr Gln Leu Thr Val Leu
115 120 125

Gly Gln Pro Lys Ala Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser
130 135 140

Glu Glu Leu Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp
145 150 155 160

Phe Tyr Pro Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro
165 170 175

Val Lys Ala Gly Val Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn
180 185 190

Lys Tyr Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys
195 200 205

Ser His Arg Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val
210 215 220

Glu Lys Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser
225 230

<210> 87
<211> 1401
<212> DNA
<213> artificial

<220>
<223> VHPTM heavy chain with signal sequence

<400> 87
atgggatgga gctgtatcat cctcttcttg gtagcaacag ctacaggcgc gcactctcag 60

gtgcagctgc aggagtctgg ccctggcctg gtgaagcctt ccgagaccct gtctctgacc 120

```
tgtgccgtgt ccggctactc catctcctcc ggctactact ggggctggat cagacagcct      180
cctggcaagg gcctggagtg gatcggctcc atctctcaca ccggcaacac ctactacaac      240
ccccctctga agtccagagt gaccatctcc gtggacacct ccaagaacca gttctccctg      300
aagctgtcct ctgtgaccgc tgccgatacc gccgtgtact actgtgccag aggcggcgga      360
atctccagac ctgagtactg gggccagggc accctggtga ccgtgtcctc tgcctccacc      420
aagggcccat cggtcttccc cctggcaccc tcctccaaga gcacctctgg gggcacagcg      480
gccctgggct gcctggtcaa ggactacttc cccgaaccgg tgacggtgtc gtggaactca      540
ggcgccctga ccagcggcgt gcacaccttc ccggctgtcc tacagtcctc aggactctac      600
tccctcagca gcgtggtgac cgtgccctcc agcagcttgg gcacccagac ctacatctgc      660
aacgtgaatc acaagcccag caacaccaag gtggacaaga aagttgagcc caaatcttgt      720
gacaaaactc acacatgccc accgtgccca gcacctgaag ccgcgggggc accgtcagtc      780
ttcctcttcc ccccaaaacc caaggacacc ctcatgatct cccggacccc tgaggtcaca      840
tgcgtggtgg tggacgtgag ccacgaagac cctgaggtca agttcaactg gtacgtggac      900
ggcgtggagg tgcataatgc caagacaaag ccgcgggagg agcagtacaa cagcacgtac      960
cgtgtggtca gcgtcctcac cgtcctgcac caggactggc tgaatggcaa ggagtacaag     1020
tgcaaggtct ccaacaaagc cctcccagcc cccatcgaga aaaccatctc caaagccaaa     1080
ggtcagcccc gagaaccaca ggtgtacacc ctgcccccat cccgggagga gatgaccaag     1140
aaccaggtca gcctgacctg cctggtcaaa ggcttctatc ccagcgacat cgccgtggag     1200
tgggagagca atgggcagcc ggagaacaac tacaagacca cgcctcccgt gctggactcc     1260
gacggctcct tcttcctcta tagcaagctc accgtggaca agagcaggtg gcagcagggg     1320
aacgtcttct catgctccgt gatgcatgag gctctgcaca accactacac gcagaagagc     1380
ctctccctgt ccccgggtaa a                                               1401
```

<210> 88
<211> 467
<212> PRT
<213> artificial

<220>
<223> VHPTM heavy chain with signal sequence

<400> 88

```
Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly
1               5                  10                  15

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

Pro Ser Glu Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Ser Gly Tyr Ser Ile
        35                  40                  45
```

Ser Ser Gly Tyr Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly
50 55 60

Leu Glu Trp Ile Gly Ser Ile Ser His Thr Gly Asn Thr Tyr Tyr Asn
65 70 75 80

Pro Pro Leu Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn
85 90 95

Gln Phe Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val
100 105 110

Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly Gly Gly Ile Ser Arg Pro Glu Tyr Trp Gly
115 120 125

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
130 135 140

Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala
145 150 155 160

Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val
165 170 175

Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala
180 185 190

Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val
195 200 205

Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His
210 215 220

Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys
225 230 235 240

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly
245 250 255

Ala Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
260 265 270

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
275 280 285

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
290 295 300

```
His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
305                 310                 315                 320

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
                325                 330                 335

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
            340                 345                 350

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
        355                 360                 365

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser
    370                 375                 380

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
385                 390                 395                 400

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
                405                 410                 415

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
            420                 425                 430

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
        435                 440                 445

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
    450                 455                 460

Pro Gly Lys
465
```

<210> 89
<211> 1401
<212> DNA
<213> artificial

<220>
<223> VHPDM heavy chain with signal sequence

<400> 89

```
atgggatgga gctgtatcat cctcttcttg gtagcaacag ctacaggcgc gcactctcag      60

gtgcagctgc aggagtctgg ccctggcctg gtgaagcctt ccgagaccct gtctctgacc     120

tgtgccgtgt ccggctactc catctcctcc ggctactact ggggctggat cagacagcct     180

cctggcaagg gcctggagtg gatcggctcc atctctcaca ccggcaacac ctactacaac     240

ccccctctga agtccagagt gaccatctcc gtggacacct ccaagaacca gttctccctg     300

aagctgtcct ctgtgaccgc tgccgatacc gccgtgtact actgtgccag aggcggcgga     360
```

atctccagac ctgagtactg gggccagggc accctggtga ccgtgtcctc tgcctccacc 420

aagggcccat cggtcttccc cctggcaccc tcctccaaga gcacctctgg gggcacagcg 480

gccctgggct gcctggtcaa ggactacttc cccgaaccgg tgacggtgtc gtggaactca 540

ggcgccctga ccagcggcgt gcacaccttc ccggctgtcc tacagtcctc aggactctac 600

tccctcagca gcgtggtgac cgtgccctcc agcagcttgg gcacccagac ctacatctgc 660

aacgtgaatc acaagcccag caacaccaag gtggacaaga aagttgagcc caaatcttgt 720

gacaaaactc acacatgccc accgtgccca gcacctgaag ccctgggggc accgtcagtc 780

ttcctcttcc ccccaaaacc caaggacacc ctcatgatct cccggacccc tgaggtcaca 840

tgcgtggtgg tggacgtgag ccacgaagac cctgaggtca agttcaactg gtacgtggac 900

ggcgtggagg tgcataatgc caagacaaag ccgcgggagg agcagtacaa cagcacgtac 960

cgtgtggtca gcgtcctcac cgtcctgcac caggactggc tgaatggcaa ggagtacaag 1020

tgcaaggtct ccaacaaagc cctcccagcc cccatcgaga aaaccatctc caaagccaaa 1080

ggtcagcccc gagaaccaca ggtgtacacc ctgcccccat cccgggagga gatgaccaag 1140

aaccaggtca gcctgacctg cctggtcaaa ggcttctatc ccagcgacat cgccgtggag 1200

tgggagagca atgggcagcc ggagaacaac tacaagacca cgcctcccgt gctggactcc 1260

gacggctcct tcttcctcta tagcaagctc accgtggaca agagcaggtg gcagcagggg 1320

aacgtcttct catgctccgt gatgcatgag gctctgcaca accactacac gcagaagagc 1380

ctctccctgt ccccgggtaa a 1401

<210> 90
<211> 467
<212> PRT
<213> artificial

<220>
<223> VHPDM heavy chain with signal sequence

<400> 90

Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly
1 5 10 15

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

Pro Ser Glu Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Ser Gly Tyr Ser Ile
35 40 45

Ser Ser Gly Tyr Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly
50 55 60

Leu Glu Trp Ile Gly Ser Ile Ser His Thr Gly Asn Thr Tyr Tyr Asn

65 70 75 80

Pro Pro Leu Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn
85 90 95

Gln Phe Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val
100 105 110

Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly Gly Gly Ile Ser Arg Pro Glu Tyr Trp Gly
115 120 125

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
130 135 140

Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala
145 150 155 160

Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val
165 170 175

Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala
180 185 190

Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val
195 200 205

Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His
210 215 220

Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys
225 230 235 240

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Leu Gly
245 250 255

Ala Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
260 265 270

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
275 280 285

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
290 295 300

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
305 310 315 320

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
325 330 335

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
340 345 350

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
355 360 365

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser
370 375 380

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
385 390 395 400

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
405 410 415

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
420 425 430

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
435 440 445

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
450 455 460

Pro Gly Lys
465

<210> 91
<211> 1401
<212> DNA
<213> artificial

<220>
<223> VH3TM heavy chain with signal sequence

<400> 91
atgggatgga gctgtatcat cctcttcttg gtagcaacag ctacaggcgc gcactctcag 60

gtgcagctgc aggagtctgg ccctggcctg gtgaagcctt ccgagaccct gtctctgacc 120

tgtgccgtgt ccggctactc catctcctcc ggctactact ggggctggat cagacagcct 180

cctggcaagg gcctggagtg gatcggctcc atctctcaca ccggcaacac ctactacaac 240

ccccctctga agtccagagt gaccatctcc gtggacacct ccaagaacca gttctccctg 300

aagctgtcct ctgtgaccgc tgccgatacc gccgtgtact actgtgccag attcatgggg 360

ttcggccgcc cggagtactg gggccagggc accctggtga ccgtgtcctc tgcctccacc 420

aagggcccat cggtcttccc cctggcaccc tcctccaaga gcacctctgg gggcacagcg 480

gccctgggct gcctggtcaa ggactacttc cccgaaccgg tgacggtgtc gtggaactca 540

```
ggcgccctga ccagcggcgt gcacaccttc ccggctgtcc tacagtcctc aggactctac      600
tccctcagca gcgtggtgac cgtgccctcc agcagcttgg gcacccagac ctacatctgc      660
aacgtgaatc acaagcccag caacaccaag gtggacaaga aagttgagcc caaatcttgt      720
gacaaaactc acacatgccc accgtgccca gcacctgaag ccgcgggggc accgtcagtc      780
ttcctcttcc ccccaaaacc caaggacacc ctcatgatct cccggacccc tgaggtcaca      840
tgcgtggtgg tggacgtgag ccacgaagac cctgaggtca agttcaactg gtacgtggac      900
ggcgtggagg tgcataatgc caagacaaag ccgcgggagg agcagtacaa cagcacgtac      960
cgtgtggtca gcgtcctcac cgtcctgcac caggactggc tgaatggcaa ggagtacaag     1020
tgcaaggtct ccaacaaagc cctcccagcc cccatcgaga aaaccatctc caaagccaaa     1080
ggtcagcccc gagaaccaca ggtgtacacc ctgcccccat cccgggagga gatgaccaag     1140
aaccaggtca gcctgacctg cctggtcaaa ggcttctatc ccagcgacat cgccgtggag     1200
tgggagagca atgggcagcc ggagaacaac tacaagacca cgcctcccgt gctggactcc     1260
gacggctcct tcttcctcta tagcaagctc accgtggaca agagcaggtg gcagcagggg     1320
aacgtcttct catgctccgt gatgcatgag gctctgcaca accactacac gcagaagagc     1380
ctctccctgt ccccgggtaa a                                               1401
```

<210> 92
<211> 467
<212> PRT
<213> artificial

<220>
<223> VH3DM heavy chain with signal sequence

<400> 92

```
Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly
1               5                  10                  15

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

Pro Ser Glu Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Ser Gly Tyr Ser Ile
        35                  40                  45

Ser Ser Gly Tyr Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly
    50                  55                  60

Leu Glu Trp Ile Gly Ser Ile Ser His Thr Gly Asn Thr Tyr Tyr Asn
65                  70                  75                  80

Pro Pro Leu Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn
                85                  90                  95
```

Gln Phe Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val
100 105 110

Tyr Tyr Cys Ala Arg Phe Met Gly Phe Gly Arg Pro Glu Tyr Trp Gly
115 120 125

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
130 135 140

Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala
145 150 155 160

Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val
165 170 175

Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala
180 185 190

Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val
195 200 205

Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His
210 215 220

Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys
225 230 235 240

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Leu Gly
245 250 255

Ala Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
260 265 270

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
275 280 285

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
290 295 300

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
305 310 315 320

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
325 330 335

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
340 345 350

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val

355 360 365

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser
370 375 380

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
385 390 395 400

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
405 410 415

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
420 425 430

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
435 440 445

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
450 455 460

Pro Gly Lys
465

<210> 93
<211> 1401
<212> DNA
<213> artificial

<220>
<223> VH3DM heavy chain with signal sequence

<400> 93
atgggatgga gctgtatcat cctcttcttg gtagcaacag ctacaggcgc gcactctcag 60

gtgcagctgc aggagtctgg ccctggcctg gtgaagcctt ccgagaccct gtctctgacc 120

tgtgccgtgt ccggctactc catctcctcc ggctactact ggggctggat cagacagcct 180

cctggcaagg gcctggagtg gatcggctcc atctctcaca ccggcaacac ctactacaac 240

ccccctctga agtccagagt gaccatctcc gtggacacct ccaagaacca gttctccctg 300

aagctgtcct ctgtgaccgc tgccgatacc gccgtgtact actgtgccag attcatgggg 360

ttcggccgcc cggagtactg gggccagggc accctggtga ccgtgtcctc tgcctccacc 420

aagggcccat cggtcttccc cctggcaccc tcctccaaga gcacctctgg gggcacagcg 480

gccctgggct gcctggtcaa ggactacttc cccgaaccgg tgacggtgtc gtggaactca 540

ggcgccctga ccagcggcgt gcacaccttc ccggctgtcc tacagtcctc aggactctac 600

tccctcagca gcgtggtgac cgtgccctcc agcagcttgg gcacccagac ctacatctgc 660

aacgtgaatc acaagcccag caacaccaag gtggacaaga aagttgagcc caaatcttgt 720

gacaaaactc acacatgccc accgtgccca gcacctgaag ccctgggggc accgtcagtc 780

ttcctcttcc ccccaaaacc caaggacacc ctcatgatct cccggacccc tgaggtcaca 840

tgcgtggtgg tggacgtgag ccacgaagac cctgaggtca agttcaactg gtacgtggac 900

ggcgtggagg tgcataatgc caagacaaag ccgcgggagg agcagtacaa cagcacgtac 960

cgtgtggtca gcgtcctcac cgtcctgcac caggactggc tgaatggcaa ggagtacaag 1020

tgcaaggtct ccaacaaagc cctcccagcc cccatcgaga aaaccatctc caaagccaaa 1080

ggtcagcccc gagaaccaca ggtgtacacc ctgcccccat cccgggagga gatgaccaag 1140

aaccaggtca gcctgacctg cctggtcaaa ggcttctatc ccagcgacat cgccgtggag 1200

tgggagagca atgggcagcc ggagaacaac tacaagacca cgcctcccgt gctggactcc 1260

gacggctcct tcttcctcta tagcaagctc accgtggaca agagcaggtg gcagcagggg 1320

aacgtcttct catgctccgt gatgcatgag gctctgcaca accactacac gcagaagagc 1380

ctctccctgt ccccgggtaa a 1401

<210> 94
<211> 467
<212> PRT
<213> artificial

<220>
<223> VH3TM heavy chain with signal sequence

<400> 94

Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly
1 5 10 15

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

Pro Ser Glu Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Ser Gly Tyr Ser Ile
35 40 45

Ser Ser Gly Tyr Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly
50 55 60

Leu Glu Trp Ile Gly Ser Ile Ser His Thr Gly Asn Thr Tyr Tyr Asn
65 70 75 80

Pro Pro Leu Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn
85 90 95

Gln Phe Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val
100 105 110

Tyr Tyr Cys Ala Arg Phe Met Gly Phe Gly Arg Pro Glu Tyr Trp Gly
115 120 125

```
Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
    130                 135                 140

Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala
145                 150                 155                 160

Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val
                165                 170                 175

Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala
            180                 185                 190

Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val
        195                 200                 205

Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His
    210                 215                 220

Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys
225                 230                 235                 240

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly
                245                 250                 255

Ala Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
            260                 265                 270

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
        275                 280                 285

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
    290                 295                 300

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
305                 310                 315                 320

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
                325                 330                 335

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
            340                 345                 350

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
        355                 360                 365

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser
    370                 375                 380
```

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
385 390 395 400

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
405 410 415

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
420 425 430

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
435 440 445

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
450 455 460

Pro Gly Lys
465

<210> 95
<211> 702
<212> DNA
<213> artificial

<220>
<223> VL2 light chain with signal sequence

<400> 95
atgggatgga gctgtatcat cctcttcttg gtagcaacag ctacaggcgc gcactcttcc 60

tctgagctga cccaggatcc tgctgtgtct gtggccctgg gccagaccgt caggatcacc 120

tgccagggcg atagcctgag aacctactac gcctcctggt atcagcagaa gcctggacag 180

gcccctgtgc tggtgatcta cggcaagcac aagaggccat ccggcatccc tgacagattc 240

tccggctcct cctctggcaa taccgcctcc ctgaccatca ctggggctca ggcggaagac 300

gaggctgact attactgtgt cgcccggtcg gtggtgggca acccccatgt tctgttcggc 360

ggagggaccc agctcaccgt tttaggtcag cccaaggctg ccccctcggt cactctgttc 420

ccgccctcct ctgaggagct tcaagccaac aaggccacac tggtgtgtct cataagtgac 480

ttctacccgg gagccgtgac agtggcctgg aaggcagata gcagccccgt caaggcggga 540

gtggagacca ccacaccctc caaacaaagc aacaacaagt acgcggccag cagctatctg 600

agcctgacgc ctgagcagtg gaagtcccac agaagctaca gctgccaggt cacgcatgaa 660

gggagcaccg tggagaagac agtggccct acagaatgtt ca 702

<210> 96
<211> 234
<212> PRT
<213> artificial

<220>
<223> VL2 light chain with signal sequence

<400> 96

Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly
1 5 10 15

Ala His Ser Ser Ser Glu Leu Thr Gln Asp Pro Ala Val Ser Val Ala
20 25 30

Leu Gly Gln Thr Val Arg Ile Thr Cys Gln Gly Asp Ser Leu Arg Thr
35 40 45

Tyr Tyr Ala Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Leu
50 55 60

Val Ile Tyr Gly Lys His Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe
65 70 75 80

Ser Gly Ser Ser Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Thr Gly Ala
85 90 95

Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Val Ala Arg Ser Val Val
100 105 110

Gly Asn Pro His Val Leu Phe Gly Gly Gly Thr Gln Leu Thr Val Leu
115 120 125

Gly Gln Pro Lys Ala Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser
130 135 140

Glu Glu Leu Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp
145 150 155 160

Phe Tyr Pro Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro
165 170 175

Val Lys Ala Gly Val Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn
180 185 190

Lys Tyr Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys
195 200 205

Ser His Arg Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val
210 215 220

Glu Lys Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser
225 230

<210> 97
<211> 702

<212> DNA
<213> artificial

<220>
<223> VL6 light chain with signal sequence

<400> 97
atgggatgga gctgtatcat cctcttcttg gtagcaacag ctacaggcgc gcactcttcc 60

tctgagctga cccaggatcc tgctgtgtct gtggccctgg gccagaccgt caggatcacc 120

tgccagggcg atagcctgag aacctactac gcctcctggt atcagcagaa gcctggacag 180

gcccctgtgc tggtgatcta cggcaagcac aagaggccat ccggcatccc tgacagattc 240

tccggctcct cctctggcaa taccgcctcc ctgaccatca ctggggctca ggcggaagac 300

gaggctgact attactgtat gagcaggagc atctggggca acccccatgt tctgttcggc 360

ggagggaccc agctcaccgt tttaggtcag cccaaggctg ccccctcggt cactctgttc 420

ccgccctcct ctgaggagct tcaagccaac aaggccacac tggtgtgtct cataagtgac 480

ttctacccgg gagccgtgac agtggcctgg aaggcagata gcagccccgt caaggcggga 540

gtggagacca ccacaccctc caaacaaagc aacaacaagt acgcggccag cagctatctg 600

agcctgacgc ctgagcagtg gaagtcccac agaagctaca gctgccaggt cacgcatgaa 660

gggagcaccg tggagaagac agtggcccct acagaatgtt ca 702

<210> 98
<211> 234
<212> PRT
<213> artificial

<220>
<223> VL6 light chain with signal sequence

<400> 98

Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly
1 5 10 15

Ala His Ser Ser Ser Glu Leu Thr Gln Asp Pro Ala Val Ser Val Ala
20 25 30

Leu Gly Gln Thr Val Arg Ile Thr Cys Gln Gly Asp Ser Leu Arg Thr
35 40 45

Tyr Tyr Ala Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Leu
50 55 60

Val Ile Tyr Gly Lys His Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe
65 70 75 80

Ser Gly Ser Ser Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Thr Gly Ala
85 90 95

```
Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Met Ser Arg Ser Ile Trp
            100                 105                 110

Gly Asn Pro His Val Leu Phe Gly Gly Gly Thr Gln Leu Thr Val Leu
        115                 120                 125

Gly Gln Pro Lys Ala Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser
    130                 135                 140

Glu Glu Leu Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp
145                 150                 155                 160

Phe Tyr Pro Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro
                165                 170                 175

Val Lys Ala Gly Val Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn
            180                 185                 190

Lys Tyr Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys
        195                 200                 205

Ser His Arg Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val
    210                 215                 220

Glu Lys Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser
225                 230
```

<210> 99
<211> 702
<212> DNA
<213> artificial

<220>
<223> VL9 light chain with signal sequence

<400> 99

```
atgggatgga gctgtatcat cctcttcttg gtagcaacag ctacaggcgc gcactcttcc       60

tctgagctga cccaggatcc tgctgtgtct gtggccctgg gccagaccgt caggatcacc      120

tgccagggcg atagcctgag aacctactac gcctcctggt atcagcagaa gcctggacag      180

gcccctgtgc tggtgatcta cggcaagcac aagaggccat ccggcatccc tgacagattc      240

tccggctcct cctctggcaa taccgcctcc ctgaccatca ctggggctca ggcggaagac      300

gaggctgact attactgtgt cgccaggtcc aacaagggca acccccatgt tctgttcggc      360

ggagggaccc agctcaccgt tttaggtcag cccaaggctg ccccctcggt cactctgttc      420

ccgccctcct ctgaggagct tcaagccaac aaggccacac tggtgtgtct cataagtgac      480

ttctacccgg gagccgtgac agtggcctgg aaggcagata gcagccccgt caaggcggga      540

gtggagacca ccacaccctc caaacaaagc aacaacaagt acgcggccag cagctatctg      600
```

agcctgacgc ctgagcagtg gaagtcccac agaagctaca gctgccaggt cacgcatgaa 660

gggagcaccg tggagaagac agtggcccct acagaatgtt ca 702

<210> 100
<211> 234
<212> PRT
<213> artificial

<220>
<223> VL9 light chain with signal sequence

<400> 100

Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly
1 5 10 15

Ala His Ser Ser Ser Glu Leu Thr Gln Asp Pro Ala Val Ser Val Ala
20 25 30

Leu Gly Gln Thr Val Arg Ile Thr Cys Gln Gly Asp Ser Leu Arg Thr
35 40 45

Tyr Tyr Ala Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Leu
50 55 60

Val Ile Tyr Gly Lys His Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe
65 70 75 80

Ser Gly Ser Ser Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Thr Gly Ala
85 90 95

Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Val Ala Arg Ser Asn Lys
100 105 110

Gly Asn Pro His Val Leu Phe Gly Gly Gly Thr Gln Leu Thr Val Leu
115 120 125

Gly Gln Pro Lys Ala Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser
130 135 140

Glu Glu Leu Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp
145 150 155 160

Phe Tyr Pro Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro
165 170 175

Val Lys Ala Gly Val Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn
180 185 190

Lys Tyr Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys

195 200 205

Ser His Arg Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val
210 215 220

Glu Lys Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser
225 230

<210> 101
<211> 702
<212> DNA
<213> artificial

<220>
<223> VL16 light chain with signal sequence

<400> 101
atgggatgga gctgtatcat cctcttcttg gtagcaacag ctacaggcgc gcactcttcc 60

tctgagctga cccaggatcc tgctgtgtct gtggccctgg gccagaccgt caggatcacc 120

tgccagggcg atagcctgag aacctactac gcctcctggt atcagcagaa gcctggacag 180

gcccctgtgc tggtgatcta cggcaagcac aagaggccat ccggcatccc tgacagattc 240

tccggctcct cctctggcaa taccgcctcc ctgaccatca ctggggctca ggcggaagac 300

gaggctgact attactgtgt gacgaggagc gcgaagggca acccccatgt tctgttcggc 360

ggagggaccc agctcaccgt tttaggtcag cccaaggctg ccccctcggt cactctgttc 420

ccgccctcct ctgaggagct tcaagccaac aaggccacac tggtgtgtct cataagtgac 480

ttctacccgg gagccgtgac agtggcctgg aaggcagata gcagccccgt caaggcggga 540

gtggagacca ccacaccctc caaacaaagc aacaacaagt acgcggccag cagctatctg 600

agcctgacgc ctgagcagtg gaagtcccac agaagctaca gctgccaggt cacgcatgaa 660

gggagcaccg tggagaagac agtggcccct acagaatgtt ca 702

<210> 102
<211> 234
<212> PRT
<213> artificial

<220>
<223> VL16 light chain with signal sequence

<400> 102

Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly
1 5 10 15

Ala His Ser Ser Ser Glu Leu Thr Gln Asp Pro Ala Val Ser Val Ala
20 25 30

Leu Gly Gln Thr Val Arg Ile Thr Cys Gln Gly Asp Ser Leu Arg Thr
35 40 45

Tyr Tyr Ala Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Leu
50 55 60

Val Ile Tyr Gly Lys His Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe
65 70 75 80

Ser Gly Ser Ser Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Thr Gly Ala
85 90 95

Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Val Thr Arg Ser Ala Lys
100 105 110

Gly Asn Pro His Val Leu Phe Gly Gly Gly Thr Gln Leu Thr Val Leu
115 120 125

Gly Gln Pro Lys Ala Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser
130 135 140

Glu Glu Leu Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp
145 150 155 160

Phe Tyr Pro Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro
165 170 175

Val Lys Ala Gly Val Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn
180 185 190

Lys Tyr Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys
195 200 205

Ser His Arg Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val
210 215 220

Glu Lys Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser
225 230

<210> 103
<211> 702
<212> DNA
<213> artificial

<220>
<223> VL18 light chain with signal sequence

<400> 103
atgggatgga gctgtatcat cctcttcttg gtagcaacag ctacaggcgc gcactcttcc 60

tctgagctga cccaggatcc tgctgtgtct gtggccctgg gccagaccgt caggatcacc 120

tgccagggcg atagcctgag aacctactac gcctcctggt atcagcagaa gcctggacag 180

gcccctgtgc tggtgatcta cggcaagcac aagaggccat ccggcatccc tgacagattc 240

tccggctcct cctctggcaa taccgcctcc ctgaccatca ctggggctca ggcggaagac 300

gaggctgact attactgtgt cacgaggagc gtgaagggca acccccatgt tctgttcggc 360

ggagggaccc agctcaccgt tttaggtcag cccaaggctg ccccctcggt cactctgttc 420

ccgccctcct ctgaggagct tcaagccaac aaggccacac tggtgtgtct cataagtgac 480

ttctacccgg gagccgtgac agtggcctgg aaggcagata gcagccccgt caaggcggga 540

gtggagacca ccacaccctc caaacaaagc aacaacaagt acgcggccag cagctatctg 600

agcctgacgc ctgagcagtg gaagtcccac agaagctaca gctgccaggt cacgcatgaa 660

gggagcaccg tggagaagac agtggccccct acagaatgtt ca 702

<210> 104
<211> 234
<212> PRT
<213> artificial

<220>
<223> VL18 light chain with signal sequence

<400> 104

Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly
1 5 10 15

Ala His Ser Ser Ser Glu Leu Thr Gln Asp Pro Ala Val Ser Val Ala
20 25 30

Leu Gly Gln Thr Val Arg Ile Thr Cys Gln Gly Asp Ser Leu Arg Thr
35 40 45

Tyr Tyr Ala Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Leu
50 55 60

Val Ile Tyr Gly Lys His Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe
65 70 75 80

Ser Gly Ser Ser Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Thr Gly Ala
85 90 95

Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Val Thr Arg Ser Val Lys
100 105 110

Gly Asn Pro His Val Leu Phe Gly Gly Gly Thr Gln Leu Thr Val Leu
115 120 125

Gly Gln Pro Lys Ala Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser
130 135 140

Glu Glu Leu Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp
145 150 155 160

Phe Tyr Pro Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro
165 170 175

Val Lys Ala Gly Val Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn
180 185 190

Lys Tyr Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys
195 200 205

Ser His Arg Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val
210 215 220

Glu Lys Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser
225 230

<210> 105
<211> 702
<212> DNA
<213> artificial

<220>
<223> VL20 light chain with signal sequence

<400> 105
atgggatgga gctgtatcat cctcttcttg gtagcaacag ctacaggcgc gcactcttcc 60

tctgagctga cccaggatcc tgctgtgtct gtggccctgg gccagaccgt caggatcacc 120

tgccagggcg atagcctgag aacctactac gcctcctggt atcagcagaa gcctggacag 180

gcccctgtgc tggtgatcta cggcaagcac aagaggccat ccggcatccc tgacagattc 240

tccggctcct cctctggcaa taccgcctcc ctgaccatca ctggggctca ggcggaagac 300

gaggctgact attactgtgt ctcccgcagc gcgaagggca acccccatgt tctgttcggc 360

ggagggaccc agctcaccgt tttaggtcag cccaaggctg ccccctcggt cactctgttc 420

ccgccctcct ctgaggagct tcaagccaac aaggccacac tggtgtgtct cataagtgac 480

ttctacccgg gagccgtgac agtggcctgg aaggcagata gcagccccgt caaggcggga 540

gtggagacca ccacaccctc caaacaaagc aacaacaagt acgcggccag cagctatctg 600

agcctgacgc ctgagcagtg gaagtcccac agaagctaca gctgccaggt cacgcatgaa 660

gggagcaccg tggagaagac agtggcccct acagaatgtt ca 702

<210> 106
<211> 234
<212> PRT
<213> artificial

<220>
<223> VL20 light chain with signal sequence

<400> 106

```
Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly
1               5                  10                  15

Ala His Ser Ser Ser Glu Leu Thr Gln Asp Pro Ala Val Ser Val Ala
            20                  25                  30

Leu Gly Gln Thr Val Arg Ile Thr Cys Gln Gly Asp Ser Leu Arg Thr
        35                  40                  45

Tyr Tyr Ala Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Leu
    50                  55                  60

Val Ile Tyr Gly Lys His Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe
65                  70                  75                  80

Ser Gly Ser Ser Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Thr Gly Ala
                85                  90                  95

Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Val Ser Arg Ser Ala Lys
            100                 105                 110

Gly Asn Pro His Val Leu Phe Gly Gly Gly Thr Gln Leu Thr Val Leu
        115                 120                 125

Gly Gln Pro Lys Ala Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser
    130                 135                 140

Glu Glu Leu Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp
145                 150                 155                 160

Phe Tyr Pro Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro
                165                 170                 175

Val Lys Ala Gly Val Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn
            180                 185                 190

Lys Tyr Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys
        195                 200                 205

Ser His Arg Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val
    210                 215                 220

Glu Lys Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser
225                 230
```

<210> 107
<211> 702

<212> DNA
<213> artificial

<220>
<223> VL25 light chain with signal sequence

<400> 107
atgggatgga gctgtatcat cctcttcttg gtagcaacag ctacaggcgc gcactcttcc 60

tctgagctga cccaggatcc tgctgtgtct gtggccctgg gccagaccgt caggatcacc 120

tgccagggcg atagcctgag aacctactac gcctcctggt atcagcagaa gcctggacag 180

gcccctgtgc tggtgatcta cggcaagcac aagaggccat ccggcatccc tgacagattc 240

tccggctcct cctctggcaa taccgcctcc ctgaccatca ctggggctca ggcggaagac 300

gaggctgact attactgtac gacgcggagc aacaagggca acccccatgt tctgttcggc 360

ggagggaccc agctcaccgt tttaggtcag cccaaggctg ccccctcggt cactctgttc 420

ccgccctcct ctgaggagct tcaagccaac aaggccacac tggtgtgtct cataagtgac 480

ttctacccgg gagccgtgac agtggcctgg aaggcagata gcagccccgt caaggcggga 540

gtggagacca ccacaccctc caaacaaagc aacaacaagt acgcggccag cagctatctg 600

agcctgacgc ctgagcagtg gaagtcccac agaagctaca gctgccaggt cacgcatgaa 660

gggagcaccg tggagaagac agtggcccct acagaatgtt ca 702

<210> 108
<211> 234
<212> PRT
<213> artificial

<220>
<223> VL25 light chain with signal sequence

<400> 108

Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly
1 5 10 15

Ala His Ser Ser Ser Glu Leu Thr Gln Asp Pro Ala Val Ser Val Ala
20 25 30

Leu Gly Gln Thr Val Arg Ile Thr Cys Gln Gly Asp Ser Leu Arg Thr
35 40 45

Tyr Tyr Ala Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Leu
50 55 60

Val Ile Tyr Gly Lys His Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe
65 70 75 80

Ser Gly Ser Ser Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Thr Gly Ala
85 90 95

```
Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Thr Thr Arg Ser Asn Lys
            100                 105                 110

Gly Asn Pro His Val Leu Phe Gly Gly Gly Thr Gln Leu Thr Val Leu
        115                 120                 125

Gly Gln Pro Lys Ala Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser
    130                 135                 140

Glu Glu Leu Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp
145                 150                 155                 160

Phe Tyr Pro Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro
                165                 170                 175

Val Lys Ala Gly Val Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn
            180                 185                 190

Lys Tyr Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys
        195                 200                 205

Ser His Arg Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val
    210                 215                 220

Glu Lys Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser
225                 230
```

<210> 109
<211> 732
<212> DNA
<213> artificial

<220>
<223> H3 scFV

<400> 109

```
caggtgcagc tgcaggagtc gggcccagga ctggtgaaga cttcggagac cctgtccctc       60

acctgcgctg tctctggtta ctccatcagc agtggttact actggggctg gatccggcag      120

cccccaggga aggggttgga gtggattggg agtatctctc atactgggaa cacctactac      180

aacccgcccc tcaagagtcg cgtcaccata tcagtagaca cgtccaagaa ccagttctcc      240

ctgaaactga gctctgtgac cgccgcagac acggccgtgt attactgtgc gcgattcatg      300

gggttcggcc gcccggagta ctggggcaaa ggcaccctgg tcaccgtctc gagtggaggc      360

ggcggttcag gcggaggtgg ctctggcggt ggcggaagtg cactttcttc tgagctgact      420

caggaccctc ctgtgtctgt ggccttggga cagacagtca cgctcacatg ccaaggagac      480

agcctcagaa cctattatgc aagctggtac cagcagaagt caggacaggc ccctatactt      540

ctcctctatg gtaaacacaa acggccctca gggatcccag accgcttctc tggctccacc      600
```

tcaggagaca cagcttcctt gaccatcact ggggctcagg cggaagacga ggctgactat 660

tactgtaact cccgggactc cagtggcaac ccccatgttc tgttcggcgg agggacccag 720

ctcaccgttt ta 732

<210> 110
<211> 244
<212> PRT
<213> artificial

<220>
<223> H3 scFV

<400> 110

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

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

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

Ile Gly Ser Ile Ser His Thr Gly Asn Thr Tyr Tyr Asn Pro Pro Leu
50 55 60

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

Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Phe Met Gly Phe Gly Arg Pro Glu Tyr Trp Gly Lys Gly Thr
100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
115 120 125

Gly Gly Gly Gly Ser Ala Leu Ser Ser Glu Leu Thr Gln Asp Pro Pro
130 135 140

Val Ser Val Ala Leu Gly Gln Thr Val Thr Leu Thr Cys Gln Gly Asp
145 150 155 160

Ser Leu Arg Thr Tyr Tyr Ala Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Ser Gly Gln
165 170 175

Ala Pro Ile Leu Leu Leu Tyr Gly Lys His Lys Arg Pro Ser Gly Ile
180 185 190

```
Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Thr Ser Gly Asp Thr Ala Ser Leu Thr
        195                 200                 205

Ile Thr Gly Ala Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Asn Ser
    210                 215                 220

Arg Asp Ser Ser Gly Asn Pro His Val Leu Phe Gly Gly Gly Thr Gln
225                 230                 235                 240

Leu Thr Val Leu
```

<210> 111
<211> 732
<212> DNA
<213> artificial

<220>
<223> H4 scFV

<400> 111

```
caggtgcagc tgcaggagtc gggcccagga ctggtgaaga cttcggagac cctgtccctc       60

acctgcgctg tctctggtta ctccatcagc agtggttact actggggctg gatccggcag      120

cccccaggga aggggttgga gtggattggg agtatctctc atactgggaa cacctactac      180

aacccgcccc tcaagagtcg cgtcaccata tcagtagaca cgtccaagaa ccagttctcc      240

ctgaaactga gctctgtgac cgccgcagac acggccgtgt attactgtgc gcgatggctc      300

gggttcggcc gcccggagta ctggggcaaa ggcaccctgg tcaccgtctc gagtggaggc      360

ggcggttcag gcggaggtgg ctctggcggt ggcggaagtg cactttcttc tgagctgact      420

caggaccctc ctgtgtctgt ggccttggga cagacagtca cgctcacatg ccaaggagac      480

agcctcagaa cctattatgc aagctggtac cagcagaagt caggacaggc ccctatactt      540

ctcctctatg gtaaacacaa acggccctca gggatcccag accgcttctc tggctccacc      600

tcaggagaca cagcttcctt gaccatcact ggggctcagg cggaagacga ggctgactat      660

tactgtaact cccgggactc cagtggcaac ccccatgttc tgttcggcgg agggacccag      720

ctcaccgttt ta                                                          732
```

<210> 112
<211> 244
<212> PRT
<213> artificial

<220>
<223> H4 scFV

<400> 112

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

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

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

Ile Gly Ser Ile Ser His Thr Gly Asn Thr Tyr Tyr Asn Pro Pro Leu
50 55 60

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

Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Trp Leu Gly Phe Gly Arg Pro Glu Tyr Trp Gly Lys Gly Thr
100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
115 120 125

Gly Gly Gly Gly Ser Ala Leu Ser Ser Glu Leu Thr Gln Asp Pro Pro
130 135 140

Val Ser Val Ala Leu Gly Gln Thr Val Thr Leu Thr Cys Gln Gly Asp
145 150 155 160

Ser Leu Arg Thr Tyr Tyr Ala Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Ser Gly Gln
165 170 175

Ala Pro Ile Leu Leu Leu Tyr Gly Lys His Lys Arg Pro Ser Gly Ile
180 185 190

Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Thr Ser Gly Asp Thr Ala Ser Leu Thr
195 200 205

Ile Thr Gly Ala Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Asn Ser
210 215 220

Arg Asp Ser Ser Gly Asn Pro His Val Leu Phe Gly Gly Gly Thr Gln
225 230 235 240

Leu Thr Val Leu

<210> 113
<211> 732
<212> DNA

caggaccctc ctgtgtctgt ggccttggga cagacagtca cgctcacatg ccaaggagac 480

agcctcagaa cctattatgc aagctggtac cagcagaagt caggacaggc ccctatactt 540

ctcctctatg gtaaacacaa acggccctca gggatcccag accgcttctc tggctccacc 600

tcaggagaca cagcttcctt gaccatcact ggggctcagg cggaagacga ggctgactat 660

tactgtaact cccgggactc cagtggcaac ccccatgttc tgttcggcgg agggacccag 720

ctcaccgttt ta 732

<210> 116
<211> 244
<212> PRT
<213> artificial

<220>
<223> H6 scFv

<400> 116

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

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

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

Ile Gly Ser Ile Ser His Thr Gly Asn Thr Tyr Tyr Asn Pro Pro Leu
50 55 60

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

Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Phe Phe Gly Phe Gly Arg Pro Glu Tyr Trp Gly Lys Gly Thr
100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
115 120 125

Gly Gly Gly Gly Ser Ala Leu Ser Ser Glu Leu Thr Gln Asp Pro Pro
130 135 140

Val Ser Val Ala Leu Gly Gln Thr Val Thr Leu Thr Cys Gln Gly Asp
145 150 155 160

Ser Leu Arg Thr Tyr Tyr Ala Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Ser Gly Gln
165 170 175

Ala Pro Ile Leu Leu Leu Tyr Gly Lys His Lys Arg Pro Ser Gly Ile
180 185 190

Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Thr Ser Gly Asp Thr Ala Ser Leu Thr
195 200 205

Ile Thr Gly Ala Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Asn Ser
210 215 220

Arg Asp Ser Ser Gly Asn Pro His Val Leu Phe Gly Gly Gly Thr Gln
225 230 235 240

Leu Thr Val Leu

<210> 117
<211> 732
<212> DNA
<213> artificial

<220>
<223> L1 scFv

<400> 117
caggtgcagc tgcaggagtc gggcccagga ctggtgaaga cttcggagac cctgtccctc 60

acctgcgctg tctctggtta ctccatcagc agtggttact actggggctg gatccggcag 120

cccccaggga aggggttgga gtggattggg agtatctctc atactgggaa cacctactac 180

aacccgcccc tcaagagtcg cgtcaccata tcagtagaca cgtccaagaa ccagttctcc 240

ctgaaactga gctctgtgac cgccgcagac acggccgtgt attactgtgc gcgaggtggg 300

ggaattagca ggccggagta ctggggcaaa ggcaccctgg tcaccgtctc gagtggaggc 360

ggcggttcag gcggaggtgg ctctggcggt ggcggaagtg cactttcttc tgagctgact 420

caggaccctc ctgtgtctgt ggccttggga cagacagtca cgctcacatg ccaaggagac 480

agcctcagaa cctattatgc aagctggtac cagcagaagt caggacaggc ccctatactt 540

ctcctctatg gtaaacacaa acggccctca gggatcccag accgcttctc tggctccacc 600

tcaggagaca cagcttcctt gaccatcact ggggctcagg cggaagacga ggctgactat 660

tactgtgcgt cccggtcggt gagcggcaac ccccatgttc tgttcggcgg agggacccag 720

ctcaccgttt ta 732

<210> 118
<211> 244
<212> PRT
<213> artificial

<220>
<223> L1 scFv

<400> 118

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

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

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

Ile Gly Ser Ile Ser His Thr Gly Asn Thr Tyr Tyr Asn Pro Pro Leu
    50                  55                  60

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

Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95

Ala Arg Gly Gly Gly Ile Ser Arg Pro Glu Tyr Trp Gly Lys Gly Thr
            100                 105                 110

Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
        115                 120                 125

Gly Gly Gly Gly Ser Ala Leu Ser Ser Glu Leu Thr Gln Asp Pro Pro
    130                 135                 140

Val Ser Val Ala Leu Gly Gln Thr Val Thr Leu Thr Cys Gln Gly Asp
145                 150                 155                 160

Ser Leu Arg Thr Tyr Tyr Ala Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Ser Gly Gln
                165                 170                 175

Ala Pro Ile Leu Leu Leu Tyr Gly Lys His Lys Arg Pro Ser Gly Ile
            180                 185                 190

Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Thr Ser Gly Asp Thr Ala Ser Leu Thr
        195                 200                 205

Ile Thr Gly Ala Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Ser
    210                 215                 220

Arg Ser Val Ser Gly Asn Pro His Val Leu Phe Gly Gly Gly Thr Gln
225                 230                 235                 240

Leu Thr Val Leu
```

<210> 119
<211> 732
<212> DNA
<213> artificial

<220>
<223> L2 scFv

<400> 119
caggtgcagc tgcaggagtc gggcccagga ctggtgaaga cttcggagac cctgtccctc 60

acctgcgctg tctctggtta ctccatcagc agtggttact actggggctg gatccggcag 120

cccccaggga aggggttgga gtggattggg agtatctctc atactgggaa cacctactac 180

aacccgcccc tcaagagtcg cgtcaccata tcagtagaca cgtccaagaa ccagttctcc 240

ctgaaactga gctctgtgac cgccgcagac acggccgtgt attactgtgc gcgaggtggg 300

ggaattagca ggccggagta ctggggcaaa ggcaccctgg tcaccgtctc gagtggaggc 360

ggcggttcag gcggaggtgg ctctggcggt ggcggaagtg cactttcttc tgagctgact 420

caggaccctc ctgtgtctgt ggccttggga cagacagtca cgctcacatg ccaaggagac 480

agcctcagaa cctattatgc aagctggtac cagcagaagt caggacaggc ccctatactt 540

ctcctctatg gtaaacacaa acggccctca gggatcccag accgcttctc tggctccacc 600

tcaggagaca cagcttcctt gaccatcact ggggctcagg cggaagacga ggctgactat 660

tactgtgtcg cccggtcggt ggtgggcaac ccccatgttc tgttcggcgg agggacccag 720

ctcaccgttt ta 732

<210> 120
<211> 244
<212> PRT
<213> artificial

<220>
<223> L2 scFv

<400> 120

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

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

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

Ile Gly Ser Ile Ser His Thr Gly Asn Thr Tyr Tyr Asn Pro Pro Leu
50 55 60

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

65 70 75 80

Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Gly Gly Gly Ile Ser Arg Pro Glu Tyr Trp Gly Lys Gly Thr
100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
115 120 125

Gly Gly Gly Gly Ser Ala Leu Ser Ser Glu Leu Thr Gln Asp Pro Pro
130 135 140

Val Ser Val Ala Leu Gly Gln Thr Val Thr Leu Thr Cys Gln Gly Asp
145 150 155 160

Ser Leu Arg Thr Tyr Tyr Ala Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Ser Gly Gln
165 170 175

Ala Pro Ile Leu Leu Leu Tyr Gly Lys His Lys Arg Pro Ser Gly Ile
180 185 190

Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Thr Ser Gly Asp Thr Ala Ser Leu Thr
195 200 205

Ile Thr Gly Ala Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Val Ala
210 215 220

Arg Ser Val Val Gly Asn Pro His Val Leu Phe Gly Gly Gly Thr Gln
225 230 235 240

Leu Thr Val Leu

<210> 121
<211> 732
<212> DNA
<213> artificial

<220>
<223> L3 scFV

<400> 121
caggtgcagc tgcaggagtc gggcccagga ctggtgaaga cttcggagac cctgtccctc 60

acctgcgctg tctctggtta ctccatcagc agtggttact actggggctg gatccggcag 120

cccccaggga aggggttgga gtggattggg agtatctctc atactgggaa cacctactac 180

aacccgcccc tcaagagtcg cgtcaccata tcagtagaca cgtccaagaa ccagttctcc 240

ctgaaactga gctctgtgac cgccgcagac acggccgtgt attactgtgc gcgaggtggg 300

ggaattagca ggccggagta ctggggcaaa ggcaccctgg tcaccgtctc gagtggaggc 360

ggcggttcag gcggaggtgg ctctggcggt ggcggaagtg cactttcttc tgagctgact 420

caggaccctc ctgtgtctgt ggccttggga cagacagtca cgctcacatg ccaaggagac 480

agcctcagaa cctattatgc aagctggtac cagcagaagt caggacaggc ccctatactt 540

ctcctctatg gtaaacacaa acggccctca gggatcccag accgcttctc tggctccacc 600

tcaggagaca cagcttcctt gaccatcact ggggctcagg cggaagacga ggctgactat 660

tactgtgtca gcagggcggt ggtgggcaac ccccatgttc tgttcggcgg agggacccag 720

ctcaccgttt ta 732

<210> 122
<211> 244
<212> PRT
<213> artificial

<220>
<223> L3 scFv

<400> 122

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

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

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

Ile Gly Ser Ile Ser His Thr Gly Asn Thr Tyr Tyr Asn Pro Pro Leu
50 55 60

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

Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Gly Gly Gly Ile Ser Arg Pro Glu Tyr Trp Gly Lys Gly Thr
100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
115 120 125

Gly Gly Gly Gly Ser Ala Leu Ser Ser Glu Leu Thr Gln Asp Pro Pro
130 135 140

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

```
145                 150                 155                 160

Ser Leu Arg Thr Tyr Tyr Ala Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Ser Gly Gln
                165                 170                 175

Ala Pro Ile Leu Leu Leu Tyr Gly Lys His Lys Arg Pro Ser Gly Ile
            180                 185                 190

Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Thr Ser Gly Asp Thr Ala Ser Leu Thr
        195                 200                 205

Ile Thr Gly Ala Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Val Ser
    210                 215                 220

Arg Ala Val Val Gly Asn Pro His Val Leu Phe Gly Gly Gly Thr Gln
225                 230                 235                 240

Leu Thr Val Leu
```

<210> 123
<211> 732
<212> DNA
<213> artificial

<220>
<223> L4 scFv

<400> 123

```
caggtgcagc tgcaggagtc gggcccagga ctggtgaaga cttcggagac cctgtccctc       60

acctgcgctg tctctggtta ctccatcagc agtggttact actggggctg gatccggcag      120

cccccaggga aggggttgga gtggattggg agtatctctc atactgggaa cacctactac      180

aacccgcccc tcaagagtcg cgtcaccata tcagtagaca cgtccaagaa ccagttctcc      240

ctgaaactga gctctgtgac cgccgcagac acggccgtgt attactgtgc gcgaggtggg      300

ggaattagca ggccggagta ctggggcaaa ggcaccctgg tcaccgtctc gagtggaggc      360

ggcggttcag gcggaggtgg ctctggcggt ggcggaagtg cactttcttc tgagctgact      420

caggaccctc ctgtgtctgt ggccttggga cagacagtca cgctcacatg ccaaggagac      480

agcctcagaa cctattatgc aagctggtac cagcagaagt caggacaggc ccctatactt      540

ctcctctatg gtaaacacaa acggccctca gggatcccag accgcttctc tggctccacc      600

tcaggagaca cagcttcctt gaccatcact ggggctcagg cggaagacga ggctgactat      660

tactgtagca cccgcagcag caagggcaac ccccatgttc tgttcggcgg agggacccag      720

ctcaccgttt ta                                                          732
```

<210> 124
<211> 244

<212> PRT
<213> artificial

<220>
<223> L4 scFv

<400> 124

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

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

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

Ile Gly Ser Ile Ser His Thr Gly Asn Thr Tyr Tyr Asn Pro Pro Leu
    50                  55                  60

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

Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95

Ala Arg Gly Gly Gly Ile Ser Arg Pro Glu Tyr Trp Gly Lys Gly Thr
            100                 105                 110

Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
        115                 120                 125

Gly Gly Gly Gly Ser Ala Leu Ser Ser Glu Leu Thr Gln Asp Pro Pro
    130                 135                 140

Val Ser Val Ala Leu Gly Gln Thr Val Thr Leu Thr Cys Gln Gly Asp
145                 150                 155                 160

Ser Leu Arg Thr Tyr Tyr Ala Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Ser Gly Gln
                165                 170                 175

Ala Pro Ile Leu Leu Leu Tyr Gly Lys His Lys Arg Pro Ser Gly Ile
            180                 185                 190

Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Thr Ser Gly Asp Thr Ala Ser Leu Thr
        195                 200                 205

Ile Thr Gly Ala Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ser Thr
    210                 215                 220

Arg Ser Ser Lys Gly Asn Pro His Val Leu Phe Gly Gly Gly Thr Gln
```

225 230 235 240

Leu Thr Val Leu

<210> 125
<211> 732
<212> DNA
<213> artificial

<220>
<223> L5 scFv

<400> 125
caggtgcagc tgcaggagtc gggcccagga ctggtgaaga cttcggagac cctgtccctc 60

acctgcgctg tctctggtta ctccatcagc agtggttact actggggctg gatccggcag 120

cccccaggga aggggttgga gtggattggg agtatctctc atactgggaa cacctactac 180

aacccgcccc tcaagagtcg cgtcaccata tcagtagaca cgtccaagaa ccagttctcc 240

ctgaaactga gctctgtgac cgccgcagac acggccgtgt attactgtgc gcgaggtggg 300

ggaattagca ggccggagta ctggggcaaa ggcaccctgg tcaccgtctc gagtggaggc 360

ggcggttcag gcggaggtgg ctctggcggt ggcggaagtg cactttcttc tgagctgact 420

caggaccctc ctgtgtctgt ggccttggga cagacagtca cgctcacatg ccaaggagac 480

agcctcagaa cctattatgc aagctggtac cagcagaagt caggacaggc ccctatactt 540

ctcctctatg gtaaacacaa acggccctca gggatcccag accgcttctc tggctccacc 600

tcaggagaca cagcttcctt gaccatcact ggggctcagg cggaagacga ggctgactat 660

tactgtgcca gcaggtcctc caagggcaac ccccatgttc tgttcggcgg agggacccag 720

ctcaccgttt ta 732

<210> 126
<211> 244
<212> PRT
<213> artificial

<220>
<223> L5 scFv

<400> 126

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

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

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

```
Ile Gly Ser Ile Ser His Thr Gly Asn Thr Tyr Tyr Asn Pro Pro Leu
    50                  55                  60

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

Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95

Ala Arg Gly Gly Gly Ile Ser Arg Pro Glu Tyr Trp Gly Lys Gly Thr
            100                 105                 110

Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
        115                 120                 125

Gly Gly Gly Gly Ser Ala Leu Ser Ser Glu Leu Thr Gln Asp Pro Pro
    130                 135                 140

Val Ser Val Ala Leu Gly Gln Thr Val Thr Leu Thr Cys Gln Gly Asp
145                 150                 155                 160

Ser Leu Arg Thr Tyr Tyr Ala Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Ser Gly Gln
                165                 170                 175

Ala Pro Ile Leu Leu Leu Tyr Gly Lys His Lys Arg Pro Ser Gly Ile
            180                 185                 190

Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Thr Ser Gly Asp Thr Ala Ser Leu Thr
        195                 200                 205

Ile Thr Gly Ala Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Ser
    210                 215                 220

Arg Ser Ser Lys Gly Asn Pro His Val Leu Phe Gly Gly Gly Thr Gln
225                 230                 235                 240

Leu Thr Val Leu
```

<210> 127
<211> 732
<212> DNA
<213> artificial

<220>
<223> L6 scFv

<400> 127
caggtgcagc tgcaggagtc gggcccagga ctggtgaaga cttcggagac cctgtccctc 60

acctgcgctg tctctggtta ctccatcagc agtggttact actggggctg gatccggcag 120

ccccccaggga aggggttgga gtggattggg agtatctctc atactgggaa cacctactac 180

aacccgcccc tcaagagtcg cgtcaccata tcagtagaca cgtccaagaa ccagttctcc 240

ctgaaactga gctctgtgac cgccgcagac acggccgtgt attactgtgc gcgaggtggg 300

ggaattagca ggccggagta ctggggcaaa ggcaccctgg tcaccgtctc gagtggaggc 360

ggcggttcag gcggaggtgg ctctggcggt ggcggaagtg cactttcttc tgagctgact 420

caggaccctc ctgtgtctgt ggccttggga cagacagtca cgctcacatg ccaaggagac 480

agcctcagaa cctattatgc aagctggtac cagcagaagt caggacaggc ccctatactt 540

ctcctctatg gtaaacacaa acggccctca gggatcccag accgcttctc tggctccacc 600

tcaggagaca cagcttcctt gaccatcact ggggctcagg cggaagacga ggctgactat 660

tactgtatga gcaggagcat ctggggcaac ccccatgttc tgttcggcgg agggacccag 720

ctcaccgttt ta 732

<210> 128
<211> 244
<212> PRT
<213> artificial

<220>
<223> L6 scFv

<400> 128

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

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

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

Ile Gly Ser Ile Ser His Thr Gly Asn Thr Tyr Tyr Asn Pro Pro Leu
    50                  55                  60

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

Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95

Ala Arg Gly Gly Gly Ile Ser Arg Pro Glu Tyr Trp Gly Lys Gly Thr
            100                 105                 110

Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
        115                 120                 125
```

```
Gly Gly Gly Gly Ser Ala Leu Ser Ser Glu Leu Thr Gln Asp Pro Pro
    130                 135                 140

Val Ser Val Ala Leu Gly Gln Thr Val Thr Leu Thr Cys Gln Gly Asp
145                 150                 155                 160

Ser Leu Arg Thr Tyr Tyr Ala Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Ser Gly Gln
                165                 170                 175

Ala Pro Ile Leu Leu Leu Tyr Gly Lys His Lys Arg Pro Ser Gly Ile
            180                 185                 190

Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Thr Ser Gly Asp Thr Ala Ser Leu Thr
        195                 200                 205

Ile Thr Gly Ala Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Met Ser
    210                 215                 220

Arg Ser Ile Trp Gly Asn Pro His Val Leu Phe Gly Gly Gly Thr Gln
225                 230                 235                 240

Leu Thr Val Leu
```

<210> 129
<211> 732
<212> DNA
<213> artificial

<220>
<223> L8 scFv

<400> 129

```
caggtgcagc tgcaggagtc gggcccagga ctggtgaaga cttcggagac cctgtccctc       60

acctgcgctg tctctggtta ctccatcagc agtggttact actggggctg gatccggcag      120

cccccaggga aggggttgga gtggattggg agtatctctc atactgggaa cacctactac      180

aacccgcccc tcaagagtcg cgtcaccata tcagtagaca cgtccaagaa ccagttctcc      240

ctgaaactga gctctgtgac cgccgcagac acggccgtgt attactgtgc gcgaggtggg      300

ggaattagca ggccggagta ctggggcaaa ggcaccctgg tcaccgtctc gagtggaggc      360

ggcggttcag gcggaggtgg ctctggcggt ggcggaagtg cactttcttc tgagctgact      420

caggaccctc ctgtgtctgt ggccttggga cagacagtca cgctcacatg ccaaggagac      480

agcctcagaa cctattatgc aagctggtac cagcagaagt caggacaggc ccctatactt      540

ctcctctatg gtaaacacaa acggccctca gggatcccag accgcttctc tggctccacc      600

tcaggagaca cagcttcctt gaccatcact ggggctcagg cggaagacga ggctgactat      660

tactgtacca cgcgctccac ccagggcaac ccccatgttc tgttcggcgg agggacccag      720
```

ctcaccgttt ta 732

<210> 130
<211> 244
<212> PRT
<213> artificial

<220>
<223> L8 scFv

<400> 130

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

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

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

Ile Gly Ser Ile Ser His Thr Gly Asn Thr Tyr Tyr Asn Pro Pro Leu
50 55 60

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

Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Gly Gly Gly Ile Ser Arg Pro Glu Tyr Trp Gly Lys Gly Thr
100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
115 120 125

Gly Gly Gly Gly Ser Ala Leu Ser Ser Glu Leu Thr Gln Asp Pro Pro
130 135 140

Val Ser Val Ala Leu Gly Gln Thr Val Thr Leu Thr Cys Gln Gly Asp
145 150 155 160

Ser Leu Arg Thr Tyr Tyr Ala Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Ser Gly Gln
165 170 175

Ala Pro Ile Leu Leu Leu Tyr Gly Lys His Lys Arg Pro Ser Gly Ile
180 185 190

Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Thr Ser Gly Asp Thr Ala Ser Leu Thr
195 200 205

Ile Thr Gly Ala Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Thr Thr
210 215 220

Arg Ser Thr Gln Gly Asn Pro His Val Leu Phe Gly Gly Gly Thr Gln
225 230 235 240

Leu Thr Val Leu

<210> 131
<211> 732
<212> DNA
<213> artificial

<220>
<223> L9 scFv

<400> 131
caggtgcagc tgcaggagtc gggcccagga ctggtgaaga cttcggagac cctgtccctc 60

acctgcgctg tctctggtta ctccatcagc agtggttact actggggctg gatccggcag 120

cccccaggga aggggttgga gtggattggg agtatctctc atactgggaa cacctactac 180

aacccgcccc tcaagagtcg cgtcaccata tcagtagaca cgtccaagaa ccagttctcc 240

ctgaaactga gctctgtgac cgccgcagac acggccgtgt attactgtgc gcgaggtggg 300

ggaattagca ggccggagta ctggggcaaa ggcaccctgg tcaccgtctc gagtggaggc 360

ggcggttcag gcggaggtgg ctctggcggt ggcggaagtg cactttcttc tgagctgact 420

caggaccctc ctgtgtctgt ggccttggga cagacagtca cgctcacatg ccaaggagac 480

agcctcagaa cctattatgc aagctggtac cagcagaagt caggacaggc ccctatactt 540

ctcctctatg gtaaacacáa acggccctca gggatcccag accgcttctc tggctccacc 600

tcaggagaca cagcttcctt gaccatcact ggggctcagg cggaagacga ggctgactat 660

tactgtgtcg ccaggtccaa caagggcaac ccccatgttc tgttcggcgg agggacccag 720

ctcaccgttt ta 732

<210> 132
<211> 244
<212> PRT
<213> artificial

<220>
<223> L9 scFv

<400> 132

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

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

```
Tyr Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
        35                  40                  45

Ile Gly Ser Ile Ser His Thr Gly Asn Thr Tyr Tyr Asn Pro Pro Leu
    50                  55                  60

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

Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95

Ala Arg Gly Gly Gly Ile Ser Arg Pro Glu Tyr Trp Gly Lys Gly Thr
            100                 105                 110

Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
        115                 120                 125

Gly Gly Gly Gly Ser Ala Leu Ser Ser Glu Leu Thr Gln Asp Pro Pro
    130                 135                 140

Val Ser Val Ala Leu Gly Gln Thr Val Thr Leu Thr Cys Gln Gly Asp
145                 150                 155                 160

Ser Leu Arg Thr Tyr Tyr Ala Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Ser Gly Gln
                165                 170                 175

Ala Pro Ile Leu Leu Leu Tyr Gly Lys His Lys Arg Pro Ser Gly Ile
            180                 185                 190

Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Thr Ser Gly Asp Thr Ala Ser Leu Thr
        195                 200                 205

Ile Thr Gly Ala Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Val Ala
    210                 215                 220

Arg Ser Asn Lys Gly Asn Pro His Val Leu Phe Gly Gly Gly Thr Gln
225                 230                 235                 240

Leu Thr Val Leu
```

<210> 133
<211> 732
<212> DNA
<213> artificial

<220>
<223> L10 scFv

<400> 133
caggtgcagc tgcaggagtc gggcccagga ctggtgaaga cttcggagac cctgtccctc 60

acctgcgctg tctctggtta ctccatcagc agtggttact actggggctg gatccggcag 120

cccccaggga aggggttgga gtggattggg agtatctctc atactgggaa cacctactac 180

aacccgcccc tcaagagtcg cgtcaccata tcagtagaca cgtccaagaa ccagttctcc 240

ctgaaactga gctctgtgac cgccgcagac acggccgtgt attactgtgc gcgaggtggg 300

ggaattagca ggccggagta ctggggcaaa ggcaccctgg tcaccgtctc gagtggaggc 360

ggcggttcag gcggaggtgg ctctggcggt ggcggaagtg cactttcttc tgagctgact 420

caggaccctc ctgtgtctgt ggccttggga cagacagtca cgctcacatg ccaaggagac 480

agcctcagaa cctattatgc aagctggtac cagcagaagt caggacaggc ccctatactt 540

ctcctctatg gtaaacacaa acggccctca gggatcccag accgcttctc tggctccacc 600

tcaggagaca cagcttcctt gaccatcact ggggctcagg cggaagacga ggctgactat 660

tactgtatca gccggtcgat ctacggcaac ccccatgttc tgttcggcgg agggacccag 720

ctcaccgttt ta 732

<210> 134
<211> 244
<212> PRT
<213> artificial

<220>
<223> L10 scFv

<400> 134

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

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

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

Ile Gly Ser Ile Ser His Thr Gly Asn Thr Tyr Tyr Asn Pro Pro Leu
50 55 60

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

Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Gly Gly Gly Ile Ser Arg Pro Glu Tyr Trp Gly Lys Gly Thr
100 105 110

```
Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
        115                 120                 125

Gly Gly Gly Gly Ser Ala Leu Ser Ser Glu Leu Thr Gln Asp Pro Pro
    130                 135                 140

Val Ser Val Ala Leu Gly Gln Thr Val Thr Leu Thr Cys Gln Gly Asp
145                 150                 155                 160

Ser Leu Arg Thr Tyr Tyr Ala Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Ser Gly Gln
                165                 170                 175

Ala Pro Ile Leu Leu Leu Tyr Gly Lys His Lys Arg Pro Ser Gly Ile
            180                 185                 190

Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Thr Ser Gly Asp Thr Ala Ser Leu Thr
        195                 200                 205

Ile Thr Gly Ala Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ile Ser
    210                 215                 220

Arg Ser Ile Tyr Gly Asn Pro His Val Leu Phe Gly Gly Gly Thr Gln
225                 230                 235                 240

Leu Thr Val Leu
```

<210> 135
<211> 732
<212> DNA
<213> artificial

<220>
<223> L11 scFv

<400> 135

```
caggtgcagc tgcaggagtc gggcccagga ctggtgaaga cttcggagac cctgtccctc      60

acctgcgctg tctctggtta ctccatcagc agtggttact actggggctg gatccggcag     120

cccccaggga aggggttgga gtggattggg agtatctctc atactgggaa cacctactac     180

aacccgcccc tcaagagtcg cgtcaccata tcagtagaca cgtccaagaa ccagttctcc     240

ctgaaactga gctctgtgac cgccgcagac acggccgtgt attactgtgc gcgaggtggg     300

ggaattagca ggccggagta ctggggcaaa ggcaccctgg tcaccgtctc gagtggaggc     360

ggcggttcag gcggaggtgg ctctggcggt ggcggaagtg cactttcttc tgagctgact     420

caggaccctc ctgtgtctgt ggccttggga cagacagtca cgctcacatg ccaaggagac     480

agcctcagaa cctattatgc aagctggtac cagcagaagt caggacaggc ccctatactt     540

ctcctctatg gtaaacacaa acggccctca gggatcccag accgcttctc tggctccacc     600
```

tcaggagaca cagcttcctt gaccatcact ggggctcagg cggaagacga ggctgactat 660

tactgttcct cccgctcccg ccacggcaac ccccatgttc tgttcggcgg agggacccag 720

ctcaccgttt ta 732

<210> 136
<211> 244
<212> PRT
<213> artificial

<220>
<223> L11 scFv

<400> 136

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

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

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

Ile Gly Ser Ile Ser His Thr Gly Asn Thr Tyr Tyr Asn Pro Pro Leu
    50                  55                  60

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

Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95

Ala Arg Gly Gly Gly Ile Ser Arg Pro Glu Tyr Trp Gly Lys Gly Thr
            100                 105                 110

Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
        115                 120                 125

Gly Gly Gly Gly Ser Ala Leu Ser Ser Glu Leu Thr Gln Asp Pro Pro
    130                 135                 140

Val Ser Val Ala Leu Gly Gln Thr Val Thr Leu Thr Cys Gln Gly Asp
145                 150                 155                 160

Ser Leu Arg Thr Tyr Tyr Ala Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Ser Gly Gln
                165                 170                 175

Ala Pro Ile Leu Leu Leu Tyr Gly Lys His Lys Arg Pro Ser Gly Ile
            180                 185                 190
```

```
Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Thr Ser Gly Asp Thr Ala Ser Leu Thr
        195                 200                 205

Ile Thr Gly Ala Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ser Ser
    210                 215                 220

Arg Ser Arg His Gly Asn Pro His Val Leu Phe Gly Gly Gly Thr Gln
225                 230                 235                 240

Leu Thr Val Leu
```

<210> 137
<211> 732
<212> DNA
<213> artificial

<220>
<223> L12 scFv

<400> 137

```
caggtgcagc tgcaggagtc gggcccagga ctggtgaaga cttcggagac cctgtccctc       60

acctgcgctg tctctggtta ctccatcagc agtggttact actggggctg gatccggcag      120

cccccaggga aggggttgga gtggattggg agtatctctc atactgggaa cacctactac      180

aacccgcccc tcaagagtcg cgtcaccata tcagtagaca cgtccaagaa ccagttctcc      240

ctgaaactga gctctgtgac cgccgcagac acggccgtgt attactgtgc gcgaggtggg      300

ggaattagca ggccggagta ctggggcaaa ggcaccctgg tcaccgtctc gagtggaggc      360

ggcggttcag gcggaggtgg ctctggcggt ggcggaagtg cactttcttc tgagctgact      420

caggaccctc ctgtgtctgt ggccttggga cagacagtca cgctcacatg ccaaggagac      480

agcctcagaa cctattatgc aagctggtac cagcagaagt caggacaggc ccctatactt      540

ctcctctatg gtaaacacaa acggccctca gggatcccag accgcttctc tggctccacc      600

tcaggagaca cagcttcctt gaccatcact ggggctcagg cggaagacga ggctgactat      660

tactgtgtcg cgaggggggac gaggggcaac ccccatgttc tgttcggcgg agggacccag      720

ctcaccgttt ta                                                          732
```

<210> 138
<211> 244
<212> PRT
<213> artificial

<220>
<223> L12 scFv

<400> 138

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

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

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

Ile Gly Ser Ile Ser His Thr Gly Asn Thr Tyr Tyr Asn Pro Pro Leu
    50                  55                  60

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

Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95

Ala Arg Gly Gly Gly Ile Ser Arg Pro Glu Tyr Trp Gly Lys Gly Thr
            100                 105                 110

Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
        115                 120                 125

Gly Gly Gly Gly Ser Ala Leu Ser Ser Glu Leu Thr Gln Asp Pro Pro
    130                 135                 140

Val Ser Val Ala Leu Gly Gln Thr Val Thr Leu Thr Cys Gln Gly Asp
145                 150                 155                 160

Ser Leu Arg Thr Tyr Tyr Ala Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Ser Gly Gln
                165                 170                 175

Ala Pro Ile Leu Leu Leu Tyr Gly Lys His Lys Arg Pro Ser Gly Ile
            180                 185                 190

Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Thr Ser Gly Asp Thr Ala Ser Leu Thr
        195                 200                 205

Ile Thr Gly Ala Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Val Ala
    210                 215                 220

Arg Gly Thr Arg Gly Asn Pro His Val Leu Phe Gly Gly Gly Thr Gln
225                 230                 235                 240

Leu Thr Val Leu
```

<210> 139
<211> 732
<212> DNA

caggaccctc ctgtgtctgt ggccttggga cagacagtca cgctcacatg ccaaggagac 480

agcctcagaa cctattatgc aagctggtac cagcagaagt caggacaggc ccctatactt 540

ctcctctatg gtaaacacaa acggccctca gggatcccag accgcttctc tggctccacc 600

tcaggagaca cagcttcctt gaccatcact ggggctcagg cggaagacga ggctgactat 660

tactgtatgg cgaggtcgag gaagggcaac ccccatgttc tgttcggcgg agggacccag 720

ctcaccgttt ta 732

<210> 142
<211> 244
<212> PRT
<213> artificial

<220>
<223> L14 scFv

<400> 142

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

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

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

Ile Gly Ser Ile Ser His Thr Gly Asn Thr Tyr Tyr Asn Pro Pro Leu
50 55 60

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

Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Gly Gly Gly Ile Ser Arg Pro Glu Tyr Trp Gly Lys Gly Thr
100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
115 120 125

Gly Gly Gly Gly Ser Ala Leu Ser Ser Glu Leu Thr Gln Asp Pro Pro
130 135 140

Val Ser Val Ala Leu Gly Gln Thr Val Thr Leu Thr Cys Gln Gly Asp
145 150 155 160

Ser Leu Arg Thr Tyr Tyr Ala Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Ser Gly Gln
165 170 175

Ala Pro Ile Leu Leu Leu Tyr Gly Lys His Lys Arg Pro Ser Gly Ile
180 185 190

Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Thr Ser Gly Asp Thr Ala Ser Leu Thr
195 200 205

Ile Thr Gly Ala Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Met Ala
210 215 220

Arg Ser Arg Lys Gly Asn Pro His Val Leu Phe Gly Gly Gly Thr Gln
225 230 235 240

Leu Thr Val Leu

<210> 143
<211> 732
<212> DNA
<213> artificial

<220>
<223> L15 scFv

<400> 143
caggtgcagc tgcaggagtc gggcccagga ctggtgaaga cttcggagac cctgtccctc 60

acctgcgctg tctctggtta ctccatcagc agtggttact actggggctg gatccggcag 120

cccccaggga aggggttgga gtggattggg agtatctctc atactgggaa cacctactac 180

aacccgcccc tcaagagtcg cgtcaccata tcagtagaca cgtccaagaa ccagttctcc 240

ctgaaactga gctctgtgac cgccgcagac acggccgtgt attactgtgc gcgaggtggg 300

ggaattagca ggccggagta ctggggcaaa ggcaccctgg tcaccgtctc gagtggaggc 360

ggcggttcag gcggaggtgg ctctggcggt ggcggaagtg cactttcttc tgagctgact 420

caggaccctc ctgtgtctgt ggccttggga cagacagtca cgctcacatg ccaaggagac 480

agcctcagaa cctattatgc aagctggtac cagcagaagt caggacaggc ccctatactt 540

ctcctctatg gtaaacacaa acggccctca gggatcccag accgcttctc tggctccacc 600

tcaggagaca cagcttcctt gaccatcact ggggctcagg cggaagacga ggctgactat 660

tactgttcca cccgcgccat ccacggcaac ccccatgttc tgttcggcgg agggacccag 720

ctcaccgttt ta 732

<210> 144
<211> 244
<212> PRT
<213> artificial

<220>
<223> L15 scFv

<400> 144

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

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

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

Ile Gly Ser Ile Ser His Thr Gly Asn Thr Tyr Tyr Asn Pro Pro Leu
    50                  55                  60

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

Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95

Ala Arg Gly Gly Gly Ile Ser Arg Pro Glu Tyr Trp Gly Lys Gly Thr
            100                 105                 110

Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
        115                 120                 125

Gly Gly Gly Gly Ser Ala Leu Ser Ser Glu Leu Thr Gln Asp Pro Pro
    130                 135                 140

Val Ser Val Ala Leu Gly Gln Thr Val Thr Leu Thr Cys Gln Gly Asp
145                 150                 155                 160

Ser Leu Arg Thr Tyr Tyr Ala Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Ser Gly Gln
                165                 170                 175

Ala Pro Ile Leu Leu Leu Tyr Gly Lys His Lys Arg Pro Ser Gly Ile
            180                 185                 190

Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Thr Ser Gly Asp Thr Ala Ser Leu Thr
        195                 200                 205

Ile Thr Gly Ala Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ser Thr
    210                 215                 220

Arg Ala Ile His Gly Asn Pro His Val Leu Phe Gly Gly Gly Thr Gln
225                 230                 235                 240

Leu Thr Val Leu
```

<210> 145
<211> 732
<212> DNA
<213> artificial

<220>
<223> L16 scFv

<400> 145
caggtgcagc tgcaggagtc gggcccagga ctggtgaaga cttcggagac cctgtccctc 60

acctgcgctg tctctggtta ctccatcagc agtggttact actggggctg gatccggcag 120

cccccaggga aggggttgga gtggattggg agtatctctc atactgggaa cacctactac 180

aacccgcccc tcaagagtcg cgtcaccata tcagtagaca cgtccaagaa ccagttctcc 240

ctgaaactga gctctgtgac cgccgcagac acggccgtgt attactgtgc gcgaggtggg 300

ggaattagca ggccggagta ctggggcaaa ggcaccctgg tcaccgtctc gagtggaggc 360

ggcggttcag gcggaggtgg ctctggcggt ggcggaagtg cactttcttc tgagctgact 420

caggaccctc ctgtgtctgt ggccttggga cagacagtca cgctcacatg ccaaggagac 480

agcctcagaa cctattatgc aagctggtac cagcagaagt caggacaggc ccctatactt 540

ctcctctatg gtaaacacaa acggccctca gggatcccag accgcttctc tggctccacc 600

tcaggagaca cagcttcctt gaccatcact ggggctcagg cggaagacga ggctgactat 660

tactgtgtga cgaggagcgc gaagggcaac ccccatgttc tgttcggcgg agggacccag 720

ctcaccgttt ta 732

<210> 146
<211> 244
<212> PRT
<213> artificial

<220>
<223> L16 scFv

<400> 146

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

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

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

Ile Gly Ser Ile Ser His Thr Gly Asn Thr Tyr Tyr Asn Pro Pro Leu
50 55 60

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

65 70 75 80

Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Gly Gly Gly Ile Ser Arg Pro Glu Tyr Trp Gly Lys Gly Thr
100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
115 120 125

Gly Gly Gly Gly Ser Ala Leu Ser Ser Glu Leu Thr Gln Asp Pro Pro
130 135 140

Val Ser Val Ala Leu Gly Gln Thr Val Thr Leu Thr Cys Gln Gly Asp
145 150 155 160

Ser Leu Arg Thr Tyr Tyr Ala Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Ser Gly Gln
165 170 175

Ala Pro Ile Leu Leu Leu Tyr Gly Lys His Lys Arg Pro Ser Gly Ile
180 185 190

Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Thr Ser Gly Asp Thr Ala Ser Leu Thr
195 200 205

Ile Thr Gly Ala Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Val Thr
210 215 220

Arg Ser Ala Lys Gly Asn Pro His Val Leu Phe Gly Gly Gly Thr Gln
225 230 235 240

Leu Thr Val Leu

<210> 147
<211> 732
<212> DNA
<213> artificial

<220>
<223> L17 scFv

<400> 147
caggtgcagc tgcaggagtc gggcccagga ctggtgaaga cttcggagac cctgtccctc 60

acctgcgctg tctctggtta ctccatcagc agtggttact actggggctg gatccggcag 120

cccccaggga aggggttgga gtggattggg agtatctctc atactgggaa cacctactac 180

aacccgcccc tcaagagtcg cgtcaccata tcagtagaca cgtccaagaa ccagttctcc 240

ctgaaactga gctctgtgac cgccgcagac acggccgtgt attactgtgc gcgaggtggg 300

ggaattagca ggccggagta ctggggcaaa ggcaccctgg tcaccgtctc gagtggaggc 360

ggcggttcag gcggaggtgg ctctggcggt ggcggaagtg cactttcttc tgagctgact 420

caggaccctc ctgtgtctgt ggccttggga cagacagtca cgctcacatg ccaaggagac 480

agcctcagaa cctattatgc aagctggtac cagcagaagt caggacaggc ccctatactt 540

ctcctctatg gtaaacacaa acggccctca gggatcccag accgcttctc tggctccacc 600

tcaggagaca cagcttcctt gaccatcact ggggctcagg cggaagacga ggctgactat 660

tactgtagca cgaggtcgag gaagggcaac ccccatgttc tgttcggcgg agggacccag 720

ctcaccgttt ta 732

<210> 148
<211> 244
<212> PRT
<213> artificial

<220>
<223> L17 scFv

<400> 148

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

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

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

Ile Gly Ser Ile Ser His Thr Gly Asn Thr Tyr Tyr Asn Pro Pro Leu
50 55 60

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

Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Gly Gly Gly Ile Ser Arg Pro Glu Tyr Trp Gly Lys Gly Thr
100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
115 120 125

Gly Gly Gly Gly Ser Ala Leu Ser Ser Glu Leu Thr Gln Asp Pro Pro
130 135 140

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

```
145                 150                 155                 160

Ser Leu Arg Thr Tyr Tyr Ala Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Ser Gly Gln
                165                 170                 175

Ala Pro Ile Leu Leu Leu Tyr Gly Lys His Lys Arg Pro Ser Gly Ile
            180                 185                 190

Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Thr Ser Gly Asp Thr Ala Ser Leu Thr
        195                 200                 205

Ile Thr Gly Ala Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ser Thr
    210                 215                 220

Arg Ser Arg Lys Gly Asn Pro His Val Leu Phe Gly Gly Gly Thr Gln
225                 230                 235                 240

Leu Thr Val Leu
```

<210> 149
<211> 732
<212> DNA
<213> artificial

<220>
<223> L18 scFv

<400> 149

```
caggtgcagc tgcaggagtc gggcccagga ctggtgaaga cttcggagac cctgtccctc       60

acctgcgctg tctctggtta ctccatcagc agtggttact actggggctg gatccggcag      120

cccccaggga aggggttgga gtggattggg agtatctctc atactgggaa cacctactac      180

aacccgcccc tcaagagtcg cgtcaccata tcagtagaca cgtccaagaa ccagttctcc      240

ctgaaactga gctctgtgac cgccgcagac acggccgtgt attactgtgc gcgaggtggg      300

ggaattagca ggccggagta ctggggcaaa ggcaccctgg tcaccgtctc gagtggaggc      360

ggcggttcag gcggaggtgg ctctggcggt ggcggaagtg cactttcttc tgagctgact      420

caggaccctc ctgtgtctgt ggccttggga cagacagtca cgctcacatg ccaaggagac      480

agcctcagaa cctattatgc aagctggtac cagcagaagt caggacaggc ccctatactt      540

ctcctctatg gtaaacacaa acggccctca gggatcccag accgcttctc tggctccacc      600

tcaggagaca cagcttcctt gaccatcact ggggctcagg cggaagacga ggctgactat      660

tactgtgtca cgaggagcgt gaagggcaac ccccatgttc tgttcggcgg agggacccag      720

ctcaccgttt ta                                                          732
```

<210> 150
<211> 244

<212> PRT
<213> artificial

<220>
<223> L18 scFv

<400> 150

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

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

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

Ile Gly Ser Ile Ser His Thr Gly Asn Thr Tyr Tyr Asn Pro Pro Leu
    50                  55                  60

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

Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95

Ala Arg Gly Gly Gly Ile Ser Arg Pro Glu Tyr Trp Gly Lys Gly Thr
            100                 105                 110

Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
        115                 120                 125

Gly Gly Gly Gly Ser Ala Leu Ser Ser Glu Leu Thr Gln Asp Pro Pro
    130                 135                 140

Val Ser Val Ala Leu Gly Gln Thr Val Thr Leu Thr Cys Gln Gly Asp
145                 150                 155                 160

Ser Leu Arg Thr Tyr Tyr Ala Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Ser Gly Gln
                165                 170                 175

Ala Pro Ile Leu Leu Leu Tyr Gly Lys His Lys Arg Pro Ser Gly Ile
            180                 185                 190

Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Thr Ser Gly Asp Thr Ala Ser Leu Thr
        195                 200                 205

Ile Thr Gly Ala Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Val Thr
    210                 215                 220

Arg Ser Val Lys Gly Asn Pro His Val Leu Phe Gly Gly Gly Thr Gln
```

225 230 235 240

Leu Thr Val Leu

<210> 151
<211> 732
<212> DNA
<213> artificial

<220>
<223> L19 scFv

<400> 151
caggtgcagc tgcaggagtc gggcccagga ctggtgaaga cttcggagac cctgtccctc 60

acctgcgctg tctctggtta ctccatcagc agtggttact actggggctg gatccggcag 120

cccccaggga aggggttgga gtggattggg agtatctctc atactgggaa cacctactac 180

aacccgcccc tcaagagtcg cgtcaccata tcagtagaca cgtccaagaa ccagttctcc 240

ctgaaactga gctctgtgac cgccgcagac acggccgtgt attactgtgc gcgaggtggg 300

ggaattagca ggccggagta ctggggcaaa ggcaccctgg tcaccgtctc gagtggaggc 360

ggcggttcag gcggaggtgg ctctggcggt ggcggaagtg cactttcttc tgagctgact 420

caggaccctc ctgtgtctgt ggccttggga cagacagtca cgctcacatg ccaaggagac 480

agcctcagaa cctattatgc aagctggtac cagcagaagt caggacaggc ccctatactt 540

ctcctctatg gtaaacacaa acggccctca gggatcccag accgcttctc tggctccacc 600

tcaggagaca cagcttcctt gaccatcact ggggctcagg cggaagacga ggctgactat 660

tactgtgtcg cgcgggcggt gaggggcaac ccccatgttc tgttcggcgg agggacccag 720

ctcaccgttt ta 732

<210> 152
<211> 244
<212> PRT
<213> artificial

<220>
<223> L19 scFv

<400> 152

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

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

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

```
Ile Gly Ser Ile Ser His Thr Gly Asn Thr Tyr Tyr Asn Pro Pro Leu
    50                  55                  60

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

Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95

Ala Arg Gly Gly Gly Ile Ser Arg Pro Glu Tyr Trp Gly Lys Gly Thr
            100                 105                 110

Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
        115                 120                 125

Gly Gly Gly Gly Ser Ala Leu Ser Ser Glu Leu Thr Gln Asp Pro Pro
    130                 135                 140

Val Ser Val Ala Leu Gly Gln Thr Val Thr Leu Thr Cys Gln Gly Asp
145                 150                 155                 160

Ser Leu Arg Thr Tyr Tyr Ala Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Ser Gly Gln
                165                 170                 175

Ala Pro Ile Leu Leu Leu Tyr Gly Lys His Lys Arg Pro Ser Gly Ile
            180                 185                 190

Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Thr Ser Gly Asp Thr Ala Ser Leu Thr
        195                 200                 205

Ile Thr Gly Ala Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Val Ala
    210                 215                 220

Arg Ala Val Arg Gly Asn Pro His Val Leu Phe Gly Gly Gly Thr Gln
225                 230                 235                 240

Leu Thr Val Leu
```

<210> 153
<211> 732
<212> DNA
<213> artificial

<220>
<223> L20 scFv

<400> 153
caggtgcagc tgcaggagtc gggcccagga ctggtgaaga cttcggagac cctgtccctc 60

acctgcgctg tctctggtta ctccatcagc agtggttact actggggctg gatccggcag 120

```
cccccaggga aggggttgga gtggattggg agtatctctc atactgggaa cacctactac      180
aacccgcccc tcaagagtcg cgtcaccata tcagtagaca cgtccaagaa ccagttctcc      240
ctgaaactga gctctgtgac cgccgcagac acggccgtgt attactgtgc gcgaggtggg      300
ggaattagca ggccggagta ctggggcaaa ggcaccctgg tcaccgtctc gagtggaggc      360
ggcggttcag gcggaggtgg ctctggcggt ggcggaagtg cactttcttc tgagctgact      420
caggaccctc ctgtgtctgt ggccttggga cagacagtca cgctcacatg ccaaggagac      480
agcctcagaa cctattatgc aagctggtac cagcagaagt caggacaggc ccctatactt      540
ctcctctatg gtaaacacaa acggccctca gggatcccag accgcttctc tggctccacc      600
tcaggagaca cagcttcctt gaccatcact ggggctcagg cggaagacga ggctgactat      660
tactgtgtct cccgcagcgc gaagggcaac ccccatgttc tgttcggcgg agggacccag      720
ctcaccgttt ta                                                          732
```

<210> 154
<211> 244
<212> PRT
<213> artificial

<220>
<223> L20 scFv

<400> 154

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

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

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

Ile Gly Ser Ile Ser His Thr Gly Asn Thr Tyr Tyr Asn Pro Pro Leu
    50                  55                  60

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

Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95

Ala Arg Gly Gly Gly Ile Ser Arg Pro Glu Tyr Trp Gly Lys Gly Thr
            100                 105                 110

Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
        115                 120                 125
```

```
Gly Gly Gly Gly Ser Ala Leu Ser Ser Glu Leu Thr Gln Asp Pro Pro
    130                 135                 140

Val Ser Val Ala Leu Gly Gln Thr Val Thr Leu Thr Cys Gln Gly Asp
145                 150                 155                 160

Ser Leu Arg Thr Tyr Tyr Ala Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Ser Gly Gln
                165                 170                 175

Ala Pro Ile Leu Leu Leu Tyr Gly Lys His Lys Arg Pro Ser Gly Ile
            180                 185                 190

Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Thr Ser Gly Asp Thr Ala Ser Leu Thr
        195                 200                 205

Ile Thr Gly Ala Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Val Ser
    210                 215                 220

Arg Ser Ala Lys Gly Asn Pro His Val Leu Phe Gly Gly Gly Thr Gln
225                 230                 235                 240

Leu Thr Val Leu
```

<210> 155
<211> 732
<212> DNA
<213> artificial

<220>
<223> L21 scFv

<400> 155

```
caggtgcagc tgcaggagtc gggcccagga ctggtgaaga cttcggagac cctgtccctc       60
acctgcgctg tctctggtta ctccatcagc agtggttact actggggctg gatccggcag      120
cccccaggga aggggttgga gtggattggg agtatctctc atactgggaa cacctactac      180
aacccgcccc tcaagagtcg cgtcaccata tcagtagaca cgtccaagaa ccagttctcc      240
ctgaaactga gctctgtgac cgccgcagac acggccgtgt attactgtgc gcgaggtggg      300
ggaattagca ggccggagta ctggggcaaa ggcaccctgg tcaccgtctc gagtggaggc      360
ggcggttcag gcggaggtgg ctctggcggt ggcggaagtg cactttcttc tgagctgact      420
caggaccctc ctgtgtctgt ggccttggga cagacagtca cgctcacatg ccaaggagac      480
agcctcagaa cctattatgc aagctggtac cagcagaagt caggacaggc ccctatactt      540
ctcctctatg gtaaacacaa acggccctca gggatcccag accgcttctc tggctccacc      600
tcaggagaca cagcttcctt gaccatcact ggggctcagg cggaagacga ggctgactat      660
tactgtgcca cccgggcggt ccggggcaac ccccatgttc tgttcggcgg agggacccag      720
```

ctcaccgttt ta 732

<210> 156
<211> 244
<212> PRT
<213> artificial

<220>
<223> L21 scFv

<400> 156

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

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

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

Ile Gly Ser Ile Ser His Thr Gly Asn Thr Tyr Tyr Asn Pro Pro Leu
50 55 60

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

Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Gly Gly Gly Ile Ser Arg Pro Glu Tyr Trp Gly Lys Gly Thr
100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
115 120 125

Gly Gly Gly Gly Ser Ala Leu Ser Ser Glu Leu Thr Gln Asp Pro Pro
130 135 140

Val Ser Val Ala Leu Gly Gln Thr Val Thr Leu Thr Cys Gln Gly Asp
145 150 155 160

Ser Leu Arg Thr Tyr Tyr Ala Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Ser Gly Gln
165 170 175

Ala Pro Ile Leu Leu Leu Tyr Gly Lys His Lys Arg Pro Ser Gly Ile
180 185 190

Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Thr Ser Gly Asp Thr Ala Ser Leu Thr
195 200 205

Ile Thr Gly Ala Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Thr
210 215 220

Arg Ala Val Arg Gly Asn Pro His Val Leu Phe Gly Gly Gly Thr Gln
225 230 235 240

Leu Thr Val Leu

<210> 157
<211> 732
<212> DNA
<213> artificial

<220>
<223> L23 scFv

<400> 157
caggtgcagc tgcaggagtc gggcccagga ctggtgaaga cttcggagac cctgtccctc 60

acctgcgctg tctctggtta ctccatcagc agtggttact actggggctg gatccggcag 120

cccccaggga aggggttgga gtggattggg agtatctctc atactgggaa cacctactac 180

aacccgcccc tcaagagtcg cgtcaccata tcagtagaca cgtccaagaa ccagttctcc 240

ctgaaactga gctctgtgac cgccgcagac acggccgtgt attactgtgc gcgaggtggg 300

ggaattagca ggccggagta ctggggcaaa ggcaccctgg tcaccgtctc gagtggaggc 360

ggcggttcag gcggaggtgg ctctggcggt ggcggaagtg cactttcttc tgagctgact 420

caggaccctc ctgtgtctgt ggccttggga cagacagtca cgctcacatg ccaaggagac 480

agcctcagaa cctattatgc aagctggtac cagcagaagt caggacaggc ccctatactt 540

ctcctctatg gtaaacacaa acggccctca gggatcccag accgcttctc tggctccacc 600

tcaggagaca cagcttcctt gaccatcact ggggctcagg cggaagacga ggctgactat 660

tactgttcgg cgcggtcggt gaggggcaac ccccatgttc tgttcggcgg agggacccag 720

ctcaccgttt ta 732

<210> 158
<211> 244
<212> PRT
<213> artificial

<220>
<223> L23 scFv

<400> 158

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

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

```
Tyr Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
        35                  40                  45

Ile Gly Ser Ile Ser His Thr Gly Asn Thr Tyr Tyr Asn Pro Pro Leu
    50                  55                  60

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

Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95

Ala Arg Gly Gly Gly Ile Ser Arg Pro Glu Tyr Trp Gly Lys Gly Thr
            100                 105                 110

Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
        115                 120                 125

Gly Gly Gly Gly Ser Ala Leu Ser Ser Glu Leu Thr Gln Asp Pro Pro
    130                 135                 140

Val Ser Val Ala Leu Gly Gln Thr Val Thr Leu Thr Cys Gln Gly Asp
145                 150                 155                 160

Ser Leu Arg Thr Tyr Tyr Ala Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Ser Gly Gln
                165                 170                 175

Ala Pro Ile Leu Leu Leu Tyr Gly Lys His Lys Arg Pro Ser Gly Ile
            180                 185                 190

Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Thr Ser Gly Asp Thr Ala Ser Leu Thr
        195                 200                 205

Ile Thr Gly Ala Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ser Ala
    210                 215                 220

Arg Ser Val Arg Gly Asn Pro His Val Leu Phe Gly Gly Gly Thr Gln
225                 230                 235                 240

Leu Thr Val Leu
```

<210> 159
<211> 732
<212> DNA
<213> artificial

<220>
<223> L24 scFv

<400> 159
caggtgcagc tgcaggagtc gggcccagga ctggtgaaga cttcggagac cctgtccctc 60

acctgcgctg tctctggtta ctccatcagc agtggttact actggggctg gatccggcag 120

cccccaggga aggggttgga gtggattggg agtatctctc atactgggaa cacctactac 180

aacccgcccc tcaagagtcg cgtcaccata tcagtagaca cgtccaagaa ccagttctcc 240

ctgaaactga gctctgtgac cgccgcagac acggccgtgt attactgtgc gcgaggtggg 300

ggaattagca ggccggagta ctggggcaaa ggcaccctgg tcaccgtctc gagtggaggc 360

ggcggttcag gcggaggtgg ctctggcggt ggcggaagtg cactttcttc tgagctgact 420

caggaccctc ctgtgtctgt ggccttggga cagacagtca cgctcacatg ccaaggagac 480

agcctcagaa cctattatgc aagctggtac cagcagaagt caggacaggc ccctatactt 540

ctcctctatg gtaaacacaa acggccctca gggatcccag accgcttctc tggctccacc 600

tcaggagaca cagcttcctt gaccatcact ggggctcagg cggaagacga ggctgactat 660

tactgtatcg ccaggagcaa caagggcaac ccccatgttc tgttcggcgg agggacccag 720

ctcaccgttt ta 732

<210> 160
<211> 244
<212> PRT
<213> artificial

<220>
<223> L24 scFv

<400> 160

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

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

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

Ile Gly Ser Ile Ser His Thr Gly Asn Thr Tyr Tyr Asn Pro Pro Leu
50 55 60

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

Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Gly Gly Gly Ile Ser Arg Pro Glu Tyr Trp Gly Lys Gly Thr
100 105 110

```
Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
        115                 120                 125

Gly Gly Gly Gly Ser Ala Leu Ser Ser Glu Leu Thr Gln Asp Pro Pro
    130                 135                 140

Val Ser Val Ala Leu Gly Gln Thr Val Thr Leu Thr Cys Gln Gly Asp
145                 150                 155                 160

Ser Leu Arg Thr Tyr Tyr Ala Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Ser Gly Gln
                165                 170                 175

Ala Pro Ile Leu Leu Leu Tyr Gly Lys His Lys Arg Pro Ser Gly Ile
            180                 185                 190

Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Thr Ser Gly Asp Thr Ala Ser Leu Thr
        195                 200                 205

Ile Thr Gly Ala Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ile Ala
    210                 215                 220

Arg Ser Asn Lys Gly Asn Pro His Val Leu Phe Gly Gly Gly Thr Gln
225                 230                 235                 240

Leu Thr Val Leu
```

<210> 161
<211> 732
<212> DNA
<213> artificial

<220>
<223> L25 scFv

<400> 161

```
caggtgcagc tgcaggagtc gggcccagga ctggtgaaga cttcggagac cctgtccctc      60

acctgcgctg tctctggtta ctccatcagc agtggttact actggggctg gatccggcag     120

cccccaggga aggggttgga gtggattggg agtatctctc atactgggaa cacctactac     180

aacccgcccc tcaagagtcg cgtcaccata tcagtagaca cgtccaagaa ccagttctcc     240

ctgaaactga gctctgtgac cgccgcagac acggccgtgt attactgtgc gcgaggtggg     300

ggaattagca ggccggagta ctggggcaaa ggcaccctgg tcaccgtctc gagtggaggc     360

ggcggttcag gcggaggtgg ctctggcggt ggcggaagtg cactttcttc tgagctgact     420

caggaccctc ctgtgtctgt ggccttggga cagacagtca cgctcacatg ccaaggagac     480

agcctcagaa cctattatgc aagctggtac cagcagaagt caggacaggc ccctatactt     540

ctcctctatg gtaaacacaa acggccctca gggatcccag accgcttctc tggctccacc     600
```

tcaggagaca cagcttcctt gaccatcact ggggctcagg cggaagacga ggctgactat 660

tactgtacga cgcggagcaa caagggcaac ccccatgttc tgttcggcgg agggacccag 720

ctcaccgttt ta 732

<210> 162
<211> 244
<212> PRT
<213> artificial

<220>
<223> L25 scFv

<400> 162

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

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

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

Ile Gly Ser Ile Ser His Thr Gly Asn Thr Tyr Tyr Asn Pro Pro Leu
    50                  55                  60

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

Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95

Ala Arg Gly Gly Gly Ile Ser Arg Pro Glu Tyr Trp Gly Lys Gly Thr
            100                 105                 110

Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
        115                 120                 125

Gly Gly Gly Gly Ser Ala Leu Ser Ser Glu Leu Thr Gln Asp Pro Pro
    130                 135                 140

Val Ser Val Ala Leu Gly Gln Thr Val Thr Leu Thr Cys Gln Gly Asp
145                 150                 155                 160

Ser Leu Arg Thr Tyr Tyr Ala Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Ser Gly Gln
                165                 170                 175

Ala Pro Ile Leu Leu Leu Tyr Gly Lys His Lys Arg Pro Ser Gly Ile
            180                 185                 190
```

<210> 172
<211> 12
<212> PRT
<213> artificial

<220>
<223> L2 light chain CDR3

<400> 172

Val Ala Arg Ser Val Val Gly Asn Pro His Val Leu
1 5 10

<210> 173
<211> 12
<212> PRT
<213> artificial

<220>
<223> L3 light chain CDR3

<400> 173

Val Ser Arg Ala Val Val Gly Asn Pro His Val Leu
1 5 10

<210> 174
<211> 12
<212> PRT
<213> artificial

<220>
<223> L4 light chain CDR3

<400> 174

Ser Thr Arg Ser Ser Lys Gly Asn Pro His Val Leu
1 5 10

<210> 175
<211> 12
<212> PRT
<213> artificial

<220>
<223> L5 light chain CDR3

<400> 175

Ala Ser Arg Ser Ser Lys Gly Asn Pro His Val Leu
1 5 10

<210> 176
<211> 12
<212> PRT
<213> artificial

<220>
<223> L6 light chain CDR3

<400> 176

Met Ser Arg Ser Ile Trp Gly Asn Pro His Val Leu
1 5 10

<210> 177
<211> 12
<212> PRT
<213> artificial

<220>
<223> L8 light chain CDR3

<400> 177

Thr Thr Arg Ser Thr Gln Gly Asn Pro His Val Leu
1 5 10

<210> 178
<211> 12
<212> PRT
<213> artificial

<220>
<223> L9 light chain CDR3

<400> 178

Val Ala Arg Ser Asn Lys Gly Asn Pro His Val Leu
1 5 10

<210> 179
<211> 12
<212> PRT
<213> artificial

<220>
<223> L10 light chain CDR3

<400> 179

Ile Ser Arg Ser Ile Tyr Gly Asn Pro His Val Leu
1 5 10

<210> 180
<211> 12
<212> PRT
<213> artificial

<220>
<223> L11 light chain CDR3

<400> 180

Ser Ser Arg Ser Arg His Gly Asn Pro His Val Leu
1 5 10

<210> 181
<211> 12
<212> PRT

<213> artificial

<220>
<223> L12 light chain CDR3

<400> 181

Val Ala Arg Gly Thr Arg Gly Asn Pro His Val Leu
1 5 10

<210> 182
<211> 12
<212> PRT
<213> artificial

<220>
<223> L13 light chain CDR3

<400> 182

Val Thr Arg Asn Arg Tyr Gly Asn Pro His Val Leu
1 5 10

<210> 183
<211> 12
<212> PRT
<213> artificial

<220>
<223> L14 light chain CDR3

<400> 183

Met Ala Arg Ser Arg Lys Gly Asn Pro His Val Leu
1 5 10

<210> 184
<211> 12
<212> PRT
<213> artificial

<220>
<223> L15 light chain CDR3

<400> 184

Ser Thr Arg Ala Ile His Gly Asn Pro His Val Leu
1 5 10

<210> 185
<211> 12
<212> PRT
<213> artificial

<220>
<223> L16 light chain CDR3

<400> 185

Val Thr Arg Ser Ala Lys Gly Asn Pro His Val Leu
1 5 10

<210> 186
<211> 12
<212> PRT
<213> artificial

<220>
<223> L17 light chain CDR3

<400> 186

Ser Thr Arg Ser Arg Lys Gly Asn Pro His Val Leu
1 5 10

<210> 187
<211> 12
<212> PRT
<213> artificial

<220>
<223> L18 light chain CDR3

<400> 187

Val Thr Arg Ser Val Lys Gly Asn Pro His Val Leu
1 5 10

<210> 188
<211> 12
<212> PRT
<213> artificial

<220>
<223> L19 light chain CDR3

<400> 188

Val Ala Arg Ala Val Arg Gly Asn Pro His Val Leu
1 5 10

<210> 189
<211> 12
<212> PRT
<213> artificial

<220>
<223> L20 light chain CDR3

<400> 189

Val Ser Arg Ser Ala Lys Gly Asn Pro His Val Leu
1 5 10

<210> 190
<211> 12
<212> PRT
<213> artificial

<220>
<223> L21 light chain CDR3

<400> 190

Ala Thr Arg Ala Val Arg Gly Asn Pro His Val Leu
1 5 10

<210> 191
<211> 12
<212> PRT
<213> artificial

<220>
<223> L23 light chain CDR3

<400> 191

Ser Ala Arg Ser Val Arg Gly Asn Pro His Val Leu
1 5 10

<210> 192
<211> 12
<212> PRT
<213> artificial

<220>
<223> L24 light chain CDR3

<400> 192

Ile Ala Arg Ser Asn Lys Gly Asn Pro His Val Leu
1 5 10

<210> 193
<211> 12
<212> PRT
<213> artificial

<220>
<223> L25 light chain CDR3

<400> 193

Thr Thr Arg Ser Asn Lys Gly Asn Pro His Val Leu
1 5 10

<210> 194
<211> 11
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 194

Gln Gly Asp Ser Leu Arg Thr Tyr Tyr Ala Ser
1 5 10

<210> 195
<211> 7
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 195

Gly Lys His Lys Arg Pro Ser
1 5

<210> 196
<211> 330
<212> PRT
<213> artificial

<220>
<223> human IgG constant region TM

<400> 196

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

Ser Thr Ser Gly Gly 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 Gln Thr
65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
100 105 110

Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Ala Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
115 120 125

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
130 135 140

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145 150 155 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
165 170 175

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

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn

```
        195                 200                 205

Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
    210                 215                 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
225                 230                 235                 240

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
                245                 250                 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
            260                 265                 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
        275                 280                 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
    290                 295                 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
305                 310                 315                 320

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
                325                 330
```

<210> 197
<211> 330
<212> PRT
<213> artificial

<220>
<223> human IgG constant region DM

<400> 197

```
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1               5                   10                  15

Ser Thr Ser Gly Gly 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 Gln Thr
65                  70                  75                  80
```

```
Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
                85                  90                  95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
            100                 105                 110

Pro Ala Pro Glu Ala Leu Gly Ala Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
        115                 120                 125

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
    130                 135                 140

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145                 150                 155                 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
                165                 170                 175

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

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
        195                 200                 205

Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
    210                 215                 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
225                 230                 235                 240

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
                245                 250                 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
            260                 265                 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
        275                 280                 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
    290                 295                 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
305                 310                 315                 320

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
                325                 330
```

<210> 198

<211> 106
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 198

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

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

Phe Tyr Pro Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro
35 40 45

Val Lys Ala Gly Val Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn
50 55 60

Lys Tyr Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys
65 70 75 80

Ser His Arg Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val
85 90 95

Glu Lys Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser
100 105

<210> 199
<211> 100
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 199
gctctgtgac cgccgcagac acggccgtgt attactgtgc gcgaggtggg ggaattagca 60

ggccggagta ctggggcaaa ggcaccctgg tcaccgtctc 100

<210> 200
<211> 34
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 200

Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly
1 5 10 15

Gly Gly Ile Ser Arg Pro Glu Tyr Trp Gly Lys Gly Thr Leu Val Thr
20 25 30

Val Ser

<210> 201

<211> 60
<212> DNA
<213> artificial

<220>
<223> H3B1 VH library

<220>
<221> misc_feature
<222> (19)..(20)
<223> n is a, c, g, or t

<220>
<221> misc_feature
<222> (22)..(23)
<223> n is a, c, g, or t

<220>
<221> misc_feature
<222> (25)..(26)
<223> n is a, c, g, or t

<220>
<221> misc_feature
<222> (28)..(29)
<223> n is a, c, g, or t

<220>
<221> misc_feature
<222> (31)..(32)
<223> n is a, c, g, or t

<220>
<221> misc_feature
<222> (34)..(35)
<223> n is a, c, g, or t

<400> 201
cacataatga cacgcgctnn snnsnnsnns nnsnnsggcc tcatgacccc gtttccgtgg 60

<210> 202
<211> 20
<212> PRT
<213> artificial

<220>
<223> H3B1 VH library

<400> 202

Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly Gly Gly Ile Ser Arg Pro Glu Tyr Trp
1 5 10 15

Gly Lys Gly Thr
20

<210> 203
<211> 56
<212> DNA
<213> artificial

<220>
<223> H3B2 VH library

<220>
<221> misc_feature
<222> (20)..(21)
<223> n is a, c, g, or t

<220>
<221> misc_feature
<222> (23)..(24)
<223> n is a, c, g, or t

<220>
<221> misc_feature
<222> (26)..(27)
<223> n is a, c, g, or t

<220>
<221> misc_feature
<222> (29)..(30)
<223> n is a, c, g, or t

<220>
<221> misc_feature
<222> (32)..(33)
<223> n is a, c, g, or t

<220>
<221> misc_feature
<222> (35)..(36)
<223> n is a, c, g, or t

<400> 203
gacacgcgct ccacccccctn nsnnsnnsnn snnsnnsacc ccgtttccgt gggacc 56

<210> 204
<211> 18
<212> PRT
<213> artificial

<220>
<223> H3B2 VH library

<400> 204

Cys Ala Arg Gly Gly Gly Ile Ser Arg Pro Glu Tyr Trp Gly Lys Gly
1 5 10 15

Thr Leu

<210> 205
<211> 85
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 205
ggctgactat tactgtaact cccgggactc cagtggcaac ccccatgttc tgttcggcgg 60

agggacccag ctcaccgttt taagt 85

<210> 206
<211> 28
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 206

Ala Asp Tyr Tyr Cys Asn Ser Arg Asp Ser Ser Gly Asn Pro His Val
1 5 10 15

Leu Phe Gly Gly Gly Thr Gln Leu Thr Val Leu Ser
20 25

<210> 207
<211> 55
<212> DNA
<213> artificial

<220>
<223> L3B1 VL library

<220>
<221> misc_feature
<222> (17)..(18)
<223> n is a, c, g, or t

<220>
<221> misc_feature
<222> (20)..(21)
<223> n is a, c, g, or t

<220>
<221> misc_feature
<222> (23)..(24)
<223> n is a, c, g, or t

<220>
<221> misc_feature
<222> (26)..(27)
<223> n is a, c, g, or t

<220>
<221> misc_feature
<222> (29)..(30)
<223> n is a, c, g, or t

<220>
<221> misc_feature
<222> (32)..(33)
<223> n is a, c, g, or t

<400> 207
ccgactgata atgacannsn nsnnsnnsnn snnsccgttg ggggtacaag acaag 55

<210> 208
<211> 18
<212> PRT
<213> artificial

<220>
<223> L3B1 VL library

<400> 208

Ala Asp Tyr Tyr Cys Asn Ser Arg Asp Ser Ser Gly Asn Pro His Val
1 5 10 15

Leu Phe

<210> 209
<211> 59
<212> DNA
<213> artificial

<220>
<223> L3B2 VL library

<220>
<221> misc_feature
<222> (23)..(24)
<223> n is a, c, g, or t

<220>
<221> misc_feature
<222> (26)..(27)
<223> n is a, c, g, or t

<220>
<221> misc_feature
<222> (29)..(30)
<223> n is a, c, g, or t

<220>
<221> misc_feature
<222> (32)..(33)
<223> n is a, c, g, or t

<220>
<221> misc_feature
<222> (35)..(36)
<223> n is a, c, g, or t

<220>
<221> misc_feature
<222> (38)..(39)
<223> n is a, c, g, or t

<400> 209
gacattgagg gccctgaggt cannsnnsnn snnsnnsnns aagccgcctc cctgggtcg 59

<210> 210
<211> 19
<212> PRT
<213> artificial

<220>
<223> L3B2 VL library

<400> 210

```
Cys Asn Ser Arg Asp Ser Ser Gly Asn Pro His Val Leu Phe Gly Gly
1               5                  10                  15

Gly Thr Gln
```

<210> 211
<211> 617
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> CDS
<222> (47)..(532)

<400> 211

```
gctgaagtga aaacgagacc aaggtctagc tctactgttg gtactt atg aga tcc          55
                                                    Met Arg Ser
                                                    1

agt cct ggc aac atg gag agg att gtc atc tgt ctg atg gtc atc ttc         103
Ser Pro Gly Asn Met Glu Arg Ile Val Ile Cys Leu Met Val Ile Phe
    5                  10                  15

ttg ggg aca ctg gtc cac aaa tca agc tcc caa ggt caa gat cgc cac         151
Leu Gly Thr Leu Val His Lys Ser Ser Ser Gln Gly Gln Asp Arg His
20                 25                  30                  35

atg att aga atg cgt caa ctt ata gat att gtt gat cag ctg aaa aat         199
Met Ile Arg Met Arg Gln Leu Ile Asp Ile Val Asp Gln Leu Lys Asn
                40                  45                  50

tat gtg aat gac ttg gtc cct gaa ttt ctg cca gct cca gaa gat gta         247
Tyr Val Asn Asp Leu Val Pro Glu Phe Leu Pro Ala Pro Glu Asp Val
            55                  60                  65

gag aca aac tgt gag tgg tca gct ttt tcc tgc ttt cag aag gcc caa         295
Glu Thr Asn Cys Glu Trp Ser Ala Phe Ser Cys Phe Gln Lys Ala Gln
        70                  75                  80

cta aag tca gca aat aca gga aac aat gaa agg ata atc aat gta tca         343
Leu Lys Ser Ala Asn Thr Gly Asn Asn Glu Arg Ile Ile Asn Val Ser
    85                  90                  95

att aaa aag ctg aag agg aaa cca cct tcc aca aat gca ggg aga aga         391
Ile Lys Lys Leu Lys Arg Lys Pro Pro Ser Thr Asn Ala Gly Arg Arg
100                 105                 110                 115

cag aaa cac aga cta aca tgc cct tca tgt gat tct tat gag aaa aaa         439
Gln Lys His Arg Leu Thr Cys Pro Ser Cys Asp Ser Tyr Glu Lys Lys
                120                 125                 130

cca ccc aaa gaa ttc cta gaa aga ttc aaa tca ctt ctc caa aag atg         487
Pro Pro Lys Glu Phe Leu Glu Arg Phe Lys Ser Leu Leu Gln Lys Met
            135                 140                 145

att cat cag cat ctg tcc tct aga aca cac gga agt gaa gat tcc             532
Ile His Gln His Leu Ser Ser Arg Thr His Gly Ser Glu Asp Ser
        150                 155                 160

tgaggatcta acttgcagtt ggacactatg ttacatactc taatatagta gtgaaagtca      592
```

tttctttgta ttccaagtgg aggag 617

<210> 212
<211> 162
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 212

Met Arg Ser Ser Pro Gly Asn Met Glu Arg Ile Val Ile Cys Leu Met
1 5 10 15

Val Ile Phe Leu Gly Thr Leu Val His Lys Ser Ser Ser Gln Gly Gln
20 25 30

Asp Arg His Met Ile Arg Met Arg Gln Leu Ile Asp Ile Val Asp Gln
35 40 45

Leu Lys Asn Tyr Val Asn Asp Leu Val Pro Glu Phe Leu Pro Ala Pro
50 55 60

Glu Asp Val Glu Thr Asn Cys Glu Trp Ser Ala Phe Ser Cys Phe Gln
65 70 75 80

Lys Ala Gln Leu Lys Ser Ala Asn Thr Gly Asn Asn Glu Arg Ile Ile
85 90 95

Asn Val Ser Ile Lys Lys Leu Lys Arg Lys Pro Pro Ser Thr Asn Ala
100 105 110

Gly Arg Arg Gln Lys His Arg Leu Thr Cys Pro Ser Cys Asp Ser Tyr
115 120 125

Glu Lys Lys Pro Pro Lys Glu Phe Leu Glu Arg Phe Lys Ser Leu Leu
130 135 140

Gln Lys Met Ile His Gln His Leu Ser Ser Arg Thr His Gly Ser Glu
145 150 155 160

Asp Ser

<210> 213
<211> 448
<212> PRT
<213> artificial

<220>
<223> VH3DM heavy chain

<400> 213

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

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

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

Ile Gly Ser Ile Ser His Thr Gly Asn Thr Tyr Tyr Asn Pro Pro Leu
    50                  55                  60

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

Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95

Ala Arg Phe Met Gly Phe Gly Arg Pro Glu Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
            100                 105                 110

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

Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly
    130                 135                 140

Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn
145                 150                 155                 160

Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln
                165                 170                 175

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

Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser
        195                 200                 205

Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr
    210                 215                 220

His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Leu Gly Ala Pro Ser
225                 230                 235                 240

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

Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro
```

260 265 270

Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala
275 280 285

Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val
290 295 300

Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr
305 310 315 320

Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr
325 330 335

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

Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys
355 360 365

Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser
370 375 380

Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp
385 390 395 400

Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser
405 410 415

Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala
420 425 430

Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
435 440 445

<210> 214
<211> 215
<212> PRT
<213> artificial

<220>
<223> VL2 light chain

<400> 214

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

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

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

Gly Lys His Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser
    50                  55                  60

Ser Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Thr Gly Ala Gln Ala Glu
65                  70                  75                  80

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

His Val Leu Phe Gly Gly Gly Thr Gln Leu Thr Val Leu Gly Gln Pro
            100                 105                 110

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

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

Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro Val Lys Ala
145                 150                 155                 160

Gly Val Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys Tyr Ala
                165                 170                 175

Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His Arg
            180                 185                 190

Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu Lys Thr
        195                 200                 205

Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser
    210                 215
```

<210> 215
<211> 109
<212> PRT
<213> artificial

<220>
<223> variable region of VL2 light chain

<400> 215

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

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

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

Gly Lys His Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser
    50                  55                  60

Ser Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Thr Gly Ala Gln Ala Glu
65                  70                  75                  80

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

His Val Leu Phe Gly Gly Gly Thr Gln Leu Thr Val Leu
            100                 105
```

<210> 216
<211> 215
<212> PRT
<213> artificial

<220>
<223> VL18 light chain

<400> 216

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

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

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

Gly Lys His Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser
    50                  55                  60

Ser Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Thr Gly Ala Gln Ala Glu
65                  70                  75                  80

Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Val Thr Arg Ser Val Lys Gly Asn Pro
                85                  90                  95

His Val Leu Phe Gly Gly Gly Thr Gln Leu Thr Val Leu Gly Gln Pro
            100                 105                 110

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

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

Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro Val Lys Ala
145 150 155 160

Gly Val Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys Tyr Ala
165 170 175

Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His Arg
180 185 190

Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu Lys Thr
195 200 205

Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser
210 215

<210> 217
<211> 109
<212> PRT
<213> artificial

<220>
<223> variable region of VL18 light chain

<400> 217

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

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

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

Gly Lys His Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60

Ser Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Thr Gly Ala Gln Ala Glu
65 70 75 80

Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Val Thr Arg Ser Val Lys Gly Asn Pro
85 90 95

His Val Leu Phe Gly Gly Gly Thr Gln Leu Thr Val Leu
100 105

<210> 218
<211> 448
<212> PRT
<213> artificial

145 150 155 160

Gly Val Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys Tyr Ala
165 170 175

Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His Arg
180 185 190

Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu Lys Thr
195 200 205

Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser
210 215

<210> 223
<211> 109
<212> PRT
<213> artificial

<220>
<223> variable region of VL9 light chain

<400> 223

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

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

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

Gly Lys His Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60

Ser Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Thr Gly Ala Gln Ala Glu
65 70 75 80

Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Val Ala Arg Ser Asn Lys Gly Asn Pro
85 90 95

His Val Leu Phe Gly Gly Gly Thr Gln Leu Thr Val Leu
100 105

<210> 224
<211> 215
<212> PRT
<213> artificial

<220>
<223> VL16 light chain

<400> 224

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

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

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

Gly Lys His Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser
    50                  55                  60

Ser Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Thr Gly Ala Gln Ala Glu
65                  70                  75                  80

Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Val Thr Arg Ser Ala Lys Gly Asn Pro
                85                  90                  95

His Val Leu Phe Gly Gly Gly Thr Gln Leu Thr Val Leu Gly Gln Pro
            100                 105                 110

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

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

Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro Val Lys Ala
145                 150                 155                 160

Gly Val Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys Tyr Ala
                165                 170                 175

Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His Arg
            180                 185                 190

Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu Lys Thr
        195                 200                 205

Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser
    210                 215
```

<210> 225
<211> 109
<212> PRT
<213> artificial

<220>
<223> variable region of VL16 light chain

```
His Val Leu Phe Gly Gly Gly Thr Gln Leu Thr Val Leu
            100                 105
```

<210> 228
<211> 215
<212> PRT
<213> artificial

<220>
<223> VL25 light chain

<400> 228

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

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

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

Gly Lys His Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser
    50                  55                  60

Ser Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Thr Gly Ala Gln Ala Glu
65                  70                  75                  80

Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Thr Thr Arg Ser Asn Lys Gly Asn Pro
                85                  90                  95

His Val Leu Phe Gly Gly Gly Thr Gln Leu Thr Val Leu Gly Gln Pro
            100                 105                 110

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

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

Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro Val Lys Ala
145                 150                 155                 160

Gly Val Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys Tyr Ala
                165                 170                 175

Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His Arg
            180                 185                 190

Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu Lys Thr
        195                 200                 205
```

Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser
210 215

<210> 229
<211> 109
<212> PRT
<213> artificial

<220>
<223> variable region of VL25 light chain

<400> 229

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

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

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

Gly Lys His Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60

Ser Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Thr Gly Ala Gln Ala Glu
65 70 75 80

Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Thr Thr Arg Ser Asn Lys Gly Asn Pro
85 90 95

His Val Leu Phe Gly Gly Gly Thr Gln Leu Thr Val Leu
100 105

<210> 230
<211> 34
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Primer BssHII_II_VH_F

<400> 230
gcttggcgcg cactctcagg tgcagctgca ggag 34

<210> 231
<211> 21
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Primer GVH_R_for_BssHII

<400> 231

```
Phe Tyr Pro Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro
                165                 170                 175

Val Lys Ala Gly Val Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn
            180                 185                 190

Lys Tyr Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys
        195                 200                 205

Ser His Arg Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val
    210                 215                 220

Glu Lys Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser
225                 230
```

<210> 247
<211> 703
<212> DNA
<213> artificial

<220>
<223> VL25 light chain with signal sequence

<400> 247
atgggatgga gctgtatcat cctcttcttg gtggcaacag ctacaggcgt gcactcttcc 60

tctgagctga cccaggatcc tgctgtgtct gtggccctgg gccagaccgt caggatcacc 120

tgccagggcg atagcctgag aacctactac gcctcctggt atcagcagaa gcctggacag 180

gcccctgtgc tggtgatcta cggcaagcac aagaggccat ccggcatccc tgacagattc 240

tccggctcct cctctggcaa taccgcctcc ctgaccatca ctggggctca ggcggaagac 300

gaggctgact attactgtac gacgcggagc aacaagggca acccccatgt tctgttcggc 360

ggagggaccc agctcaccgt tttaggtcag cccaaggctg ccccctcggt cactctgttc 420

ccgccctcct ctgaggagct tcaagccaac aaggccacac tggtgtgtct cataagtgac 480

ttctacccgg gagccgtgac agtggcctgg aaggcagata gcagccccgt caaggcggga 540

gtggagacca ccacaccctc caaacaaagc aacaacaagt acgcggccag cagctatctg 600

agcctgacgc ctgagcagtg gaagtcccac agaagctaca gctgccaggt cacgcatgaa 660

gggagcaccg tggagaagac agtggcccct acagaatgtt cat 703

<210> 248
<211> 234
<212> PRT
<213> artificial

<220>
<223> VL25 light chain with signal sequence

<400> 248

```
Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly
1               5                  10                  15

Val His Ser Ser Ser Glu Leu Thr Gln Asp Pro Ala Val Ser Val Ala
            20                  25                  30

Leu Gly Gln Thr Val Arg Ile Thr Cys Gln Gly Asp Ser Leu Arg Thr
        35                  40                  45

Tyr Tyr Ala Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Leu
    50                  55                  60

Val Ile Tyr Gly Lys His Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe
65                  70                  75                  80

Ser Gly Ser Ser Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Thr Gly Ala
                85                  90                  95

Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Thr Thr Arg Ser Asn Lys
            100                 105                 110

Gly Asn Pro His Val Leu Phe Gly Gly Gly Thr Gln Leu Thr Val Leu
        115                 120                 125

Gly Gln Pro Lys Ala Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser
    130                 135                 140

Glu Glu Leu Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp
145                 150                 155                 160

Phe Tyr Pro Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro
                165                 170                 175

Val Lys Ala Gly Val Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn
            180                 185                 190

Lys Tyr Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys
        195                 200                 205

Ser His Arg Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val
    210                 215                 220

Glu Lys Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser
225                 230
```

PROTEÍNAS FIJADORAS DE RECEPTORES DE INTERLEUKINAS-21

Solicitudes Relacionadas

Esta solicitud reivindica prioridad sobre la Solicitud de Patente Provisional estadounidense No. No. 61/055,500, presentada el 23 de mayo de 2008, el contenido de ésta se incorpora en la presente como referencia en su totalidad.

FUNDAMENTO DEL INVENTO

Campo del Invento

El presente invento se relaciona con proteínas fijadoras y fragmentos fijadores de antígenos de las mismas que fijan el receptor de la interleukina-21 (IL-21R), en particular, IL-21R humano, y su uso en la regulación de actividades asociadas con IL-21R. Las proteínas fijadoras divulgadas en la presente son útiles para tratar y/o diagnosticar trastornos IL-21R-asociados, ej., trastornos inflamatorios, enfermedades autoinmunes, alergias, rechazo de trasplantes, trastornos hiperproliferativos hemáticos, y otros trastornos del sistema inmune.

Antecedentes Relacionados

Los antígenos inician respuestas inmunes y activan las dos grandes poblaciones de linfocitos: células T y células B. Después de encontrar el antígeno, las células T proliferan y se diferencian en células efectoras, mientras las células B proliferan y se diferencian en células plasmáticas secretoras de anticuerpos. Estas células efectoras secretan y/o responden a citoquinas, las cuales son proteínas pequeñas (menos de 30 kDa aproximadamente) secretadas por linfocitos y otros tipos celulares.

IL-21 humana es una citoquina que muestra homología de secuencia con IL-2, IL-4 y IL-15 (Parrish-Novak (2000) *Nature* 408:57-63). A pesar de la baja homología de secuencia entre citoquinas de interleukina, las citoquinas comparten un pliegue común en una estructura de "fardo de cuatro helices" que es representativa de la familia. La mayoría de las citoquinas fijan cualquiera de los receptores de citoquina clase I o clase II. Los receptores de citoquina clase II incluyen los receptores para IL-10 y las interferonas, mientras receptores de citoquina clase I incluyen los receptores para IL-2 a IL-7, IL-9, IL-11, IL-12, IL-13, y IL-15, así como también

factores de crecimiento hematopoyético, leptina, y hormona de crecimiento (Cosman (1993) *Cytokine* 5:95-106).

IL-21R humano es un receptor de citoquina clase I. Las secuencias nucleótidas y aminoácidas que codifican IL-21 humana y su receptor (IL-21R) se describen en Publicación de Solicitud Internacional No. WO 00/053761 y WO 01/085792; Parrish-Novak (2000) *supra;* y Ozaki (2000) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 97:11439-44. IL-21R tiene la homología más alta de secuencia a la cadena β del receptor de la IL-2 y la cadena α del receptor de la IL-4 (Ozaki (2000) *supra).* Al fijarse los ligandos, IL-21R se asocia con la cadena gamma del receptor común de citoquinas (γc) que es compartida por complejos receptores para IL-2, IL-3, IL-4, IL-7, IL-9, IL-13 y IL-15 (Ozaki (2000) *supra;* Asao (2001) *J. Immunol.* 167:1-5).

IL-21R se expresa en tejidos linfoides, particularmente sobre células T, células B, células asesinas naturales (NK), células dendríticas (DC) y macrófagos (Parrish-Novak (2000) *supra),* lo cual permite que estas células respondan a IL-21 (Leonard y Spolski (2005) *Nat. Rev. Immunol.* 5:688-98). La extendida distribución linfoide de IL-21R indica que IL-21 juega un papel importante en la regulación inmune. Estudios *in vitro* han mostrado que IL-21 modula significativamente la función de células B, células $CD4^+$ y $CD8^+$ T, y células NK (Parrish-Novak (2000) *supra;* Kasaian (2002) *Immunity* 16:559-69). La evidencia reciente sugiere que la señalización IL-21-mediada puede tener actividad antitumoral (Sivakumar (2004) *Immunology* 112:177-82), y que IL-21 puede prevenir asma antígeno-inducida en ratones (Shang (2006) *Cell. Immunol.* 241:66-74).

En autoinmunidad, se ha mostrado que la alteración del gen IL-21 e inyección de IL-21 recombinante modula la progresión de miastenia grave autoinmune experimental (EAMG) y encefalomielitis autoinmune experimental (EAE), respectivamente (King (2004) *Cell* 117:265-77; Ozaki (2004) *J. Immunol.* 173:5361-71; Vollmer (2005) J. *Immunol.* 174:2696-2701; Liu (2006) J. *Immunol.* 176:5247-54). En estos sistemas experimentales, se ha indicado que la manipulación de señalización mediada por IL-21 directamente altera la función de las células $CD8^+$, células B, linfocitos T ayudadores (*T helper*), y células NK.

RESUMEN DEL INVENTO

El presente invento describe el aislamiento y caracterización de proteínas fijadoras, por ejemplo, anticuerpos humanos y fragmentos de los mismos, que específicamente se fijan a IL-

21R humano y murino. Las proteínas fijadoras descritas en la presente son derivadas del anticuerpo 18A5, el cual se divulga en la Patente estadounidense No. 7,495,085, la totalidad de la misma se incorpora en la presente como referencia. Las proteínas fijadoras del presente invento tienen un grado mucho mayor de afinidad a IL-21R humano y/o murino que el anticuerpo precursor 18A5.

El invento proporciona, al menos en parte, agentes fijadores de IL-21R (tales como proteínas fijadoras y fragmentos fijadores de antígenos de las mismas) que se fijan a IL-21R, en particular, IL-21R humana, con alta afinidad y especificación. Las proteínas fijadoras, y fragmentos fijadores de antígenos de las mismas, del presente invento también se conocen en la presente como "proteínas fijadoras de anti-IL-21R " y "fragmentos de las mismas," respectivamente. En una realización, la proteína fijadora o fragmento de las mismas reduce, inhibe, o antagoniza la actividad IL-21R. Tales proteínas fijadoras pueden utilizarse para regular respuestas inmunes o trastornos IL-21R-asociados al antagonizar actividad IL-21R. En otras realizaciones, la proteína fijadora anti-IL-21R puede utilizarse de manera diagnóstica, o como una proteína fijadora de direccionamiento para liberar un agente terapéutico o citotóxico a una célula de expresión IL-21R. Por lo tanto, las proteínas fijadoras anti-IL-21R del invento son útiles para diagnosticar y tratar trastornos IL-21R-asociados, ej., trastornos inflamatorios, enfermedades autoinmunes, alergias, rechazo de trasplantes, trastornos hiperproliferativos, y otros trastornos del sistema inmune.

Por consiguiente, en un aspecto, las proteínas fijadoras del invento caracterizan una proteína fijadora aislada (ej., un anticuerpo aislado) o fragmento fijador de antígenos de la misma que se fija a IL-21R, en particular, IL-21R humano. En ciertas realizaciones, la proteína fijadora anti-IL-21R (ej., anticuerpo) puede tener una o mas de las siguientes características: (1) es una proteína fijadora de especificidad única o monoclonal; (2) es una proteína fijadora humana; (3) es una proteína fijadora generada in vitro; (4) es una proteína fijadora generada *in vivo* (por ejemplo, un sistema murino transgénico); (5) inhibe la fijación de IL-21 a IL-21R; (6) es un IgGl; (7) se fija a IL-21R humano con una constante de asociación de al menos aproximadamente 10^5 $M^{-1}s^{-1}$; (8) se fija a IL-21R murino con una constante de asociación de al menos aproximadamente Sx104$M^{-1}s^{-1}$; (9) se fija a IL-21R humano con una constante de disociación de $10^{-3}s^{-1}$o menos aproximadamente; (10) se fija a IL-21R murino con una constante de disociación de $10^{-2}s^{-1}$ o menos; (11) inhibe proliferación mediada por IL-21R humano de

células BaF3 expresando IL-2lR humano con un IC50 de 1.75 nM aproximadamente o menos; (12) inhibe proliferación mediada por IL-21R murino de células BaF3 expresando IL-2 lR murino con un IC50 de 0.5 nM aproximadamente o menos; (13) inhibe proliferación mediada por IL-21R humano de células TF1 expresando IL-21R humano con un IC50 de 14.0 nM aproximadamente o menos; (14) inhibe proliferación mediada por IL-21 de células B humanas primarias con un IC50 de 1.9 nM aproximadamente o menos; (15) inhibe proliferación mediada por IL-21 de células T CD4+ humanas primarias con un IC50 de 1.5 nM aproximadamente o menos; y (16) inhibe proliferación mediada por IL-21 de células T CD4+ murinas primarias con un IC50 de 5.0 nM aproximadamente o menos.

Realizaciones ilustrativas no limitantes de las proteínas fijadoras del invento (el término "proteínas fijadoras" también incluye y se refiere a fragmentos fijadores de antígenos de las mismas, según lo apropiado) son conocidas en la presente como AbA-AbZ, y la correlación de estos términos con términos utilizados en la Solicitud de Patente Provisional estadounidense No. 61/055,500 se presenta en la **Tabla** *2A.* Otras realizaciones ilustrativas de las proteínas fijadoras del presente invento, es decir, scFv, son conocidas en la presente como H3-H6, L1-L6, L8-L21, y L23-L25, como se ilustra en detalle en la **Tabla 2B.**

Una realización del presente invento es una proteína fijadora aislada o fragmento fijador de antígenos de la misma que se fija a IL-21R, en donde la proteína fijadora o fragmento fijador de antígenos de la misma comprende al menos una secuencia aminoácida que es al menos aproximadamente 95% idéntica a una secuencia aminoácida seleccionada del grupo que consta de SEQ ID NOs:14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46, 48, 50, 52, 54, 56, 58, 60, 62, 64, 66, 68, 70, 72, 74, 76, 78, 80, 82, 84, 86, 88, 90, 92, 94, 96, 98, 100, 102, 104, 106, 108, 110, 112, 114, 116, 118, 120, 122, 124, 126, 128, 130, 132, 134, 136, 138, 140, 142, 144, 146, 148, 150, 152, 154, 156, 158, 160, 162, 165-168, 171-193, 213-229, 240, 242, 244, 246, y 248. La proteína fijadora aislada o fragmento fijador de antígenos puede ser, por ejemplo, un anticuerpo, un scFv, un V_H, un V_L, o un CDR.

Otra realización del presente invento es una proteína fijadora aislada o fragmento fijador de antígenos de la misma que se fija a IL-21R, en donde la proteína fijadora o fragmento fijador de antígenos de la misma comprende al menos una secuencia aminoácida codificada por un secuencia nucleótida que es al menos aproximadamente 95% idéntica a una secuencia nucleótida seleccionada del grupo que consta de SEQ ID NOs:13, 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29, 31, 33, 35,

37, 39, 41, 43, 45, 47, 49, 51, 53, 55, 57, 59, 61, 63, 65, 67, 69, 71, 73, 75, 77, 79, 81, 83, 85, 87, 89, 91, 93, 95, 97, 99, 101, 103, 105, 107, 109, 111, 113, 115, 117, 119, 121, 123, 125, 127, 129, 131, 133, 135, 137, 139, 141, 143, 145, 147, 149, 151, 153, 155, 157, 159, 161, 239, 241, 243, 245, y 247.

Una realización adicional del presente invento es una proteína fijadora aislada o fragmento fijador de antígenos que comprende al menos una secuencia aminoácida seleccionada del grupo que consta de SEQ ID NOs:14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46, 48, 50, 52, 54, 56, 58, 60, 62, 64, 66, 68, 70, 72, 74, 76, 78, 80, 82, 84, 86, 88, 90, 92, 94, 96, 98, 100, 102, 104, 106, 108, 110, 112, 114, 116, 118, 120, 122, 124, 126, 128, 130, 132, 134, 136, 138, 140, 142, 144, 146, 148, 150, 152, 154, 156, 158, 160, 162, 165-168, 171-193, 213-229, 240, 242, 244, 246, y 248.

Aún otra realización del presente invento es una proteína fijadora aislada o fragmento fijador de antígenos de la misma que se fija a IL-21R, en donde la proteína fijadora o fragmento fijador de antígenos de la misma comprende al menos una secuencia aminoácida que es al menos aproximadamente 95% idéntica a una secuencia aminoácida seleccionada del grupo que consta de SEQ ID NOs:6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46, 48, 50, 52, 54, 56, 58, 60, 62, 64, 66, 68, 70, 72, 74, 76, 78, 80, 82, 84, 86, 88, 90, 92, 94, 96, 98, 100, 102, 104, 106, 108, 110, 112, 114, 116, 118, 120, 122, 124, 126, 128, 130, 132, 134, 136, 138, 140, 142, 144, 146, 148, 150, 152, 154, 156, 158, 160, 162-195, 213-229, 240, 242, 244, 246, y 248, y en donde, si la proteína fijadora o fragmento fijador de antígenos comprende al menos una secuencia aminoácida que es al menos aproximadamente 95% idéntica a la(s) secuencias(s) seleccionada(s) del grupo que consta de SEQ ID NOs:6, 8, 10, 12, 163, 164, 169, 170, 194, y 195, entonces la proteína fijadora o fragmento fijador de antígenos también debe comprender al menos una secuencia aminoácida que es al menos aproximadamente 95% idéntica a la(s) secuencia(s) aminoácida(s) seleccionada(s) del grupo que consta de SEQ ID NOs:14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46, 48, 50, 52, 54, 56, 58, 60, 62, 64, 66, 68, 70, 72, 74, 76, 78, 80, 82, 84, 86, 88, 90, 92, 94, 96, 98, 100, 102, 104, 106, 108, 110, 112, 114, 116, 118, 120, 122, 124, 126, 128, 130, 132, 134, 136, 138, 140, 142, 144, 146, 148, 150, 152, 154, 156, 158, 160, 162, 165-168, 171-193, 213-229, 240, 242, 244, 246, y 248.

Aún otra realización del presente invento es una proteína fijadora aislada o fragmento fijador de antígenos de la misma que se fija a IL-21R, en donde la proteína fijadora o fragmento

fijador de antígenos de la misma comprende al menos una secuencia aminoácida codificada por una secuencia nucleótida que es al menos aproximadamente 95% idéntica a una secuencia nucleótida seleccionada del grupo que consta de SEQ ID NOs: 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, 45, 47, 49, 51, 53, 55, 57, 59, 61, 63, 65, 67, 69, 71, 73, 75, 77, 79, 81, 83, 85, 87, 89, 91, 93, 95, 97, 99, 101, 103, 105, 107, 109, 111, 113, 115, 117, 119, 121, 123, 125, 127, 129, 131, 133, 135, 137, 139, 141, 143, 145, 147, 149, 151, 153, 155, 157, 159, 161, 239, 241, 243, 245, y 247, y en donde, si la proteína fijadora o fragmento fijador de antígenos comprende al menos una secuencia aminoácida codificada por una secuencia nucleótida que es al menos aproximadamente 95% idéntica a la(s) secuencias(s) seleccionada(s) del grupo que consta de SEQ ID NOs:5, 7,9, y 11, entonces la proteína fijadora o fragmento fijador de antígenos también debe comprender al menos una secuencia aminoácida codificada por una secuencia nucleótida que es al menos aproximadamente 95% idéntica a la secuencia nucleótida(s) seleccionada del grupo que consta de SEQ ID NOs: 13, 15, 17, 19,21,23,25,27,29,31,33, 35, 37, 39, 41, 43, 45, 47, 49, 51, 53, 55, 57, 59, 61, 63, 65, 67, 69, 71, 73, 75, 77, 79, 81, 83, 85, 87, 89, 91, 93, 95, 97, 99, 101, 103, 105, 107, 109, 111, 113, 115, 117, 119, 121, 123, 125, 127, 129, 131, 133, 135, 137, 139, 141, 143, 145, 147, 149, 151, 153, 155, 157, 159, 161, 239, 241, 243, 245, y 247.

Aún una realización adicional del presente invento es una proteína fijadora aislada o fragmento fijador de antígenos que comprende al menos una secuencia aminoácida seleccionada del grupo que consta de SEQ ID NOs:6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46, 48, 50, 52, 54, 56, 58, 60, 62, 64, 66, 68, 70, 72, 74, 76, 78, 80, 82, 84, 86, 88, 90, 92, 94, 96, 98, 100, 102, 104, 106, 108, 110, 112, 114, 116, 118, 120, 122, 124, 126, 128, 130, 132, 134, 136, 138, 140, 142, 144, 146, 148, 150, 152, 154, 156, 158, 160, 162-195, 213-229, 240, 242, 244, 246, y 248, en donde, si la proteína fijadora o fragmento fijador de antígenos comprende al menos una secuencia aminoácida que es al menos aproximadamente 95% idéntica a la(s) secuencia(s) seleccionada(s) del grupo que consta de SEQ ID NOs:6, 8, 10, 12, 163, 164, 169, 170, 194, y 195, entonces la proteína fijadora o fragmento fijador de antígenos también debe comprender al menos una secuencia aminoácida que es al menos aproximadamente 95% idéntica a la secuencia aminoácida(s) seleccionada del grupo que consta de SEQ ID NOs: 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46, 48, 50, 52, 54, 56, 58, 60, 62, 64, 66, 68, 70, 72, 74, 76, 78, 80, 82, 84, 86, 88, 90, 92, 94, 96, 98, 100, 102, 104, 106, 108, 110, 112, 114,

116, 118, 120, 122, 124, 126, 128, 130, 132, 134, 136, 138, 140, 142, 144, 146, 148, 150, 152, 154, 156, 158, 160, 162, 165-168, 171-193, 213-229, 240, 242, 244, 246, y 248.

Otra realización del presente invento es una proteína fijadora aislada o fragmento fijador de antígenos de la misma que se fija a IL-21R, en donde la proteína fijadora o fragmento fijador de antígenos de la misma comprende una cadena liviana y una cadena pesada, y en donde la cadena pesada comprende al menos una secuencia aminoácida seleccionada del grupo que consta de SEQ ID NOs: 14, 16, 18, 20, 68, 70, 72, 88, 90, 92, 94, 213, 218, 219, 240, y 242, o una secuencia sustancialmente idéntica a la misma (ej., una secuencia sustancialmente idéntica a la misma incluye una secuencia al menos aproximadamente 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, o más idéntica a la misma), o una secuencia sustancialmente homóloga a la misma (ej., una secuencia sustancialmente homóloga a la misma incluye una secuencia al menos aproximadamente 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, o más idéntica a la misma). En una realización adicional, la proteína fijadora o fragmento fijador de antígenos comprende un dominio V_L y un dominio V_H, y el dominio V_H comprende al menos una secuencia aminoácida seleccionada del grupo que consta de SEQ ID NOs: 14, 16, 18, y 20, o una secuencia sustancialmente idéntica u homóloga a la misma. Otra realización del presente invento es una proteína fijadora aislada o fragmento fijador de antígenos de la misma que se fija a IL-21R, en donde la proteína fijadora o fragmento fijador de antígenos de la misma comprende una cadena liviana y una cadena pesada, y en donde la cadena liviana comprende al menos una secuencia aminoácida seleccionada del grupo que consta de SEQ ID NOs:22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46, 48, 50, 52, 54, 56, 58, 60, 62, 64, 66, 74, 76, 78, 80, 82, 84, 86, 96, 98, 100, 102, 104, 106, 108, 214-217, 220-229, 244, 246, y 248, o una secuencia sustancialmente idéntica u homóloga a la misma. En una realización adicional, la proteína fijadora o fragmento fijador de antígenos comprende un dominio V_L y un dominio V_H, y el dominio V_L comprende al menos una secuencia aminoácida seleccionada del grupo que consta de SEQ ID NOs:22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46, 48, 50, 52, 54, 56, 58, 60, 62, 64, 66, 215, 217, 221, 223, 225, 227, y 229, o una secuencia sustancialmente idéntica u homóloga a la misma. En aún otra realización, la cadena pesada comprende una secuencia aminoácida seleccionada del grupo que consta de SEQ ID NOs: 88, 90, 92, 94, 213, 218, 219, 240, y 242, y la cadena liviana comprende una secuencia aminoácida seleccionada del grupo que consta de SEQ ID NOs: 96, 98, 100, 102, 104, 106, 108, 214, 216, 220, 222, 224,

226, 228, 244, 246, y 248, o una secuencia sustancialmente idéntica u homóloga a la misma.

Las proteínas fijadoras del presente invento, ej., anticuerpos, pueden ser de línea germinal o no de línea germinal. Estas pueden específicamente fijarse al mismo epítopo de IL-21R o un epítopo similar (ej., un epítopo traslapante) al cual AbA-AbZ, H3-H6, L1-L6, L8-L21, o L23-L25 se fijan. En otras realizaciones, las proteínas fijadoras específicamente se fijan a un fragmento de IL-21R, ej., un fragmento de al menos 10, 20, 50, 75, 100, 150, o 200 aminoácidos contiguos a la secuencia aminoácida divulgada en SEQ ID NOs: 2 o 4, o una secuencia que es al menos 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o más idéntica a la misma.

Otra realización del presente invento es una proteína fijadora aislada o fragmento fijador de antígenos de la misma que se fija a un epítopo de IL-21R que es reconocido por una proteína fijadora seleccionada del grupo que consta de AbA-AbZ, H3-H6, L1-L6, L8-L21, y L23-L25, en donde la proteína fijadora o fragmento fijador de antígenos competitivamente inhibe la fijación de una proteína fijadora seleccionada del grupo que consta de AbA-AbZ, H3-H6, L1-L6, L8-L21, y L23-L25 a IL-21R humano. En otra realización, la proteína fijadora o fragmento fijador de antígenos comprende una cadena pesada, una cadena liviana, o un fragmento Fv que comprende una secuencia aminoácida seleccionada del grupo que consta de SEQ ID NOs: 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46, 48, 50, 52, 54, 56, 58, 60, 62, 64, 66, 68, 70, 72, 74, 76, 78, 80, 82, 84, 86, 88, 90, 92, 94, 96, 98, 100, 102, 104, 106, 108, 110, 112, 114, 116, 118, 120, 122, 124, 126, 128, 130, 132, 134, 136, 138, 140, 142, 144, 146, 148, 150, 152, 154, 156, 158, 160, 162, 165-168, 171-193, 213-229, 240, 242, 244, 246, y 248, o una secuencia sustancialmente idéntica u homóloga a la misma. En aún otra realización, la proteína fijadora o fragmento fijador de antígenos comprende una cadena pesada, una cadena liviana, o un fragmento Fv que comprende una secuencia aminoácida codificada por una secuencia nucleótida seleccionada del grupo que consta de SEQ ID NOs:13, 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, 45, 47, 49, 51, 53, 55, 57, 59, 61, 63, 65, 67, 69, 71, 73, 75, 77, 79, 81, 83, 85, 87, 89, 91, 93, 95, 97, 99, 101, 103, 105, 107, 109, 111, 113, 115, 117, 119, 121, 123, 125, 127, 129, 131, 133, 135, 137, 139, 141, 143, 145, 147, 149, 151, 153, 155, 157, 159, 161, 239, 241, 243, 245, y 247, o una secuencia sustancialmente idéntica u homóloga a la misma.

En aún otras realizaciones, la proteína fijadora comprende al menos una región de determinación de complementariedad (CDR) de estos dominios V_H y V_L (ej., una o mas , dos o más, tres o más, cuatro o más, o cinco o más de CDRs contiguas (ej., dos o más CDRs separadas

por regiones de marco (FR) o un enlazador) o CDRs no contiguas (ej., dos o más CDRs separadas por al menos otra CDR y, ej., FR(s)). Por ejemplo, la proteína fijadora puede incluir una, dos, tres o más CDRs del dominio VH y/o el dominio VL.

La divulgación proporciona secuencias de ácidos nucleicos a partir de dominios VH y VL de AbA-AbZ, H3-H6, L1-L6, L8-L21, y L23-L25. También se contemplan secuencias de ácidos nucleicos que comprenden al menos una CDR desde AbA-AbZ, H3-H6, L1-L6, L8-L21, y L23-L25. La divulgación también proporciona vectores y células hospederas que comprenden tales ácidos nucleicos.

Las proteínas fijadoras del invento pueden ser de longitud completa (ej., incluyen al menos una cadena pesada completa y al menos una cadena liviana completa), o puede incluir solamente un fragmento fijador de antígenos (ej., un Fab, un Fab', un F(ab')2, un Fv, un fragmento Fv de cadena simple, un fragmento Fd, un fragmento dAb, una CDR, u otro fragmento de una proteína fijadora de longitud completa que retiene la capacidad para fijarse específicamente a un antígeno). La proteína fijadora puede incluir una región constante, o una porción de la misma, elegida a partir de cualquiera de los genes de región constante kappa, lambda, alpha, gamma, delta, epsilon y mu. Por ejemplo, las regiones constantes de cadena pesada de los diferentes isótopos pueden utilizarse, incluyendo: IgGl, IgG2, IgG3, IgG4, IgM, IgAl, IgA2, IgD, y IgE. La región constante de cadena liviana puede ser elegida a partir de kappa o lambda. La proteína fijadora puede ser un IgG, o también puede ser $IgGl_K$ o IgGIA.

La proteína fijadora anti-IL-21R descrita en la presente puede derivarse o enlazarse a otra molécula funcional (tal como otro péptido o proteína, ej., un fragmento Fab). Por ejemplo, una proteína fijadora del invento puede enlazarse funcionalmente (ej., mediante acoplamiento químico, fusión genética, asociación no covalente o de otra manera) a al menos otra entidad molecular, tal como otra proteína fijadora (ej., una proteína fijadora biespecífica o multiespecífica), toxina, radioisotopo, agente citotóxico o citostático, entre otros.

En una realización del invento, la constante de asociación de la proteína fijadora o fragmento fijador de antígenos para IL-21R humano es al menos aproximadamente 10^5 $M^{-1}s^{-1}$. En otra realización, la proteína fijadora o fragmento fijador de antígenos inhibe la proliferación mediada por IL-21 de células BaF3 con un IC50 de 1.75 nM aproximadamente o menos, y las células BaF3 comprenden un IL-21R humano. En otra realización, la proteína fijadora o fragmento fijador de antígenos inhibe la proliferación mediada por IL-21 de células TF1 con un

IC50 de 14.0 nM aproximadamente o menos, y las células TF1 comprenden un IL-21R humano. En otra realización, la proteína fijadora o fragmento fijador de antígenos inhibe la proliferación mediada por IL-21 de células B humanas primarias con un IC50 de 1.9 nM aproximadamente o menos, y las células B comprenden un IL-21R humano. En aún otra realización, la proteína fijadora o fragmento fijador de antígenos inhibe la proliferación mediada por IL-21 de células CD4+ humanas primarias con un IC50 de 1.5 nM aproximadamente o menos, y las células $CD4^+$ comprenden un IL-21R humano.

En una realización, el presente invento proporciona un proteína fijadora o fragmento fijador de antígenos que específicamente se fija a una secuencia aminoácida que es al menos aproximadamente 95% idéntica a cualquier secuencia de al menos 100 aminoácidos adyacentes de SEQ ID NO:2. Otra realización proporciona una proteína fijadora o fragmento fijador de antígenos que inhibe la fijación de IL-21 a IL-21R. En al menos una realización, la proteína fijadora o fragmento fijador de antígenos es IgGl. En al menos una realización, la proteína fijadora o fragmento fijador de antígenos es humano.

En otro aspecto, el invento caracteriza una composición farmacéutica que contiene al menos una proteína fijadora anti-IL-21R y un vehículo farmacéuticamente aceptable. La composición farmacéutica puede además incluir una combinación de al menos una proteína fijadora anti-IL-21R y al menos otro agente terapéutico (ej., citoquina e inhibidores de factor de crecimiento, inmunosupresores, agentes anti-inflamatorios, inhibidores metabólicos, inhibidores enzimáticos, agentes citotóxicos, agentes citostáticos, o combinaciones de la misma, como se describen en la presente). Combinaciones de la proteína fijadora anti-IL-21R y agentes terapéuticos también están dentro del alcance del invento. Las composiciones y combinaciones del invento pueden utilizarse para regular desordenes inmunes asociados a IL-21R, ej., modulando la señalización IL-21R.

En una realización, las proteínas fijadoras del invento son anticuerpos. En realizaciones adicionales, los anticuerpos son policlonales, monoclonales, monoespecíficos, poliespecíficos, no específicos, humanizados, humano, de cadena simple, quiméricos, sintéticos, recombinantes, híbridos, mutados, injertados, generados *in vitro* y/o multiespecíficos (ej., anticuerpos biespecíficos formados a partir de al menos dos anticuerpos intactos).

Otras realizaciones del invento incluyen un ácido nucleico aislado que codifica una proteína fijadora anti-IL-21R, un vector de expresión que comprende el ácido nucleico, y una

célula hospedera transformada con el vector. La célula hospedera puede ser una bacteria, una célula mamífera, una célula de levadura, una célula vegetal, o una célula de insecto.

La proteína fijadora puede directa o indirectamente rotularse con una sustancia detectable para facilitar la detección de la proteína fijadora fijada o no fijada. Sustancias detectables apropiadas incluyen, pero no se limitan a, varias enzimas, grupos prostéticos, materiales fluorescentes, materiales luminiscentes, y materiales radioactivos.

En otro aspecto, el invento proporciona un método para llevar o direccionar un agente, ej., un agente terapéutico o citotóxico, hacia una célula de expresión de IL-21R *in vivo.* El método incluye administrar una proteína fijadora anti-IL-21R a un sujeto bajo condiciones que permitan fijación de la proteína fijadora a IL-21R. La proteína fijadora puede acoplarse a una segunda fracción terapéutica, ej., una toxina.

En otra realización, el invento proporciona un kit diagnóstico que comprende una proteína fijadora o fragmento fijador de antígenos del presente invento.

Aspectos adicionales de la divulgación se presentarán en parte en la descripción, y en parte serán obvios a partir de la descripción, o pueden aprenderse al realizar el invento. El invento es divulgado y particularmente se señala en las reivindicaciones, y la divulgación no debe considerarse una limitante del alcance de las reivindicaciones. La siguiente descripción detallada incluye representaciones de ejemplo de varias realizaciones del invento, las cuales no son restrictivas del invento como se reivindica. Las figuras anexas constituyen una parte de esta especificación y junto con la descripción, sirven solamente para ilustrar realizaciones y no para limitar el invento.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS ILUSTRACIONES

La FIG. l(a-c) ilustra la neutralización de la proliferación de células IL-21R-BaF3 humanas por scFv. Las células fueron mezcladas con el scFv indicado y luego incubadas con 100 pg/ml de IL-21 humano. La proliferación se midió mediante CELLTITER-GLO® (Promega Corporation, Madison, WI) después de 48 horas.

La **FIG. 2(a-c)** ilustra la neutralización de proliferación de células IL-21R-TF1 humanas por scFv. Las células fueron mezcladas con el scFv indicado y luego incubadas con 100 pg/ml de IL-21 humano. La proliferación se midió mediante CELLTITER-GLO® después de 48 horas.

La **FIG. 3(a-c)** ilustra la neutralización de proliferación de células BaF3 IL-21R murinas por scFv. Células fueron mezcladas con el scFv indicado y luego incubadas con 400 pg/ml de IL-21 murino. La proliferación se midió mediante CELLTITER-GLO® después de 48 horas.

La **FIG. 4(a-c)** ilustra la competición de scFv con el anticuerpo precursor 18A5 IgG para fijación a IL-21R murino. El scFv se mezcló con IL-21R-H/F murino biotinilado, y las mezclas se agregaron a anticuerpo 18A5 inmovilizado sobre una placa ELISA. La captura de mIL-21R fue detectada con HRP-estreptavidina, y competencia por la fijación a mIL-21R fue indicada por una reducción en la señal A450.

La **FIG. 5** ilustra neutralización de proliferación dependiente de IL-21 mediante 21 pares cadena pesada /cadena liviana. Anticuerpos, como se indica en la figura, se agregaron a células. IL-21 se agregó subsiguientemente, y la proliferación se midió con CELLTITER-GLO® después de 48 horas. Se realizaron ensayos sobre Células IL-21R-BaF3 humanas con 100 pg/ml de IL-21 humano **(FIGs. 5a-c),** Células IL-21R-TF1 humanas con 100 pg/ml de IL-21 humano **(FIGs. 5d-f),** o Células IL-21R-BaF3 murinas con 400 pg/ml de IL-21 murino **(FIGs. 5g-i).**

La **FIG. 6** ilustra la fijación de 21 anti-IL-21R IgGs a células CHO temporalmente expresando IL-21R humano **(FIGs. 6a-c),** IL-21R de rata **(FIGs. 6d-f),** IL-21R de mono cinomolgus **(FIGs. 6g-i),** y cadena común gama humana **(FIGs. 6j-l).** Las células CHO fueron temporalmente transfectadas con IL-21R o la cadena común gama de control, y la fijación fue detectada con IgG anti-humano HRP-conjugado en un ELISA basado en células.

FIG. 7(a-c) ilustra la especificidad de fijación de anticuerpos anti-IL21R particulares **(FIG. 7a,** AbS; **FIG. 7b,** AbQ, AbT, AbO; **FIG. 7c,** AbR, AbP, y AbU), medida mediante resonancia de plasmones superficiales. Los anticuerpos anti-IL-21R fueron capturados sobre IgG anti-humano, y fijación subsiguiente a cualquiera IL-21R-H/F murino, IL-13-H/F humano, IL-2Rβ humano, o IL-4R soluble humano fue medida en un instrumento BIACORE™ (GE Healthcare, Piscataway, NJ). La **FIG. 7d** muestra que IL-2Rβ humano y IL-4R soluble humano son capturados por anticuerpos anti-IL-2Rβ y anti-IL-4R específicos, respectivamente (control).

La **FIG. 8(a-d)** ilustra la fijación de anticuerpos anti-IL-21R a IL-21R humano y murino. Los anticuerpos anti-IL-21R humanos indicados fueron capturados sobre IgG anti-humano inmovilizado sobre un chip BIACORE™. Concentraciones variables de IL-21 humano R-His/FLAG **(FIGs. 8a-b)** y IL-21R murino-His/FLAG **(FIGs. 8c-d)** se dejaron fluir sobre el chip, y la fijación y disociación fueron monitoreadas.

La **FIG. 9** ilustra la fijación de anticuerpos anti-IL-21R a IL-21R humano y de mono cinomolgus. Los anticuerpos anti-IL-21R humanos AbS y AbT fueron capturados sobre IgG anti-humano inmovilizado sobre un chip BIACORE™. Concentraciones variables de IL-21R-His/FLAG humano y de mono cinomolgus se dejaron fluir sobre el chip, y la fijación y disociación fueron monitoreadas. La **FIG. 9a** muestra fijación de IL-21R-His/FLAG de mono cinomolgus a AbS. La **FIG. 9b** muestra fijación de IL-21R-His/FLAG humano a AbS. La **FIG. 9c** muestra fijación de IL-21R-His/FLAG de mono cinomolgus a AbT. La **FIG. 9d** muestra fijación de IL-21R-His/FLAG humano a AbT.

La **FIG. 10** ilustra una evaluación de epítopos de anticuerpos IL-21R. En el experimento ilustrado en la **FIG. 10a** (ver también ilustración a la izquierda del eje Y), IL-21R-H/F murino (proteína de fusión His-Flag) fue capturado por el anticuerpo anti-IL-21R AbS inmovilizado sobre un chip BIACORE™. Anticuerpos anti-IL-21R adicionales (AbS, AbT, D5 (D5-20, un anticuerpo anti-IL-21R murino neutralizante), y 7C2 (un anticuerpo de control anti-IL-21R murino no neutralizante)) se hicieron fluir sobre el chip y su fijación a IL-21R-H/F capturado fue monitoreada. En el experimento ilustrado en la **FIG. 10b,** IL-21R-H/F humano fue capturado por el anticuerpo anti-IL-21R AbS inmovilizado sobre un chip BIACORE™. Anticuerpos anti-IL-21R adicionales (AbS, AbT, y 9D2 (un anticuerpo de control anti-IL-21R humano no neutralizante)) se hicieron fluir sobre el chip y su fijación al IL-21R-H/F capturado fue monitoreada.

La **FIG. 11** ilustra la neutralización de proliferación de células IL-21R-BaF3 humanas y células IL-21R-BaF3 murinas por los anticuerpos indicados. Anticuerpos se agregaron a células. IL-21 se agregó subsiguientemente y la proliferación se midió con CELLTITER-GLO® después de 48 horas. Se realizaron ensayos sobre células IL-21R-BaF3 humanas con 100 pg/ml de IL-21 humano **(FIG. 11a),** células IL-21R-BaF3 murinas con 200 pg/ml de IL-21 murino **(FIG. lib),** y células IL-21R-TF1 humanas con 100 pg/ml de IL-21 humano **(FIG. 11c).**

La **FIG. 12** ilustra la neutralización de proliferación dependiente de IL-21 de células B humanas primarias. Los anticuerpos indicados se agregaron a células B humanas primarias junto con anticuerpos anti-CD40 y IL-21 humano. La incorporación de ^{3}H-timidina se midió después de tres días. La **FIG. 12a** ilustra la comparación entre anticuerpo precursor AbQ, AbR, AbS, AbT, AbU, IL-13 triple-mutante, y 18A5; La **FIG. 12b** ilustra la comparación entre AbT, AbV, AbW, AbU, y control IgGl humano (hIg1).

La **FIG. 13** ilustra la neutralización de proliferación dependiente de IL-21 de células T CD4+ humanas primarias. Los anticuerpos indicados se agregaron a células T CD4+ humanas primarias activadas junto con IL-21 humano, y la incorporación de ^{3}H-timidina se midió después de tres días.

La **FIG. 14** ilustra la neutralización de proliferación dependiente de IL-21 de células T CD8+ murinas primarias. Los anticuerpos indicados se agregaron a células T CD8+ murinas primarias activadas junto con IL-21 humano, y la incorporación de ^{3}H-timidina se midió después de tres días.

La **FIG. 15** ilustra la medición de citotoxidad celular dependiente de anticuerpos (ADCC) inducida por anticuerpos anti-IL-21R. La eliminación dependiente de PBMC de células BJAB CFSE-rotuladas recubiertas con los anticuerpos anti-IL-21R indicados se midió mediante incorporación de yoduro de propidio. El anticuerpo anti-CD20 rituximab (RITUXAN®, Genentech, Inc., South San Francisco, CA) fue incluido como un control positivo, y un anticuerpo anti-IL-13 fue incluido como un control negativo.

La **FIG. 16** ilustra fijación Clq de complemento por anticuerpos anti-IL-21R. Los anticuerpos anti-IL-21R indicados fueron inmovilizados sobre una placa ELISA y, después de la incubación con suero humano, la fijación Clq se midió con Clq anti-humano de pollo y un anticuerpo IgY anti-pollo HRP-conjugado. El anticuerpo anti-CD20 rituximab (RITUXAN®) fue incluido como un control positivo, y un anticuerpo anti-IL-13 fue incluido como un control negativo.

La **FIG. 17(a-c)** ilustra secuencias aminoácidas para AbQ, incluyendo dominios V_H y V_L, CDRs (HI, H2, H3, LI, L2, y L3), y regiones constantes.

La **FIG. 18(a-c)** ilustra secuencias aminoácidas para AbR, incluyendo dominios V_H y V_L, CDRs (HI, H2, H3, LI, L2, y L3), y regiones constantes.

La **FIG. 19(a-c)** ilustra secuencias aminoácidas para AbW, incluyendo dominios V_H y V_L, CDRs (HI, H2, H3, LI, L2, y L3), y regiones constantes.

La **FIG. 20(a-c)** ilustra secuencias aminoácidas para AbS, incluyendo dominios V_H y V_L, CDRs (HI, H2, H3, LI, L2, y L3), y regiones constantes.

La **FIG. 21(a-c)** ilustra secuencias aminoácidas para AbT, incluyendo dominios V_H y V_L, CDRs (HI, H2, H3, LI, L2, y L3), y regiones constantes.

La **FIG. 22(a-c)** ilustra secuencias aminoácidas para AbO, incluyendo dominios VH y VL, CDRs (HI, H2, H3, LI, L2, y L3), y regiones constantes.

La **FIG. 23(a-c)** ilustra secuencias aminoácidas para AbP incluyendo dominios VH y VL, CDRs (HI, H2, H3, LI, L2, y L3), y regiones constantes.

La **FIG. 24(a-c)** ilustra secuencias aminoácidas para AbU, incluyendo dominios VH y VL, CDRs (HI, H2, H3, LI, L2, y L3), y regiones constantes.

La **FIG. 25(a-c)** ilustra secuencias aminoácidas para AbV, incluyendo dominios VH y VL, CDRs (HI, H2, H3, LI, L2, y L3), y regiones constantes.

La **FIG. 26(a-g)** ilustra resultados generados a partir de estudios adicionales que fueron realizados de manera similar a aquellos realizados para generar los resultados mostrados en las **FIGs. 5,11, 12,13,** y **14** (descritas anteriormente).

La **FIG. 27** ilustra la competencia de citoquina IL-21 con el anticuerpo AbT por la fijación a IL-21R murino. Vehículo o cantidades crecientes de IL-21 se mezclaron con IL-21R murino-His/FLAG biotinilado, y las mezclas se agregaron a AbT inmovilizado sobre una placa ELISA. La captura de mIL-21R fue detectada con HRP-estreptavidina, y la competencia por la fijación a mIL-21R fue indicada por una reducción en la señal A450.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DEL INVENTO

Las proteínas fijadoras del presente invento se derivaron inicialmente a partir de anticuerpo precursor 18A5, pero difieren de 18A5 en las secuencias aminoácidas de porciones de región de determinación de complementariedad 3 de cadena pesada y/o cadena liviana (CDR3). Adicionalmente, las presentes proteínas fijadoras muestran potencia mejorada en fijación a y neutralización tanto de IL-21R humano como murino como se comparó con 18A5 en el formato equivalente (ej., scFv o IgG). La neutralización de alta potencia de IL-21R a partir de ambas especies (humana y murina) mediante una única proteína fijadora no se ha reportado anteriormente. Las presentes proteínas fijadoras que tienen una mayor potencia de neutralización que su anticuerpo precursor pueden traducirse en mayor eficiencia como se comparó con agentes previamente descritos. Además, la secuencia aminoácida de las regiones de marco VH y VL han sido alteradas para corresponder con secuencias codificadas por la secuencia genómica humana, reduciendo así el potencial para respuestas de anticuerpos anti-humanos humanos en pacientes tratados con las presentes proteínas fijadoras.

Definiciones

Con el propósito que el presente invento pueda entenderse de manera más fácil, ciertos términos primero se definen. Definiciones adicionales se divulgan a lo largo de la descripción detallada y otra parte en la especificación.

El término "proteína fijadora" como se utiliza en la presente incluye cualquier proteína de ocurrencia natural, recombinante, sintética, o genéticamente modificada, o una combinación de las mismas, que fija un antígeno, proteína blanco, o péptido, o un fragmento de los mismos. Las proteínas fijadoras del invento pueden incluir anticuerpos, o ser derivadas a partir de al menos un fragmento de anticuerpo. Las proteínas fijadoras pueden incluir proteínas de ocurrencia natural y/o proteínas que son modificadas de manera sintética. Las proteínas fijadoras del invento pueden fijarse a un antígeno o un fragmento del mismo para formar un complejo y producir una respuesta biológica (ej., agonizar o antagonizar una actividad biológica particular). Las proteínas fijadoras pueden incluir fragmentos de anticuerpos aislados, fragmentos "Fv" que constan de las regiones variables de las cadenas pesadas y ligeras de un anticuerpo, moléculas polipétidas de cadena simple recombinantes en las cuales las regiones variables de cadenas livianas y pesadas están conectadas por un enlazador peptídico ("proteínas scFv"), y unidades de reconocimiento mínimo que constan de los residuos aminoácidos que imitan la región hipervariable. Los fragmentos de proteínas fijadoras también pueden incluir fragmentos funcionales de un anticuerpo, tal como, por ejemplo, Fab, Fab', F(ab')2, Fc, Fd, Fd', Fv, y un único dominio variable de un anticuerpo (dAb). Las proteínas fijadoras pueden ser de cadena doble o simple, y pueden comprender un único dominio de fijación o múltiples dominios de fijación.

Las proteínas fijadoras también pueden incluir proteínas de fusión fijadoras de dominio - inmunoglobulina, incluyendo un polipéptido de dominio de fijación que es fusionado o de otra manera conectado a un polipéptido de la región bisagra o de acción bisagra de la inmunoglobulina, el cual a la vez es fusionado o de otra manera conectado a una region que comprende una o mas regiones constantes nativas o modificadas a partir de una cadena pesada de inmunoglobulina diferente de CH1, por ejemplo, las regiones CH2 y CH3 de IgG y IgA, o las regiones CH3 y CH4 de IgE (ver, ej., Ledbetter et al, Publicación de Patente estadounidense 2005/0136049, para una descripción más completa). La proteína de fusión dominio de fijación-inmunoglobulina puede además incluir una región que incluye un polipéptido de la región

constante de cadena pesada de inmunoglobulina CH2 nativa o modificada (o CH3 en el caso de un constructo derivado completamente o en parte a partir de IgE) que es fusionado o de otra manera conectado al polipéptido de la región bisagra, y un polipéptido de la región constante de cadena pesada de inmunoglobulina CH3 nativa o modificada (o CH4 en el caso de un constructo derivado completamente o en parte a partir de IgE) que es fusionado o de otra manera conectado al polipéptido de la región constante CH2 (o CH3 en el caso de un constructo derivado completamente o en parte desde de IgE). Típicamente, tales proteínas de fusión fijadoras de dominio-inmunoglobulina tienen capacidad de al menos una actividad inmunológica seleccionada del grupo que consta de citotoxicidad mediada por células dependiente de anticuerpos, fijación de complemento, y/o fijación a una diana, por ejemplo, un antígeno diana. Las proteínas fijadoras del invento pueden derivarse a partir de cualquier especie incluyendo, pero sin limitar a ratón, humano, camello, llama, pez, tiburón, cabra, conejo, pollo, y bovinos.

El término "anticuerpo" como se utiliza en la presente se refiere a una inmunoglobulina que es reactiva a una proteína designada o péptido o fragmento de la misma. Anticuerpos apropiados incluyen, pero no se limitan a, anticuerpos humanos, anticuerpos primatizados, anticuerpos quiméricos, anticuerpos monoclonales, anticuerpos monospecíficos, anticuerpos policlonales, anticuerpos poliespecíficos, anticuerpos no específicos, anticuerpos biespecíficos, anticuerpos multiespecíficos, anticuerpos humanizados, anticuerpos sintéticos, anticuerpos recombinantes, anticuerpos híbridos, anticuerpos mutados, anticuerpos conjugados insertados (es decir, anticuerpos conjugados o fusionados a otras proteínas, radiorótulos, citotóxinas), y anticuerpos generados *in vitro*. El anticuerpo puede ser a partir de cualquier clase de anticuerpos incluyendo, pero sin limitar a, IgG, IgA, IgM, IgD, y IgE, y a partir de cualquier subclase (ej., IgGl, IgG2, IgG3, y IgG4) de anticuerpos. El anticuerpo puede tener una región constante de cadena pesada elegida a partir de, ej., IgGl, IgG2, IgG3, o IgG4. El anticuerpo también puede tener una cadena liviana elegida a partir de, ej., kappa (κ) o lambda (λ). Los anticuerpos del invento pueden derivarse a partir de cualquier especie incluyendo, pero sin limitar a ratón, humano, camello, llama, pez, tiburón, cabra, conejo, pollo, y bovino. Las regiones constantes de los anticuerpos pueden alterarse, ej., mutadas, para modificar las propiedades del anticuerpo (ej., para aumentar o disminuir una o más de: fijación a los receptores Fc, glicosilación de anticuerpos, el número de residuos de cisteina, función de células efectoras, o función de complemento). Típicamente, el anticuerpo específicamente se fija a un antígeno predeterminado,

ej., un antígeno asociado con un trastorno, ej., un trastorno inflamatorio, inmune, autoinmune, neurodegenerativo, metabólico, y/o maligno.

El término "proteína de fijación de dominio único" como se utiliza en la presente incluye cualquier andamiaje de fijación de dominio único el cual se fije a un antígeno, proteína, o polipéptido. Proteínas fijadoras de dominio único pueden incluir cualquier andamiaje de proteína natural, recombinante, sintética, o genéticamente modificada, o una combinación de la misma, que se fije un antígeno o fragmento del mismo para formar un complejo y producir una respuesta biológica (ej., agonizar o antagonizar una actividad biológica particular). Proteínas fijadoras de dominio único pueden derivarse a partir proteínas o anticuerpos de ocurrencia natural, o pueden modificarse de manera sintética o producirse mediante tecnología recombinante. Las proteínas fijadoras de dominio único pueden ser cualquiera en el estado de la técnica o cualquiera futura proteína fijadora de dominio único, y pueden derivarse a partir cualquier especie incluyendo, pero sin limitar a ratón, humano, camello, llama, pez, tiburón, cabra, conejo, pollo, y bovinos. En algunas realizaciones del invento, un andamiaje de proteína de fijación de dominio único puede derivarse a partir de una región variable de la inmunoglobulina encontrada en el pez, tal como, por ejemplo, aquel el cual se deriva a partir del isotipo de inmunoglobulina conocido como Receptor de Antígeno Novedoso (NAR) encontrado en el suero de tiburón. Métodos para producir andamiajes de fijación de dominio único derivados a partir de una región variable de NAR ("IgNARs") se describen en la Publicación de Solicitud Internacional No. WO 03/014161 y Streltsov (2005) *Protein Sci.* 14(ll):2901-09.

En otras realizaciones, una proteína de fijación de dominio único es una proteína de fijación de dominio único de ocurrencia natural la cual se ha descrito en el estado de la técnica como un anticuerpo de cadena pesada desprovisto de cadenas livianas. Tales proteínas fijadoras de dominio único son divulgadas en, ej., la Publicación de Solicitud Internacional No. WO 94/004678. Por razones de claridad, una proteína fijadora de dominio variable que es derivada a partir de un anticuerpo de cadena pesada naturalmente desprovisto de cadena liviana es conocida en la presente como un VHH o "nanocuerpo" para distinguir ésta del VH convencional de inmunoglobulinas de cuatro cadenas. Tal molécula VHH puede derivarse a partir de anticuerpos originados en la especie *Camelidae*, por ejemplo en camello, llama, dromedario, alpaca, y guanaco. Otras familias además de *Camelidae* también pueden utilizarse para producir proteínas fijadoras de cadena pesada naturalmente desprovistas de cadenas livianas. Las moléculas VHH

son aproximadamente diez veces más pequeñas que las moléculas IgG tradicionales. Estas son polipéptidos simples y son muy estables, resistiendo condiciones extremas de pH y temperatura. Además, son muy resistentes a la acción de las proteasas, lo cual no es el caso para anticuerpos convencionales. Además, la expresión *in vitro* de VHHs puede producir VHHs funcionales apropiadamente plegados de alto rendimiento. Además, las proteínas fijadoras generadas en camélidos pueden reconocer epítopos diferentes de aquellos reconocidos por anticuerpos generados *en vitro* vía bibliotecas de anticuerpos o vía inmunización de mamíferos diferentes de Camélidos (ver, ej., Publicación de Solicitud Internacional Nos. WO 97/049805 y WO 94/004678, ambas incorporadas en la presente como referencia).

Los términos "dominio fijador de antígenos" y "fragmento fijador de antígenos" se refieren a una parte de una proteína fijadora que comprende aminoácidos responsables de la fijación específica entre la proteína fijadora y un antígeno. La parte del antígeno que es específicamente reconocida y fijada por la proteína fijadora es conocida como el "epítopo." Un dominio fijador de antígenos puede comprender una región variable de cadena liviana (V_L) y una región variable de cadena pesada (V_H) de un anticuerpo; sin embargo, no tiene que comprender ambas. Los fragmentos Fd, por ejemplo, tienen dos regiones V_H y a menudo retienen la función de fijación de antígenos del dominio fijador de antígenos intacto. Ejemplos de fragmentos fijadores de antígenos de una proteína fijadora incluyen, pero no se limitan a: (1) un fragmento Fab, un fragmento monovalente con dominios V_L, V_H, C_L y C_H; (2) un fragmento F(ab')2 fragmento, un fragmento bivalente con dos fragmentos Fab enlazados por un puente de disulfuro en la región de bisagra; (3) un fragmento Fd, con dos dominios V_H y un dominio C_H; (4) un fragmento Fv, con los dominios V_L y V_H de un solo brazo de un anticuerpo; (5) un fragmento dAb (ver, ej., Ward (1989) *Nature* 341:544-46), con un dominio V_H; (6) una CDR asilada (7) un fragmento variable de cadena sencilla (scFv). Aunque los dos dominios de un fragmento Fv, V_L y V_H son codificados por genes separados, estos pueden unirse, utilizando métodos recombinantes, mediante un enlazador sintético que les permite ser hechos como una cadena de proteína simple en la cual las regiones V_L y V_H se aparean para formar moléculas monovalentes (conocidas como scFv) (ver, ej., Bird (1988) *Science* 242:423-26; Huston (1988) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 85:5879-83). Estos fragmentos de dominios de fijación pueden obtenerse utilizando técnicas convencionales conocidas por aquellos con experiencia en el estado de la

técnica, y los fragmentos son evaluados para funcionar en la misma forma que proteínas fijadoras intactas tal como, por ejemplo, anticuerpos.

El término "neutralización" se refiere a una proteína fijadora o fragmento fijador de antígenos de la misma (por ejemplo, un anticuerpo) que reduce o bloquea la actividad de una ruta de señalización o un antígeno, ej., ruta de señalización IL-21/IL-21R o antígeno IL-21R.

El término "cantidad efectiva" se refiere a una dosificación o cantidad que es suficiente para regular actividad IL-21R para aliviar o reducir la severidad de síntomas clínicos o lograr un resultado biológico deseado, ej., actividad disminuida de células T y/o células B, supresión de autoinmunidad, supresión de rechazo de trasplantes.

El término "proteína fijadora humana" incluye proteínas fijadoras con regiones constantes y variables que corresponden sustancialmente a secuencias de inmunoglobulina de línea germinal humana conocidas en el estado de la técnica, incluyendo, por ejemplo, aquellas descritas por Kabat (5ª edición 1991) *Sequences of Proteins of Immunological Interest,* U.S. Department of Health and Human Services, Publicación NIH No. 91-3242. Los anticuerpos humanos del invento pueden incluir residuos aminoácidos no codificados por secuencias de inmunoglobulina de línea germinal humana (ej., mutaciones introducidas mediante mutagénesis aleatoria o específica a sitio *in vitro* o mediante mutación somática *in vivo),* por ejemplo, en las CDRs, y en particular, CDR3. El anticuerpo humano puede tener al menos una, dos, tres, cuatro, cinco, o más posiciones reemplazadas por un residuo aminoácido que no es codificado por la secuencia de inmunoglobulina de línea germinal humana.

Las frases "inhibir," "antagonizar," "bloquear," o "neutralizar" actividad IL-21R y sus análogos se refieren a una reducción, inhibición, o de otra manera disminución de al menos una actividad de IL-21R debido a fijación de un anticuerpo anti-IL-21R, en donde la reducción es relativa a la actividad de IL-21R en la ausencia del mismo anticuerpo. La actividad IL-21R puede medirse utilizando cualquier técnica conocida en el estado de la técnica. La inhibición o antagonismo no necesariamente indica una eliminación total de la actividad biológica IL-21R. Una reducción en actividad puede ser de aproximadamente 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, o más.

Los términos "receptor de la interleukina-21" o "IL-21R" o similares se refieren a un receptor de la familia de citoquinas clase I, también conocido como MU-1 (ver, ej., Solicitud de Patente estadounidense No. 09/569,384 y Publicación de Solicitud estadounidense Nos.

2004/0265960; 2006/0159655; 2006/0024268; y 2008/0241098), NILR o zalphall (ver, ej., Publicación de Solicitud Internacional No. WO 01/085792; Parrish-Novak (2000) *supra;* Ozaki (2000) *supra),* que se fija a un ligando IL-21. IL-21R es homólogo a la cadena β compartida de los receptores IL-2 y IL-15, y IL-4α (Ozaki (2000) *supra).* Ante unión de ligandos, IL-21R es capaz de interactuar con una cadena de receptor de citoquina gama común (γc) e inducir la fosforilación de STAT1 y STAT3 (Asao (2001) *supra)* o STAT5 (Ozaki (2000) *supra).* IL-21R muestra distribución diseminada de tejido linfoide. Los términos "receptor de la interleukina-21" o "IL-21R" o similares también se refieren a un polipéptido (preferiblemente de origen mamífero, ej., IL-21R murino o humano) o, como lo requiera el contexto, un polinucleótido que codifica tal polipéptido, que es capaz de interactuar con IL-21 (preferiblemente IL-21 de origen mamífero, ej., IL-21 humano o murino) y tiene al menos una de las siguientes características: (1) una secuencia aminoácida de un polipéptido IL-21R mamífero de ocurrencia natural o un fragmento de la misma, ej., una secuencia aminoácida divulgada en SEQ ID NO:2 (humana - que corresponde a GENBANK® (Departamento Americano de Servicios de Salud y Humanos, Bethesda, MD) Acceso No NP_068570) o SEQ ID NO:4 (murina -que corresponde a GENBANK® Acc. No. NP_068687), o un fragmento de la misma; (2) una secuencia aminoácida sustancialmente homóloga a, ej., al menos 85%, 90%, 95%, 98%, o 99% homóloga a, una secuencia aminoácida divulgada en SEQ ID NO:2 o SEQ ID NO:4, o un fragmento de la misma; (3) una secuencia aminoácida que es codificada por una secuencia nucleótida IL-21R mamífera de ocurrencia natural o fragmento de la misma (ej., SEQ ID NO:1 (humana - que corresponde a GENBANK® No. de Acceso. NM_021798) o SEQ ID NO:3 (murina - que corresponde a GENBANK® Acc. No. NM_021887), o un fragmento de la misma); (4) una secuencia aminoácida codificada por una secuencia nucleótida la cual es sustancialmente homóloga a, ej., al menos 85%, 90%, 95%, 98%, o 99% homóloga a, una secuencia nucleótida divulgada en SEQ ID NO:1 o SEQ ID NO:3 o una fragmento de la misma; (5) una secuencia aminoácida codificada por una secuencia nucleótida la se degenera a una secuencia nucleótida IL-21R de ocurrencia natural o un fragmento de la misma, ej., SEQ ID NO:1 o SEQ ID NO:3, o un fragmento de la misma; o (6) una secuencia nucleótida que hibridiza a una de las anteriores secuencias nucleótidas bajo condiciones severas, ej.,condiciones altamente severas. Además, otros IL-21Rs no humanos y no mamíferos se contemplan como útiles en los métodos divulgados.

El término "interleukina-21" o "IL-21" se refiere a una citoquina que muestra homología de secuencia a IL-2, IL-4 y IL-15 (Parrish-Novak (2000) *supra),* y se fija a un IL-21R. Tales citoquinas comparten un pliegue común en una estructura de "fardo de cuatro helices" que es representativa de la familia. IL-21 se expresa principalmente en células T CD4+ activadas, y se ha reportado que tiene efectos sobre células NK, B y T (Parrish-Novak (2000) *supra;* Kasaian (2002) *supra).* Ante fijación de IL-21 a IL-21R, la activación de IL-21R lleva a, ej., señalización STAT5 o STAT3 (Ozaki (2000) *supra).* El término "interleukina-21" o "IL-21" también se refiere a un polipéptido (preferiblemente de origen mamífero, ej., IL-21 humano o murino), o como lo requiera el contexto, un polinucleótido que codifica tal polipéptido, que es capaz de interactuar con IL-21R (preferiblemente de origen mamífero, ej., IL-21R humano o murino) y tiene al menos una de las siguientes características: (1) una secuencia aminoácida de un IL-21 mamífero de ocurrencia natural o un fragmento de la misma, ej., una secuencia aminoácida divulgada en SEQ ID NO:212 (humana), o un fragmento de la misma; (2) una secuencia aminoácida sustancialmente homóloga a, ej., al menos 85%, 90%, 95%, 98%, o 99% homóloga a, una secuencia aminoácida divulgada en SEQ ID NO:212, o un fragmento de la misma; (3) una secuencia aminoácida la cual es codificada por una secuencia nucleótida IL-21 mamífera de ocurrencia natural o un fragmento de la misma (ej., SEQ ID NO:211 (humana), o un fragmento de la misma); (4) una secuencia aminoácida codificada por una secuencia nucleótida la cual es sustancialmente homóloga a, ej., al menos 85%, 90%, 95%, 98%, o 99% homóloga a, una secuencia nucleótida divulgada en SEQ ID NO:211 o un fragmento de la misma; (5) una secuencia aminoácida codificada por una secuencia nucleótida degenera en una secuencia nucleótida IL-21 de ocurrencia natural o un fragmento de la misma; o (6) una secuencia nucleótida que hibridiza una de las anteriores secuencias nucleótidas bajo condiciones severas, ej.,condiciones altamente severas.

Los términos "actividad IL-21R" y similares (ej., "actividad de IL-21R," "actividad IL-21/ IL-21R") se refieren a al menos un proceso celular iniciado o interrumpido como un resultado de fijación de IL-21R. Las actividades de IL-21R incluyen, pero no se limitan a: (1) interactuar con, ej., fijación a, un ligando, ej., un polipéptido IL-21; (2) asociación con o activación de transducción de señales (también llamada "señalización," la cual se refiere a cascada intracelular que ocurre en respuesta a un estimulo particular) y moléculas de transducción de señales (ej., cadena gamma (γc) y JAK1), y/o estimular la fosforilación y/o

activación de proteínas STAT, ej., STAT5 y/o STAT3; y (3) modular la proliferación, diferenciación, función de células efectoras, actividad citolítica, secreción de citoquinas, y/o superviviencia de células inmunes, ej., células T, células NK, Células B, macrófagos, células T reguladoras (Tregs) y megacariocitos.

Como se utiliza en la presente, "anticuerpo generado *in vitro*" se refiere a un anticuerpo donde toda o parte de la región variable (ej., al menos una CDR) es generada en una selección de células no inmunes (ej., una expresión en fago *in vitro*, *ProteinChip*, o cualquier otro método en el cual secuencias candidatas pueden probarse para su capacidad para fijarse a un antígeno).

El término "aislado" se refiere a una molécula que es sustancialmente libre de su ambiente natural. Por ejemplo, una proteína aislada es sustancialmente libre de material celular u otras proteínas desde la célula o fuente tisular a partir de la cual se derivada. El término también se refiere a preparaciones donde la proteína aislada es suficientemente pura para composiciones farmacéuticas, o por lo menos tiene una pureza de 70-80% (p/p), por lo menos tiene una pureza del 80-90% (p/p), por lo menos tiene una pureza del 90-95% (p/p) , o por lo menos tiene una pureza del 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, o 100% (p/p).

La frase "identidad por ciento" o "porcentaje de identidad" se refiere a la similitud entre al menos dos secuencias diferentes. Este porcentaje de identidad puede determinarse mediante algoritmos de alineación estándares, por ejemplo, *Basic Local Alignment Search Tool* (herramienta de búsqueda de alineación local básica) (BLAST, por su sigla en inglés) descrita por Altshul ((1990) *J. Mol. Biol.* 215:403-10); el algoritmo de Needleman ((1970) J. *Mol. Biol.* 48:444-53); o el algoritmo de Meyers ((1988) *Comput. Appl. Biosci.* 4:11-17). Un grupo de parámetros puede ser la matriz de calificación Blosum 62 con una sanción de brecha (*gap penalty*) de 12, una sanción de extensión de brecha (*gap extend penalty*) de 4, y una sanción de brecha por desplazamiento (*frameshift gap*) de 5. El porcentaje de identidad entre dos secuencias aminoácidas o nucleótidas también puede determinarse utilizando el algoritmo de Meyers y Miller ((1989) *CABIOS* 4:11-17), el cual se ha incorporado en el programa ALIGN (versión 2.0), utilizando una tabla de residuos de peso PAM120, una penalidad de longitud de brecha de 12, y una penalidad de brecha de 4. El porcentaje de identidad usualmente se calcula comparando secuencias de longitud similar.

El término "repertorio" se refiere a al menos una secuencia nucleótida derivada completamente o parcialmente a partir de al menos una secuencia que codifica al menos una

inmunoglobulina. La(s) secuencia(s) pueden generarse mediante reconfiguración *in vivo* de los segmentos V, D, y J de cadenas pesadas, y los segmentos V y J de cadenas livianas. Alternativamente, la(s) secuencia(s) puede(n) generarse a partir de una célula en respuesta a la cual ocurre la reconfiguración, ej., estimulación *in vitro*. Alternativamente, parte o toda la secuencia puede obtenerse por pegado de ADN, síntesis nucleótida, mutagénesis, u otros métodos (ver, ej., Patente estadounidense No. 5,565,332). Un repertorio puede incluir solamente una secuencia o puede incluir una pluralidad de secuencias, incluyendo aquellas en una colección genéticamente diversa.

Los términos "fijación específica," "específicamente fija," y similares se refieren a dos moléculas formando un complejo que es relativamente estable bajo condiciones fisiológicas. La fijación específica se caracteriza por una alta afinidad y una capacidad de baja a moderada como se distinguió a partir de fijación no específica, la cual usualmente tiene una baja afinidad con una capacidad moderada a alta. Típicamente, la fijación se considera específica cuando la constante de asociación Ka es mayor $10^6 M^{-1}s^{-1}$ aproximadamente. Si es necesario, la fijación no específica puede reducirse sin afectar sustancialmente la fijación específica al variar las condiciones de fijación. Las condiciones apropiadas de fijación, tales como concentración de proteína fijadora, resistencia iónica de la solución, temperatura, tiempo permitido para fijación, concentración de un agente bloqueador (ej., albúmina sérica o caseína láctea), etc., pueden mejorarse por alguien con experiencia utilizando técnicas de rutina. Condiciones ilustrativas son divulgada en la presente, pero otras condiciones conocidas por aquellos con experiencia en el estado de la técnica están dentro del alcance de este invento.

Como se utilizan en la presente, los términos "severo," "severidad," y similares describen condiciones para hibridización y lavado. Los polinucleótidos aislados del presente invento pueden utilizarse como sondas de hibridización y cebadores para identificar y aislar ácidos nucleicos con secuencias idénticas o similares a aquellas que codifican polinucleótidos divulgados. Por lo tanto, los polinucleótidos aislados en esta forma pueden utilizarse para producir proteínas fijadoras contra IL-21R o para identificar células que expresan tales proteínas fijadoras. Los métodos de hibridización para identificar y aislar ácidos nucleicos incluyen reacción de cadena de polimerasa (PCR), hibridizaciones Southern, hibridización *in situ* e hibridización Northern, y son bien conocidos por aquellos con experiencia en el estado de la técnica.

Las reacciones de hibridización pueden realizarse bajo condiciones de diferentes severidades. La severidad de una reacción de hibridización incluye la dificultad con la cual dos moléculas cualquiera de ácido nucleico se hibridizarán entre sí y las condiciones bajo las cuales permanecerán hibridizadas. Preferiblemente, cada polinucleótido de hibridización hibridiza a su a su correspondiente polinucleótido bajo condiciones de severidad reducidas, más preferiblemente condiciones severas, y lo más preferiblemente condiciones altamente severas. Las condiciones severas son conocidas por aquellos con experiencia en el estado de la técnica y pueden encontrarse en, ej., *Current Protocols in Molecular Biology,* John Wiley & Sons, N.Y. (1989) 6.3.1-6.3.6. Métodos tanto acuosos como no acuosos se describen en esta referencia, y cualquiera puede utilizarse. Un ejemplo de condiciones severas de hibridización es la hibridización en cloruro de sodio /citrato de sodio 6X (SSC) a 45°C aproximadamente, seguido por al menos un lavado en 0.2X SSC/0.1% SDS a 50°C. Las condiciones severas de hibridización también son logradas con lavados en, ej., 0.2X SSC / 0.1% SDS a 55°C, 60°C, o 65°C. Condiciones altamente severas incluyen, ej., hibridización en 0.5M fosfato de sodio /7% SDS a 65°C, seguido por al menos un lavado a 0.2X SSC /1 % SDS a 65°C. Ejemplos adicionales de condiciones de severidad se muestran en la **Tabla 1** a continuación: condiciones altamente severas son aquellas que son al menos tan severas como, por ejemplo, las condiciones A-F; condiciones severas son al menos tan severas como, por ejemplo, las condiciones G-L; y condiciones de severidad reducida son al menos tan severas como, por ejemplo, las condiciones M-R.

Tabla 1: Condiciones de hibridización

Condición	**Híbrido**	**Longitud del híbrido (bp)[1]**	**Temperatura de hibridización y Buffer[2]**	**Temperatura de lavado y Buffer[2]**
A	ADN:ADN	>50	65°C; IX SSC -o- 42°C; IX SSC, 50% formamida	65°C; 0.3X SSC
B	ADN:ADN	<50	T_B*; IX SSC	T_B*; IX SSC
C	ADN:ARN	>50	67°C; IX SSC -o- 45°C; IX SSC,	67°C; 0.3X SSC

			50% formamida	
D	ADN:ARN	<50	T_D*; IX SSC	T_D*; IX SSC
E	ARN:ARN	>50	70°C; IX SSC -o-50°C; IX SSC, 50% formamida	70°C; 0.3X SSC
F	ARN:ARN	<50	T_F*; IX SSC	T_F*; IX SSC
G	ADN:AND	>50	65°C; 4X SSC -o-42°C; 4X SSC, 50% formamida	65°C; IX SSC
H	ADN:AND	<50	T_H*; 4X SSC	T_H*; 4X SSC
I	ADN:ARN	>50	67°C; 4X SSC -o-45°C; 4X SSC, 50% formamida	67°C; IX SSC
J	ADN:ARN	<50	Tj*; 4X SSC	Tj*; 4X SSC
K	ARN:ARN	>50	70°C; 4X SSC -o-50°C; 4X SSC, 50% formamida	67°C; IX SSC
L	ARN:ARN	<50	T_L*; 2X SSC	T_L*; 2X SSC
M	ADN:AND	>50	50°C; 4X SSC -o-40°C; 6X SSC, 50% formamida	50°C; 2X SSC
N	ADN:AND	<50	T_N*; 6X SSC	T_N*; 6X SSC
O	ADN:ARN	>50	55°C; 4X SSC -o-42°C; 6X SSC, 50% formamida	55°C; 2X SSC
P	ADN:ARN	<50	T_P*; 6X SSC	T_P*; 6X SSC
Q	ARN:ARN	>50	60°C; 4X SSC -o-45°C; 6X SSC, 50% formamida	60°C; 2X SSC

R	ARN:ARN	<50	T_R*; 4X SSC	T_R*; 4X SSC

[1] La longitud del híbrido es aquella anticipada para las regiones hibridizadas de los polinucleótidos de hibridización. Cuando se hibridiza un polinucleótido a un polinucleótido objetivo de secuencia desconocida, se asume que la longitud del híbrido es aquella del polinucleótido de hibridización. Cuando se hibridizan polinucleótidos de secuencia conocida, la longitud del híbrido puede determinarse alineando las secuencias de los polinucleótidos e identificando la región o regiones de complementariedad de secuencia óptima.

[2] SSPE (lxSSPE es 0.15M NaCl, 10mM NaH_2PO_4, y 1.25mM EDTA, pH 7.4) puede sustituirse por SSC (lxSSC es 0.15M NaCl y 15mM citrato de sodio) en los buffers de hibridización y lavado; los lavados se realizan durante 15 min después de terminar la hibridización.

T_B* - T_R*: La temperatura de hibridización para híbridos anticipados por tener una longitud de menos de 50 pares de bases debe ser 5-10°C menos que la temperatura de fusión (T_m) de los híbridos, donde T_m se determina según las siguientes ecuaciones. Para híbridos con longitud menor de 18 pares de bases, $T_m(°C) = 2(\#\text{ de A + T bases}) + 4(\#\text{ de G + C bases})$. Para híbridos con longitud entre 18 y 49 pares de bases, $T_m(°C) = 81.5 + 16.6(\log_{10}Na^+) + 0.41(\%G + C) - (600/N)$, donde N es el número de bases en los híbridos, y Na^+ es la concentración de iones de sodio en el buffer de hibridización (Na^+ para IX SSC = 0.165 M).

Ejemplos adicionales de condiciones de severidad para hibridización de polinucleótidos son proporcionadas en Sambrook , *Molecular Cloning: A Laboratory Manual,* Chs. 9 & 11, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY (1989), y Ausubel eds., *Current Protocols in Molecular Biology,* Sects. 2.10 & *63-6 A,* John Wiley & Sons, Inc. (1995), incorporados en la presente como referencia.

Los polinucleótidos aislados del presente invento pueden utilizarse como sondas de hibridización y cebadores para identificar y aislar ADNs con secuencias que codifican variantes alélicas de los polinucleótidos divulgados. Las variantes alélicas son formas alternativas de ocurrencia natural de los polinucleótidos divulgados que codifican polipéptidos que son idénticos o tienen similitud significativa a los polipéptidos codificados por los polinucleótidos divulgados. Preferiblemente, las variantes alélicas tienen al menos identidad de secuencia del 90% aproximadamente (más preferiblemente, al menos identidad del 95% aproximadamente; más preferiblemente, al menos identidad del 99% aproximadamente) con los polinucleótidos divulgados. Los polinucleótidos aislados del presente invento también pueden utilizarse como

sondas de hibridización y cebadores para identificar y aislar ADNs con secuencias que codifican polipéptidos homólogos a los polinucleótidos divulgados. Estos homólogos son polinucleótidos y polipéptidos aislados a partir de una especie diferente que los polipéptidos y polinucleótidos divulgados, o dentro de la misma especie, pero con similitud de secuencia significativa a los polinucleótidos y polipéptidos divulgados. Preferiblemente, los homólogos de polinucleótidos tienen al menos identidad de secuencia del 50% aproximadamente (más preferiblemente, al menos identidad de secuencia del 75% aproximadamente; más preferiblemente, al menos identidad de secuencia del 90% aproximadamente) con los polinucleótidos divulgados, mientras los homólogos de polipéptidos tienen al menos identidad de secuencia del 30% aproximadamente (más preferiblemente, al menos identidad de secuencia del 45% aproximadamente; más preferiblemente, al menos identidad de secuencia del 60% aproximadamente) con las proteínas fijadoras/polipéptidos divulgados. Preferiblemente, los homólogos de polinucleótidos y polipéptidos divulgados son aquellos aislados a partir de la especie mamífera. Los polinucleótidos aislados del presente invento adicionalmente pueden utilizarse como sondas de hibridización y cebadores para identificar células y tejidos que expresan las proteínas fijadoras del presente invento y las condiciones bajo las cuales son expresadas.

Las frases "sustancialmente como se demostró," "sustancialmente idéntico," y "sustancialmente homólogo" significan que la secuencia aminoácida o nucleótida relevante (ej., CDR(s), dominios VH, o VL) será idéntica a o no tiene diferencias sustanciales (ej., a través de las sustituciones aminoácidas conservadas) en comparación con las secuencias que se presentan. Las diferencias no sustanciales incluyen cambios aminoácidos menores, tal como una o dos sustituciones en una cinco aminoácidos de una región específica. En el caso de anticuerpos, el segundo anticuerpo tiene la misma especificidad y tiene al menos aproximadamente 50% de la afinidad del primer anticuerpo.

Las secuencias sustancialmente idénticas u homólogas a las secuencias divulgadas en la presente también son parte de esta solicitud. En algunas realizaciones, la identidad de secuencia puede ser aproximadamente 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, o más. Alternativamente, existe identidad u homología sustancial cuando los segmentos de ácido nucleico se hibridizarán bajo condiciones selectivas de hibridización (ej., condiciones altamente severas de hibridización), al complemento de la hebra. Los ácidos nucleicos pueden estar presentes en

células completas, en un lisado celular, o en una forma parcialmente purificada o sustancialmente pura.

El término "agente terapéutico" o similares es una sustancia que trata o asiste en el tratamiento de un trastorno médico o síntomas del mismo. Agentes terapéuticos pueden incluir, pero no se limitan a, sustancias que modulan células inmunes o respuestas inmunes en una forma que complementa el uso de proteínas fijadoras anti-IL-21R. En una realización del invento, un agente terapéutico es un anticuerpo terapéutico, ej., un anticuerpo anti-IL-21R. En otra realización del invento, un agente terapéutico es una proteína fijadora terapéutica, ej., un nanocuerpo anti-IL-21R. Ejemplos no limitantes y usos de agentes terapéuticos se describen en la presente.

Como se utiliza en la presente, una "cantidad terapéuticamente efectiva" de una proteína fijadora anti-IL-21R (ej., un anticuerpo) se refiere a una cantidad de la proteína fijadora que es efectiva, ante administración de una única dosis o dosis múltiples a un sujeto (tal como un paciente humano) para tratar, prevenir, curar, retardar, reducir la severidad de, y/o aliviar al menos un síntoma de un trastorno o un trastorno recurrente, o prolongar la supervivencia del sujeto más allá de lo esperado en ausencia de tal tratamiento.

Proteínas Fijadoras Anti-IL-21R

La divulgación de la presente solicitud proporciona proteínas fijadoras anti-IL-21R novedosas que comprenden fragmentos fijadores de antígenos novedosos. Numerosos métodos conocidos por aquellos con experiencia en el estado de la técnica son disponibles para obtener proteínas fijadoras o fragmentos fijadores de antígenos de las mismas. Por ejemplo, proteínas fijadoras anti-IL-21R que comprenden anticuerpos pueden producirse utilizando métodos de ADN recombinante (ver, ej., Patente estadounidense No. 4,816,567). Los anticuerpos monoclonales también pueden producirse mediante generación de hibridomas según métodos conocidos (ver, ej., Kohler y Milstein (1975) *Nature* 256:495-99). Los hibridomas formados de esta manera luego se clasifican utilizando métodos estándares, tales como ensayos inmunosorbentes ligados a enzima (ELISA) y análisis de resonancia de plasmones superficiales (BIACORE™), para identificar uno o más hibridomas que producen un anticuerpo que específicamente se une con un antígeno particular. Cualquier forma del antígeno especificado

puede utilizarse como el inmunogeno, ej., antígeno recombinante, formas de ocurrencia natural, variantes o fragmentos del mismo, y péptidos antigénicos del mismo.

Un método de ejemplo para preparar proteínas fijadoras que comprenden anticuerpos incluye tamizaje de bibliotecas de expresión de proteínas, ej., bibliotecas de expresión en fago o ribosomas. La expresión en fago se describe, por ejemplo, en la Patente estadounidense No. 5,223,409; Smith (1985) *Science* 228:1315-17; Clackson (1991) *Nature* 352:624-28; Marks (1991) J. *Mol. Biol.* 222:581-97; y Publicación de Solicitud Internacional Nos. WO 92/018619; WO 91/017271; WO 92/020791; WO 92/015679; WO 93/001288; WO 92/001047; WO 92/009690; y WO 90/002809.

Además del uso de bibliotecas de fagos, el antígeno especificado puede utilizarse para inmunizar un animal no humano, ej., un mono cinomolgus, un pollo, o un roedor (ej., un ratón, hámster, o rata). En una realización, el animal no humano incluye al menos una parte de un gen de inmunoglobulina humano. Por ejemplo, es posible modificar cepas de ratón deficientes en producción de anticuerpos de ratón con grandes fragmentos de los sitios Ig humanos. Utilizando la tecnología de hibridomas, las proteínas fijadoras monoclonales específicas a antígenos, tal como anticuerpos, derivadas a partir de los genes con la especificidad deseada pueden producirse y seleccionarse (ver, ej., XENOMOUSE™ (Amgen Inc., Thousand Oaks, CA); Green (1994) *Nat. Genet.* 7:13-21; Patente estadounidense No. 7,064,244; y Publicación de Solicitud Internacional Nos. WO 96/034096 y WO 96/033735).

En una realización del invento, la proteína fijadora es un anticuerpo monoclonal que es obtenido a partir de un animal no humano, y luego modificado (ej., humanizado, desinmunizado, o quimérico) utilizando técnicas de ADN recombinante conocidas en el estado de la técnica. Se ha descrito una variedad de enfoques para preparar anticuerpos quiméricos (ver, ej., Morrison (1985) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 81(21):6851-55; Takeda (1985) *Nature* 314(6010):452-54; Patente estadounidense Nos. 4,816,567 y 4,816,397; Publicación de Solicitud Europea Nos. EP 0 171 496 y EP 0 173 494; y Patente del Reino Unido No. GB 2 177 096). Las proteínas fijadoras humanizadas también pueden producirse, por ejemplo, utilizando ratones transgénicos que expresan genes humanos de cadena pesada y cadena liviana, pero son incapaces de expresar los genes endógenos de cadena pesada y cadena liviana de inmunoglobulina de ratón. Winter (Patente estadounidense No. 5,225,539) describe un método de injerto de CDR de ejemplo que pueden utilizarse para preparar las proteínas fijadoras inmunizadas descritas en la presente.

Todas las CDRs de una proteína fijadora humana particular pueden reemplazarse con al menos una porción de una CDR no humana, o solamente algunas de las CDRs pueden reemplazarse con CDRs no humanas. Solamente es necesario reemplazar el número de CDRs requeridas para fijación de la proteína fijadora humanizada a un antígeno predeterminado.

Las proteínas humanizadas fijadoras o fragmentos de las mismas pueden generarse reemplazando secuencias del dominio variable Fv que no están directamente involucradas en la fijación de antígenos con secuencias equivalentes a partir de dominios variables humanos Fv. métodos de ejemplo para generar proteínas fijadoras inmunizadas o fragmentos de las mismas son proporcionadas por, ej., Morrison (1985) *Science* 229:1202-07; Oi (1986) *BioTechniques* 4:214; y Patentes estadounidenses Nos. 5,585,089; 5,693,761; 5,693,762; 5,859,205; y 6,407,213. Tales métodos incluyen aislar, manipular, y expresar las secuencias de ácidos nucleicos que codifican todos o parte de los dominios variables Fv de inmunoglobulina a partir de al menos una una cadena pesada o cadena liviana. Tales ácidos nucleicos pueden obtenerse a partir de un hibridoma produciendo un anticuerpo contra un blanco predeterminado, como se describió anteriormente, así como también a partir de otras fuentes. El ADN recombinante que codifica la molécula de anticuerpo humanizado puede luego clonarse en un vector de expresión apropiado.

En ciertas realizaciones, una proteína fijadora humanizada es mejorada mediante la introducción de sustituciones conservadoras, sustituciones de secuencias consenso, sustituciones de línea germinal y/o retromutaciones. Tales moléculas de inmunoglobulina alteradas pueden prepararse mediante cualquiera de las diferentes técnicas conocidas en el estado de la técnica, (ver, ej., Teng (1983) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 80:7308-73; Kozbor (1983) *Immunol. Today* 4:7279; Olsson (1982) *Meth. Enzymol.* 92:3-16); Publicación de Solicitud Internacional No. WO 92/006193; y Patente Europea No. EP 0 239 400).

Una proteína fijadora o fragmento de la misma también puede modificarse mediante supresión específica de epítopos de células T humanas o "desinmunización" mediante los métodos divulgados en, ej., Publicaciones de Solicitudes Internacionales No. WO 98/052976 y WO 00/034317. Brevemente, los dominios variables de cadena pesada y liviana de una proteína fijadora (tal como, por ejemplo, una proteína fijadora derivada a partir de un anticuerpo) pueden analizarse para péptidos que se fijan a MHC Clase II; estos péptidos representan epítopos potenciales de células T (como se definen en, ej., Publicaciones de Solicitudes Internacionales

Nos. WO 98/052976 y WO 00/034317). Para detección de epítopos potenciales de células T, puede aplicarse un enfoque de modelación por computador denominado enhebrado peptídico ("*peptide threading*"), y además una base de datos de péptidos de fijación MHC clase II puede consultarse para motivos presentes en las secuencias V_H y V_L, como se describe en las Publicaciones de Solicitudes Internacionales Nos. WO 98/052976 y WO 00/034317. Estos motivos se fijan a cualquiera de los 18 alotipos principales del MHC Clase II DR y por lo tanto, constituyen epítopos potenciales de células T. Los epítopos potenciales de células T detectados pueden eliminarse sustituyendo números pequeños de residuos aminoácidos en los dominios variables o mediante sustituciones de aminoácidos simples. Típicamente, se realizan sustituciones conservadoras. A menudo, pero no de manera exclusiva, puede utilizarse un aminoácido común a una posición en secuencias de anticuerpos de línea germinal humana. Las secuencias de línea germinal humana son divulgadas en, ej., Tomlinson (1992) *J. Mol. Biol.* 227:776-98; Cook (1995) *Immunol. Today* 16(5):237-42; Chothia (1992) *J. Mol. Biol.* 227:799-817; y Tomlinson (1995) *EMBO J.* 14:4628-38. El directorio V BASE proporciona un directorio completo de secuencias variables de regiones de inmunoglobulina humana (compiladas por Tomlinson, Centro MRC para Ingeniería de Proteínas, Cambridge, UK). Estas secuencias pueden utilizarse como una fuente de secuencias humanas, ej., para regiones de marco y CDRs. También pueden utilizarse regiones de marco humanas consenso, como se describe en, ej., la Patente estadounidense No. 6,300,064.

En ciertas realizaciones, una proteína fijadora puede contener una región constante o Fc de inmunoglobulina alterada. Por ejemplo, las proteínas fijadoras producidas según las enseñanzas en la presente pueden fijarse de manera más fuerte o con más especificidad a moléculas efectoras tales como receptores de complemento y/o Fc, los cuales pueden controlar diferentes funciones inmunes de la proteína fijadora tales como actividad de células efectoras, lisis, actividad mediada por complemento, depuración de proteínas fijadoras, y vida media de proteínas fijadoras. Receptores Fc típicos que se fijan a una región Fc de una proteína fijadora (ej., un anticuerpo IgG) incluyen, pero no se limitan a, receptores de las subclases FcγRI, FcγRII, y FcRn, incluyendo variantes alélicas y alternativamente formas empalmadas de estos receptores. Los receptores Fc son reseñados en, ej., Ravetch y Kinet (1991) *Annu. Rev. Immunol.* 9:457-92; Capel (1994) *Immunomethods* 4:25-34; y de Haas (1995) *J. Lab. Clin. Med.* 126:330-41. Para técnicas adicionales de producción de proteínas/anticuerpos de fijación, ver, ej., *Antibodies: A*

Laboratory Manual (1988) Harlow eds., Cold Spring Harbor Laboratory. El presente invento no está necesariamente limitado a cualquier fuente particular, método de producción, u otra característica especial de una proteína fijadora o un anticuerpo.

Las proteínas fijadoras que comprenden anticuerpos (inmunoglobulinas) típicamente son proteínas glicosiladas tetraméricas compuestas de dos cadenas livianas (L) de aproximadamente 25 kDa cada una y dos cadenas pesadas (H) de aproximadamente 50 kDa cada una. Dos tipos de cadenas livianas, denominadas lambda (λ) y kappa (κ), pueden encontrarse en anticuerpos. Dependiendo de la secuencia aminoácida del dominio constante de cadenas pesadas, las inmunoglobulinas pueden asignarse a cinco clases principales: A, D, E, G, y M, y varias de estas pueden adicionalmente dividirse en subclases (isotipos), ej., IgGl, lgG2, IgG3, IgG4, IgAl, y IgA2. Cada cadena liviana incluye un dominio variable (V) N-terminal (V) (V_L) y un dominio constante (C) (C_L). Cada cadena pesada incluye un dominio V N-terminal (V_H), tres o cuatro dominios C (C_{HS}), y una región de bisagra. El dominio C_H más próximo a V_H es designado como C_H1. Los dominios V_H y V_L constan de cuatro regiones de secuencias relativamente conservadas llamadas regiones de marco (FR1, FR2, FR3, y FR4) que forman un andamiaje para tres regiones de secuencias hipervariables, llamadas CDRs. Las CDRs contienen la mayoría de los residuos responsables de interacciones específicas del anticuerpo con el antígeno. Las CDRs son conocidas como CDR1, CDR2, y CDR3. Los constituyentes CDR sobre la cadena pesada son conocidos como H1, H2, y H3 (también conocidos en la presente como CDR HI, CDR H2, y CDR H3, respectivamente), mientras los constituyentes de CDR sobre la cadena liviana son conocidos como LI, L2, y L3 (también conocidos en la presente como CDR LI, CDR L2, y CDR L3, respectivamente).

CDR3 típicamente es la mayor fuente de diversidad molecular dentro del sitio de fijación de antígenos. CDR H3, por ejemplo, puede ser tan corto como dos residuos aminoácidos o más de 26 aminoácidos. Las estructuras subunitarias y configuraciones tri-dimensionales de diferentes clases de inmunoglobulinas son bien conocidas en el estado de la técnica. Para una reseña de estructura de anticuerpos, ver, ej., Harlow (1988) *supra.* Alguien con experiencia en el estado de la técnica reconocerá que cada estructura subunitaria, ej., una estructura C_H, V_H, C_L, V_L, CDR, y/o FR, comprende fragmentos activos, ej., el porción de la subunidad V_H, V_L, o CDR que se fija al antígeno, es decir, el fragmento fijador de antígenos, o, ej., la porción de la subunidad C_H que se fija a y/o activa, ej., un receptor Fc y/o complemento. Las CDRs

típicamente se refieren a las CDRs Kabat (como se describe en Kabat (1991) *supra).* Otro estándar para caracterizar el sitio de fijación de antígenos es referirse a los bucles hipervariables como se describe en, ej., Chothia (1992) *supra* y Tomlinson (1995) *supra.* Aún otro estándar es la definición "AbM" utilizada por el software de modelación de anticuerpos AbM de Oxford Molecular (ver, generalmente, ej., *Protein Sequence and Structure Analysis of Antibody Variable Domains in*: *Antibody Engineering* (2001) Duebel y Kontermann eds., Springer-Verlag, Heidelberg). Las realizaciones descritas con respecto a CDRs de Kabat pueden alternativamente implementarse utilizando relaciones similares descritas con respecto a bucles hipervariables de Chothia o a los bucles definidos por AbM.

El fragmento Fab consta de dominios VH-CH1 y VL-CL covalentemente enlazados por un enlace de disulfuro entre las regiones constantes. El fragmento Fv más pequeño y consta de dominios VH y VL no covalentemente enlazados. Para superar tendencia de los dominios no covalentemente enlazados a disociarse, puede construirse un scFv. El scFv contiene un polipéptido flexible que enlaza (1) el extremo C de VH al extremo N de VL, o (2) el extremo C de VL al extremo N de VH. Un péptido 15-mer $(Gly4Ser)_3$, por ejemplo, puede utilizarse como un enlazador, pero otros enlazadores son conocidos en el estado de la técnica.

La secuencia de genes de anticuerpos después del ensamble y mutación somática es altamente variada, y se estima que estos genes variados codifican 10^{10} moléculas de anticuerpos diferentes (*Immunoglobulin Genes* (2da Edición. 1995) Jonio eds., Academic Press, San Diego, CA).

En ciertas realizaciones del invento, la proteína fijadora es una proteína de fijación de dominio único. Las proteínas fijadoras de dominio único incluyen proteínas fijadoras en donde las CDRs son parte de un polipéptido de dominio único. Ejemplos incluyen, pero no se limitan a, proteínas fijadoras de cadena pesada, proteínas fijadoras que son naturalmente desprovistas de cadenas livianas, proteínas fijadoras de dominio único derivadas a partir de anticuerpos convencionales de cuatro cadenas, proteínas fijadoras modificadas, y andamiajes de proteínas de dominio único diferentes de aquellos derivados a partir de anticuerpos. Las proteínas fijadoras de dominio único incluyen cualquiera conocida en el estado de la técnica, así como también cualquier proteína de fijación de dominio único determinada o aprendida en el futuro.

Las proteínas fijadoras de dominio único pueden derivarse a partir cualquier especie incluyendo, pero sin limitar a, ratón, humano, camello, llama, pez, tiburón, cabra, conejo, pollo,

y bovinos. En un aspecto del invento, la proteína de fijación de dominio único pueden derivarse a partir de una región variable del inmunoglobulina encontrada en el pez, tal como, por ejemplo, aquella la cual se deriva a partir del isotipo de inmunoglobulina conocido como Receptor de Antígeno Novedoso (NAR) encontrado en el suero de tiburón. Métodos para producir proteínas fijadoras de dominio único derivadas a partir de una región variable de NAR (IgNARs) se describen en, ej., la Publicación de Solicitud Internacional No. WO 03/014161 y Streltsov (2005) *Proteína Sci.* 14:2901-09. Las proteínas fijadoras de dominio único también incluyen proteínas fijadoras de dominio único de ocurrencia natural conocidas en el estado de la técnica como anticuerpos de cadenas pesadas desprovisto de cadenas livianas. Este dominio variable derivado a partir de un anticuerpo de cadena pesada naturalmente desprovisto de una cadena liviana es conocido en la presente como un VHH, o un nanocuerpo, para distinguir éste del VH convencional de inmunoglobulinas de cuatro cadenas. Tal molécula VHH pueden derivarse a partir de anticuerpos originados en la especie *Camelidae*, por ejemplo, en camello, llama, dromedario, alpaca, y guanaco, y algunas veces es llamado un dominio variable cameloide o cameloizado (ver, ej., Muyldermans (2001) *J. Biotechnol.* 74(4):277-302, incorporado en la presente como referencia). Otras especies además de aquellas en la familia *Camelidae* también pueden producir proteínas fijadoras de cadena pesada naturalmente desprovistas de cadenas livianas. Las moléculas VHH son aproximadamente diez veces más pequeñas que las moléculas IgG. Estos son polipéptidos simples y son muy estables, resistiendo condiciones extremas de pH y temperatura. Además, son muy resistentes a las acciones de proteasas, lo cual no es el caso para anticuerpos convencionales. Además, la expresión *in vitro* de VHHs puede producir VHHs funcionales apropiadamente plegados de alto rendimiento. Además, las proteínas fijadoras generadas en camélidos reconocerán epítopos diferentes de aquellos reconocidos por anticuerpos generados *in vitro* vía bibliotecas de anticuerpos o vía inmunización de mamíferos diferentes de camélidos (ver, ej., Publicaciones de Solicitudes Internacionales Nos. WO 97/049805 y WO 94/004678, las cuales se incorporan en la presente como referencia).

Una proteína fijadora "biespecífica" o "bifuncional" es una proteína fijadora hibrida artificial con dos pares de cadena pesada/cadena liviana diferentes y dos sitios de fijación diferentes. Las proteínas fijadoras biespecíficas pueden producirse mediante una variedad de métodos incluyendo fusión de hibridomas o enlazamiento de fragmentos Fab' (ver, ej., Songsivilai y Lachmann (1990) *Clin. Exp. Immunol.* 79:315-21; Kostelny (1992) *J. Immunol.*

148:1547-53). En una realización, la proteína fijadora biespecífica comprende un primer polipéptido de dominio de fijación, tal como un fragmento Fab', enlazado vía una región constante de inmunoglobulina a un segundo polipéptido de dominio de fijación.

Otra proteína fijadora según el invento puede comprender, por ejemplo, una proteína de fusión fijadora de dominio inmunoglobulina que incluye un polipéptido de dominio de fijación que es fusionado o de otra manera conectado a una bisagra de inmunoglobulina o polipéptido de la región bisagra o de acción bisagra de la inmunoglobulina, el cual a su vez es fusionado o de otra manera conectado a una región que comprende una o mas regiones constantes nativas o modificadas a partir de una cadena pesada de inmunoglobulina, diferente de C_H1, por ejemplo, las regiones CR2 y CR3 de IgG y IgAl o las regiones CH3 y CH4 de IgE (ver, ej., Publicación de Solicitud estadounidense No. 2005/0136049, la cual es incorporada en la presente como referencia, para una descripción más completa). La proteína de fusión fijadora de inmunoglobulina – dominio además puede incluir una región que incluye un polipéptido nativo o modificado de región constante de cadena pesada CH2 de inmunoglobulina (o CH3 en el caso de un constructo derivado completamente o en parte desde IgE) que es fusionado o de otra manera conectado al polipéptido de la región bisagra y un polipéptido nativo o modificado de región constante de cadena pesada CH3 de inmunoglobulina (o CH4 en el caso de un constructo derivado completamente o en parte desde IgE) que es fusionado o de otra manera conectado al polipéptido de la región constante CH2 (o C_H3 en el caso de un constructo derivado completamente o en parte desde IgE). Típicamente, tales proteínas de fusión fijadoras de dominio - inmunoglobulina tienen capacidad de al menos una actividad inmunológica seleccionada del grupo que consta de citotoxicidad mediada por células depedientes de anticuerpos (ADCC), fijación de complemento, y/o fijación a un blanco, por ejemplo, un antígeno objetivo, tal como IL-21R humano.

Las proteínas fijadoras del invento también pueden comprender miméticos peptídicos. Los miméticos peptídicos son moléculas que contienen péptidos que simulan elementos de estructura secundaria de proteína (ver, por ejemplo, Johnson , *Peptide Turn Mimetics in Biotechnology and Pharmacy* (1993) Pezzuto eds., Chapman y Hall, New York, el cual se incorpora en la presente como referencia en su totalidad). La razón fundamental detrás del uso de miméticos peptídicos es que el esqueleto peptídico de proteínas existe principalmente para orientar las cadenas secundarias aminoácidas en forma tal para facilitar interacciones

moleculares, tal como aquellas entre anticuerpo y antígeno. Se espera que un mimético peptídico permita interacciones moleculares similares a la molécula natural. Estos principios pueden utilizarse para modificar moléculas de segunda generación con muchas de las propiedades naturales de los péptidos direccionadores divulgadas en la presente, pero con características alteradas y potencialmente mejoradas.

Otras realizaciones de proteínas fijadoras útiles para realizar el invento incluyen proteínas de fusión. Estas moléculas generalmente tienen toda o una parte sustancial de un péptido direccionador, por ejemplo, IL-21R o un anticuerpo anti IL-21R, enlazada en el extremo N- o C-, a toda o una porción de un segundo polipéptido o proteína. Por ejemplo, las proteínas de fusión pueden emplear secuencias líder (o señal) a partir de otras especies para permitir la expresión recombinante de una proteína en un huésped heterólogo. Por ejemplo, las secuencias aminoácidas, o secuencias de ácidos nucleicos que codifican secuencias aminoácidas, de las proteínas fijadoras y fragmentos fijadores de antígenos de las mismas del presente invento que comprenden una secuencia líder (o señal) pueden seleccionarse a partir de SEQ ID NOs:87-109 y 239-248. Otra fusión útil incluye la adición de un dominio inmunologicamente activo, tal como un epítopo de proteína fijadora, para facilitar la purificación de la proteína de fusión. La inclusión de un sitio de escisión en o cerca del punto de unión de fusión facilitará el retiro del polipéptido extraño después de purificación. Otras fusiones útiles incluyen el enlazamiento de dominios funcionales, tales como sitios activos a partir de enzimas, dominios de glicosilación, señales de direccionamiento celular, o regiones de transmembrana. Ejemplos de proteínas o péptidos que pueden incorporarse en una proteína de fusión incluyen, pero no se limitan a, proteínas citostáticas, proteínas citocidales, agentes pro-apoptosis, agentes anti-angiogénicos, hormonas, citoquinas, factores de crecimiento, fármacos peptídicos, anticuerpos, fragmentos Fab de anticuerpos, antígenos, proteínas receptoras, enzimas, lectinas, proteínas MHC, proteínas de adhesión celular, y proteínas fijadoras. Los métodos para generar proteínas de fusión son bien conocidos por aquellos con experiencia en el estado de la técnica. Tales proteínas pueden producirse, por ejemplo, mediante fijación química utilizando reactivos entrecruzadores bifuncionales, mediante síntesis de novo de la proteína completa de fusión, o mediante fijación de una secuencia de ADN secuencia que codifica el péptido direccionador a una secuencia de ADN que codifica el segundo péptido o proteína, seguido por expresión de la proteína de fusión intacta.

En una realización, el péptido direccionador, por ejemplo, IL-21R, es fusionado con una región constante de cadena pesada de inmunoglobulina, tal como un fragmento Fc, el cual contiene dos dominios de región constante y una región de bisagra, pero carece de la región variable (ver, ej., Patentes estadounidenses Nos. 6,018,026 y 5,750,375, incorporadas en la presente como referencia). La región Fc puede ser una región Fc de ocurrencia natural, o puede alterarse para mejorar ciertas cantidades, ej., cantidades terapéuticas, tiempo de circulación, agregación reducida. Los péptidos y proteínas fusionados a una región Fc típicamente exhiben una vida media mayor *in vivo* que la contraparte sin fusionar. Además, una fusión a una región Fc permite dimerización/multimerización del polipéptido de fusión.

Un aspecto del presente invento comprende proteínas fijadoras y fragmentos fijadores de antígenos de las mismas que fijan IL-21R. La divulgación proporciona CDRs novedosas que han sido derivadas a partir de bibliotecas de genes de inmunoglobulina humana. La estructura proteica que generalmente se utiliza para llevar una CDR es una cadena pesada o liviana de anticuerpo o una porción de la misma, en donde CDR se localiza en una región asociada con una CDR de ocurrencia natural. Las estructuras y ubicaciones de dominios variable pueden determinarse como se describe en Kabat ((1991) *supra).*

Realizaciones ilustrativas de las proteínas fijadoras (y fragmentos fijadores de antígenos de las mismas) del invento se identifican como AbA-AbZ, H3-H6, L1-L6, L8-L21, y L23-L25. El ADN y secuencias aminoácidas de algunas realizaciones ilustrativas no limitantes de las proteínas fijadoras anti-IL-21R del invento son divulgada en SEQ ID NOs:5-195, 213-229, y 239-248. El ADN y secuencias aminoácidas de algunas realizaciones ilustrativas de la proteínas fijadoras anti-IL-21R del invento, incluyendo sus fragmentos scFv, dominios VH y VL, y CDRs, así como también sus códigos actuales y designaciones anteriores, son divulgados en las **FIGs. 17-25,** y **Tablas 2A** y **2B.**

Tabla 2A: Correlación de Códigos de Anticuerpos Actuales y Designaciones Anteriores

Código Actual	Designación Anterior
AbA	**VHP/VL2**
AbB	**VHP/VL3**
AbC	**VHP/VL11**
AbD	**VHP/VL13**

AbE	**VHP/VL14**
AbF	**VHP/VL17**
AbG	**VHP/VL18**
AbH	**VHP/VL19**
Abl	**VHP/VL24**
AbJ	**VH3/VLP**
AbK	**VH3/VL3**
AbL	**VH3A/L13**
AbM	**VH6A/L13**
AbN	**VH6/VL24**
AbO	**VHP/VL16; VHPTMA/L16**
AbP	**VHP/VL20; VHPTM/VL20**
AbQ	**VH3A/L2; VH3DMA/L2**
AbR	**VH3A/L18; VH3DM/VL18**
AbS	**VHP/VL6; VHPTMA/L6; VL6**
AbT	**VHP/VL9; VHPTM/VL9; VL9**
AbU	**VHP/VL25; VHPTMA/L25**
AbV	**VH3TM/VL2**
AbW	**VH3TM/VL18**
AbX	**VHPDMA/L9**
AbY	**VHPq4/VL9**
AbZ	**VHPWTA/L9**

Tabla 2B: Secuencias Aminoácidas y Nucleótidas de Dominios V_H y V_L, scFv, y CDRs de Proteínas Fijadoras Ilustrativas del invento

REGIÓN	TIPO	H3 SEQID	H4 SEQID	H5 SEQID	H6 SEQID	LI SEQID
V_H	AA	NO: 14	NO:16	NO:18	NO:20	NO:6

v_L	AA	NO:10	NO:10		NO:10	NO:10		NO:22
scFv	AA	NO:110	NO	112	NO: 114	NO	116	NO:118
CDRH1	AA	NO: 163	NO	163	NO: 163	NO	163	NO: 163
CDRH2	AA	NO: 164	NO	164	NO: 164	NO	164	NO: 164
CDRH3	AA	NO: 165	NO	166	NO: 167	NO	168	NO: 169
CDRL1	AA	NO: 194	NO	194	NO: 194	NO	194	NO: 194
CDRL2	AA	NO:195	NO	195	NO:195	NO	195	NO:195
CDRL3	AA	NO: 170	NO	170	NO: 170	NO	170	NO:171
V_H	DNA	NO:13	NO:15		NO: 17	NO:19		NO:5
v_L	DNA	NO:9	NO:9		NO:9	NO:9		NO:21
scFv	DNA	NO: 109	NO:111		NO:113	NO:115		NO: 117

Tabla 2B (Continuación)

REGIÓN	TIPO	L2 SEQID	L3 SEQID	L4 SEQID	L5 SEQID	L6 SEQID
V_H	AA	NO:6	NO:6	NO:6	NO:6	NO:6
v_L	AA	NO:24	NO:26	NO:28	NO:30	NO:32
scFv	AA	NO: 120	NO: 122	NO: 124	NO: 126	NO: 128
CDRH1 CDRH2	AA AA	NO: 163 NO: 164	NO: 163 NO: 164	NO: 163 NO: 164	NO: 163 NO: 164	NO: 163 NO: 164
CDRH3	AA	NO: 169	NO: 169	NO: 169	NO: 169	NO: 169
CDRL1	AA	NO: 194	NO: 194	NO: 194	NO: 194	NO: 194
CDRL2	AA	NO:195	NO:195	NO:195	NO:195	NO:195
CDRL3	AA	NO: 172	NO: 173	NO: 174	NO: 175	NO: 176
V_H	DNA	NO:5	NO:5	NO:5	NO:5	NO:5
v_L	DNA	NO:23	NO:25	NO:27	NO:29	NO:31
scFv	DNA	NO:119	NO:121	NO: 123	NO: 125	NO: 127

Tabla 2B (Continuación)

REGIÓN	TIPO	L8 SEQID	L9 SEQID	L10 SEQID	L11 SEQID	L12 SEQID
V_H	AA	NO:6	NO:6	N06	NO:6	NO:6
v_L	AA	NO:34	NO:36	NO:38	NO:40	NO:42
scFv	AA	NO:130	NO: 132	NO: 134	NO:136	NO:138
CDRH1	AA	NO: 163	NO: 163	NO: 163	NO: 163	NO: 163
CDRH2	AA	NO: 164	NO: 164	NO: 164	NO: 164	NO: 164
CDRH3	AA	NO: 169	NO: 169	NO: 169	NO: 169	NO: 169
CDRL1	AA	NO: 194	NO: 194	NO: 194	NO: 194	NO: 194
CDRL2	AA	NO:195	NO:195	NO:195	NO:195	NO:195

CDRL3	AA	NO: 177	NO:178	NO: 179	NO:180	NO:181
V_H	DNA	NO:5	NO:5	NO:5	NO:5	NO:5
v_L	DNA	NO:33	NO:35	NO:37	NO:39	NO:41
scFv	DNA	NO: 129	NO:131	NO:133	NO:135	NO: 137

Tabla 2 (Continuación)

REGIÓN	**TIPO**	**L13 SEQID**	**L14 SEQID**	**L15 SEQID**	**L16 SEQID**	**L17 SEQID**
V_H	AA	NO:6	NO:6	NO:6	NO:6	NO:6
v_L	AA	NO:44	NO:46	NO:48	NO:50	NO:52
scFv	AA	NO: 140	NO: 142	NO: 144	NO: 146	NO: 148
CDRH1	AA	NO: 163	NO: 163	NO: 163	NO: 163	NO: 163
CDRH2	AA	NO: 164	NO: 164	NO: 164	NO: 164	NO: 164
CDRH3	AA	NO: 169	NO: 169	NO: 169	NO: 169	NO: 169
CDRL1	AA	NO: 194	NO: 194	NO: 194	NO: 194	NO: 194
CDRL2	AA	NO:195	NO:195	NO:195	NO:195	NO:195
CDRL3	AA	NO:182	NO:183	NO:184	NO:185	NO:186
V_H	DNA	NO:5	NO:5	NO:5	NO:5	NO:5
v_L	DNA	NO:43	NO:45	NO:47	NO:49	NO:51
scFv	DNA	NO:139	NO:141	NO: 143	NO: 145	NO: 147

Tabla 2 (Continuación)

REGIÓN	**TIPO**	**L18 SEQID**	**L19 SEQID**	**L20 SEQID**	**L21 SEQID**	**L23 SEQID**
V_H	AA	NO:6	NO:6	NO:6	NO:6	NO:6
v_L	AA	NO:54	NO:56	NO:58	NO:60	NO:62
scFv	AA	NO:150	NO: 152	NO: 154	NO:156	NO:158
CDRH1	AA	NO: 163	NO: 163	NO: 163	NO: 163	NO: 163
CDRH2	AA	NO: 164	NO: 164	NO: 164	NO: 164	NO: 164
CDRH3 CDRL1	AA AA	NO: 169 NO: 194	NO: 169 NO: 194	NO: 169 NO: 194	NO: 169 NO: 194	NO: 169 NO: 194
CDRL2	AA	NO:195	NO:195	NO:195	NO:195	NO:195
CDRL3	AA	NO:187	NO:188	NO:189	NO:190	NO:191
V_H	DNA	NO:5	NO:5	NO:5	NO:5	NO:5
v_L	DNA	NO:53	NO:55	NO:57	NO:59	NO:61
scFv	DNA	NO: 149	NO:151	NO:153	NO:155	NO: 157

Tabla 2 (Continuación)

REGIÓN	TIPO	L24 SEQID	L25 SEQID
V_H	AA	NO:6	NO:6
v_L	AA	NO:64	NO:66
scFv	AA	NO: 160	NO: 162
CDRH1	AA	NO: 163	NO: 163
CDRH2	AA	NO: 164	NO: 164
CDRH3	AA	NO: 169	NO: 169
CDRL1	AA	NO: 194	NO: 194
CDRL2	AA	NO:195	NO:195
CDRL3	AA	NO: 192	NO:193
V_H	DNA	NO:5	NO:5
v_L	DNA	NO:63	NO:65
scFv	DNA	NO:159	NO:161

Las proteínas fijadoras anti-IL-21R del presente invento pueden comprender regiones constantes de anticuerpos o partes de las mismas. Por ejemplo, un dominio VL puede ser fijado en su extremo C- a un dominio constante de cadena liviana tipo Cκ o Cλ. De manera similar, un dominio VH, o porción del mismo, puede fijarse a toda o parte de una cadena pesada tipo IgA, IgD, IgE, IgG, y IgM, y cualquier subclase de isotipo. Las regiones constantes son conocida en el estado de la técnica (ver, ej., Kabat (1991) *supra).* Por lo tanto, las proteínas fijadoras dentro el alcance de este invento incluyen dominios VH y VL, o porciones de los mismos, combinados con regiones constantes conocidas en el estado de la técnica.

Ciertas realizaciones comprenden un dominio VH, un dominio VL, o una combinación de los mismos, del fragmento Fv a partir de AbA-AbZ, H3-H6, L1-L6, L8-L21, y/o L23-L25. Realizaciones adicionales comprenden una, dos, tres, cuatro, cinco o seis CDRs a partir de los dominios VH y VL. Proteínas fijadoras cuyas secuencias CDR son iguales o similares a (es decir, no difieren sustancialmente de), una o más secuencias CDR presentes dentro de las secuencias divulgadas en SEQ ID NOs:5-195, 213-229, y 239-248 son incluidas dentro el alcance del invento.

En ciertas realizaciones, los dominios VH y/o VL pueden ser de línea germinal, es decir, la FR de estos dominios es mutada utilizando técnicas convencionales de biología molecular para

corresponder con aquellas producidas por las células de línea germinal. En otras realizaciones, las secuencias FR permanecen desviadas desde las secuencias consenso de línea germinal.

En una realización, la mutagénesis se utiliza para hacer una proteína fijadora más similar a una o más secuencias de línea germinal. Esto puede ser deseable cuando las mutaciones se introducen en la FR de una proteína fijadora (ej., un anticuerpo) a través de mutagénesis somática o a través de PCR propensa a error. Las secuencias de línea germinal para los dominios VH y VL pueden identificarse realizando alineaciones de secuencias aminoácidas y de ácidos nucleicos contra la base de datos VBASE (MRC Centro para Ingeniería de Proteínas, UK). VBASE es un directorio completo de todas las secuencias de regiones variables de línea germinal humana compiladas a partir de más de un millar de secuencias publicadas, incluyendo aquellas en las entregas actuales de las bibliotecas de datos GENBANK® y EMBL. En algunas realizaciones, las FRs de scFvs son mutadas en conformidad con las equivalencias más próximas en la base de datos VBASE y las porciones de CDR son mantenidas intactas.

En ciertas realizaciones, las proteínas fijadoras del invento específicamente reaccionan con un epítopo que es igual al epítopo reconocido por AbA-AbZ, H3-H6, L1-L6, L8-L21, o L23-L25, tales que éstas inhiben de manera competitiva la fijación de AbA-AbZ, H3-H6, L1-L6, L8-L21, o L23-L25 a IL-21R humano. Tales proteínas fijadoras pueden determinarse en ensayos de fijación competitivos. En una realización, la constante de asociación (K_A) de estas proteínas fijadoras para IL-21R humano es al menos 10^5 $M^{-1}s^{-1}$. La afinidad de fijación puede determinarse utilizando técnicas conocidas en el estado de la técnica, tales como ELISA, tecnología de biosensor (tal como análisis de interacción bioespecífica) u otras técnicas, incluyendo aquellas descritas en esta solicitud.

Se contempla que las proteínas fijadoras del invento pueden fijan otras proteínas, tales como, por ejemplo, proteínas recombinantes que comprenden toda o una porción de IL-21R.

Alguien con experiencia en el estado de la técnica reconocerá que las proteínas fijadoras divulgadas pueden utilizarse para detectar, medir, y/o inhibir proteínas que difieren un poco de IL-21R. Por ejemplo, estas proteínas pueden ser homólogas de IL-21R. Se espera que las proteínas fijadoras anti-IL-21R fijen proteínas que comprenden una secuencia la cual es al menos aproximadamente 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, o más idéntica a cualquier secuencia de al menos 100, 80, 60, 40, o 20 aminoácidos adyacentes en la secuencia divulgada SEQ ID NOs:2 o 4.

Además de análisis de homología de secuencias, se puede realizar mapeo de epítopos (ver, ej., *Epitope Mapping Protocols* (1996) Morris ed., Humano Press), y análisis de estructuras secundarias y terciarias para identificar estructuras 3D específicas asumidas por las proteínas fijadoras actualmente divulgadas y sus complejos con antígenos. Tales métodos incluyen, pero no se limitan a, cristalografía de rayos-X (Engstom (1974) *Biochem. Exp. Biol.* 11:7-13) y modelación computarizada de representaciones virtuales de las presentes proteínas fijadoras (Fletterick (1986) *Computer Graphics and Molecular Modeling, in Current Communications in Molecular Biology,* Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, NY).

La divulgación proporciona un método para obtener proteínas fijadoras anti-IL-21R. El método comprende crear proteínas fijadoras con secuencias V_H y/o V_L que son alteradas a partir de aquellas secuencias divulgadas en la presente. Tales proteínas fijadoras pueden ser derivadas por alguien con experiencia utilizando técnicas conocidas en el estado de la técnica. Por ejemplo, sustituciones, supresiones, o adiciones de aminoácidos pueden introducirse en las regiones FR y/o CDR. Los cambios FR usualmente son diseñados para mejorar la estabilidad e inmunogenicidad de la proteína fijadora, mientras los cambios CDR típicamente son diseñados para aumentar la afinidad de una proteína fijadora para su antígeno. Los cambios que aumentan afinidad pueden probarse alterando una o mas secuencias CDR y midiendo la afinidad de la proteína fijadora para su blanco (ver, ej., *Antibody Engineering* (2nd ed. 1995) Borrebaeck ed., Oxford University Press).

Las proteínas fijadoras cuyas secuencias CDR no difieren sustancialmente de aquellas divulgadas en o incluidas dentro las secuencias de SEQ ID NOs:5-195, 213-229, y 239-248 son incluidas dentro del alcance de este invento. Típicamente, tal diferencia no sustancial involucra la sustitución de un aminoácido con un aminoácido con carga, hidrofobicidad, o características esteroquímicas similares. Sustituciones más drásticas en regiones FR, en contaste con regiones CDR, también pueden realizarse siempre y cuando no afecten de manera adversa (ej., reducir afinidad en más del 50% en comparación con la proteína fijadora no sustituida) las propiedades de fijación de la proteína fijadora. Sustituciones pueden ser realizadas para incluir la proteína fijadora desde la línea germinal o estabilizar su sitio de fijación de antígenos.

Las modificaciones conservadoras producirán moléculas con características funcionales y químicas similares a aquellas de la molécula a partir de la cual tales modificaciones son hechas. En contraste, modificaciones substanciales en las características funcionales y/o químicas de las

moléculas pueden lograrse seleccionando sustituciones en la secuencia aminoácida que difieran significativamente en su efecto sobre mantener (1) la estructura del esqueleto molecular en el área de la sustitución, por ejemplo, como una conformación de lamina o helicoidal, (2) la carga o hidrofobicidad de la molécula en el sitio objetivo, y/o (3) el tamaño de la molécula.

Por ejemplo, una " sustitución amino acida conservadora " puede involucrar una sustitución de un residuo aminoácido nativo con un residuo normativo tal que exista algo o nada de efecto sobre la polaridad o carga del residuo aminoácido en esa posición (ver, ej., MacLennan (1998) *Acta Physiol. Scand. Suppl.* 643:55-67; Sasaki (1998) *Adv. Biophys.* 35:1-24).

Las sustituciones aminoácidas deseadas (ya sean conservadoras o no conservadoras) pueden determinarse por aquellos con experiencia en el estado de la técnica en el momento que tales sustituciones sean deseadas. Por ejemplo, sustituciones aminoácidas pueden utilizarse para identificar residuos importantes de la secuencia de la molécula, o para aumentar o disminuir la afinidad de las moléculas descrita en la presente. Sustituciones aminoácidas de ejemplo incluyen, pero no se limitan a, aquellas divulgadas en la **Tabla 3.**

Tabla 3: Sustituciones Aminoácidas de Ejemplo

Residuos Originales	**Sustituciones de Ejemplo**	**Sustituciones Más conservadoras**
Ala (A)	Val, Leu, He	Val
Arg (R)	Lys, Gin, Asn	Lys
Asn (N)	Gin	Gin
Asp (D)	Glu	Glu
Cys (C)	Ser, Ala	Ser
Gin (Q)	Asn	Asn
Gly (G)	Pro,Ala	Ala
His (H)	Asn, Gin, Lys, Arg	Arg
He (I)	Leu, Val, Met, Ala, Phe, Norleucina	Leu
Leu (L)	Norleucina, He, Val, Met, Ala, Phe	He

Lys (K)	Arg, ácido1,4-diamino-butírico, Gin, Asn	Arg
Met (M)	Leu, Phe, He	Leu
Phe (F)	Leu, Val, He, Ala, Tyr	Leu
Pro (P)	Ala, Gly	Gly
Ser (S)	Thr, Ala, Cys	Thr
Thr (T)	Ser	Ser
Trp (W)	Tyr, Phe	Tyr
Tyr(Y)	Trp, Phe, Thr, Ser	Phe
Val (V)	He, Met, Leu, Phe, Ala, Norleucina	Leu

En ciertas realizaciones, las sustituciones aminoácidas conservadoras también incluyen residuos aminoácidos de ocurrencia no natural que típicamente se incorporan mediante síntesis química de péptidos preferiblemente a síntesis en sistemas biológicos.

En una realización, el método para preparar un dominio variante VH comprende agregar, suprimir, o sustituir al menos un aminoácido en los dominios VH divulgados, o combinar los dominios VH divulgados con al menos un dominio VL, y probar el dominio VH variante para fijación de IL-21R o modulación de actividad IL-21R/IL-21.

Un método análogo para preparar un dominio VL variante comprende agregar, suprimir o sustituir al menos un aminoácido en los dominios VL divulgados, o combinar los dominios VL divulgados con al menos un dominio VH, y probar el dominio VL variante para fijación de IL-21R o modulación de actividad IL-21R.

En algunas realizaciones alternativas, las proteínas fijadoras anti-IL-21R pueden enlazarse a una proteína (ej., albúmina) mediante métodos químicos de eslabonamiento o recombinantes. Las proteínas fijadoras divulgadas también pueden enlazarse a una variedad de polímeros no proteinaceos (ej., glicol de polietileno, glicol de polipropileno, o polioxialquilenos) en las formas divulgadas en las Patentes estadounidenses Nos. 4,640,835; 4,496,689; 4,301,144; 4,670,417; 4,791,192; y 4,179,337. Las proteínas fijadoras pueden modificarse de manera

química mediante conjugación covalente a un polímero, por ejemplo, para aumentar su vida media en circulación sanguínea. Los polímeros de ejemplo y métodos de fijación se muestran en las Patentes estadounidenses Nos. 4,766,106; 4,179,337; 4,495,285; y 4,609,546.

Las proteínas fijadoras divulgadas pueden modificarse para alterar su glicosilación; es decir, al menos una fracción de carbohidrato puede suprimirse o agregarse a la proteína fijadora. La supresión o adición de sitios de glicosilación puede realizarse cambiando la secuencia aminoácida para suprimir o crear sitios consenso de glicosilación, los cuales son bien conocidos en el estado de la técnica. Otro medio de agregar fracciones de carbohidrato es el acoplamiento químico o enzimático de glicósidos a residuos aminoácidos de la proteína fijadora, ej., anticuerpo (ver, ej., Publicación de Solicitud Internacional No. WO 87/05330 y Aplin (1981) *CRC Crit. Rev. Biochem.* 22:259-306). El retiro de fracciones de carbohidrato también puede lograrse de manera química o enzimática (ver, ej., Hakimuddin (1987) *Arch. Biochem. Biophys.* 259:52; Edge (1981) *Anal. Biochem.* 118:131; y Thotakura (1987) *Meth. Enzymol.* 138:350). La modificación de estructuras de carbohidratos puede ser preferible puesto que los cambios aminoácidos en el dominio Fc pueden aumentar la inmunogenicidad de una composición farmacéutica (ver, ej., Publicación de Solicitud Internacional No. WO 2008/052030). Para moléculas de inmunoglobulina se ha demostrado que la fijación de carbohidrato N-enlazado a Asn-297 del dominio CH2 es crítica para actividad ADCC. Su retiro enzimaticamente o a través de mutación del sitio consenso N-enlazado resulta en poca o nada actividad ADCC. En glicoproteínas, los carbohidratos pueden fijarse al átomo de nitrógeno de amida en la cadena secundaria de una asparagina en un motivo de tripéptido Asn-X-Thr/Ser. Este tipo de glicosilación, denominada glicosilación N-ligada, comienza en el retículo endoplasmático (ER) con la adición de múltiples monosacáridos a un fosfato de dolicol para formar un complejo de carbohidrato ramificado de 14 residuos. Este complejo de carbohidrato luego es transferido a la proteína por el complejo de oligosacariltransferasa (OST). Antes que la glicoproteína deja el lúmen del ER, tres moléculas de glucosa son retiradas desde el oligosacarido de 14-residuos. Las enzimas ER glucosidasa I, ER glucosidasa II y ER manosidasa están involucradas en procesamiento ER. Subsiguientemente, los polipéptidos son transportados al complejo Golgi, donde las cadenas de azucares N-enlazadas son modificadas en muchas formas diferentes. En los compartimientos cis y medio del complejo de Golgi, el complejo original N-enlazado de 14 sacáridos ordenado a través del retiro de residuos de manosa (Man) y alargado a través de la

adición de residuos de N-acetilglucosamina (GlcNac) y/o fucosa (Fuc). Las diferentes formas de carbohidratos N-enlazados generalmente tienen en común un núcleo pentasacárido que consta de tres residuos de manosa y dos de N-acetilglucosamina. Finalmente, en el trans Golgi, otros residuos GlcNac pueden agregarse, seguido por galactosa (Gal) y un ácido sialico terminal (Sial). El procesamiento de carbohidratos en el complejo Golgi se denomina "glicosilación terminal" para distinguir ésta de "glicosilación central," la cual tiene lugar en el ER. Las unidades finales de carbohidratos complejos pueden asumir muchas formas y estructuras, algunas de las cuales tienen dos, tres o cuatro ramificaciones (denominadas biantenario, triantenario, o tetraantenario). Un número de enzimas están involucradas en procesamiento Golgi, incluyendo manosidasas Golgi LA, IB y IC, GlcNAc-transferasa I, manosidasa II Golgi, GlcNAc-transferasa LI, galactosil transferasa y sialil transferasa.

Métodos para alterar la región constante de una proteína fijadora (tal como, por ejemplo, la región constante de un anticuerpo) son conocidos en el estado de la técnica. Proteínas fijadoras con función alterada (ej., afinidad alterada para un ligando efector tal como FcR sobre una célula o el componente C1 de complemento) pueden producirse reemplazando al menos un residuo aminoácido en la porción constante con un residuo diferente (ver, ej., Publicación de Solicitud Europea No. EP 0 388 151 y Patentes estadounidenses Nos. 5,624,821 y 5,648,260). Podrían describirse tipos similares de alteraciones que, si se aplican a una especie murina u otra especie de proteína fijadora, reducirían o eliminarían funciones similares.

Por ejemplo, es posible alterar la afinidad de una región Fc de una proteína fijadora (ej., IgG, tal como una IgG humana) para FcR (ej., Fc gamma Rl) o Clq. La afinidad puede alterarse reemplazando al menos un residuo específico con al menos un residuo con una funcionalidad apropiada sobre su cadena secundaria, o introduciendo un grupo funcional cargado, tal como glutamato o asparteato, o quizás un residuo no polar aromático tal como fenilalanina, tirosina, triptofano o alanina (ver, ej., Patente estadounidense No. 5,624,821).

Por ejemplo, reemplazar el residuo 297 (asparagina) con alanina en la región constante IgG, significativamente inhibe el reclutamiento de células efectoras, mientras se reduce solo levemente (aproximadamente tres veces más débil) la afinidad para Clq (ver, ej., Patente estadounidense No. 5,624,821). La numeración de los residuos en la cadena pesada es aquella del índice EU (ver Kabat (1991) *supra).* Esta alteración destruye el sitio de glicosilación, y se cree que la presencia de carbohidratos se requiere para fijación a los receptores Fc. Se cree que

cualquier otra sustitución en este sitio la cual destruye el sitio de glicosilación produce una disminución similar en actividad lítica. Otras sustituciones aminoácidas, ej., cambiar cualquiera de los residuos 318 (Glu), 320 (Lys) y 322 (Lys), a Ala, también son conocidas por abolir la fijación Clq a la región Fc de anticuerpo IgG (ver, ej., Patente estadounidense No. 5,624,821).

Se pueden producir proteínas fijadoras modificadas las cuales tienen una interacción reducida con un receptor Fc. Por ejemplo, se ha mostrado que en IgG_3 humano, el cual se fija al receptor Fc gamma Rl humano, cambiar Leu 235 a Glu destruye su interacción con el receptor. Las mutaciones sobre sitios adyacentes o próximos en la región de enlace de bisagra de una proteína fijadora (ej., reemplazando los residuos 234, 235 y 237 con Ala) también pueden utilizarse para afectar la afinidad de proteínas fijadoras para el receptor Fc gamma Rl. La numeración de los residuos en la cadena pesada se basa en el índice EU (ver Kabat (1991) *supra).* Por lo tanto, en algunas realizaciones del invento, la región Fc de las proteínas fijadoras del invento contiene al menos una mutación de región constante, tal como, por ejemplo, cambiar Leu a Ala en la posición 234 (L234A), cambiar Leu a Ala en la posición 235 (L235A), y/o cambiar Gly a Ala en la posición 237 (G237A). En una realización, la región Fc de la proteína fijadora contiene dos mutaciones de regiones constantes, L234A y G237A (es decir, "doble-mutante" o "DM"). En otra realización, la región Fc de la proteína fijadora contiene tres mutaciones de regiones constantes, L234A, L235A, y G237A (es decir, "triple-mutante" o "TM"). Por ejemplo, una región constante IgG humana triple-mutante es divulgada en SEQ ID NO: 196.

Métodos adicionales para alterar la actividad lítica de una proteína fijadora, por ejemplo, alterando al menos un aminoácido en la región N-terminal del dominio CH2, se describen en la Publicación de Solicitud Internacional No. WO 94/029351 y la Patente estadounidense No. 5,624,821.

Las proteínas fijadoras del invento pueden etiquetarse con un rotulo detectable o funcional. Estos rótulos incluyen radiorótulos (ej., ^{131}I y ^{99}Tc), rótulos enzimáticos (ej., peroxidasa de rábano y fosfatasa alcalina), y otras fracciones químicas (ej., biotina).

El invento también puede caracterizar una proteína fijadora aislada o fragmento fijador de antígenos de la misma que se fija a IL-21R, en particular, IL-21R humano. En ciertas realizaciones, la proteína fijadora anti-IL-21R puede tener al menos una de las siguientes características: (1) ser una proteína fijadora de especificidad única o monoclonal; (2) ser una

proteína fijadora humana; (3) ser una proteína fijadora generada *in vitro*; (4) ser una proteína fijadora generada *in vivo* (ej., sistema murino transgénico); (5) inhibe la fijación de LL-21 a IL-21R; (6) ser un IgG1; (7) fijarse a IL-21R humano con una constante de asociación de al menos aproximadamente 10^5 $M^{-1}s^{-1}$; (8) fijarse a IL-21R murino con una constante de asociación de al menos aproximadamente $5x10^4$ $M^{-1}s^{-1}$; (9) fijarse a IL-21R humano con una constante de disociación de aproximadamente 10^{-3} (1/s) o menos; (10) fijarse a IL-21R murino con una constante de disociación de aproximadamente 10^{-3} (1/s) o menos; (11) inhibe proliferación mediada por IL-21R murino de células BaF3 de expresión de IL-21R humano con un IC50 de 1.75 nM aproximadamente o menos; (12) inhibe proliferación mediada por IL-21R murino de células BaF3 de expresión de IL-21R murino con un IC50 de aproximadamente 0.5 nM o menos; (13) inhibe la proliferación mediada por IL-21R humano de células TF1 de expresión de IL-21R humano con un IC50 de 14.0 nM aproximadamente o menos; (14) inhibe proliferación mediada por IL-21 de células B humanas primarias con un IC50 de 1.9 nM aproximadamente o menos; (15) inhibe proliferación mediada por IL-21 de células T CD4+ humanas primarias con un IC50 de 1.5 nM aproximadamente o menos; y (16) inhibe proliferación mediada por IL-21 de células T CD4+ primarias murinas con un IC50 de aproximadamente 5.0 nM o menos.

Alguien con experiencia en el estado de la técnica apreciará que las modificaciones descritas anteriormente no son exhaustivas, y que muchas otras modificaciones serán obvias para alguien con experiencia a la luz de las enseñanzas de la presente divulgación.

Ácido Nucleicos, Sistemas de Clonación y Expresión

La divulgación proporciona ácido nucleicos aislados que codifican las proteínas fijadoras divulgadas. Los ácidos nucleicos puede comprender ADN o ARN, y pueden ser sintéticos (completamente o parcialmente) o recombinantes (completamente o parcialmente). La referencia a una secuencia nucleótida como se divulgó en la presente incluye una molécula de ADN con la secuencia especificada, e incluye una molécula de ARN con la secuencia especificada en la cual U es sustituida por T.

También se contemplan ácidos nucleicos que comprenden una secuencia codificadora para una, dos, o tres CDRs, un dominio VH, un dominio VL, o combinaciones de los mismos, como se divulgan en la presente, o una secuencia sustancialmente idéntica a la misma (ej., una secuencia al menos 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o más

idéntica a la misma, o la cual es capaz de hibridización bajo condiciones severas a las secuencias).

En una realización, los ácidos nucleicos aislados tienen secuencias nucleótidas que codifican regiones variables de cadena pesada y cadena liviana de una proteína fijadora anti-IL-21R que comprenden al menos una CDR elegida a partir de las secuencias aminoácidas de SEQ ID NOs: 163-195, o una secuencia que codifica una CDR la cual difiere por uno o dos o tres o cuatro aminoácidos de las secuencias descritas en la presente.

El ácido nucleico puede codificar solamente la región variable de cadena liviana o de cadena pesada, o puede codificar una región constante de cadena liviana o pesada de proteína fijadora, operativamente ligada a la región variable correspondiente. En una realización, la región variable de cadena liviana es ligada a una región constante elegida a partir de una región constante kappa o lambda. La región constante de cadena liviana también puede ser un tipo kappa o lambda humana. En otra realización, la región variable de cadena pesada es ligada a una región constante de cadena pesada de un isotipo de proteína fijadora elegido a partir de IgG (ej., IgGl, IgG2, IgG3, y IgG4), IgM, IgAl, IgA2, IgD, y IgE. La región constante de cadena pesada puede ser un isotipo IgG (ej., un IgGl).

Las composiciones de ácido nucleico del presente invento, mientras a menudo estén en la secuencia nativa (de ADNc o AND genómico o mezclas de los mismos), excepto para sitios de restricción modificados y similares, pueden mutarse según técnicas estándares para proporcionar secuencias génicas. Para secuencias codificadoras, estas mutaciones, pueden afectar las secuencias aminoácidas como se desee. En particular, se contemplan secuencias nucleótidas sustancialmente idénticas o derivadas a partir secuencias nativas V, D, J, constantes, *switch*, y otras de estas secuencias descritas en la presente (donde "derivada" indica que una secuencia es idéntica o modificada a partir de otra secuencia).

En una realización, el ácido nucleico difiere (ej., difiere por sustitución, inserción, o supresión) de aquel de las secuencias proporcionadas (ej., en al menos uno pero menos de 10, 20, 30, o 40 nucleótidos; al menos uno pero menos de 1%, 5%, 10% o 20% de los nucleótidos en el ácido nucleico en cuestión). Si es necesario para este análisis la secuencias se deben alinear para máxima homología. Secuencias fuera de espira provenientes de eliminaciones, inserciones, o no correspondencias, se consideran diferencias. La diferencia puede ser en un nucleótido que codifica un residuo no esencial, o la diferencia puede ser una sustitución conservadora.

La divulgación también proporciona constructos de ácidos nucleicos en la forma de plásmidos, vectores, y casetes de trascripción o expresión, los cuales comprenden al menos un ácido nucleico como se describe en la presente.

La divulgación además proporciona una célula hospedera que comprende al menos un constructo de ácido nucleico descrito en la presente.

También se proporciona un método para preparar una proteína codificada a partir de un ácido nucleico que comprende la(s) secuencia(s) descrita(s) en la presente. El método comprende cultivar células hospederas bajo condiciones apropiadas de manera que expresen la proteína a partir del ácido nucleico. Después de expresión y producción, el dominio VH o VL, o miembro de fijación específica, puede aislarse y/o purificarse utilizando cualquier técnica apropiada, y luego utilizarse según lo apropiado. El método también puede incluir los pasos de fusionar un ácido nucleico que codifica un scFv con ácidos nucleicos que codifican una porción Fc de una proteína fijadora, y expresar el ácido nucleico fusionado en una célula. El método también puede incluir un paso de inclusión de la línea germinal.

Los fragmentos fijadores de antígenos, dominios VH y/o VL, y moléculas y vectores de ácido nucleico codificadores pueden aislarse y/o purificarse a partir de su ambiente natural, en forma sustancialmente pura u homóloga, o, en el caso de ácidos nucleicos, libres o sustancialmente libres de ácidos nucleicos o genes de origen diferente de la secuencia que codifica un polipéptido con la función requerida.

Los sistemas para clonar y expresar polipéptidos en una variedad de células hospederas son conocidos en el estado de la técnica. Las células apropiadas para producir proteínas fijadoras se describen en, por ejemplo, Fernandez (1999) *Gene Expression systems,* Academic Press. En resumen, las células hospederas apropiadas incluyen células mamíferas, células de insecto, células vegetales, células de levadura, o células procarióticas, ej., *E. coli.* Células mamíferas disponibles en el estado de la técnica para expresión de polipéptidos heterólogos incluyen líneas celulares linfocíticas (ej., NSO), células HEK293, células de ovario de hamster chino (CHO), células COS, células HeLa, células de riñón de hamster bebé, oocitos, y células de un animal transgénico, ej., células mamarias epiteliales. En otras realizaciones, los ácidos nucleicos que codifican las proteínas fijadoras del invento son colocados bajo el control de un promotor específico de tejidos (ej., un promotor específico mamario) y las proteínas fijadoras son producidas en animales transgénicos. Por ejemplo, las proteínas fijadoras son secretadas en la

leche del animal transgénico, tal como una vaca, cerdo, caballo, oveja, cabra, o roedor transgénicos.

Vectores apropiados pueden elegirse o construirse para contener secuencias reguladoras apropiadas, incluyendo secuencias promotoras, secuencias de terminación, secuencias de poliadenilación, secuencias aumentadoras (*enhacer*), genes marcadores, y otras secuencias. Los vectores también pueden contener un esqueleto plásmido o viral. Para detalles, ver, ej., Sambrook , *Molecular Cloning: A Laboratory Manual* (2nd ed. 1989) Cold Spring Harbor Laboratory Press. Muchas técnicas establecidas utilizadas con vectores, incluyendo la manipulación, preparación, mutagénesis, secuenciamiento, y transfección de ADN, se describen, ej., en Current Protocols en Molecular Biology (2nd ed. 1992) Ausubel eds., John Wiley & Sons.

Un aspecto adicional de la divulgación proporciona un método de introducir el ácido nucleico en una célula hospedera. Para células eucarioticas, las técnicas apropiadas de transfección pueden incluir fosfato de calcio, DEAE-Dextrana, electroporación, transfección mediada por liposomas, y transducción utilizando un retrovirus u otro virus, ej., vacuna o baculovirus. Para células bacterianas, las técnicas apropiadas pueden incluir transformación de cloruro de calcio, electroporación, y transfección utilizando bacteriofagos. La introducción de ADN puede ser seguida por un método de selección (ej., resistencia farmacológica) para seleccionar células que contienen el ácido nucleico.

Usos de Proteínas fijadoras Anti-IL-21R

Proteínas fijadoras anti-IL-21R que actúan como antagonistas a IL-21R pueden utilizarse para regular al menos una respuesta inmune mediada por IL-21R, tal como una o mas de proliferación celular, expresión o secreción de citoquinas, secreción de quimioquinas, y actividad citolítica, de Células T, Células B, células NK, macrófagos, o células sinoviales. Por consiguiente, las proteínas fijadoras del invento pueden utilizarse para inhibir la actividad (ej., proliferación, diferenciación, y/o superviviencia) de una célula inmune o hematopoyética (ej., una célula de linaje mieloide, linfoide, o eritroide, o células precursoras de las mismas), y, por lo tanto, pueden utilizarse para tratar una variedad de trastornos inmunes y trastornos hiperproliferativos de la sangre. Ejemplos de trastornos inmunes que pueden tratarse incluyen, pero no se limitan a, rechazo de trasplantes, enfermedad de injerto versus huésped (GVHD),

alergias (por ejemplo, alergia atópica), y enfermedades autoinmunes. Enfermedades autoinmunes incluyen diabetes mellitus, trastornos artríticos (incluyendo artritis reumatoide, artritis reumatoide juvenil, osteoartritis, artritis psoriática, y espondilitis alquilosante), espondiloartropatía, esclerosis múltiple, encefalomielitis, miastenia grave, lupus eritematoso sistémico, lupus eritematoso cutáneo, tiroiditis autoinmune, dermatitis (incluyendo dermatitis atópica y dermatitis eczematosa), soriasis, Síndrome de Sjogren, LBD (incluyendo enfermedad de Crohn y colitis ulcerativa), asma (incluyendo asma intrinseca y asma alérgica), escleroderma y vasculitis.

Terapia de Combinación

En una realización, una composición farmacéutica que comprende al menos una proteína fijadora anti-IL-21R y al menos un agente terapéutico se administra en terapia de combinación. La terapia es útil para tratar condiciones o trastornos patológicos, tales como trastornos inmunes e inflamatorios. El término "en combinación" en este contexto significa que la composición de proteína fijadora y el agente terapéutico son dados sustancialmente contemporáneamente, cualquiera simultáneamente o secuencialmente. Si se suministran secuencialmente, al comienzo de la administración del segundo compuesto, el primero de los dos compuestos puede aún ser detectable en concentraciones efectivas en el sitio de tratamiento.

Por ejemplo, la terapia de combinación puede incluir al menos una proteína fijadora anti-IL-21R, tal como, por ejemplo, un anticuerpo anti-IL-21R, coformulado con, y/o coadministrado con, al menos un agente terapéutico adicional. Los agentes adicionales pueden incluir al menos un inhibidor de citoquina, inhibidor de factor de crecimiento, inmunosupresor, agente anti-inflamatorio, inhibidor metabólico, inhibidor enzimático, agente citotóxico, y/o agente citostático. Tales terapias de combinación pueden ventajosamente utilizar dosificaciones menores de los agentes terapéuticos administrados, evitando así posibles toxicidades o complicaciones asociadas con las diferentes monoterapias. Además, los agentes terapéuticos divulgados en la presente actúan sobre rutas que difieren de la ruta IL-21/IL-21R, y por lo tanto se espera que aumenten y/o sinergizen con los efectos de las proteínas fijadoras anti-IL-21R.

Otro aspecto del presente invento se relaciona con kits para realizar la administración combinada de proteínas fijadoras anti-IL-21R con otros agentes terapéuticos. En una realización, el kit comprende al menos una proteína fijadora anti-IL-21R formulada en un vehículo

farmacéutico, y al menos un agente terapéutico, formulado según sea apropiado en una o más preparaciones farmacéuticas separadas.

Usos Diagnósticos

Las proteínas fijadoras del invento también pueden utilizarse para detectar la presencia de muestras biológicas de IL-21R. Al relacionar la presencia o nivel de estas proteínas con una condición médica, alguien con experiencia en el estado de la técnica puede diagnosticar la condición médica asociada. Por ejemplo, las células T estimuladas aumentan su expresión de IL-21R, y una concentración inusualmente alta de células T expresando IL-21R en articulaciones puede indicar inflamación de articulaciones y posible artritis. Las condiciones médicas ilustrativas que pueden diagnosticarse por las proteínas fijadoras de este invento incluyen, pero no se limitan a, esclerosis múltiple, artritis reumatoide, y rechazo de trasplantes.

Los métodos de detección basados en proteínas fijadoras, tales como aquellos comúnmente utilizados para anticuerpos, son bien conocidos en el estado de la técnica, e incluyen ELISA, radioinmunoensayos, ensayos inmunoblot, ensayos Western blot, citometría de flujo, inmunofluorescencia, inmunoprecipitación, y otras técnicas relacionadas. Las proteínas fijadoras pueden proporcionarse en un kit diagnóstico que incorpora al menos uno de estos procedimientos para detectar IL-21R. El kit puede contener otros componentes, embalaje, instrucciones, reactivos y/o otro material para ayudar en la detección de la proteína y uso del kit.

Las proteínas fijadoras pueden modificarse con marcadores detectables, incluyendo grupos de ligandos (ej., biotina), fluoroforos, cromoforos, radioisótopos, reactivos densos de electrones, o enzimas. Las enzimas son detectadas por su actividad. Por ejemplo, la peroxidasa de rábano es detectada por su capacidad para convertir tetrametilbenzidina (TMB) en un pigmento azul, cuantificable con un espectrofotómetro. Otros socios fijadores apropiados incluyen biotina y avidina, IgG y proteína A, y otros pares receptor-ligando conocidos en el estado de la técnica.

Las proteínas fijadoras también pueden enlazarse funcionalmente (ej., por acoplamiento químico, fusión genética, asociación no covalente, o de otra manera) a al menos otra entidad molecular, tal como otra proteína fijadora (ej., una proteína fijadora biespecífica o multiespecífica), toxinas, radioisótopos, agente citotóxicos o citostáticos, entre otros. Otras

permutaciones y posibilidades son manifiestas a aquellos con experiencia común en el estado de la técnica, y se consideran equivalentes dentro del alcance de este invento.

Composiciones Farmacéuticas y Métodos de Administración

Ciertas realizaciones del invento incluyen composiciones que comprenden las proteínas fijadoras divulgadas. Las composiciones pueden ser apropiadas para uso farmacéutico y administración a pacientes. Las composiciones comprenden una proteína fijadora del presente invento y un excipiente farmacéutico. Como se utiliza en la presente, "excipiente farmacéutico" incluye solventes, medios de dispersión, recubrimientos, agentes antibacterianos y antimicóticos, agentes isotónicos y retardantes de absorción, etc., que sean compatible con administración farmacéutica. El uso de estos agentes para sustancias farmacéuticamente activas es bien conocido en el estado de la técnica. Las composiciones también pueden contener otros compuestos activos que proporcionan funciones terapéuticas complementarias, adicionales o mejoradas. Las composiciones farmacéuticas también pueden ser incluidas en un recipiente, paquete, o dispensador, junto con instrucciones para administración.

Una composición farmacéutica del invento es formulada para ser compatible con su ruta de administración pretendida. Los métodos para lograr la administración son conocidos por aquellos con experiencia común en el estado de la técnica. Las composiciones farmacéuticas se pueden administrar de manera tópica u oral, o ser capaces de transmisión a través de membranas mucosas. Ejemplos de administración de una composición farmacéutica incluyen ingestión oral o inhalación. La administración también puede ser intravenosa, intraperitoneal, intramuscular, de intracavidad, subcutánea, cutánea, o transdermal.

Las soluciones o suspensiones utilizadas para aplicación intradérmica o subcutánea típicamente incluyen al menos uno de los siguientes componentes: un diluyente estéril tal como agua, solución salina, aceites fijos, glicol de polietileno, glicerina, glicol de propileno, u otro solvente sintético; los agentes antibacterianos tales como alcohol bencílico o parabenos metílicos; antioxidantes tales como ácido ascórbico o bisulfito de sodio; agentes quelantes tales como ácido etilendiaminotetraacético (EDTA); buffers tales como acetato, citrato, o fosfato; y agentes de tonicidad tales como cloruro de sodio o dextrosa. El pH puede ajustarse con ácidos o bases mediante métodos conocidos en el estado de la técnica. Tales preparaciones pueden ser contenidas en ampollas, jeringas desechables, o frasquitos de dosis múltiples.

Las soluciones o suspensiones utilizadas para administración intravenosa incluyen un vehículo tal como solución salina fisiológica, agua bacteriostática, CREMOPHOR EL® (BASF Corp., Ludwigshafen, Germany), etanol, o poliol. En todos los casos, la composición debe ser estéril y fluida para facilitar su uso en jeringa. La fluidez adecuada a menudo puede obtenerse utilizando lecitina o surfactantes. La composición también debe ser estable bajo las condiciones de fabricación y almacenamiento. La prevención de microorganismos puede lograrse con agentes antibacterianos y antimicóticos, ej., parabenos, clorobutanol, fenol, ácido ascórbico, timerosal, etc. En muchos casos, agentes isotónicos (azúcar), polialcoholes (ej., manitol y sorbitol), o cloruro de sodio pueden incluirse en la composición. La absorción prolongada de la composición puede realizarse agregando un agente que retarde la absorción, ej., monoestearato de aluminio o gelatina.

Las composiciones orales incluyen un diluyente inerte o vehículo comestible. Para el propósito de administración oral, las proteínas fijadoras pueden incorporarse con excipientes y colocarse, ej., en tabletas, grageas, cápsulas, o gelatina. Agentes fijadores farmacéuticamente compatibles o materiales adyuvantes pueden incluirse en la composición. Las composiciones pueden contener (1) un aglomerante tal como celulosa microcristalina, goma tragacanto o gelatina; (2) un excipiente tal como almidón o lactosa, (3) un agente desintegrante tal como ácido algínico, Primogel, o almidón de maíz; (4) un lubricante tal como estearato de magnesio; (5) un glidante tal como dióxido de sílicio coloidal; y/o (6) un agente endulzante o saborizante.

La composición también puede administrarse mediante una ruta tansmucosal o transdérmica. Por ejemplo, las proteínas fijadoras que comprenden una porción Fc (por ejemplo, un anticuerpo) pueden ser capaces de atravesar membranas mucosas en el intestino, boca, o pulmones (vía receptores Fc). La administración transmucosal puede realizarse mediante tabletas, atomizadores nasales, inhaladores, o supositorios. La administración transdérmica puede realizarse con una composición que contiene ungüentos, bálsamos, geles, o cremas conocidos en el estado de la técnica. Para administración transmucosal o transdérmica, se utilizan penetrantes apropiados para la barrera a ser permeada. Para administración por inhalación, las proteínas fijadoras pueden liberarse en un atomizador de aerosol desde un recipiente presurizado o dispensador, el cual contiene un propulsor (ej., líquido o gas), o un nebulizador.

En ciertas realizaciones, las proteínas fijadoras de este invento se preparan con vehículos para proteger las proteínas fijadoras contra rápida eliminación desde el cuerpo. Los polímeros biodegradables (ej., vinil acetato de etileno, polianhidridos, ácido poliglicólico, colágeno, poliortoésteres, y ácido poliláctico) son a menudo utilizados. Métodos para la preparación de tales formulaciones son conocidos por aquellos con experiencia en el estado de la técnica. Las suspensiones liposomales pueden utilizarse como vehículos farmacéuticamente aceptables también. Los liposomas pueden prepararse según métodos establecidos conocidos en el estado de la técnica (ver, ej., Patente estadounidense No. 4,522,811).

Las proteínas fijadoras o composiciones de proteínas fijadoras del invento son administradas en cantidades terapéuticamente efectivas como se describió. Las cantidades terapéuticamente efectivas pueden variar con la edad del sujeto, condición, sexo, y severidad de la condición médica. Las dosificaciones apropiadas pueden determinarse por un médico con base en indicaciones clínicas. Las proteínas fijadoras o composiciones pueden ser suministradas como una dosis en bolo para maximizar los niveles circulantes de proteínas fijadoras durante el mayor de tiempo. También puede utilizarse infusión continua.

Como se utiliza en la presente, el término "sujeto" incluye animales humanos y no humanos. Los sujetos pueden incluir un paciente humano con un trastorno caracterizado por células que expresan LL-21R, ej., una célula cancerigena o una célula inmune. El término "animales no humanos" del invento incluye todos los vertebrados, tales como primates no humanos, ovejas, perros, vacas, pollos, anfibios, reptiles, etc.

Ejemplos de rangos de dosificación que pueden administrarse a un sujeto pueden ser elegidos a partir de: 1 μg/kg a 20 mg/kg, 1 μg /kg a 10 mg/kg, 1 μg /kg a 1 mg/kg, 10 μg /kg a 1 mg/kg, 10 μg /kg a 100 μg /kg, 100 μg /kg a 1 mg/kg, 250 μg /kg a 2 mg/kg, 250 μg /kg a 1 mg/kg, 500 μg /kg a 2 mg/kg, 500 μg /kg a 1 mg/kg, 1 mg/kg a 2 mg/kg, 1 mg/kg a 5 mg/kg, 5 mg/kg a 10 mg/kg, 10 mg/kg a 20 mg/kg, 15 mg/kg a 20 mg/kg, 10 mg/kg a 25 mg/kg, 15 mg/kg a 25 mg/kg, 20 mg/kg a 25 mg/kg, y 20 mg/kg a 30 mg/kg (o más). Estas dosificaciones pueden administrarse diariamente, semanal, bisemanal, mensual, o menos frecuentemente, por ejemplo, bianual, dependiendo de la dosificación, método de administración, trastorno o síntomas a ser tratados, y características individuales del sujeto.

En ciertas circunstancias, puede ser ventajoso formular composiciones en forma de unidad de dosificación para facilidad de administración y uniformidad de dosificación. Forma de

unidad de dosificación como se utiliza en la presente se refiere a unidades físicamente discretas apropiadas para el paciente. Cada unidad de dosificación contiene una cantidad predeterminada de proteína fijadora calculada para producir un efecto terapéutico en asociación con el vehículo. La unidad de dosificación depende de las características de la proteína fijadora y el efecto terapéutico particular a ser logrado.

La toxicidad y eficacia terapéutica de la composición puede determinarse mediante procedimientos farmacéuticos estándares en cultivos celulares o animales experimentales, ej., determinando el LD50 (la dosis letal a 50% de la población) y el ED50 (la dosis terapéuticamente efectiva en 50% de la población). La proporción de dosis entre efectos tóxicos y terapéuticos es el índice terapéutico y se puede expresar como la proporción LD_{50}/ED_{50} Las proteínas fijadoras que exhiben grandes índices terapéuticos puede ser menos tóxicas y/o más efectivas terapéuticamente.

Los datos obtenidos a partir de los ensayos de cultivos celulares y estudios animales pueden utilizarse para formular un rango de dosificación en humanos. La dosificación de estos compuestos puede estar dentro del rango de concentraciones circulantes de proteína fijadora en la sangre, la cual incluye un ED50 con poca o nada de toxicidad. La dosificación puede variar dentro de este rango dependiendo de la forma de composición de dosificación empleada y la ruta de administración. Para cualquier proteína fijadora utilizada en el presente invento, la dosis terapéuticamente efectiva puede estimarse inicialmente utilizando ensayos de cultivos celulares. Una dosis puede formularse en modelos animales para lograr un rango de concentración circulante de plasma que incluye el IC50 (es decir, la concentración de proteína fijadora que logra una inhibición máxima media de síntomas). Los efectos de cualquier dosificación particular pueden monitorearse mediante un bioensayo apropiado. Ejemplos de bioensayos apropiados incluyen ensayos de replicación de ADN, ensayos basados en trascripción, ensayos de expresión de genes, ensayos de fijación de IL-21/IL-21R, y otros ensayos inmunológicos.

Los contenidos completos de todas las referencias, solicitudes de patentes, y patentes citadas a lo largo de esta solicitud se incorporan en la presente como referencia.

EJEMPLOS

El invento será ilustrado adicionalmente en los siguientes ejemplos no limitantes. Estos Ejemplos son divulgados para ayudar en el entendimiento del invento pero no pretenden limitar su alcance en forma alguna. Los ejemplos no incluyen descripciones detalladas de métodos convencionales que serían bien conocidos por aquellos con experiencia común en el estado de la técnica.

Ejemplo 1: Generación de Proteínas Fijadoras mediante Expresión en fago

El clon precursor de scFv 18A5, descrito en la Patente estadounidense No. 7,495,085 (incorporada en la presente como referencia), fue obtenido a partir de la biblioteca scFv CS humana mediante métodos estándares de expresión en fago, utilizando células BaF3 que expresan IL-21R humano como una diana en los rounds 1 y 3 y proteína de fusión IL-21 R-Fc biotinilada como diana en el segundo round.

Ejemplo 2: Construcción de Bibliotecas

Las bibliotecas de expresión en fago se basaron en el 18A5 scFv precursor, utilizando un vector pCANTAB6 en el cual el scFv se fusionó en su extremo 3' al gen III intacto. Varias secuencias CDR3 fueron derivadas utilizando técnicas bien conocidas en el estado de la técnica.

Dos bloques traslapantes de seis codones consecutivos fueron aleatorizados en la CDR3 del V_H y el V_L, produciendo un total de cuatro bibliotecas: H3B1, H3B2, L3B1, y L3B2. Las siguientes identifican las secuencias nucleótidas y aminoácidas, respectivamente: IL-21R: 18A5 V_HCDR3 [SEQ ID NOs:199 y 200]; H3B1 (tamaño de biblioteca $1.40x10^9$) [SEQ ID NOs:201 y 202]; H3B2 (tamaño de biblioteca $1.00x10^9$) [SEQ ID NOs:203 y 204]; IL-21R: 18A5 V_LCDR3 [SEQ ID NOs:205 y 206]; L3B1 (tamaño de biblioteca $9.00x10^9$) [SEQ ID NOs:207 y 208]; L3B2 (tamaño de biblioteca $6.40x10^9$) [SEQ ID NOs:209 y 210].

Ejemplo 3: Selección de Fagos

Todos los derivados de 18A5 fueron aislados a partir de las bibliotecas scFv anteriores mediante la selección de fagos capaz de fijarse en fase de solución a proteínas de fusión His-Flags de dominio extracelular de IL-21R humano biotinilado ("biotina-mIL-21R-H/F") y proteínas de fusión His-Flags de dominio extracelular de IL-21R murino bitonilado ("biotina-mIL-21R-H/F") ; todos los procedimientos y técnicas relacionados con la selección son bien

conocidos por alguien con experiencia en el estado de la técnica. Un total de 27 scFv anti-IL-21R fueron aislados mediante procedimientos de selección de fagos.

Ejemplo 4: Tamizaje de bibliotecas

Proteínas fijadoras resultantes en formato scFv fueron elegidas con base en su capacidad para competir con 18A5 precursor en formato IgGl humano para fijar a biotina-hIL-21R-H/F y biotina-mIL-21R-H/F, para prevenir la proliferación dependiente de IL-21 de líneas celulares genéticamente modificadas expresando IL-21R humano y la proliferación dependiente de IL-21 de líneas celulares genéticamente modificadas expresando IL-21R murino.

Ejemplo 4.1: Preparación de Material Periplásmico Crudo ("peri-preps") para Uso en Ensayos de Tamizaje

Dependiendo de las condiciones de crecimiento utilizadas, scFv puede expresarse en solución en el espacio periplásmico bacteriano. Para inducir liberación de scFv en el periplasma, placas de 96 pozos profundos conteniendo 990 µl de medio 2xTY con 0.1% glucosa / 100 µg/ml ampicilina fueron inoculadas a partir de soluciones estándar de glicerol descongelado (un clon por pozo) utilizando QPix2 Colony picker (Genetix, New Milton, Inglaterra) y cultivadas a 37°C (999 rpm) durante aproximadamente 4 horas. Los cultivos fueron inducidos con LPTG a una concentración final de 0.02 mM y desarrollados durante la noche a 30°C (999 rpm). Los contenidos del periplasma bacteriano (peri-preps) fueron liberados mediante choque osmótico. Brevemente, las placas fueron centrifugadas y los pellets fueron resuspendidos en 150 µl de buffer periplásmico TES (50 mM Tris / HCl (pH 8.0) / 1 mM EDTA (pH 8.0) / 20% Sacarosa), seguido por la adición de 150 µl 1:5 TES:agua, e incubadas sobre hielo durante 30 min. Las placas fueron centrifugadas y el sobrenadante conteniendo ScFv fue cosechado.

Ejemplo 4.2: Ensayo de Competencia de Epítopos para Tamizaje de Bibliotecas

Aquellos scFv capaces de competir con el anticuerpo precursor 18A5 por fijación a IL-21R murino o humano fueron identificados a partir de fagos seleccionados mediante un ensayo homogéneo de fluorescencia de tiempo resuelto (HTRF®). El anticuerpo precursor 18A5 purificado se modificó de manera covalente con criptado, un derivado de europio, según las instrucciones en un Kit de Rotulación de Criptado HTRF® (Cisbio, Bedford, MA). Se

prepararon peri-preps de scFv como se describió anteriormente y se diluyeron a 0.25% en PBS /0.4 M fluoruro de potasio /0.1% BSA (HTRF® buffer); luego 10 µl de la mezcla fue transferida a los pozos de placas negras de 384 pozos poco profundos (Nunc, Rochester, NY). Luego 5 µl de anticuerpo 18A5 conjugado por criptado se agregaron a cada pozo, seguido por 5 µl de una mezcla de una dilución 1:800 de estreptavidina-conjugado XL665 (Cisbio), y cualquiera 4.8 nM biotina-hIL-21R-H/F o 40 nM biotina-mIL-21R-H/F. La mezcla fue incubada durante 2 horas a temperatura ambiente, y se realizaron mediciones de fluorescencia de tiempo resuelto (excitación 340 nm, emisión 615 nm y 665 nm). La competencia con anticuerpo 18A5 fue indicada por una reducción en la relación de corrección de fondo de emisión a 665 nm a emisión a 615 nm.

Un total de 8280 scFv aislados independientemente fueron clasificados en el ensayo HTRF® utilizando IL-21R-H/F humanos, y 376 clones capaces de competir con el anticuerpo precursor 18A5 por fijación a biotina-hIL-21R-H/F fueron elegidos para análisis adicional.

Ejemplo 5: Análisis de Secuencias de ADN de scFv derivados de Bibliotecas - Amplificación PCR de Regiones ScFv para Análisis de Secuenciamiento

Se determinaron las secuencias de 287 variantes scFv derivadas de 18A5 con fijación IL-21R mejorada sobre aquella de la molécula 18A5 scFv precursora, y se determinaron las frecuencias de los aminoácidos encontrados en cada posición. Entre los clones V_H, solamente dos (1.7%) fueron derivados desde una biblioteca en la cual los últimos seis aminoácidos de, ej., SEQ ID NO: 169 (en el extremo C de V_H CDR3) fueron mutados, mientras el resto fueron derivados desde una biblioteca en la cual los primeros seis aminoácidos de, ej., SEQ ID NO: 169 fueron mutados. Entre los clones V_L, solamente un clon (0.6%) fue derivado desde una biblioteca en la cual los últimos seis aminoácidos de, ej., SEQ LD NO: 170 (en el extremo C de V_L CDR3) fueron mutados, mientras la mayoría fueron derivados desde alteraciones en los primeros seis aminoácidos de, ej., SEQ LD NO: 170 (en el extremo N de V_L CDR3).

La amplificación PCR de scFvs se realizó utilizando ADN polimerasa VENT® (New England Biolabs, Ispwich, MA) en buffer NH (Epicentre Biotechnologies, Madison, WI) según las instrucciones del fabricante. Cinco µl de una dilución 1:10 de un cultivo bacteriano de fase estacionaria se utilizo como el modelo para un volumen de reacción final de 20 µl. Las condiciones de los ciclos utilizadas fueron un inicio caliente de 2 minutos a 94°C, 30 ciclos de desnaturalización a 94°C (1 min), alineamiento de cebadores a 55°C (2 min) y extensión a 72°C

(1 min), seguido por una extensión final a 72°C (5 min). Los productos PCR fueron verificados mediante electroforesis de gel de agarosa y limpiados con ExoI/SAP (fosfatasa alcalina de camarón) antes de secuenciamiento con el cebador M13rev.

Los SEQ ID NOs para las secuencias CDR3 de veintisiete scFv están listados en la **Tabla 4.** Estos scFv fueron elegidos para análisis adicional con base en los ensayos descritos en el ejemplo 6.

Tabla 4: SEQ ID NOs de CDR3 de scFv derivados de 18A5 Mejorado

scFv	CDR3 Pesada	CDR3 Liviana
H3	165	170
H4	166	170
H5	167	170
H6	168	170
L1	169	171
L2	169	172
L3	169	173
L4	169	174
L5	169	175
L6	169	176
L8	169	177
L9	169	178
L10	169	179
L11	169	180
L12	169	181
L13	169	182
L14	169	183
L15	169	184
L16	169	185
L17	169	186
L18	169	187

L19	169	188
L20	169	189
L21	169	190
L23	169	191
L24	169	192
L25	169	193

Ejemplo 6: Caracterización de scFv derivados de bibliotecas

ejemplo 6.1: Preparación de scFv Purificado para Análisis Cuantitativo

Los clones scFv individuales fueron purificados sobre una escala pequeña mediante purificación Ni-NTA sobre columnas PHYTLP® (PhyNexus, Inc., San Jose, CA). Colonias sencillas fueron cultivadas en 20 ml de medio 2xTY con 0.1% glucosa / 100 µg/ml ampicilina en tubos cónicos de 50-ml a fase logarítmica suave a 37°C con agitación a 250 rpm. La expresión de scFv fue inducida con LPTG a una concentración final de 0.02 mM, y los cultivos fueron desarrollados durante la noche a 30°C. Las células fueron cosechadas mediante centrifugación y resuspendidas en 1 ml de buffer periplásmico TES, seguido por la adición de 1 ml 1:5 TES:agua e incubación sobre hielo durante 30 min. Los lisados fueron centrifugados a 3200 rpm durante 10 min a 4°C, y los sobrenadantes fueron llevados a 2 mM $MgCl_2$. Los scFv fueron capturados sobre Ni-NTA PHYTLPs® (PhyNexus) mediante pasaje repetido del sobrenadante sobre el PHYTIPs® sobre un robot manejador de líquidos Perkin Elmer (Waltham, MA) MINITRAK™ LX, seguido por lavado en buffer de lavado IMAC y elución con 200 mM imidazol, 50 mM Tris, 300 mM NaCl (pH 8.0). El buffer fue intercambiado a PBS mediante tres ciclos de dilución 1:10 en PBS, seguido por concentración sobre una placa de filtro de corte en un peso molecular 10.000 (Placa de ultrafiltración de 96 pozos Millipore MULTISCREEN® ULTRACEL™, Billerica, MA). Las muestras de cuantificaron utilizando un Kit Micro BCA™ (Thermo Fisher Scientific Inc., Rockford, IL) utilizando el estándar de albúmina de suero bovino del fabricante.

Ejemplo 6.2: Ensayos para Proliferación dependiente de IL-21 de Células Sobreexpresando IL-21R Humano o Murino

Los ensayos de inhibición se realizaron con proteínas fijadoras derivadas de 18A5 (scFv y IgG) para medir su bloqueo de proliferación dependiente de IL-21 de líneas celulares

transfectadas con IL-21R humano o murino. Células BaF3, una línea celular B pre-murina, y células TF1, una línea celular eritroide humana, fueron transducidas de manera retroviral con IL-21R y proteína fluorescente verde (GFP). Las células se cultivaron de manera rutinaria en RPMI 1640 con 10% FBS, 2 mM L-glutamina, 100 U/ml penicilina, 100 µg/ml estreptomicina, y 0.00036% β-mercaptoetanol. Cultivos de células IL-21R-BaF3 humanas fueron suplementadas con 50 ng/ml de IL-21 humano; cultivos de células IL-21R-BaF3 murinas fueron suplementados con 10 U/ml de IL-3; cultivos de células TF1 fueron suplementados con 50 ng/ml de GM-CSF. Antes del ensayo, las células fueron lavadas 3X en medio de ensayo careciendo de factores de crecimiento de suplemento, resuspendidas en medio de ensayo, e incubadas a 37°C/ 5% CO2 durante 6 horas. Para preparar placas de ensayo, 5000 células se agregaron a los 60 pozos centrales de una placa de cultivo de tejidos blancos de fondo plano de 96 pozos (Thermo Scientific, Waltham, MA) en un volumen de 55 µl/pozo. Se prepararon muestras de prueba scFv o IgG diluyendo la muestra concentrada en medio de ensayo y diluyendo serialmente tres veces. Se agregaron 25 µl de las muestras de proteínas fijadoras a las células y se incubó durante 30 min a 37°C/5% CO_2. Se agregó 20 µl de medio de ensayo conteniendo 100-400 pg/ml de IL-21 humano o murino a cada pozo, y las células se incubaron durante 48 horas adicionales. La proliferación se midió llevando las placas a temperatura ambiente, agregando 15 µl/pozo de CELLTITER-GLO®, incubando durante 10 min a temperatura ambiente, y midiendo luminiscencia con un lector de placas Perkin Elmer ENVISION™. Después de purificación con puntas PhyNexus IMAC, 108 scFv se probaron para neutralización de proliferación dependiente de IL-21 de todas las tres líneas celulares. Todos mostraron neutralización de células IL-21R BaF3, con IC50s menores o iguales a aquel del 18A5 scFv precursor. Un subgrupo mostró fuerte neutralización de proliferación de células IL-21R-BaF3 murinas y IL-21R-TF1 humanas. Los datos de los 27 clones más potentes se muestran en las **FIGs. 1-3,** y se resumen en la **Tabla 5.**

Las **FIGs. 1-3** muestran la neutralización de proliferación por scFv de células IL-21R-BaF3 humanas **(FIGs. 1a-c);** células IL-21R-TF1 humanas **(FIGs. 2a-c);** y células IL-21R-BaF3 murinas **(FIGs. 3a-c).** Las células se mezclaron con el scFv indicado e incubaron con 100 pg/ml **(FIGs. 1-2)** o 400 pg/ml **(FIG. 3)** de IL-21 humano.

Ejemplo 6.3: Ensayo de Competencia Cuantitativa de Epítopos

Los scFv purificados se analizaron cuantitativamente para su capacidad para competir con el anticuerpo precursor 18A5 por fijación a IL-21R murino en un ensayo inmunosorbente ligado a enzima (ELISA). El anticuerpo precursor 18A5 fue recubierto durante la noche a 4°C sobre placas Nunc MAXISORP® de 96 pozos a una concentración de 0.75 μg/ml en PBS. Las placas fueron lavadas 3X utilizando PBS, y luego bloqueadas durante 3 horas a temperatura ambiente en PBS /1% BSA /0.05% Tween-20. Los scFv se mezclaron con 36 nM mIL-21R-H/F biotinilado y se incubaron durante 10 min a temperatura ambiente. Las placas bloqueadas fueron lavadas 3X con PBS, y 50 μl/pozo de mezclas de scFv / IL-21R se transfirieron a las placas apropiadas e incubaron durante 1 hora a temperatura ambiente. Las placas fueron lavadas 5X con PBS antes de la adición de una dilución 1:6000 de anticuerpo secundario de peroxidasa de rábano-estreptavidina conjugada (Southern Biotech, Birmingham, AL) para detectar mIL-21R-H/F biotinilado fijado. Luego las placas fueron incubadas durante 1 hora a temperatura ambiente y lavadas 7X con PBS. La señal fue desarrollada utilizando 3,3',5,5'-tetrametilbenzidina (TMB), la reacción fue detenida con H_2SO_4, y la absorbancia fue leída a 450 nm sobre un lector de placas ENVISION™ (Perkin Elmer). 108 scFv purificados mediante puntas PhyNexus LMAC se probaron en este ensayo, y la mayoría compitió con el anticuerpo precursor 18A5 por fijación a IL-21R-H/F murino biotinilado con IC50s menores que aquel del 18A5 scFv precursor. Los datos de competencia de epítopo para los 27 clones con las mayores potencias en ensayos de neutralización basados en células se muestran en las **FIGs. 4a-c** y se resumen en la **Tabla 5.**

Tabla 5: Neutralización de IL-21R Humano y Murino en Ensayos Basados en Células y Competencia con Anticuerpo 18A5 por Fijación IL-21R Murino

	IC_{50} (nM) en Ensayo de neutralización de IL-21R -BaF3 humano	**IC_{50} (nM) en ensayo de neutralización n IL-21R -TF1 humano**	**IC_{50} (nM) en Ensayo de Neutralización IL-21R-BaF3 humano**	**IC_{50} (nM) en Competencia de Epítopos IL-21R murinos**
H3	7.7	98.1	25.68	14
H4	3.8	9.3	nd	nd

H5	7.9	178.5	53.66	17
H6	13.8	150 (estimado)	nd	13
Ll	3.7	55 (estimado)	28.77	7
L2	3.1	37.5	2.41	5
L3	27.6	7 (estimado)	13.78	100
L4	2.1	60 (estimado)	nd	8
L5	2.1	20 (estimado)	38.52	7
L6	5.9	150 (estimado)	0.29	4
L8	4.1	51.3	715.27	7
L9	2.8	27.7	3.61	7
L10	15.1	7	nd	40
Lll	4.2	38.3	10.03	6
L12	2.6	54.9	87.77	8
L13	11.0	257.4	1.25	7
L14	3.2	33.5	6.49	6
L15	3.3	30.3	53.49	14
L16	3.7	67.4	4.71	6
L17	1.6	60.3	2.66	12
L18	3.7	54.4	8.34	8
L19	4.5	35.3	13.59	15
L20	3.1	57.5	15.39	5
L21	9.4	100 (estimado)	162.27	28
L23	1.5	15.3	nd	12
L24	2.4	18.7	3.73	6
L25	3.7	33.1	15.55	9

Ejemplo 7: Conversión de 18A5 IgG Precursor a Secuencia de Línea Germinal

Los siguientes quince scFv con regiones VL modificadas, junto con e 18A5 VL precursor de línea germina (ver a continuación), fueron elegidos para conversión a IgG lambda humana de longitud completa: L2, L3, L6, L9, Ll1, L13, L14, L16, L17, L18, L19, L20, L23, L24, y L25.

Cuatro scFv con regiones VH modificadas, H3, H4, H5, y H6, junto con el 18A5 VH precursor de línea germinal (ver a continuación) fueron elegidos para conversión a IgGl humano de longitud completa.

Las secuencias amino VH y VL del anticuerpo precursor 18A5 fueron modificadas de manera que las regiones que las secuencias fuera de las regiones CDR correspondieron con las secuencias de línea germinal humana más cercanas: DP67/VH4B+ (VBASE_AA:WAP00CEAZ_1) y JH1/JH4/JH5 en el caso de la V_H, y DPL16/VL3.1 (VBASE_AA:WAP00CEMI_1) en el caso de la V_L. Las modificaciones fueron hechas mediante una combinación de síntesis génica en GENEART (Regensburg, Germany) y cambios dirigidos a sitio introducidos por PCR. Además, las secuencias fueron optimizadas por codon para expresión en células mamíferas por GENEART utilizando sus métodos propietarios. Una alineación de las secuencias 18A5 precursores y las secuencias 18A5 corregidas por línea germinal se muestra a continuación:

Comparación de cadena pesada 18A5

18A5 VH Precursor

CAGGTGCAGCTGCAGGAGTCGGGCCCAGGACTGGTGAAGACTTCGGAGACCCTGTC
CCTCACCTGCGCTGTCTCTGGTTACTCCATCAGCAGTGGTTACTACTGGGGCTGGATC
CGGCAGCCCCCAGGGAAGGGGTTGGAGTGGATTGGGAGTATCTCTCATACTGGGAA
CACCTACTACAACCCGCCCCTCAAGAGTCGCGTCACCATATCAGTAGACACGTCCAA
GAACCAGTTCTCCCTGAAACTGAGCTCTGTGACCGCCGCAGACACGGCCGTGTATTA
CTGTGCGCGAGGTGGGGGAATTAGCAGGCCGGAGTACTGGGGCAAAGGCACCCTGG
TCACC GTCTCGAGT (SEQ ID NO:5)

18A5 VH de línea germinal

CAGGTGCAGCTGCAGGAGTCTGGCCCTGGCCTGGTGAAGCCTTCCGAGACCCTGTCT
CTGACCTGTGCCGTGTCCGGCTACTCCATCTCCTCCGGCTACTACTGGGGCTGGATC
AGACAGCCTCCTGGCAAGGGCCTGGAGTGGATCGGCTCCATCTCTCACACCGGCAA
CACCTACTACAACCCCCCTCTGAAGTCCAGAGTGACCATCTCCGTGGACACCTCCAA
GAACCAGTTCTCCCTGAAGCTGTCCTCTGTGACCGCTGCCGATACCGCCGTGTACTA

CTGTGCCAGAGGCGGCGGAATCTCCAGACCTGAGTACTGGGGCCAGGGCACCCTGG
TGACCGTGTCCTCT (SEQ ID NO:7)

18A5 V_H de línea germinal x 18A5 V_H Precursor

```
                .         .         .         .         .
  1 CAGGTGCAGCTGCAGGAGTCTGGCCCTGGCCTGGTGAAGCCTTCCGAGAC 50
    |||||||||||||||||||| ||||| || ||||||||| |||| |||||
  1 CAGGTGCAGCTGCAGGAGTCGGGCCCAGGACTGGTGAAGACTTCGGAGAC 50
                .         .         .         .         .

 51 CCTGTCTCTGACCTGTGCCGTGTCCGGCTACTCCATCTCCTCCGGCTACT 100
    |||||| || ||||| || || || || ||||||||| |   || ||||
 51 CCTGTCCCTCACcTGCGCTGTCTCTGGTTACTCCATCAGCAGTGGTTACT 100
                .         .         .         .         .

101 ACTGGGGCTGGATCAGACAGCCTCCTGGCAAGGGCCTGGAGTGGATCGGC 150
    |||||||||||||| | ||||| || || ||||| ||||||||||  ||
101 ACTGGGGCTGGATCCGGCAGCCCCCAGGGAAGGGGTTGGAGTGGATTGGG 150
                .         .         .         .         .

151 TCCATCTCTCACACCGGCAACACCTACTACAACCCCCCTCTGAAGTCCAG 200
       |||||||| || || ||||||||||||||||| || || |||    |
151 AGTATCTCTCATACTGGGAACACCTACTACAACCCGCCCCTCAAGAGTCG 200
                .         .         .         .         .

201 AGTGACCATCTCCGTGGACACCTCCAAGAACCAGTTCTCCCTGAAGCTGT 250
     || ||||| || || ||||| ||||||||||||||||||||||||| |||
201 CGTCACCATATCAGTAGACACGTCCAAGAACCAGTTCTCCCTGAAACTGA 250
                .         .         .         .         .

251 CCTCTGTGACCGCTGCCGATACCGCCGTGTACTACTGTGCCAGAGGCGGC 300
     |||||||||||| || || || |||||||| |||||||  |||| ||
251 GCTCTGTGACCGCCGCAGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGCGAGGTGGG 300
                .         .         .         .         .

301 GGAATCTCCAGACCTGAGTACTGGGGCCAGGGCACCCTGGTGACCGTGTC 350
    |||||   ||| || |||||||||||| | |||||||||| ||||| ||
301 GGAATTAGCAGGCCGGAGTACTGGGGCAAAGGCACCCTGGTCACCGTCTC 350


351 CTCT 354    (SEQ ID NO:7)
      |
351 GAGT 354    (SEQ ID NO:5)
```

Comparación 18A5 de Cadena Liviana

18A5 V_L Precursor

```
TCTTCTGAGCTGACTCAGGACCCTCCTGTGTCTGTGGCCTTGGGACAGACAGTCACGCTCACATGCCAA
GGAGACAGCCTCAGAACCTATTATGCAAGCTGGTACCAGCAGAAGTCAGGACAGGCCCCTATACTTCTC
CTCTATGGTAAACACAAACGGCCCTCAGGGATCCCAGACCGCTTCTCTGGCTCCACCTCAGGAGACACA
GCTTCCTTGACCATCACTGGGGCTCAGGCGGAAGACGAGGCTGACTATTACTGTAACTCCCGGGACTCC
AGTGGCAACCCCCATGTTCTGTTCGGCGGAGGGACCCAGCTCACCGTTTTA  (SEQ ID NO:9)
```

18A5 V_L de línea germinal

```
TCCTCTGAGCTGACCCAGGATCCTGCTGTGTCTGTGGCCCTGGGCCAGACCGTCAGGATCACCTGCCAG
GGCGATAGCCTGAGAACCTACTACGCCTCCTGGTATCAGCAGAAGCCTGGACAGGCCCCTGTGCTGGTG
ATCTACGGCAAGCACAAGAGGCCATCCGGCATCCCTGACAGATTCTCCGGCTCCTCCTCTGGCAATACC
GCCTCCCTGACCATCACCGGCGCTCAGGCCGAGGACGAGGCCGACTACTACTGTAACTCCCGGGACTCT
TCCGGCAACCCTCACGTGCTGTTTGGCGGCGGAACCCAGCTGACCGTGCTA  (SEQ ID NO:11)
```

18A5 V_L de línea germinal x 18A5 V_L Precursor

```
                .         .         .         .         .
  1 TCCTCTGAGCTGACCCAGGATCCTGCTGTGTCTGTGGCCCTGGGCCAGAC 50
    || |||||||||| ||||| ||| |||||||||||||| |||| |||||
  1 TCTTCTGAGCTGACTCAGGACCCTCCTGTGTCTGTGGCCTTGGGACAGAC 50
                .         .         .         .         .

 51 CGTCAGGATCACCTGCCAGGGCGATAGCCTGAGAACCTACTACGCCTCCT 100
     |||| | |||| ||||| || || ||||| |||||||| || ||   ||
 51 AGTCACGCTCACATGCCAAGGAGACAGCCTCAGAACCTATTATGCAAGCT 100
                .         .         .         .         .

101 GGTATCAGCAGAAGCCTGGACAGGCCCCTGTGCTGGTGATCTACGGCAAG 150
    |||| ||||||||| | |||||||||||| | ||  |  |||| || ||
101 GGTACCAGCAGAAGTCAGGACAGGCCCCTATACTTCTCCTCTATGGTAAA 150
                .         .         .         .         .

151 CACAAGAGGCCATCCGGCATCCCTGACAGATTCTCCGGCTCCTCCTCTGG 200
    |||||  |||| || || ||||| ||| | ||||| |||||| |||| ||
151 CACAAACGGCCCTCAGGGATCCCAGACCGCTTCTCTGGCTCCACCTCAGG 200
                .         .         .         .         .

201 CAATACCGCCTCCCTGACCATCACCGGCGCTCAGGCCGAGGACGAGGCCG 250
      | || || ||| |||||||||| || |||||||| || |||||||| |
201 AGACACAGCTTCCTTGACCATCACTGGGGCTCAGGCGGAAGACGAGGCTG 250
                .         .         .         .         .

251 ACTACTACTGTAACTCCCGGGACTCTTCCGGCAACCCTCACGTGCTGTTT 300
    |||| ||||||||||||||||||||    |||||||| || || |||||
251 ACTATTACTGTAACTCCCGGGACTCCAGTGGCAACCCCCATGTTCTGTTC 300
                .         .

301 GGCGGCGGAACCCAGCTGACCGTGCTA 327   (SEQ ID NO:11)
    ||||| || |||||||| |||||  ||
301 GGCGGAGGGACCCAGCTCACCGTTTTA 327   (SEQ ID NO:9)
```

Secuencia V_H corregida por línea germinal (los cambios desde la secuencia precursora están en negrilla y subrayados):

(SEQ ID NO:6) precursor QVQLQESGPGLVKTSETLSLTCAVSGYSISSGYYWGWIRQPPGKG

(SEQ ID NO:8) de línea germinal QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCAVSGYSISSGYYWGWIRQPPGKG

Precursor LEWIGSISHTGNTYYNPPLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARGGGISRP

De línea germinal LEWIGSISHTGNTYYNPPLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARGGGISRP

Precursor EYWGKGTLVTVSS

De línea germinal EYWG**Q**GTLVTVSS

Secuencia V_L corregida por línea germinal (los cambios desde la secuencia precursora están en negrilla y subrayados):

(SEQ ID NO: 10) precursor SSELTQDPPVSVALGQTVTLTCQGDSLRTYYASWYQQKSGQAPIL

(SEQ ID NO: 12) de línea germinal SSELTQDP**A**VSVALGQTV**RI**TCQGDSLRTYYASWYQQK**P**GQAP**V**L

Precursor LLYGKHKRPSGIPDRFSGSTSGDTASLTITGAQAEDEADYYCNSRDSSGNPHVLFGGGTQ

De línea germinal **VI**YGKHKRPSGIPDRFSGS**S**SG**N**TASLTITGAQAEDEADYYCNSRDSSGNPHVLFGGGTQ

Precursor LTVL

Línea Germinal LTVL

Ejemplo 8: Conversión de scFv derivado de Bibliotecas a IgG

Las regiones CDR3 de los dominios V_L y V_H de derivados de 18A5 scFv mejorados fueron amplificadas por PCR y subclonadas en los marcos V_L y V_H corregidos por línea germinal del 18A5 precursor mediante el siguiente método. Un fragmento PCR incluyendo la porción 5' del gen 18A5 V_H de línea germinal fue generado mediante amplificación del plásmido pSMED2_OP18A5G_huIgGl con cebadores BssHII_II_V_H_F (5'-GCTTGGCGCGCACTCTCAGGTGCAGCTGCAGGAG-3') [SEQ ID NO:230] y GV_H_R_for_BssHII (5'-TCAGGGAGAACTGGTTCTTGG-3') [SEQ LD NO:231]. Un fragmento PCR incluyendo la porción 3' del gen V_H a partir del clon scFv VH3 mejorado fue amplificado con los siguientes cebadores: G_V_H_F_for_SalI (5'-TCCAAGAACCAGTTCTCCCTG-3') [SEQ LD NO:232] y scFv_SalI_V_H_R (5' -GCG ACGTCG AC AGG ACTCACC ACTCG AG ACGGTGACCAGGGTGCC- 3') [SEQ ID NO:233]. Los fragmentos fueron purificados por gel, y luego los dos se mezclaron y amplificaron con los grupos de cebadores externos BssHII_G_V_H_F y SalI_V_H_R para generar un fragmento de gen V_H completo. Este fue digerido con BssHII y SalI y ligado en un vector que contiene las regiones constantes de IgGl humano con una región de bisagra triple mutante. El inserto fue reamplificado con BssHII_II_V_H_F y un nuevo cebador (Sal_V_H_R_RJ (5'-GCGACGTCGACAGGACTCACCACTCGAGACGG-3')) [SEQ ID NO:234] con el objeto de

alterar la secuencia codificadora del segmento VH J para conformar la secuencia de línea germinal JH1, y ligar en un vector de región constante triple mutante IgGl.

Los genes VL desde scFv mejorados fueron subclonados mediante un método similar. Un fragmento PCR incluyendo la porción 5' del gen 18A5 VL fue generado mediante amplificación del plásmido pSMEN2_OP18A5G_hu Lambda con cebadores BssHn_II_V_L_F (5'-GCTTGGCGCGCACTCTTCCTCTGAGCTGACCCAG-3') [SEQ LD NO:235] y scFv_V_L_R_for_BssHII (5'-GCCTGAGCCCCAGTGATGGTCA-3') [SEQ LD NO:236]. Los fragmentos PCR incluyendo las porciones 3' de los genes VL desde clones scFv mejorados fueron amplificados con los cebadores GV_L_F_for_XbaI (5'-ACCGCCTCCCTGACCATCAC-3') [SEQ ID NO:237] y scFv_XbaI_V_L_R (5' - GCGCCGTCTAGAGTTATTCTACTC ACCTAAAACGGTGAGCTGGGTCCC TC-3') [SEQ ID NO:238]. Fragmentos fueron purificados por gel, y luego los fragmentos correspondientes a las porciones 5' y 3' de cada gen fueron mezclados y amplificados con el grupo de cebadores externo BssHLI_II_VL_F y scFv_XbaI_V_L_R para generar fragmentos completos de genes VL. Estos fueron digeridos con BssHII y Xbal, y ligados en un vector conteniendo las regiones constantes del gen humano lambda.

Ejemplo 9: Caracterización de IgG Mejorado In Vitro

Ejemplo 9.1: Expresión a Escala Pequeña Temporal de Proteínas Fijadoras

Los clones fueron probados para función en formato completo IgG después de expresión temporal en células cos-7. Cada cadena liviana en el grupo de 16 secuencias de prueba 18A5 V_L precursor de línea germinal y L2, L3, L6, L9, Lll, L13, L14, L16, L17, L18, L19, L20, L23, L24 y L25) fue unida con cada cadena pesada en el grupo de cinco secuencias de prueba (H3, H4, H5, y H6, junto con V_H_P, el dominio 18A5 VH precursor de línea germinal). Cada plásmido en el par (1.4 μg) fue combinado con el reactivo de transfección *TRANSIT*® (Minis, Madison, WI) según instrucciones del fabricante, y se agregaron complejos de reactivo ADN:*TRANSYT*® a monocapas de células cos-7 creciendo en medio Eagle de Dulbecco Modificado (DMEM) /10% suero bovino fetal inactivado por calor/penicilina/estreptomicina/2 mM L-glutamina en placas de tejidos tisulares de 6 pozos. Después de 24 horas, el medio fue cambiado a medio libre de suero (R1CD1), y fue luego recolectado 48 horas más tarde. Las proteínas fijadoras, ahora que

comprenden anticuerpos de longitud completa, fueron cuantificadas mediante ELISA de IgG anti-humano.

Ejemplo 9.2: Actividad de IgG Anti-IL-21R en Neutralización de Proliferación Celular

Los 80 IgGs expresados temporalmente en medio acondicionado libre de suero se probaron para actividad en ensayos de proliferación dependiente de IL-21 en tres líneas celulares como se describió anteriormente: (1) células IL-21R-BaF3 humanas, (2) células IL-21R- BaF3 murinas, y (3) células IL-21R- TF1 humanas. Todos los 80 pares mostraron neutralización de proliferación de células BaF3 que expresan IL-21R humano, y todos los pares excepto aquellos involucrando VH4 mostraron neutralización de células TF1 de expresión de IL-21R humano (no se muestran datos). Todos los 80 pares también mostraron neutralización de proliferación de células BaF3 de expresión de IL-21R murino, con la neutralización más fuerte generalmente asociada con cadenas livianas unidas con la cadena pesada precursor y la neutralización más débil generalmente asociada con la cadena pesada VH4 (no se muestran datos). Los datos de neutralización a partir de las 21 combinaciones IgG más potentes (AbA-AbU) se muestran en la **FIG. 5,** y los datos IC_{50} se resumen en la **Tabla 6.**

Se realizaron ensayos sobre células IL-21R- BaF3 humanas con 100 pg/ml de IL-21 humano **(FIGs. 5a-c),** células IL-21R- TF1 humanas con 100 pg/ml de IL-21 humano **(FIGs. 5d-f),** o células IL-21 R- BaF3 murinas con 400 pg/ml de IL-21 murino **(FIGs. 5g-i).** Se agregó IL-21 a las células después de los anticuerpos indicados; la proliferación fue medida con CELLTITER-GLO® después de 48 horas. Las **FIGs. 26a-c** muestran estudios adicionales que demuestran inhibición similar en las mismas tres líneas celulares.

Ejemplo 9.3: Fijación de IgG Anti-IL-21R a IL-21R de Rata y Mono Cinomolgus Temporalmente Expresado

Un subgrupo de proteínas fijadoras se probó para fijación a subunidad común de rata, mono cinomolgus, IL-21 R humano, o IL-2R-γ humano expresada temporalmente sobre las superficies de células CHO-PA-Dukx. Las células fueron transfectadas 48 horas antes del ensayo. El día del ensayo, las células fueron lavadas suavemente 5X en PBS conteniendo 0.9 mM $CaCl_2$ y 0.45 mM $MgCl_2$ (PBS / CaMg) sobre una lavadora automatizada de placas (Titertek, Huntsville, AL), y bloqueadas durante1 hora a temperatura ambiente en PBS/CaMg /

5% leche seca no grasa. Los medios acondicionados desde IgGs anti-IL-21R temporalmente expresados fueron diluidos de manera serial en buffer bloqueador y agregados a las células en placas bloqueadas durante 1 hora a temperatura ambiente. Las células fueron lavadas 5X con PBS /CaMg y luego incubadas con peroxidasa de rábano-IgG anti-humano conjugado durante 1 hora a temperatura ambiente. Luego las células fueron lavadas 10X en PBS / CaMg y todo el buffer de lavado fue retirado. Las células fueron incubadas fueron incubadas con 100 µl de TMB hasta que la reacción de color alcanzó saturación, detenida con 100 µl de 0.18 M H_2SO_4, y leída a A450 sobre un lector de placas Perkin Elmer ENVISION™.

Todos los 21 IgGs fijados a células CHO expresando temporalmente IL-21R humano **(FIGs. 6a-c),** de rata **(FIGs. 6d-f),** o de mono cinomolgus **(FIGs. 6g-i)**. La mayoría no mostró ninguna fijación más allá del fondo de una proteína de control (cadena común gama humana γ) temporalmente expresada sobre células CHO, pero un subgrupo de IgGs (AbD, AbE, AbF, AbH, AbL, y AbM) fueron fijados más allá del fondo a 13 nM o más **(FIGs. 6j-l).** Los datos se resumen en la **Tabla 6.**

Tabla 6: Resumen de Neutralización de Actividad IL-21R Humana y Murina en Ensayos de Proliferación Celular y Fijación a IL-21R Humano, de Rata, y de Mono Cinomolgus Expresados sobre Células CHO

Proteína fijadora	**Proliferación de IL-21R - BaF3 humano IC_{50} (nM)**	**Proliferación de IL-21R - TF1 humano ICso (nM)**	**Proliferación de IL-21R - BaF3 murino ICso (nM)**	**Fijación de IL-21R humano (13 nM Ab en ELISA Celular; A450)**	**Fijación de IL-21R de Rata (13 nM Ab en ELISA Celular; A450)**	**Fijación de IL-21R de Mono cinomolgus(13 nM Ab en ELISA Celular; A450)**	**Fijación Común de Gama (13 nM Ab en ELISA Celular; A450)**
AbA	0.97	3.80	0.08	1.196	1.124	1.352	0.111
AbB	1.14	3.34	0.421	1.147	1.09	1.333	0.107
AbC	0.82	3.36	0.03	1.218	0.999	1.277	0.137
AbD	0.91	2.67	0.01	1.247	0.874	1.375	0.197
AbE	0.56	2.28	0.04	1.257	1.111	1.423	0.223

AbF	0.54	2.41	0.304	1.347	1.001	1.458	0.433
AbG	0.77	3.84	0.07	1.35	1.112	1.304	0.108
AbH	0.94	3.64	0.327	1.35	1.097	1.324	0.152
Abl	1.00	3.80	0.224	1.237	1.088	1.209	0.107
AbJ	0.65	4.60	0.4	1.217	1.261	1.273	0.126
AbK	0.98	4.00	0.079	1.364	1.175	1.338	0.108
AbL	0.68	4.25	0.227	1.454	1.257	1.514	0.219
AbM	1.08	4.22	0.125	1.197	0.78	1.45	0.224
AbN	0.50	1.59	0.435	1.214	0.702	1.497	0.136
AbO	0.52	2.91	0.065	1.107	1.101	1.358	0.108
AbP	0.75	3.48	0.03	1.308	1.03	1.313	0.112
AbQ	0.68	4.62	0.153	1.255	1.161	1.31	0.125
AbR	0.87	3.94	0.302	1.334	1.108	1.35	0.109
AbS	1.53	5.00	0.04	1.017	1.166	1.224	0.118
AbT	0.67	3.26	0.093	1.078	0.994	1.219	0.102
AbU	0.73	3.13	0.184	1.289	0.927	1.314	0.104

Ejemplo 9.4: Análisis BIACORE™ de Selectividad de Fijación de IgG Anti-IL-21R a IL-21R humano

La especificidad de fijación de un subgrupo de proteínas fijadoras anti-IL-21R temporalmente expresadas (aquí anticuerpos) fue probada sobre un instrumento de resonancia de plasmones superficiales BIACORE™ 2000. IgG anti-humano, anticuerpos de inmunoglobulina anti-murinos, y IL-21R-H/F murino fueron inmovilizados sobre un chip de carboximetil-dextrano de calidad de investigación (CM5) utilizando acoplamiento de amina estándar. La superficie del chip sensor fue activada con EDC/NHS durante 7 minutos a una tasa de flujo de 20 µl/min. La primera celda de flujo se utilizó como superficie de referencia para corregir mediante índice de refracción en volumen, efectos de matriz, y fijación no específica. Los anticuerpos de captura (7.150 unidades de resonancia (RU) de anticuerpo Fc anti-humano (Invitrogen Corporation, Carlsbad, CA) sobre la celda de flujo 2 y 7.500 RU de anticuerpo Fc anti-murino sobre la celda de flujo 3) fueron diluidos a10 µg/ml en buffer de acetato de sodio (pH 5.0) e

inyectados sobre la superficie activada. Los grupos activados restantes fueron bloqueados con 1.0 M etanolamina (pH 8.0). Los pesos moleculares del IgG anti-humano y el IgG anti-murino fueron ambos 150 kD, y el peso molecular del monómero IL-21R fue 27 kD.

Los medios acondicionados conteniendo anticuerpos anti-IL-21R y controles de anticuerpo (IL-2Rβ anti-humano murino y IL-4R anti-humano murino (R&D Systems, Minneapolis, MN); IL-13 anti-humano humano (Wyeth, Cambridge, MA)) fueron diluidos en buffer HBS/EP suplementado con 0.2% suero bovino e inyectados sobre todas las cuatro células de flujo del chip BIACORE™, capturando 500-700 (RU) de anticuerpo sobre el anticuerpo de captura apropiado de especies. Después de un periodo de lavado de 5 segundos, 50 nM soluciones de una proteína de control positivo (IL-21R-H/F murino), dos proteínas humanas relacionadas con IL-21R (IL-2Rβ humano y sIL-4R humano (R&D Systems)), o una proteína His/FLAG-rotulada no relacionada (IL-13-H/F humano), fueron inyectados sobre los anticuerpos capturados sobre el chip. Las fases asociación y disociación fueron monitoreadas durante 120 y 180 segundos, respectivamente, seguido por dos inyecciones de 5 µl de glicina (pH 1.5) para regenerar una superficie de captura completamente activa. Todos los experimentos de fijación fueron hechos a 25°C en buffer HBS/EP. Los efectos en blanco y de buffer fueron restadas para cada sensograma usando doble referenciado.

Todos los anticuerpos anti-IL-21R probados (anticuerpo 18A5 y AbA-AbU) mostraron clara fijación a IL-21R murino, pero no mostraron fijación a proteínas IL-21R relacionadas IL-2Rβ humano y IL-4R soluble humano, o a la proteína His/FLAG- rotulada no relacionada IL-13-His/FLAG humana **(FIGs. 7a-c).** Los controles indicaron que IL-2Rβ y humano IL-4R soluble humano podrían capturarse mediante anticuerpos anti-IL-2Rβ y anti-IL-4R específicos **(FIG. 7d).**

Ejemplo 9.5: Purificación de Anticuerpos Expresados Temporalmente

Siete anticuerpos (versiones triple-mutantes de IgG1 humano: AbS, AbT, AbO, AbP, y AbU; y versiones doble mutantes: AbQ y AbR) fueron temporalmente expresados en células cos-7 y purificados para análisis adicional. Además, también se prepararon tres versiones de AbT con colas IgG humanas las cuales se esperó tuvieran niveles diferentes de fijación a los receptores Fc (doble mutantes de IgGl, IgG4, y IgGl tipo silvestre). Se siguió el protocolo *TRANSIT®* descrito anteriormente, excepto que 25 µg de cada plásmido se utilizó para transfectar células en cada

uno de los ocho matraces T-175. Después de la primera cosecha de medio acondicionado, se agregó R1CD1 fresco y luego se recolecto después de 72 horas adicionales. Los medios acondicionados fueron vertidos y filtrados sobre un filtro de 0.22 μm. Los anticuerpos fueron cargados sobre resina de proteína A, eluidos con 20 mM ácido cítrico/150 mM cloruro de sodio (pH 2.5), neutralizados con Tris (pH 8.5), y dializados en PBS.

Ejemplo 9.6: Análisis BIACORE™ de Fijación de anticuerpos a IL-21R Humano y Murino

La cinética de fijación de anticuerpos anti-IL-21R a IL-21R-H/F humano y murino fue probada sobre un Instrumento de resonancia de plasmones superficiales BIACORE™. Los anticuerpos IgGs anti-humano (Invitrogen Corporation) fueron inmovilizados sobre un chip carboxi-metil-dextrana de grado de investigación (CM5) utilizando acoplamiento de amina estándar. La superficie fue activada con EDC/NHS durante 7 minutos a un flujo de 20 μl/min. La primera celda de flujo se utilizó como una superficie de referencia para corregir mediante índice de refracción en volumen, efectos de matriz, y fijación no específica. El anticuerpo Fc anti-humano fue diluido a 20 μg/ml en 10 mM buffer de acetato de sodio (pH 5.0), y 2950-3405 unidades de resonancia (RU) fueron capturadas sobre cada una de las cuatro celdas de flujo. Los grupos activados restantes fueron bloqueados con 1.0 M etanolamina-HCl (pH 8.5).

Los anticuerpos anti- IL-21R fueron diluidos a 0.1-0.2 μg/ml en buffer HBS/EP suplementado con 0.2% albúmina de suero bovino y cargados sobre el chip BIACORE™. Después de un breve periodo de lavado, soluciones de 0-100 nM IL-21 R-H/F humano o 10-500 nM IL-21R-H/F murino fueron inyectadas sobre el chip a una tasa de flujo de 50 μl/min. La fase de asociación fue corrida durante 3 min para cinética de IL-21R humano y murino, y la fase de disociación fue monitoreada durante 15 minutos para hIL-21R y durante 5 minutos para mIL-21R, seguido por dos inyecciones de 10 μl y una inyección de 30 μl inyección de glicina (pH 1.5), para regenerar una superficie de captura completamente activa. Todos los experimentos de fijación fueron realizados a 25°C en buffer HBS/EP, y el portamuestras fue mantenido a 15°C. Los efectos en blanco y de buffer fueron restadas para cada sensograma utilizando doble referenciado. Los sensogramas se muestran en las **FIGs. 8a-b** (IL-21R -His/FLAG humano) y **8c-d** (IL-21 R-His/FLAG murino). Los parámetros cinéticos de fijación se muestran en la **Tabla 7A,** y los datos cinéticos adicionales desde un experimento replicado se muestran en la **Tabla 7B.**

Además, AbS y AbT se probaron para cinética de fijación a IL-21 R-His/FLAG de mono cinomolgus mediante el protocolo anteriormente descrito. Los perfiles de fijación a IL-21 R-H/F humano y de mono cinomolgus fueron similares para ambos AbS y AbT **(FIG. 9).** La **FIG. 9** muestra fijación de IL-21 R-His/FLAG de mono cinomolgus a AbS **(9a);** y a AbT **(9c);** y fijación de IL-21 R-His/FLAG humano a AbS **(9b);** y AbT **(9d).**

Tabla 7A: Parámetros Cinéticos de Anticuerpo Anti-IL-21R Fijando IL-21R-His/FLAG Humano y Murino

	IL-21R humano			**IL-21R murino**		
Anticuerpo	**Ka (1/Ms)**	**kd (1/s)**	**KD (M)**	**Ka (1/Ms)**	**kd (1/s)**	**KD (M)**
18A5	2.43E+05	1.08E-03	4.43E-09	2.12E+05	1.53E-02	7.20E-08
AbO	2.41E+05	1.14E-04	4.75E-10	1.12E+05	5.49E-03	4.92E-08
AbP	1.94E+05	1.19E-04	6.15E-10	9.99E+04	5.08E-03	5.08E-08
AbQ	4.39E+05	9.34E-05	2.13E-10	3.01E+05	2.07E-02	6.88E-08
AbR	1.70E+05	9.61E-05	5.67E-10	7.65E+04	4.93E-03	6.45E-08
AbS	1.44E+05	2.91E-04	2.02E-09	1.99E+05	3.32E-03	1.67E-08
AbT	1.79E+05	6.78E-05	3.79E-10	2.11E+05	3.31E-03	1.57E-08
AbU	1.86E+05	8.18E-05	4.40E-10	9.81E+04	4.34E-03	4.42E-08

Tabla 7B: Parámetros Cinéticos de Anticuerpo Anti-IL-21R Fijando IL-21R-His/FLAG Humano

	IL-21R humano		
Anticuerpo	**Ka (1/Ms)**	**kd (1/s)**	**KD (M)**
18A5	3.04E+05	1.34E-03	4.40E-09
AbP	2.33E+05	1.02E-04	4.36E-10
AbQ	4.39E+05	9.34E-05	2.13E-10
AbR	2.48E+05	9.76E-05	3.94E-10

AbS	2.02E+05	3.05E-04	1.51E-09
AbT	2.73E+05	7.42E-05	2.72E-10
AbU	2.38E+05	7.83E-05	3.29E-10

Ejemplo 9.7: Ensayo BIACORE de Competencia de Epítopos

Los anticuerpos AbS y AbT y el anticuerpo precursor 18A5 fueron inmovilizados directamente un chip CM5 BIACORE™. IL-21R-H/F murino (100 nM) fue dejado fluir sobre el chip durante 300 segundos, seguido por un lavado (100 segundos), y luego una solución 5 μg/ml de cualquiera AbS, AbT, D5, o un anticuerpo anti-mIL-21R no neutralizante (7C2) fue dejado fluir sobre la superficie. No se observó fijación adicional con AbS, AbT, y D5, indicando que su sitio de fijación sobre mIL-21R-H/F fue bloqueado mediante fijación concurrente a anticuerpo AbS, AbT, o 18A5 **(FIG. 10a).** En contraste, el anticuerpo 7C2 anti-IL-21R 7C2 de control no neutralizante fue capaz de fijarse a mIL-21R-H/F capturado sobre anticuerpo AbS, AbT, o 18A5, indicando que este anticuerpo de control fijado en un epítopo diferente desde uno fijado por los anticuerpos capturados.

De manera similar, AbS y AbT no se fijaron a IL-21R-H/F humano capturado por AbS o AbT inmovilizados sobre un chip CM5 BIACORE™, mientras el anticuerpo IL-21R anti-humano de control (9D2) fue capaz de fijar IL-21 R-H/F humano capturado por AbS o AbT **(FIG. 10b).** Esta observación indicó que el sitio de fijación para AbS es bloqueado mediante fijación concurrente por AbT, y viceversa.

Ejemplo 9.8: Ensayos de Proliferación con Base Celular

IgGs purificados se probaron para actividad en ensayos de proliferación dependiente de IL-21 en tres líneas celulares como se describió anteriormente: células IL-21R-BaF3 humanas, células IL-21R- BaF3 murinas, y células IL-21R-TF-1 humanas. Todos mostraron fuerte inhibición de proliferación dependiente tanto de IL-21R humano como murino con mayor potencia que aquel de 18A5 IgG precursor **(FIG. 11, Tabla 8).** Se realizaron ensayos sobre células IL-21 R- BaF3 humanas con 100 pg/ml de IL-21 humano **(FIG. 11a),** células IL-21 R-BaF3 murinas con 200 pg/ml de IL-21 murino **(FIG. 11b),** y células IL-21R-TF-1 humanas con 100 pg/ml de IL-21 humano **(FIG. 11c).** La **FIG. 26d** ilustra los resultados de un estudio adicional de los efectos de estos anticuerpos sobre células IL-21R-BaF3 humanas.

Tabla 8: Neutralización de Proliferación de Células IL-21R -BaF3 humanas, Células, IL-21R-BaF3 murinas, y Células IL-21R-TF-1 humanas

Anticuerpo	Neutralización de IL-21R-BaF3 Humano IC_{50} (nM)	Neutralización de IL-21R-BaF3 Murino IC_{50} (nM)	Neutralización de IL-21R-TF1 Humano IC_{50} (nM)
anticuerpo 18A5	1.71	177.23	13.99
AbR	0.56	0.34	1.63
AbS	0.68	0.04	6.67
AbT	0.30	0.05	2.32
AbX	0.54	Nd	nd
IL21R-Fc	0.20 (humano IL-21R-Fc)	0.04 (ratón IL-21R-Fc)	7.22 (humano LL-21 R-Fc)

Ejemplo 9.9: Ensayos de Proliferación de Células B Primarias Humanas

Los anti-anticuerpos IL-21R se probaron para su capacidad para inhibir proliferación dependiente de IL-21 de células B humanas primarias. Células de la placa leucoplaquetaria de donantes humanos saludables fueron obtenidas del Massachusetts General Hospital (Boston, MA). Las células fueron incubadas con un coctel de enriquecimiento de células B ROSETTESEP™ (StemCell Technologies, Vancouver, Canada), y las células B se aislaron según instrucciones del fabricante. La población resultante (60-80% Células B $CD19^+$) fueron cultivadas en RPMI conteniendo 10% FBS, 50 U/ml penicilina, 50 µg/ml estreptomicina, y 2 mM L-glutamina a $1x10^5$/pozo en placas de fondo plano de 96 pozos. Las células B fueron pretratadas con anticuerpos IL-21R anti-humanos diluidos de manera serial en una incubadora a 37°C ajustada a 5% CO2 durante 30 minutos. Luego las células B tratadas fueron estimuladas con 0.5 µg/ml de mAb anti-CD40 (BD Biosciences, San Jose, CA) y 10 ng/ml de IL-21 citoquina durante 3 días en una incubadora a 37° ajustada a 5% CO_2. El día 3, los cultivos fueron pulsados con 0.5 µCi/pozo 3H-timidina (Perkin Elmer (NEN)) y cosechados 5 horas más tarde sobre filtros de fibra de vidrio. La incorporación de 3H-timidina fue determinada mediante conteo de centelleo líquido. Todos los anticuerpos mejorados neutralizaron proliferación dependiente de

IL-21 con mayor potencia que el anticuerpo precursor 18A5 **(FIGs. 12a-b, Tabla 9;** también ver **FIG. 26e).**

Tabla 9: Neutralización de Proliferación de Células B Primarias Humanas

Anticuerpo	**Neutralización de proliferación de células B** IC50 **(nM)**
AbQ	0.16
AbR	0.22
AbS	0.44
AbT	0.14
AbU	0.13
anticuerpo 18A5	1.86

Ejemplo 9.10: Ensayos de Proliferación de Células T Humanas Primarias

Los anticuerpos anti-IL-21R se probaron para su capacidad para inhibir proliferación dependiente de IL-21 de células T $CD4^+$ primarias humanas. Se obtuvieron células de la placa leucoplaquetaria desde donantes humanos saludables en el Massachusetts General Hospital. Las células T $CD4^+$ fueron aisladas mediante selección negativa utilizando un coctel enriquecido de células T $CD4^+$ ROSETTESEP™ (StemCell Technologies), según instrucciones del fabricante. La población resultante fue -80-90% células T $CD4^+/CD3^+$. Las células T $CD4^+$ humanas enriquecidas fueron activadas durante 3 días con microesferas recubiertas don anti-CD3/anti-CD28 en RPMI conteniendo 10% FBS, 100 U/ml penicilina, 100 µg/ml estreptomicina, 2 mM L-glutamina, y HEPES en una incubadora a 37°C ajustada a 5% CO_2. Después de la activación, las microesferas fueron retiradas y las células fueron lavadas y dejadas reposar durante la noche a aproximadamente $lxl0^6$ células/ml en medio de cultivo. Luego las células reposadas fueron lavadas nuevamente antes de adicionar a las placas de ensayo. Se realización diluciones seriales de anticuerpos de receptores IL-21 anti-humanos en medio de cultivo en placas de fondo plano de 96 pozos, seguidas por la adición secuencial IL-21 humano (20 ng/ml de concentración final) y las células T CD4+ activadas y reposadas (10^5 células/pozo). Luego las placas fueron

incubadas durante 3 días más y pulsadas con 1 μCi/pozo ^{3}H-timidina (Perkin Elmer (NEN)) durante las 6 horas finales del ensayo. Células fueron cosechadas sobre filtros de fibra de vidrio y la incorporación de ^{3}H-timidina fue determinada mediante conteo de centelleo líquido. Todos los anticuerpos mejorados neutralizaron proliferación dependiente de IL-21 con mayor potencia que el anticuerpo precursor 18A5 **(FIG. 13, Tabla 10A;** también ver **FIG. 26f).**

Tabla 10A: Neutralización de Proliferación de Células T Humanas Primarias

Anticuerpo	**Neutralización de Proliferación de células T IC_{50} (nM)**
AbO	0.06
AbP	0.02
AbQ	0.08
AbR	0.04
AbS	0.06
AbT	0.03
AbU	0.03
anticuerpo 18A5	1.42

Ejemplo 9.11: Ensayos de Proliferación de Células T Primarias Murinas

Los anti-anticuerpos IL-21R se probaron para su capacidad para inhibir proliferación dependiente de IL-21 de células $CD8^+$ primarias murinas . Se recolectaron bazos y nódulos linfáticos poplíteos, axilares, braquiales, e inguinales de ratones BALB/C hembra de 12 semanas de edad. Una suspensión celular de esplenocitos fue desprovista de eritrocitos utilizando 0.16 M NH_4Cl en 0.017 M Tris (pH 7.4). Los esplenocitos y las células linfáticas agrupadas y enriquecidas buscando células $CD8^+$ utilizando un *T Cell CD8 Subset Column Kit* (R&D sistemas). Las células $CD8^+$ murinas ($3x10^4$; suspendidas en DMEM que contiene 10% suero de ternero fetal y suplementado con 0.05 mM β-mercaptoetanol, 2 mM L-glutamina, 0.1 mM aminoácidos no esenciales, 1 mM piruvato de sodio, 100 U/ml penicilina, 100 ug/ml estreptomicina y 50 ug/ml gentamicina) fueron sembradas en placas de activación anti-mCD3 de 96 pozos (BD Biosciences); mIL-21 (50 ng/ml) se agregó a todos los pozos. Los anticuerpos de

prueba fueron titulados por triplicado comenzando en 20 ug/ml. Las células fueron cultivadas durante 3 días en una incubadora a 37°C/10% CO_2. Durante las últimas 5 horas de cultivo, las células fueron rotuladas con 0.5 μCi metil-^{3}H-timidina/pozo (GE Healthcare). Las células fueron cosechadas utilizando un cosechador de células Mach III (TomTec, Hamden, CT) y contadas utilizando un contador microbeta Trilux (Perkin Elmer). Aparte de AbP, todos los anticuerpos mejorados neutralizaron proliferación dependiente de IL-21 con mayor potencia que el anticuerpo precursor 18A5 **(FIG. 14, Tabla 10B;** también ver **FIG. 26g).**

Tabla 10B: Neutralización de Proliferación de Células T Primarias Murinas

Anticuerpo	**Neutralización de células T Proliferación** IC50 **(nM)**
AbO	4.92
AbP	no inhibición
AbQ	0.85
AbR	0.13
AbS	0.02
AbT	0.61
AbU	1.79
anticuerpo 18A5	>85

Ejemplo 9.12: Ensayo ADCC

Los anticuerpos anti-IL-21R se probaron para su capacidad para inducir citotoxidad celular dependiente de anticuerpos (ADCC) cuando se fijan a células diana. El día antes del experimento, PBMC fueron aislados a partir de la capa leucoplaquetaria diluyendo la capa leucoplaquetaria 1:1 en PBS, colocando en capas sobre FICOLL® (GE Healthcare), y centrifugando a 1200 g durante 20 min. Los PBMCs fueron retirados desde la parte superior de la capa FICOLL®, lavados, y estimulados durante la noche con 10 ng/ml IL-2 y 10 ng/ml IL-12 (R&D Systems). El día del experimento, los PBMCs estimulados fueron recolectados mediante centrifugación y resuspendidos en medios a $1x10^8$ células/ml. Las células BJAB fueron rotuladas con 0.5 μM CFSE (MOLECULAR PROBES®, Invitrogen Corporation) durante 10 min a 37°C,

y luego lavadas con suero bovino fetal una vez y con PBS dos veces. Luego las células fueron sembradas en una placa de fondo plano de 96 pozos a $2x10^5$ células/pozo en 100 µl de medio. Cincuenta µl de los anticuerpos 4x se agregaron a las células BJAB, seguido por $5x10^6$ PBMC en 50 µl, proporcionando una relación final de diana:efector de 1:25. Las células fueron incubadas a 37°C durante 6 horas y teñidas con yoduro de propidio (PI) para rotular células muertas y próximas a morir. La eliminación de células diana ($CFSE^+$) fue evaluada midiendo la tinción con PI en un citómetro de flujo FACSCALLBUR™ (BD Biosciences). Solamente un anticuerpo anti-IL-21R, AbZ, el cual tiene una región constante IgGl humana tipo silvestre, mostró ADCC por encima del nivel de fondo presentado por un anticuerpo anti-IL-13 de control que no se fijó a las células objetivo. Todos los anticuerpos con los mismos dominios variables que AbZ, incluyendo formas con IgG4 humano (AbY), y aquellos con formas doble-mutante (AbX) y triple-mutante (AbT) de IgGl humano, mostraron solamente niveles de fondo de ADCC **(FIG. 15).** Todos los otros anticuerpos anti-IL-21R tuvieron la forma triple-mutante de IgGl humano y mostraron ADCC de fundamento. Un anticuerpo de control positivo, rituximab (RITUXAN®), indujo ADCC en todos los experimentos.

Ejemplo 9.13: ELISA Clq

Con el objeto de determinar si es probable que la fijación a la superficie celular mediante anticuerpos anti-IL-21R lleve a citotoxicidad dependiente de complemento (CDC), se probó la capacidad de los anticuerpos para fijarse al componente de complemento Clq en un ELISA. Los anticuerpos IL-21R y rituximb (RITUXAN®) fueron diluidos en PBS a 5 µg/ml. Los anticuerpos diluidos (100 ul) fueron revestidos sobre una placa ELISA COSTAR de alta fijación (Corning Life Sciences, Lowell, MA) durante la noche a 4°C. Las placas fueron lavadas 3X con PBS / Tween-20 y bloqueadas con 200 µl de buffer bloqueador (0.1 M $NaP0_4$, 0.1 M NaCl, 0.1% gelatina, 0.01% Tween) durante 1 hora a temperatura ambiente. El suero humano previamente determinado por contener Clq (Quidel, San Diego, CA) fue diluido 1:50 en PBS. Después de 1 hora de bloqueo, las placas fueron lavadas y se agregó 100 µl de suero diluido a cada pozo y se incubó durante 2 horas a temperatura ambiente sobre un agitador. Después de tres lavados, se agregó 100 µl de 0.1 µg/ml anticuerpo Clq anti-humano policlonal de pollo (AbCam, Cambridge, MA) a cada pozo y se incubó durante 1 hora a temperatura ambiente. Las placas fueron lavadas nuevamente e incubadas con 100 µl de un anticuerpo policlonal de conejo a Ig-Y-HRP de pollo diluido 1:4000 (AbCam) durante 1 hora a temperatura ambiente. Las placas fueron

lavadas y desarrolladas con TMB durante 5 min, seguido por 50 µl de 1 M H_2SO_4 para detener la reacción, y luego leídas a 450 nm. Solamente un anticuerpo anti-IL-21R, AbZ, el cual tiene una región constante IgGl humana tipo silvestre, mostraron fijación Clq por encima del nivel de fondo presentado por un anticuerpo de control con una región constante IgGl humana triple mutante que previamente había sido mostrada carecía de fijación Clq. Todos los anticuerpos con los mismos dominios variables que AbZ, incluyendo formas con IgG4 humano (AbY), y aquellos con formas doble-mutante (AbX) y triple-mutante (AbT) de IgGl humano, mostraron solamente niveles de fondo de fijación Clq **(FIG. 16).** Todos los otros anticuerpos anti-IL-21R probados tuvieron la forma triple mutante de IgGl humano y mostraron fijación Clq de fondo.

Ejemplo 9.14: Ensayo de Competencia de Citoquina

Con el objeto de demostrar que el anticuerpo AbT se fija a IL-21 R murino en una forma que compite con la citoquina IL-21, se realizo un ensayo de competencia de citoquina. El anticuerpo AbT fue revestido a 1 µg/ml sobre placas ELISA, las cuales fueron luego bloqueadas con 1% BSA en PBS/.05% Tween. Se agregó IL-21R-His/FLAG murino biotinilado (1.5 ng/ml) a los pozos, ya sea solo o en presencia de concentraciones crecientes de IL-21 murino, y la fijación del receptor al anticuerpo inmovilizado fue detectada con estreptavidina conjugada por HRP e incubación subsiguiente con reactivo de detección TMB. El IL-21 de ratón fue capaz de bloquear la fijación de mIL-21R a AbT casi completamente por encima de 4 ng/ml, indicando que el anticuerpo y la citoquina compiten por fijación a IL-21R murino **(FIG. 27).**

Equivalentes

Aquellos con experiencia en el estado de la técnica reconocerán, o serán capaces de indagar utilizando no más que la experimentación de rutina, muchos equivalentes de las realizaciones específicas del invento descrito en la presente. Se pretende que tales equivalentes sean incluidos por las siguientes reivindicaciones.

REIVINDICACIONES

1. Una proteína fijadora aislada o fragmento fijador de antígenos de la misma que se fija a IL-21 R, en donde la proteína fijadora o fragmento fijador de antígenos de la misma comprende al menos una secuencia aminoácida que es al menos aproximadamente 95% idéntica a una secuencia aminoácida seleccionada del grupo que consta de SEQ LD NOs: 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46, 48, 50, 52, 54, 56, 58, 60, 62, 64, 66, 68, 70, 72, 74, 76, 78, 80, 82, 84, 86, 88, 90, 92, 94, 96, 98, 100, 102, 104, 106, 108, 110, 112, 114, 116, 118, 120, 122, 124, 126, 128, 130, 132, 134, 136, 138, 140, 142, 144, 146, 148, 150, 152, 154, 156, 158, 160, 162, 165-168, 171-193, 213-229, 240, 242, 244, 246, y 248.

2. La proteína fijadora aislada o fragmento fijador de antígenos de la reivindicación 1, en donde la proteína fijadora o fragmento fijador de antígenos es un anticuerpo.

3. La proteína fijadora aislada o fragmento fijador de antígenos de la reivindicación 1, en donde la proteína fijadora o fragmento fijador de antígenos es un scFv.

4. La proteína fijadora aislada o fragmento fijador de antígenos de la reivindicación 1, en donde la proteína fijadora o fragmento fijador de antígenos es un VH-

5. La proteína fijadora aislada o fragmento fijador de antígenos de la reivindicación 1, en donde la proteína fijadora o fragmento fijador de antígenos es un VL.

6. La proteína fijadora aislada o fragmento fijador de antígenos de la reivindicación 1, en donde la proteína fijadora o fragmento fijador de antígenos es una CDR.

7. Una proteína fijadora aislada o fragmento fijador de antígenos de la misma que se fija a IL-21R, en donde la proteína fijadora o fragmento fijador de antígenos de la misma comprende al menos una secuencia aminoácida codificada por una secuencia nucleótida que es al menos aproximadamente 95% idéntica a una secuencia nucleótida seleccionada del grupo que consta de SEQ ID NOs:13, 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, 45, 47, 49,

51, 53, 55, 57, 59, 61, 63, 65, 67, 69, 71, 73, 75, 77, 79, 81, 83, 85, 87, 89, 91, 93, 95, 97, 99, 101, 103, 105, 107, 109, 111, 113, 115, 117, 119, 121, 123, 125, 127, 129, 131, 133, 135, 137, 139, 141, 143, 145, 147, 149, 151, 153, 155, 157, 159, 161, 239, 241, 243, 245, y 247.

8. La proteína fijadora aislada o fragmento fijador de antígenos de la reivindicación 7, en donde la proteína fijadora o fragmento fijador de antígenos es un anticuerpo.

9. La proteína fijadora aislada o fragmento fijador de antígenos de la reivindicación 7, en donde la proteína fijadora o fragmento fijador de antígenos es un scFv.

10. La proteína fijadora aislada o fragmento fijador de antígenos de la reivindicación 7, en donde la proteína fijadora o fragmento fijador de antígenos es un VH-

11. La proteína fijadora aislada o fragmento fijador de antígenos de la reivindicación 7, en donde la proteína fijadora o fragmento fijador de antígenos es un VL.

12. La proteína fijadora aislada o fragmento fijador de antígenos de la reivindicación 7, en donde la proteína fijadora o fragmento fijador de antígenos es un CDR.

13. La proteína fijadora o fragmento fijador de antígenos de la reivindicación 1, que comprende al menos una secuencia aminoácida seleccionada del grupo que consta de SEQ ID NOs: 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46, 48, 50, 52, 54, 56, 58, 60, 62, 64, 66, 68, 70, 72, 74, 76, 78, 80, 82, 84, 86, 88, 90, 92, 94, 96, 98, 100, 102, 104, 106, 108, 110, 112, 114, 116, 118, 120, 122, 124, 126, 128, 130, 132, 134, 136, 138, 140, 142, 144, 146, 148, 150, 152, 154, 156, 158, 160, 162, 165-168, 171-193, 213-229, 240, 242, 244, 246, y 248.

14. La proteína fijadora aislada o fragmento fijador de antígenos de la reivindicación 13, en donde la proteína fijadora o fragmento fijador de antígenos es un anticuerpo.

15. La proteína fijadora aislada o fragmento fijador de antígenos de la reivindicación 13, en donde la proteína fijadora o fragmento fijador de antígenos es un scFv.

16. La proteína fijadora aislada o fragmento fijador de antígenos de la reivindicación 13, en donde la proteína fijadora o fragmento fijador de antígenos es un VH-

17. La proteína fijadora aislada o fragmento fijador de antígenos de la reivindicación 13, en donde la proteína fijadora o fragmento fijador de antígenos es un VL.

18. La proteína fijadora aislada o fragmento fijador de antígenos de la reivindicación 13, en donde la proteína fijadora o fragmento fijador de antígenos es un CDR.

19. Una proteína fijadora aislada o fragmento fijador de antígenos de la misma que se fija a IL-21R, en donde la proteína fijadora o fragmento fijador de antígenos de la misma comprende al menos una secuencia aminoácida que es al menos aproximadamente 95% idéntica a una secuencia aminoácida seleccionada del grupo que consta de SEQ ID NOs:6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46, 48, 50, 52, 54, 56, 58, 60, 62, 64, 66, 68, 70, 72, 74, 76, 78, 80, 82, 84, 86, 88, 90, 92, 94, 96, 98, 100, 102, 104, 106, 108, 110, 112, 114, 116, 118, 120, 122, 124, 126, 128, 130, 132, 134, 136, 138, 140, 142, 144, 146, 148, 150, 152, 154, 156, 158, 160, 162-195, 213-229, 240, 242, 244, 246, y 248, y en donde, si la proteína fijadora o fragmento fijador de antígenos comprende al menos una secuencia aminoácida que es al menos aproximadamente 95% idéntica a la(s) secuencia(s) seleccionada(s) del grupo que consta de SEQ ID NOs:6, 8, 10, 12, 163, 164, 169, 170, 194, y 195, luego la proteína fijadora o fragmento fijador de antígenos también debe comprender al menos una secuencia aminoácida que es al menos aproximadamente 95% idéntica a la(s) secuencia aminoácida(s) seleccionada(s) del grupo que consta de SEQ ID NOs: 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46, 48, 50, 52, 54, 56, 58, 60, 62, 64, 66, 68, 70, 72, 74, 76, 78, 80, 82, 84, 86, 88, 90, 92, 94, 96, 98, 100, 102, 104, 106, 108, 110, 112, 114, 116, 118, 120, 122, 124, 126, 128, 130, 132, 134, 136, 138, 140, 142, 144, 146, 148, 150, 152, 154, 156, 158, 160, 162, 165-168, 171-193, 213-229, 240, 242, 244, 246, y 248.

20. Una proteína fijadora aislada o fragmento fijador de antígenos de la misma que se fija a IL-21R, en donde la proteína fijadora o fragmento fijador de antígenos de la misma comprende al menos una secuencia aminoácida codificada por una secuencia nucleótida que es al menos

241

aproximadamente 95% idéntica a una secuencia nucleótida(s) seleccionada del grupo que consta de SEQ ID NOs:5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, 45, 47, 49, 51, 53, 55, 57, 59, 61, 63, 65, 67, 69, 71, 73, 75, 77, 79, 81, 83, 85, 87, 89, 91, 93, 95, 97, 99, 101, 103, 105, 107, 109, 111, 113, 115, 117, 119, 121, 123, 125, 127, 129, 131, 133, 135, 137, 139, 141, 143, 145, 147, 149, 151, 153, 155, 157, 159, 161, 239, 241, 243, 245, y 247, y en donde, si la proteína fijadora o fragmento fijador de antígenos comprende al menos una secuencia aminoácida codificada por una secuencia nucleótida que es al menos aproximadamente 95% idéntica a la(s) secuencia(s) seleccionada(s) del grupo que consta de SEQ LD NOs:5, 7, 9, y 11, entonces la proteína fijadora o fragmento fijador de antígenos también debe comprender al menos una secuencia aminoácida codificada por una secuencia nucleótida que es al menos aproximadamente 95% idéntica a la secuencia nucleótida seleccionada del grupo que consta de SEQ LD NOs:13, 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, 45, 47, 49, 51, 53, 55, 57, 59, 61, 63, 65, 67, 69, 71, 73, 75, 77, 79, 81, 83, 85, 87, 89, 91, 93, 95, 97, 99, 101, 103, 105, 107, 109, 111, 113, 115, 117, 119, 121, 123, 125, 127, 129, 131, 133, 135, 137, 139, 141, 143, 145, 147, 149, 151, 153, 155, 157, 159, 161, 239, 241, 243, 245, y 247.

21. La proteína fijadora o fragmento fijador de antígenos de la reivindicación 19, que comprende al menos una secuencia aminoácida seleccionada del grupo que consta de SEQ ID NOs: 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46, 48, 50, 52, 54, 56, 58, 60, 62, 64, 66, 68, 70, 72, 74, 76, 78, 80, 82, 84, 86, 88, 90, 92, 94, 96, 98, 100, 102, 104, 106, 108, 110, 112, 114, 116, 118, 120, 122, 124, 126, 128, 130, 132, 134, 136, 138, 140, 142, 144, 146, 148, 150, 152, 154, 156, 158, 160, 162-195, 213-229, 240, 242, 244, 246, y 248, en donde, si la proteína fijadora o fragmento fijador de antígenos comprende al menos una secuencia aminoácida que es al menos aproximadamente 95% idéntica a la(s) secuencia(s) seleccionada(s) del grupo que consta de SEQ ID NOs: 6, 8, 10, 12, 163, 164, 169, 170, 194, y 195, luego la proteína fijadora o fragmento fijador de antígenos también debe comprender al menos una secuencia aminoácida que es al menos aproximadamente 95% idéntica a la secuencia aminoácida(s) seleccionada del grupo que consta de SEQ ID NOs: 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46, 48, 50, 52, 54, 56, 58, 60, 62, 64, 66, 68, 70, 72, 74, 76, 78, 80, 82, 84, 86, 88, 90, 92, 94, 96, 98, 100, 102, 104, 106, 108, 110, 112, 114, 116, 118, 120, 122,

124, 126, 128, 130, 132, 134, 136, 138, 140, 142, 144, 146, 148, 150, 152, 154, 156, 158, 160, 162, 165-168, 171-193, 213-229, 240, 242, 244, 246, y 248.

22. Una proteína fijadora aislada o fragmento fijador de antígenos de la misma que se fija a IL-21 R, en donde la proteína fijadora o fragmento fijador de antígenos de la misma comprende una cadena liviana y una cadena pesada, y en donde la cadena pesada comprende al menos una secuencia aminoácida seleccionada del grupo que consta de SEQ ID NOs: 14, 16, 18, 20, 68, 70, 72, 88, 90, 92, 94, 213, 218, 219, 240, y 242.

23. Una proteína fijadora aislada o fragmento fijador de antígenos de la misma que se fija a IL-21 R, en donde la proteína fijadora o fragmento fijador de antígenos de la misma comprende una cadena liviana y una cadena pesada, y en donde la cadena liviana comprende al menos una secuencia aminoácida seleccionada del grupo que consta de SEQ ID NOs:22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46, 48, 50, 52, 54, 56, 58, 60, 62, 64, 66, 74, 76, 78, 80, 82, 84, 86, 96, 98, 100, 102, 104, 106, 108, 214-217, 220-229, 244, 246, y 248.

24. La proteína fijadora o fragmento fijador de antígenos de la reivindicación 22, en donde la proteína fijadora o fragmento fijador de antígenos comprende un dominioV_L y un dominioV_H y en donde el dominioV_H comprende al menos una secuencia aminoácida seleccionada del grupo que consta de SEQ ID NOs: 14, 16, 18, y 20.

25. La proteína fijadora o fragmento fijador de antígenos de la reivindicación 23, en donde la proteína fijadora o fragmento fijador de antígenos comprende un dominio V_L y un dominio V_H, y en donde el dominioV_L comprende al menos una secuencia aminoácida seleccionada del grupo que consta de SEQ ID NOs:22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46, 48, 50, 52, 54, 56, 58, 60, 62, 64, 66, 215, 217, 221, 223, 225, 227, y 229.

26. La proteína fijadora o fragmento fijador de antígenos de la reivindicación 22 o 23, en donde la cadena pesada comprende una secuencia aminoácida seleccionada del grupo que consta de SEQ ID NOs:88, 90, 92, 94, 213, 218, 219, 240, y 242, y la cadena liviana comprende

una secuencia aminoácida seleccionada del grupo que consta de SEQ ID NOs:96, 98, 100, 102, 104, 106, 108, 214, 216, 220, 222, 224, 226, 228, 244, 246, y 248.

27. Una proteína fijadora aislada o fragmento fijador de antígenos de la misma que se fija a un epítopo de IL-21R que es reconocido por una proteína fijadora seleccionada del grupo que consta de AbA-AbW, H3-H6, L1-L6, L8-L21, y L23-L25, en donde la proteína fijadora o fragmento fijador de antígenos competitivamente inhibe la fijación de una proteína fijadora seleccionada del grupo que consta de AbA-AbW, H3-H6, L1-L6, L8-L21, y L23-L25 a IL-21R humano.

28. La proteína fijadora o fragmento fijador de antígenos de la reivindicación 27, que comprende una cadena pesada, una cadena liviana, o un fragmento Fv que comprende una secuencia aminoácida seleccionada del grupo que consta de SEQ ID NOs: 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46, 48, 50, 52, 54, 56, 58, 60, 62, 64, 66, 68, 70, 72, 74, 76, 78, 80, 82, 84, 86, 88, 90, 92, 94, 96, 98, 100, 102, 104, 106, 108, 110, 112, 114, 116, 118, 120, 122, 124, 126, 128, 130, 132, 134, 136, 138, 140, 142, 144, 146, 148, 150, 152, 154, 156, 158, 160, 162, 165-168, 171-193, 213-229, 240, 242, 244, 246, y 248.

29. La proteína fijadora o fragmento fijador de antígenos de la reivindicación 27, que comprende una cadena pesada, una cadena liviana, o un fragmento Fv que comprende una secuencia aminoácida codificada por una secuencia nucleótida seleccionada del grupo que consta de SEQ ID NOs: 13, 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, 45, 47, 49, 51, 53, 55, 57, 59, 61, 63, 65, 67, 69, 71, 73, 75, 77, 79, 81, 83, 85, 87, 89, 91, 93, 95, 97, 99, 101, 103, 105, 107, 109, 111, 113, 115, 117, 119, 121, 123, 125, 127, 129, 131, 133, 135, 137, 139, 141, 143, 145, 147, 149, 151, 153, 155, 157, 159, 161, 239, 241, 243, 245, y 247.

30. La proteína fijadora o fragmento fijador de antígenos de cualquier de las reivindicaciones 1, 2, 19, o 20, en donde la constante de asociación de la proteína fijadora o fragmento fijador de antígenos para IL-21R humano es al menos aproximadamente 10^5 $M^{-1}s^{-1}$.

31. La proteína fijadora o fragmento fijador de antígenos de cualquiera de las reivindicaciones 1, 2, 19, o 20, en donde la proteína fijadora o fragmento fijador de antígenos inhibe proliferación mediada por IL-21 de células BaF3 con un IC50 de 1.75 nM aproximadamente o menos, y en donde las células BaF3 comprenden un IL-21R humano.

32. La proteína fijadora o fragmento fijador de antígenos de cualquiera de reivindicaciones 1, 2, 19, o 20, en donde la proteína fijadora o fragmento fijador de antígenos inhibe proliferación mediada por IL-21 de células TF1 con un IC50 de 14.0 nM aproximadamente o menos, y en donde las células TF1 comprenden un IL-21R humano.

33. La proteína fijadora o fragmento fijador de antígenos de cualquiera de las reivindicaciones 1, 2, 19, o 20, en donde la proteína fijadora o fragmento fijador de antígenos inhibe la proliferación mediada por IL-21 de células B humanas primarias con un IC50 de 1.9 nM aproximadamente o menos, y en donde las células B comprenden un IL-21R humano.

34. La proteína fijadora o fragmento fijador de antígenos de cualquiera de las reivindicaciones 1, 2, 19, o 20, en donde la proteína fijadora o fragmento fijador de antígenos inhibe proliferación mediada por IL-21 de células CD4+ humanas primarias con un IC50 de 1.5 nM aproximadamente o menos, y en donde las células $CD4^+$ comprenden un IL-21R humano.

35. La proteína fijadora o fragmento fijador de antígenos de cualquiera de las reivindicaciones 1, 2, 19, o 20, en donde la proteína fijadora o fragmento fijador de antígenos específicamente se fija a una secuencia aminoácida que es al menos aproximadamente 95% idéntica a cualquier secuencia de al menos 100 aminoácidos adyacentes de SEQ JD NO:2.

36. La proteína fijadora o fragmento fijador de antígenos de cualquiera de las reivindicaciones 1, 2, 19, o 20, en donde la proteína fijadora o fragmento fijador de antígenos inhibe la fijación de IL-21 a IL-21R.

37. La proteína fijadora o fragmento fijador de antígenos de cualquiera de las reivindicaciones 1, 2, 19, o 20, en donde la proteína fijadora o fragmento fijador de antígenos es IgGl.

38. La proteína fijadora o fragmento fijador de antígenos de cualquiera de las reivindicaciones 1, 2, 19, o 20, en donde la proteína fijadora o fragmento fijador de antígenos es humana.

39. Una composición farmacéutica que comprende la proteína fijadora o fragmento fijador de antígenos de cualquiera de las reivindicaciones 1, 2, 19, o 20.

40. Un ácido nucleico aislado que codifica la proteína fijadora o fragmento fijador de antígenos de cualquiera de las reivindicaciones 1,2, 19, o 20.

41. Un vector de expresión que comprende el ácido nucleico de la reivindicación 40.

42. Una célula hospedera transformada con el vector de la reivindicación 41.

43. La célula hospedera de la reivindicación 42, en donde célula hospedera es una bacteria, célula mamífera, célula de levadura, célula vegetal, o célula de insecto.

44. Un kit diagnóstico que comprende la proteína fijadora o fragmento fijador de antígenos de cualquiera de las reivindicaciones 1,2, 19, o 20.

45. La proteína fijadora aislada o fragmento fijador de antígenos de cualquiera de las reivindicaciones 19-38, en donde la proteína fijadora o fragmento fijador de antígenos es un anticuerpo.

46. La proteína fijadora aislada o fragmento fijador de antígenos de cualquiera de reivindicaciones 19-38, en donde la proteína fijadora o fragmento fijador de antígenos es un scFv.

47. La proteína fijadora aislada o fragmento fijador de antígenos de cualquiera de las reivindicaciones 19-38, en donde la proteína fijadora o fragmento fijador de antígenos es un VH-

48. La proteína fijadora aislada o fragmento fijador de antígenos de cualquiera de las reivindicaciones 19-38, en donde la proteína fijadora o fragmento fijador de antígenos es un VL.

49. La proteína fijadora aislada o fragmento fijador de antígenos de cualquiera de las reivindicaciones 19-38, en donde la proteína fijadora o fragmento fijador de antígenos es un CD.

Figura 17a

AbQ:

Cadena pesada para AbQ (SEQ ID NO:213), con CDRs HI, H2, y H3 subrayadas (SEQ ID NOs: 163,164, y 165, respectivamente). La región constante de cadena pesada se muestra en cursiva minúscula con la doble mutación (L234A G237A) mostrada en minúsculas subrayadas en negrilla (SEQ ID NO: 197).

QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCAVSGYSISSGYYWGWIRQPPGKGL
EWIGSISHTGNTYYNPPLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTA
VYYCARFMGFGRPEYWGQGTLVTVSS*astkgpsvfplapsskstsg*
gtaalgclvkdyfpepvtvswnsgaltsgvhtfpavlqssglysls
svvtvpsssl gtqtyicnvnhkpsntkvdkkvepkscdkthtcppc
papealgapsvflfppkpkdtlmisrtpevtcvvvdvshedpevkf
nwyvdgvevhnaktkpreeqynstyrvvsvltvlhqdwlngkeykc
kvsnkalpapiektiskakgqprepqvytlppsreemtknqvsltc
lvkgfypsdiavewesngqpennykttppvldsdgsfflyskltvd
ksrwqqgnvfscsvmhealhnhytqkslslspgk

Cadena liviana para AbQ (SEQ ID NO: 214), con CDRs L1, L2, y L3 subrayadas (SEQ ID NOs: 194,195, y 172, respectivamente). La secuencia de cadena liviana lambda constante es indicada por minuscula cursiva (SEQ ID NO: 198).

SSELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDSLRTYYASWYQQKPGQAPVLV
IYGKHKRPSGIPDRFSGSSSGNTASLTITGAQAEDEADYYCVARSV
VGNPHVLFGGGTQLTVL*gqpkaapsvtlfppsseelqankatlvcl*
isdfypgavtvawkadsspvkagvetttpskqsnnkyaassylslt
peqwkshrsyscqvthegstvektvaptecs

SEQ ID NO:213 es la cadena pesada de longitud completa para AbQ:

QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCAVSGYSISSGYYWGWIRQPPGKGL
EWIGSISHTGNTYYNPPLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTA
VYYCARFMGFGRPEYWGQGTLVTVSS*astkgpsvfplapsskstsg*
gtaalgclvkdyfpepvtvswnsgaltsgvhtfpavlqssglysls
svvtvpsssl gtqtyicnvnhkpsntkvdkkvepkscdkthtcppc
papealgapsvflfppkpkdtlmisrtpevtcvvvdvshedpevkf
nwyvdgvevhnaktkpreeqynstyrvvsvltvlhqdwlngkeykc
kvsnkalpapiektiskakgqprepqvytlppsreemtknqvsltc
lvkgfypsdiavewesngqpennykttppvldsdgsfflyskltvd
ksrwqqgnvfscsvmhealhnhytqkslslspgk

Figura 17b

SEQ ID NO: 14 es la porción **V_H** de la cadena pesada de longitud completa:

QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCAVSGYSISSGYYWGWIRQPPGKGL
EWIGSISHTGNTYYNPPLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTA
VYYCARFMGFGRPEYWGQGTLVTVSS

SEQ ID NO:163 es la porción CDR HI de la porción **V_H** de la cadena pesada de longitud completa: SGYYWG

SEQ ID NO:164 es la porción CDR H2 de la porción **V_H** de la cadena pesada de longitud completa:
SISHTGNTYYNPPLKS

SEQ ID NO:165 es la porción CDR H3 de la porción **V_H** de la cadena pesada de longitud completa:
FMGFGRPEY

SEQ ID NO: 197 es la región constante de cadena pesada con la doble mutación (L234A G237A) mostrada en minúsculas subrayadas en negrilla:

astkgpsvfplapsskstsggtaalgclvkdyfpepvtvswnsgal
tsgvhtfpavlqssglyslssvvtvpsssl gtqtyicnvnhkpsnt
*kvdkkvepkscdkthtcppcpape**a**lg**a**psvflfppkpkdtlmisr*
tpevtcvvvdvshedpevkfnwyvdgvevhnaktkpreeqynstyr
vvsvltvlhqdwlngkeykckvsnkalpapiektiskakgqprepq
vytlppsreemtknqvsltclvkgfypsdiavewesngqpennykt
tppvldsdgsfflyskltvdksrwqqgnvfscsvmhealhnhytqk
slslspgk

SEQ ID NO:214 es la cadena liviana de longitud completa para AbQ:

SSELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDSLRTYYASWYQQKPGQAPVLV
IYGKHKRPSGIPDRFSGSSSGNTASLTITGAQAEDEADYYCVARSV
VGNPHVLFGGGTQLTVLgqpkaapsvtlfppsseelqankatlvcl
isdfypgavtvawkadsspvkagvetttpskqsnnkyaassylslt
peqwkshrsyscqvthegstvektvaptecs

Figura 17c

SEQ ID NO:215 es la porción V_L de la cadena liviana de longitud completa:

SSELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDSLRTYYASWYQQKPGQAPVLV
IYGKHKRPSGIPDRFSGSSSGNTASLTITGAQAEDEADYYCVARSV
VGNPHVLFGGGTQLTVL

SEQ ID NO: 194 es la porción CDR Ll de la porción V_L de la cadena liviana de longitud completa:

QGDSLRTYYAS

SEQ ID NO:195 es la porción CDR L2 de la porción V_L de la cadena liviana de longitud completa: GKHKRPS

SEQ ID NO: 172 es la porción CDR L3 de la porción V_L de la cadena liviana de longitud completa: VARSVVGNPHVL

SEQ ID NO: 198 es la región constante de cadena liviana lambda :

gqpkaapsvtlfppsseelqankatlvclisdfypgavtvawkads
spvkagvetttpskqsnnkyaassylsltpeqwkshrsyscqvthe
gstvektvaptecs

Figura 18a

AbR:

Cadena pesada para AbR (SEQ ID NO:213), con CDRs HI, H2, y H3 subrayadas (SEQ ID NOs: 163,164, y 165, respectivamente). La región constante de cadena pesada se muestra en cursiva minuscula con la doble mutación (L234A G237A) mostrada en minúsculas subrayadas en negrilla (SEQ ID NO: 197).

QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCAVSGYSISSGYYWGWIRQPPGKGL
EWIGSISHTGNTYYNPPLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTA
VYYCARFMGFGRPEYWGQGTLVTVSS*astkgpsvfplapsskstsg*
gtaalgclvkdyfpepvtvswnsgaltsgvhtfpavlqssglysls
svvtvpsssl gtqtyicnvnhkpsntkvdkkvepkscdkthtcppc
papealgapsvflfppkpkdtlmisrtpevtcvvvdvshedpevkf
nwyvdgvevhnaktkpreeqynstyrvvsvltvlhqdwlngkeykc
kvsnkalpapiektiskakgqprepqvytlppsreemtknqvsltc
lvkgfypsdiavewesngqpennykttppvldsdgsfflyskltvd
ksrwqqgnvfscsvmhealhnhytqkslslspgk

Cadena liviana para AbR (SEQ. ID NO:216), con CDRs Ll, L2, y L3 subrayadas (SEQ. ID NOs: 194,195, y 187, respectivamente). La secuencia de cadena liviana lambda constante es indicada por minuscula cursiva (SEQ. ID. NO: 198).

SSELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDSLRTYYASWYQQKPGQAPVLV
IYGKHKRPSGIPDRFSGSSSGNTASLTITGAQAEDEADYYCVTRSV
KGNPHVLFGGGTQLTVL*gqpkaapsvtlfppsseelqankatlvcl*
isdfypgavtvawkadsspvkagvetttpskqsnnkyaassylslt
peqwkshrsyscqvthegstvektvaptecs

SEQ ID NO:213 es la cadena pesada de longitud completa para AbR:

QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCAVSGYSISSGYYWGWIRQPPGKGL
EWIGSISHTGNTYYNPPLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTA
VYYCARFMGFGRPEYWGQGTLVTVSS*astkgpsvfplapsskstsg*
gtaalgclvkdyfpepvtvswnsgaltsgvhtfpavlqssglysls
svvtvpsssl gtqtyicnvnhkpsntkvdkkvepkscdkthtcppc
papealgapsvflfppkpkdtlmisrtpevtcvvvdvshedpevkf
nwyvdgvevhnaktkpreeqynstyrvvsvltvlhqdwlngkeykc
kvsnkalpapiektiskakgqprepqvytlppsreemtknqvsltc
lvkgfypsdiavewesngqpennykttppvldsdgsfflyskltvd
ksrwqqgnvfscsvmhealhnhytqkslslspgk

Figura 18b

SEQ ID NO: 14 es la porción **VH** de la cadena pesada de longitud completa:

QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCAVSGYSISSGYYWGWIRQPPGKGL
EWIGSISHTGNTYYNPPLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTA
VYYCARFMGFGRPEYWGQGTLVTVSS

SEQ ID NO:163 es la porción CDR HI de la porción V_H de la cadena pesada de longitud completa: SGYYWG

SEQ ID NO:164 es la porción CDR H2 de la porción V_H de la cadena pesada de longitud completa:
SISHTGNTYYNPPLKS

SEQ ID NO: 165 es la porción CDR H3 de la porción V_H de la cadena pesada de longitud completa:
FMGFGRPEY

SEQ ID NO: 197 es la región constante de cadena pesada con la doble mutación (L234A G237A) mostrada en minúsculas subrayadas en negrilla:

astkgpsvfplapsskstsggtaalgclvkdyfpepvtvswnsgal
tsgvhtfpavlqssglyslssvvtvpssslgtqtyicnvnhkpsnt
*kvdkkvepkscdkthtcppcpape**a**lg**a**psvflfppkpkdtlmisr*
tpevtcvvvdvshedpevkfnwyvdgvevhnaktkpreeqynstyr
vvsvltvlhqdwlngkeykckvsnkalpapiektiskakgqprepq
vytlppsreemtknqvsltclvkgfypsdiavewesngqpennykt
tppvldsdgsfflyskltvdksrwqqgnvfscsvmhealhnhytqk
slslspgk

SEQ ID NO:216 es la cadena liviana de longitud completa para AbR:

SSELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDSLRTYYASWYQQKPGQAPVLV
IYGKHKRPSGIPDRFSGSSSGNTASLTITGAQAEDEADYYCVTRSV
KGNPHVLFGGGTQLTVL*gqpkaapsvtlfppsseelqankatlvcl*
isdfypgavtvawkadsspvkagvetttpskqsnnkyaassylslt
peqwkshrsyscqvthegstvektvaptecs

Figura 18c

SEQ ID NO:217 es la porción V_L de la cadena liviana de longitud completa:

SSELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDSLRTYYASWYQQKPGQAPVLV IYGKHKRPSGIPDRFSGSSSGNTASLTITGAQAEDEADYYCVTRSV KGNPHVLFGGGTQLTVL

SEQ ID NO: 194 es la porción CDR L1 de la porción V_L de la cadena liviana de longitud completa:

QGDSLRTYYAS

SEQ ID NO: 195 es la porción CDR L2 de la porción V_L de la cadena liviana de longitud completa: GKHKRPS

SEQ ID NO: 187 es la porción CDR L3 de la porción V_L de la cadena liviana de longitud completa:

VTRSVKGNPHVL

SEQ ID NO: 198 es la región constante de cadena liviana lambda

gqpkaapsvtlfppsseelqankatlvclisdfypgavtvawkads spvkagvetttpskqsnnkyaassylsltpeqwkshrsyscqvthe gstvektvaptecs

Figura 19a

AbW:

Cadena pesada para AbW (SEQ ID NO:218), con CDRs HI, H2, y H3 subrayadas (SEQ ID NOs:163,164, y 165, respectivamente). La región constante de cadena pesada se muestra en cursiva minuscula con la triple mutación (L234A L235A G237A) mostrada en minúsculas subrayadas en negrilla (SEQ ID NO: 196).

QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCAVSGYSISSGYYWGWIRQPPGKGL
EWIGSISHTGNTYYNPPLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTA
VYYCARFMGFGRPEYWGQGTLVTVSSastkgpsvfplapsskstsg
gtaalgclvkdyfpepvtvswnsgaltsgvhtfpavlqssglysls
svvtvpsslgtqtyicnvnhkpsntkvdkkvepkscdkthtcppc
papeaagapsvflfppkpkdtlmisrtpevtcvvvdvshedpevkf
nwyvdgvevhnaktkpreeqynstyrvvsvltvlhqdwlngkeykc
kvsnkalpapiektiskakgqprepqvytlppsreemtknqvsltc
lvkgfypsdiavewesngqpennykttppvldsdgsfflyskltvd
ksrwqqgnvfscsvmhealhnhytqkslslspgk

Cadena liviana para AbW (SEQ ID NO:216), con CDRs Ll, L2, y L3 subrayadas (SEQ ID NOs: 194,195, y 187, respectivamente). La secuencia de cadena liviana lambda constante es indicada por minuscula cursiva (SEQ ID NO: 198).

SSELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDSLRTYYASWYQQKPGQAPVLV
IYGKHKRPSGIPDRFSGSSSGNTASLTITGAQAEDEADYYCVTRSV
KGNPHVLFGGGTQLTVLgqpkaapsvtlfppsseelqankatlvcl
isdfypgavtvawkadsspvkagvetttpskqsnnkyaassylslt
peqwkshrsyscqvthegstvektvaptecs

SEQ ID NO:218 es la cadena pesada de longitud completa para AbW:

QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCAVSGYSISSGYYWGWIRQPPGKGL
EWIGSISHTGNTYYNPPLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTA
VYYCARFMGFGRPEYWGQGTLVTVSSastkgpsvfplapsskstsg
gtaalgclvkdyfpepvtvswnsgaltsgvhtfpavlqssglysls
svvtvpsslgtqtyicnvnhkpsntkvdkkvepkscdkthtcppc
papeaagapsvflfppkpkdtlmisrtpevtcvvvdvshedpevkf
nwyvdgvevhnaktkpreeqynstyrvvsvltvlhqdwlngkeykc
kvsnkalpapiektiskakgqprepqvytlppsreemtknqvsltc
lvkgfypsdiavewesngqpennykttppvldsdgsfflyskltvd
ksrwqqgnvfscsvmhealhnhytqkslslspgk

Figura 19b

SEQ ID NO: 14 es la porción VH de la cadena pesada de longitud completa:

QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCAVSGYSISSGYYWGWIRQPPGKGL
EWIGSISHTGNTYYNPPLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTA
VYYCARFMGFGRPEYWGQGTLVTVSS

SEQ ID NO: 163 es la porción **CDR HI** de la porción V_H de la cadena pesada de longitud completa: SGYYWG

SEQ ID NO: 164 es la porción **CDR H2** de la porción V_H de la cadena pesada de longitud completa:
SISHTGNTYYNPPLKS

SEQ ID NO: 165 es la porción **CDR H3** de la porción V_H de la cadena pesada de longitud completa: FMGFGRPEY

SEQ ID NO: 196 es la región constante de cadena pesada con la triple mutación **(L234A L235A G237A)** mostrada en minúsculas subrayadas en negrilla:

astkgpsvfplapsskstsggtaalgclvkdyfpepvtvswnsgal
*tsgvhtfpavlqssglyslssvvtvpsssl**g**tqtyicnvnhkpsnt*
*kvdkkvepkscdkthtcppcpape**aa**g**a**psvflfppkpkdtlmisr*
tpevtcvvvdvshedpevkfnwyvdgvevhnaktkpreeqynstyr
vvsvltvlhqdwlngkeykckvsnkalpapiektiskakgqprepq
vytlppsreemtknqvsltclvkgfypsdiavewesngqpennykt
tppvldsdgsfflyskltvdksrwqqgnvfscsvmhealhnhytqk
slslspgk

SEQ ID NO:216 es la cadena liviana de longitud completa para AbW:

SSELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDSLRTYYASWYQQKPGQAPVLV
IYGKHKRPSGIPDRFSGSSSGNTASLTITGAQAEDEADYYCVTRSV
KGNPHVLFGGGTQLTVL*gqpkaapsvtlfppsseelqankatlvcl*
isdfypgavtvawkadsspvkagvetttpskqsnnkyaassylslt
peqwkshrsyscqvthegstvektvaptecs

Figura 19c

SEQ ID NO:217 es la porción V_L de la cadena liviana de longitud completa:

SSELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDSLRTYYASWYQQKPGQAPVLV
IYGKHKRPSGIPDRFSGSSSGNTASLTITGAQAEDEADYYCVTRSV
KGNPHVLFGGGTQLTVL

SEQ ID NO: 194 es la porción CDR L1 de la porción V_L de la cadena liviana de longitud completa:

QGDSLRTYYAS

SEQ ID NO: 195 es la porción CDR L2 de la porción V_L de la cadena liviana de longitud completa:

GKHKRPS

SEQ ID NO: 187 es la porción CDR L3 de la porción V_L de la cadena liviana de longitud completa:

VTRSVKGNPHVL

SEQ ID NO: 198 es la región constante de cadena liviana lambda

gqpkaapsvtlfppsseelqankatlvclisdfypgavtvawkads
spvkagvetttpskqsnnkyaassylsltpeqwkshrsyscqvthe
gstvektvaptecs

Figura 20a

AbS:

Cadena pesada para AbS (SEQ ID NO:219), con CDRs HI, H2, y H3 subrayadas (SEQ ID NOs: 163, 164, y 169, respectivamente). La región constante de cadena pesada se muestra en cursiva minuscula con la triple mutación (L234A L235A G237A) mostrada en minúsculas subrayadas en negrilla (SEQ ID NO: 196).

QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCAVSGYSISSGYYWGWIRQPPGKGL
EWIGSISHTGNTYYNPPLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTA
VYYCARGGGISRPEYWGQGTLVTVSS*astkgpsvfplapsskstsg*
gtaalgclvkdyfpepvtvswnsgaltsgvhtfpavlqssglysls
svvtvpsslgtqtyicnvnhkpsntkvdkkvepkscdkthtcppc
papeaagapsvflfppkpkdtlmisrtpevtcvvvdvshedpevkf
nwyvdgvevhnaktkpreeqynstyrvvsvltvlhqdwlngkeykc
kvsnkalpapiektiskakgqprepqvytlppsreemtknqvsltc
lvkgfypsdiavewesngqpennyktppvldsdgsfflyskltvd
ksrwqqgnvfscsvmhealhnhytqkslslspgk

Cadena liviana para AbS (SEQ ID NO:220), con CDRs Ll, L2, y L3 subrayadas (SEQ ID NOs: 194, 195, y 176, respectivamente). La secuencia de cadena liviana lambda constante es indicada por minúsculas en cursiva (SEQ ID NO: 198).

SSELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDSLRTYYASWYQQKPGQAPVLV
IYGKHKRPSGIPDRFSGSSSGNTASLTITGAQAEDEADYYCMSRSI
WGNPHVLFGGGTQLTVLgqpkaapsvtlfppsseelqankatlvcl
isdfypgavtvawkadsspvkagvetttpskqsnnkyaassylslt
peqwkshrsyscqvthegstvektvaptecs

SEQ ID NO: 219 es la cadena pesada de longitud completa para AbS:

QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCAVSGYSISSGYYWGWIRQPPGKGL
EWIGSISHTGNTYYNPPLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTA
VYYCARGGGISRPEYWGQGTLVTVSSastkgpsvfplapsskstsg
gtaalgclvkdyfpepvtvswnsgaltsgvhtfpavlqssglysls
svvtvpssslgtqtyicnvnhkpsntkvdkkvepkscdkthtcppc
papeaagapsvflfppkpkdtlmisrtpevtcvvvdvshedpevkf
nwyvdgvevhnaktkpreeqynstyrvvsvltvlhqdwlngkeykc
kvsnkalpapiektiskakgqprepqvytlppsreemtknqvsltc
lvkgfypsdiavewesngqpennykttppvldsdgsfflyskltvd
ksrwqqgnvfscsvmhealhnhytqkslslspgk

Figura 20b

SEQ **ID** NO:6 es la porción V_H de la cadena pesada de longitud completa:

QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCAVSGYSISSGYYWGWIRQPPGKGL
EWIGSISHTGNTYYNPPLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTA
VYYCARGGGISRPEYWGQGTLVTVSS

SEQ **ID** NO: 163 es la porción **CDR HI** de la porción V_H de la cadena pesada de longitud completa: SGYYWG

SEQ **ID** NO: 164 es la porción **CDR H2** de la porción V_H de la cadena pesada de longitud completa:
SISHTGNTYYNPPLKS

SEQ **ID** NO:169 es la porción **CDR H3** de la porción V_H de la cadena pesada de longitud completa: GGGISRPEY

SEQ **ID** NO: 196 es la región constante de cadena pesada con la triple mutación (L234A L235A G237A) mostrada en minúsculas subrayadas en negrilla:

astkgpsvfplapsskstsggtaalgclvkdyfpepvtvswnsgal
tsgvhtfpavlqssglyslssvvtvpsssl gtqtyicnvnhkpsnt
*kvdkkvepkscdkthtcppcpape**aa**g**a**psvflfppkpkdtlmisr*
tpevtcvvvdvshedpevkfnwyvdgvevhnaktkpreeqynstyr
vvsvltvlhqdwlngkeykckvsnkalpapiektiskakgqprepq
vytlppsreemtknqvsltclvkgfypsdiavewesngqpennykt
tppvldsdgsfflyskltvdksrwqqgnvfscsvmhealhnhytqk
slslspgk

SEQ ID NO:220 es la cadena liviana de longitud completa para AbS:

SSELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDSLRTYYASWYQQKPGQAPVLV
IYGKHKRPSGIPDRFSGSSSGNTASLTITGAQAEDEADYYCMSRSI
WGNPHVLFGGGTQLTVL*gqpkaapsvtlfppsseelqankatlvcl*
isdfypgavtvawkadsspvkagvetttpskqsnnkyaassylslt
peqwkshrsyscqvthegstvektvaptecs

Figura 20c

SEQ ID NO:221 es la porción V_L de la cadena liviana de longitud completa:

SSELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDSLRTYYASWYQQKPGQAPVLV
IYGKHKRPSGIPDRFSGSSSGNTASLTITGAQAEDEADYYCMSRSI
WGNPHVLFGGGTQLTVL

SEQ ID NO: 194 es la porción CDR L1 de la porción V_L de la cadena liviana de longitud completa:
QGDSLRTYYAS

SEQ ID NO: 195 es la porción CDR L2 de la porción V_L de la cadena liviana de longitud completa: GKHKRPS

SEQ ID NO: 176 es la porción CDR L3 de la porción V_L de la cadena liviana de longitud completa: MSRSIWGNPHVL

SEQ ID NO: 198 es la región constante de cadena liviana lambda:

gqpkaapsvtlfppsseelqankatlvclisdfypgavtvawkads
spvkagvetttpskqsnnkyaassylsltpeqwkshrsyscqvthe
gstvektvaptecs

Figura 21a

AbT:

Cadena pesada para AbT (SEQ ID NO:219), con CDRs HI, H2, y H3 subrayadas (SEQ ID NOs: 163, 164, y 169, respectivamente). La región constante de cadena pesada se muestra en cursiva minuscula con la triple mutación (L234A L235A G237A) mostrada en minúsculas subrayadas en negrilla (SEQ ID NO: 196).

QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCAVSGYSISSGYYWGWIRQPPGKGL
EWIGSISHTGNTYYNPPLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTA
VYYCARGGGISRPEYWGQGTLVTVSS*astkgpsvfplapsskstsg*
gtaalgclvkdyfpepvtvswnsgaltsgvhtfpavlqssglysls
svvtvpssslgtqtyicnvnhkpsntkvdkkvepkscdkthtcppc
papeaagapsvflfppkpkdtlmisrtpevtcvvvdvshedpevkf
nwyvdgvevhnaktkpreeqynstyrvvsvltvlhqdwlngkeykc
kvsnkalpapiektiskakgqprepqvytlppsreemtknqvsltc
lvkgfypsdiavewesngqpennyktppvldsdgsfflyskltvd
ksrwqqgnvfscsvmhealhnhytqkslslspgk

Cadena liviana para AbT (SEQ ID NO:222), con CDRs Ll, L2, y L3 subrayadas (SEQ ID NOs: 194, 195, y 178, respectivamente). La secuencia de cadena liviana lambda constante es indicada por minuscula cursiva (SEQ ID NO: 198).

SSELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDSLRTYYASWYQQKPGQAPVLV
IYGKHKRPSGIPDRFSGSSSGNTASLTITGAQAEDEADYYCVARSN
KGNPHVLFGGGTQLTVL*gqpkaapsvtlfppsseelqankatlvcl*
isdfypgavtvawkadsspvkagvetttpskqsnnkyaassylslt
peqwkshrsyscqvthegstvektvaptecs

SEQ ID NO:219 es la cadena pesada de longitud completa para AbT:

QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCAVSGYSISSGYYWGWIRQPPGKGL
EWIGSISHTGNTYYNPPLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTA
VYYCARGGGISRPEYWGQGTLVTVSSastkgpsvfplapssksts g
gtaalgclvkdyfpepvtvswnsgaltsgvhtfpavlqssglysls
svvtvpsssl gtqtyicnvnhkpsntkvdkkvepkscdkthtcppc
papeaagapsvflfppkpkdtlmisrtpevtcvvvdvshedpevkf
nwyvdgvevhnaktkpreeqynstyrvvsvltvlhqdwlngkeykc
kvsnkalpapiektiskakgqprepqvytlppsreemtknqvsltc
lvkgfypsdiavewesngqpennyk ttppvldsdgsfflyskltvd
ksrwqqgnvfscsvmhealhnhytqkslslspgk

Figura 21b

SEQ ID NO:6 es la porción V_H de cadena pesada de longitud completa:

QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCAVSGYSISSGYYWGWIRQPPGKGL
EWIGSISHTGNTYYNPPLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTA
VYYCARGGGISRPEYWGQGTLVTVSS

SEQ ID NO:163 es la porción CDR HI de la porción V_H de cadena pesada de longitud completa:
SGYYWG

SEQ ID NO:164 es la porción CDR H2 de la porción V_H de cadena pesada de longitud completa:
SISHTGNTYYNPPLKS

SEQ ID NO:169 es la porción CDR H3 de la porción V_H de cadena pesada de longitud completa:
GGGISRPEY

SEQ ID NO: 196 es la región constante de cadena pesada con la triple mutación (L234A L235A G237A) mostrada en minúsculas subrayadas en negrilla:

astkgpsvfplapsskstsggtaalgclvkdyfpepvtvswnsgal
*tsgvhtfpavlqssglyslssvvtvpsssl*gtqtyicnvnhkpsnt
kvdkkvepkscdkthtcppcpapeaagapsvflfppkpkdtlmisr
tpevtcvvvdvshedpevkfnwyvdgvevhnaktkpreeqynstyr
vvsvltvlhqdwlngkeykckvsnkalpapiektiskakgqprepq
vytlppsreemtknqvsltclvkgfypsdiavewesngqpennykt
tppvldsdgsfflyskltvdksrwqqgnvfscsvmhealhnhytqk
slslspgk

SEQ ID NO:222 es la cadena liviana de longitud completa para AbT:

SSELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDSLRTYYASWYQQKPGQAPVLV
IYGKHKRPSGIPDRFSGSSSGNTASLTITGAQAEDEADYYCVARSN
KGNPHVLFGGGTQLTVL*gqpkaapsvtlfppsseelqankatlvcl*
isdfypgavtvawkadsspvkagvetttpskqsnnkyaassylslt
peqwkshrsyscqvthegstvektvaptecs

Figura 21c

SEQ ID NO:223 es la porción V_L de la cadena liviana de longitud completa:

SSELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDSLRTYYASWYQQKPGQAPVLV
IYGKHKRPSGIPDRFSGSSSGNTASLTITGAQAEDEADYYCVARSN
KGNPHVLFGGGTQLTVL

SEQ ID NO.194 es la porción CDR L1 de la porción V_L de la cadena liviana de longitud completa:

QGDSLRTYYAS

SEQ ID NO: 195 es la porción CDR L2 de la porción V_L de la cadena liviana de longitud completa: GKHKRPS

SEQ ID NO:178 es la porción CDR L3 de la porción V_L de la cadena liviana de longitud completa:

VARSNKGNPHVL

SEQ ID NO: 198 es la región constante de cadena liviana lambda:

gqpkaapsvtlfppsseelqankatlvclisdfypgavtvawkads
spvkagvetttpskqsnnkyaassylsltpeqwkshrsyscqvthe
gstvektvaptecs

Figura 22a

AbO:

Cadena pesada para AbO (SEQ ID NO:219), con CDRs HI, H2, y H3 subrayadas (SEQ ID NOs: 163,164, y 169, respectivamente). La región constante de cadena pesada se muestra en cursiva minuscula con la triple mutación (L234A L235A G237A) mostrada en minúsculas subrayadas en negrilla (SEQ ID NO: 196).

QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCAVSGYSISSGYYWGWIRQPPGKGL
EWIGSISHTGNTYYNPPLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTA
VYYCARGGGISRPEYWGQGTLVTVSS*astkgpsvfplapsskstsg*
gtaalgclvkdyfpepvtvswnsgaltsgvhtfpavlqssglysls
svvtvpsssl gtqtyicnvnhkpsntkvdkkvepkscdkthtcppc
papeaagapsvflfppkpkdtlmisrtpevtcvvvdvshedpevkf
nwyvdgvevhnaktkpreeqynstyrvvsvltvlhqdwlngkeykc
kvsnkalpapiektiskakgqprepqvytlppsreemtknqvsltc
lvkgfypsdiavewesngqpennyk ttppvldsdgsfflyskltvd
ksrwqqgnvfscsvmhealhnhytqkslslspgk

Cadena liviana para AbO (SEQ ID NO:224), con CDRs Ll, L2, y L3 subrayadas (SEQ ID NOs:194,195, y 185, respectivamente). La secuencia de cadena liviana lambda constante es indicada por minuscula cursiva (SEQ ID NO: 198).

SSELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDSLRTYYASWYQQKPGQAPVLV
IYGKHKRPSGIPDRFSGSSSGNTASLTITGAQAEDEADYYCVTRSA
KGNPHVLFGGGTQLTVL*gqpkaapsvtlfppsseelqankatlvcl*
isdfypgavtvawkadsspvkagvetttpskqsnnkyaassylslt
peqwkshrsyscqvthegstvektvaptecs

SEQ ID NO:219 es la cadena pesada de longitud completa para AbO:

QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCAVSGYSISSGYYWGWIRQPPGKGL
EWIGSISHTGNTYYNPPLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTA
VYYCARGGGISRPEYWGQGTLVTVSSastkgpsvfplapsskstsg
gtaalgclvkdyfpepvtvswnsgaltsgvhtfpavlqssglysls
svvtvpsssl gtqtyicnvnhkpsntkvdkkvepkscdkthtcppc
papeaagapsvflfppkpkdtlmisrtpevtcvvvdvshedpevkf
nwyvdgvevhnaktkpreeqynstyrvvsvltvlhqdwlngkeykc
kvsnkalpapiektiskakgqprepqvytlppsreemtknqvsltc
lvkgfypsdiavewesngqpennyktppvldsdgsfflyskltvd
ksrwqqgnvfscsvmhealhnhytqkslslspgk

Figura 22b

SEQ ID N0:6 es la porción V_H de cadena pesada de longitud completa:

QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCAVSGYSISSGYYWGWIRQPPGKGL
EWIGSISHTGNTYYNPPLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTA
VYYCARGGGISRPEYWGQGTLVTVSS

SEQ ID NO: 163 es la porción CDR HI de la porción V_H de cadena pesada de longitud completa: SGYYWG

SEQ ID NO: 164 es la porción CDR H2 de la porción V_H de cadena pesada de longitud completa: SISHTGNTYYNPPLKS

SEQ ID NO: 169 es la porción CDR H3 de la porción V_H de cadena pesada de longitud completa: GGGISRPEY

SEQ ID NO: 196 es la región constante de cadena pesada con la triple mutación (L234A L235A G237A) mostrada en minúsculas subrayadas en negrilla:

astkgpsvfplapsskstsggtaalgclvkdyfpepvtvswnsgal
tsgvhtfpavlqssglyslssvvtvpsssl gtqtyicnvnhkpsnt
kvdkkvepkscdkthtcppcpapeaagapsvflfppkpkdtlmisr
tpevtcvvvdvshedpevkfnwyvdgvevhnaktkpreeqynstyr
vvsvltvlhqdwlngkeykckvsnkalpapiektiskakgqprepq
vytlppsreemtknqvsltclvkgfypsdiavewesngqpennykt
tppvldsdgsfflysk ltvdksrwqqgnvfscsvmhealhnhytqk
slslspgk

SEQ ID NO:224 es la cadena liviana de longitud completa para AbO:

SSELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDSLRTYYASWYQQKPGQAPVLV
IYGKHKRPSGIPDRFSGSSSGNTASLTITGAQAEDEADYYCVTRSA
KGNPHVLFGGGTQLTVL*gqpkaapsvtlfppsseelqankatlvcl*
isdfypgavtvawkadsspvkagvetttpskqsnnkyaassylslt
peqwkshrsyscqvthegstvektvaptecs

Figura 22c

SEQ ID NO:225 es la porción V_L de la cadena liviana de longitud completa:

SSELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDSLRTYYASWYQQKPGQAPVLV
IYGKHKRPSGIPDRFSGSSSGNTASLTITGAQAEDEADYYCVTRSA
KGNPHVLFGGGTQLTVL

SEQ ID NO:194 es la porción CDR L1 de la porción V_L de la cadena liviana de longitud completa:
QGDSLRTYYAS

SEQ ID NO: 195 es la porción CDR L2 de la porción V_L de la cadena liviana de longitud completa: GKHKRPS

SEQ ID NO: 185 es la porción CDR L3 de la porción V_L de la cadena liviana de longitud completa:
VTRSAKGNPHVL

SEQ ID NO: 198 es la región constante de cadena liviana lambda:

gqpkaapsvtlfppsseelqankatlvclisdfypgavtvawkads
spvkagvetttpskqsnnkyaassylsltpeqwkshrsyscqvthe
gstvektvaptecs

Figura 23a

AbP:

Cadena pesada para AbP (SEQ ID NO:219), con CDRs HI, H2, y H3 subrayadas (SEQ ID NOs: 163,164, y 169, respectivamente). La región constante de cadena pesada se muestra en cursiva

minuscula con la triple mutación (L234A L235A G237A) mostrada en minúsculas subrayadas en negrilla (SEQ ID NO: 196).

QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCAVSGYSISSGYYWGWIRQPPGKGL
EWIGSISHTGNTYYNPPLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTA
VYYCARGGGISRPEYWGQGTLVTVSSastkgpsvfplapsskstsg
gtaalgclvkdyfpepvtvswnsgaltsgvhtfpavlqssglysls
svvtvpsssslgtqtyicnvnhkpsntkvdkkvepkscdkthtcppc
papeaagapsvflfppkpkdtlmisrtpevtcvvvdvshedpevkf
nwyvdgvevhnaktkpreeqynstyrvvsvltvlhqdwlngkeykc
kvsnkalpapiektiskakgqprepqvytlppsreemtknqvsltc
lvkgfypsdiavewesngqpennykttppvldsdgsfflyskltvd
ksrwqqgnvfscsvmhealhnhytqkslslspgk

Cadena liviana para AbP (SEQ ID NO:226), con CDRs Ll, L2, y L3 subrayadas (SEQ ID NOs: 194,195, y 189, respectivamente). La secuencia de cadena liviana lambda constante es indicada por minuscula cursiva (SEQ ID NO: 198).

SSELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDSLRTYYASWYQQKPGQAPVLV
IYGKHKRPSGIPDRFSGSSSGNTASLTITGAQAEDEADYYCVSRSA
KGNPHVLFGGGTQLTVLgqpkaapsvtlfppsseelqankatlvcl
isdfypgavtvawkadsspvkagvetttpskqsnnkyaassylslt
peqwkshrsyscqvthegstvektvaptecs

SEQ ID NO:219 es la cadena pesada de longitud completa para AbP:

QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCAVSGYSISSGYYWGWIRQPPGKGL
EWIGSISHTGNTYYNPPLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTA
VYYCARGGGISRPEYWGQGTLVTVSSastkgpsvfplapsskstsg
gtaalgclvkdyfpepvtvswnsgaltsgvhtfpavlqssglysls
svvtvpsssslgtqtyicnvnhkpsntkvdkkvepkscdkthtcppc
papeaagapsvflfppkpkdtlmisrtpevtcvvvdvshedpevkf
nwyvdgvevhnaktkpreeqynstyrvvsvltvlhqdwlngkeykc
kvsnkalpapiektiskakgqprepqvytlppsreemtknqvsltc
lvkgfypsdiavewesngqpennykttppvldsdgsfflyskltvd
ksrwqqgnvfscsvmhealhnhytqkslslspgk

Figura 23b

SEQ ID NO:6 es la porción V_H de cadena pesada de longitud completa:

QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCAVSGYSISSGYYWGWIRQPPGKGL
EWIGSISHTGNTYYNPPLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTA
VYYCARGGGISRPEYWGQGTLVTVSS

SEQ ID NO:163 es la porción CDR HI de la porción V_H de cadena pesada de longitud completa: SGYYWG

SEQ ID NO: 164 es la porción CDR H2 de la porción V_H de cadena pesada de longitud completa:
SISHTGNTYYNPPLKS

SEQ ID NO: 169 es la porción CDR H3 de la porción V_H de cadena pesada de longitud completa: GGGISRPEY

SEQ ID NO: 196 es la región constante de cadena pesada con la triple mutación (L234A L235A G237A) mostrada en minúsculas subrayadas en negrilla:

astkgpsvfplapsskstsggtaalgclvkdyfpepvtvswnsgal
tsgvhtfpavlqssglyslssvvtvpsssl gtqtyicnvnhkpsnt
kvdkkvepkscdkthtcppcpapeaagapsvflfppkpkdtlmisr
tpevtcvvvdvshedpevkfnwyvdgvevhnaktkpreeqynstyr
vvsvltvlhqdwlngkeykckvsnkalpapiektiskakgqprepq
vytlppsreemtknqvsltclvkgfypsdiavewesngqpennykt
tppvldsdgsfflyskltvdksrwqqgnvfscsvmhealhnhytqk
slslspgk

SEQ ID NO:226 es la cadena liviana de longitud completa para AbP:

SSELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDSLRTYYASWYQQKPGQAPVLV
IYGKHKRPSGIPDRFSGSSSGNTASLTITGAQAEDEADYYCVSRSA
KGNPHVLFGGGTQLTVLgqpkaapsvtlfppsseelqankatlvcl
isdfypgavtvawkadsspvkagvetttpskqsnnkyaassylslt
peqwkshrsyscqvthegstvektvaptecs

Figura 23c

SEQ ID NO:227 es la porción V_L de la cadena liviana de longitud completa:

SSELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDSLRTYYASWYQQKPGQAPVLV
IYGKHKRPSGIPDRFSGSSSGNTASLTITGAQAEDEADYYCVSRSA
KGNPHVLFGGGTQLTVL

SEQ ID NO: 194 es la porción CDR L1 de la porción V_L de la cadena liviana de longitud completa:
QGDSLRTYYAS

SEQ ID NO: 195 es la porción CDR L2 de la porción V_L de la cadena liviana de longitud completa: GKHKRPS

SEQ ID NO: 189 es la porción CDR L3 de la porción V_L de la cadena liviana de longitud completa: VSRSAKGNPHVL

SEQ ID NO: 198 es la región constante de cadena liviana lambda:

gqpkaapsvtlfppsseelqankatlvclisdfypgavtvawkads
spvkagvetttpskqsnnkyaassylsltpeqwkshrsyscqvthe
gstvektvaptecs

Figura 24a

AbU:

Cadena pesada para AbU (SEQ ID NO:219), con CDRs HI, H2, y H3 subrayadas (SEQ ID NOs: 163,164, y 169, respectivamente). La región constante de cadena pesada se muestra en cursiva minuscula con la triple mutación (L234A L235A G237A) mostrada en minúsculas subrayadas en negrilla (SEQ ID NO: 196).

QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCAVSGYSISSGYYWGWIRQPPGKGL
EWIGSISHTGNTYYNPPLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTA
VYYCARGGGISRPEYWGQGTLVTVSSastkgpsvfplapssksts g
gtaalgclvkdyfpepvtvswnsgaltsgvhtfpavlqssglysls
svvtvpsssl gtqtyicnvnhkpsntkvdkkvepkscdkthtcppc
papeaagapsvflfppkpkdtlmisrtpevtcvvvdvshedpevkf
nwyvdgvevhnaktkpreeqynstyrvvsvltvlhqdwlngkeykc
kvsnkalpapiektiskakgqprepqvytlppsreemtknqvsltc
lvkgfypsdiavewesngqpennykttppvldsdgsfflyskltvd
ksrwqqgnvfscsvmhealhnhytqkslslspgk

Cadena liviana para AbU (SEQ ID NO:228), con CDRs Ll, L2, y L3 subrayadas (SEQ ID NOs: 194,195, y 193, respectivamente). La secuencia de cadena liviana lambda constante es indicada por minuscula cursiva (SEQ ID NO: 198).

SSELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDSLRTYYASWYQQKPGQAPVLV
IYGKHKRPSGIPDRFSGSSSGNTASLTITGAQAEDEADYYCTTRSN
KGNPHVLFGGGTQLTVLgqpkaapsvtlfppsseelqankatlvcl
isdfypgavtvawkadsspvkagvetttpskqsnnkyaassylslt
peqwkshrsyscqvthegstvektvaptecs

SEQ ID NO:219 es la cadena pesada de longitud completa para AbU:

QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCAVSGYSISSGYYWGWIRQPPGKGL
EWIGSISHTGNTYYNPPLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTA
VYYCARGGGISRPEYWGQGTLVTVSSastkgpsvfplapssksts g
gtaalgclvkdyfpepvtvswnsgaltsgvhtfpavlqssglysls
svvtvpsssl gtqtyicnvnhkpsntkvdkkvepkscdkthtcppc
papeaagapsvflfppkpkdtlmisrtpevtcvvvdvshedpevkf
nwyvdgvevhnaktkpreeqynstyrvvsvltvlhqdwlngkeykc
kvsnkalpapiektiskakgqprepqvytlppsreemtknqvsltc
lvkgfypsdiavewesngqpennykttppvldsdgsfflyskltvd
ksrwqqgnvfscsvmhealhnhytqkslslspgk

Figura 24b

SEQ ID NO:6 es la porción VH de cadena pesada de longitud completa:

QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCAVSGYSISSGYYWGWIRQPPGKGL
EWIGSISHTGNTYYNPPLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTA
VYYCARGGGISRPEYWGQGTLVTVSS

SEQ ID NO: 163 es la porción CDR HI de la porción V_H de cadena pesada de longitud completa: SGYYWG

SEQ ID NO: 164 es la porción CDR H2 de la porción V_H de cadena pesada de longitud completa: SISHTGNTYYNPPLKS

SEQ ID NO:169 es la porción CDR H3 de la porción V_H de cadena pesada de longitud completa: GGGISRPEY

SEQ ID NO: 196 es la región constante de cadena pesada con la triple mutación (L234A L235A G237A) mostrada en minúsculas subrayadas en negrilla:

astkgpsvfplapsskstsggtaalgclvkdyfpepvtvswnsgal
*tsgvhtfpavlqssglyslssvvtvpsssl**g**tqtyicnvnhkpsnt*
*kvdkkvepkscdkthtcppcpape**aa**g**a**psvflfppkpkdtlmisr*
tpevtcvvvdvshedpevkfnwyvdgvevhnaktkpreeqynstyr
vvsvltvlhqdwlngkeykckvsnkalpapiektiskakgqprepq
vytlppsreemtknqvsltclvkgfypsdiavewesngqpennykt
tppvldsdgsfflyskltvdksrwqqgnvfscsvmhealhnhytqk
slslspgk

SEQ ID NO:228 es la cadena liviana de longitud completa para AbU:

SSELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDSLRTYYASWYQQKPGQAPVLV
IYGKHKRPSGIPDRFSGSSSGNTASLTITGAQAEDEADYYCTTRSN
KGNPHVLFGGGTQLTVL*gqpkaapsvtlfppsseelqankatlvcl*
isdfypgavtvawkadsspvkagvetttpskqsnnkyaassylslt
peqwkshrsyscqvthegstvektvaptecs

Figura 24c

SEQ ID NO:229 es la porción V_L de la cadena liviana de longitud completa:

SSELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDSLRTYYASWYQQKPGQAPVLV
IYGKHKRPSGIPDRFSGSSSGNTASLTITGAQAEDEADYYCTTRSN
KGNPHVLFGGGTQLTVL

SEQ ID NO: 194 es la porción CDR L1 de la porción V_L de la cadena liviana de longitud completa: QGDSLRTYYAS

SEQ ID NO: 195 es la porción CDR L2 de la porción V_L de la cadena liviana de longitud completa:
GKHKRPS

SEQ ID NO: 193 es la porción CDR L3 de la porción V_L de la cadena liviana de longitud completa: TTRSNKGNPHVL

SEQ ID NO: 198 es la región constante de cadena liviana lambda:

gqpkaapsvtlfppsseelqankatlvclisdfypgavtvawkads
spvkagvetttpskqsnnkyaassylsltpeqwkshrsyscqvthe
gstvektvaptecs

Figura 25a

AbV:

Cadena pesada para AbV (SEQ ID NO:218), con CDRs HI, H2, y H3 subrayadas (SEQ ID NOs:163,164, y 165, respectivamente). La región constante de cadena pesada se muestra en cursiva minuscula con la triple mutación (L234A L235A G237A) mostrada en minúsculas subrayadas en negrilla (SEQ ID NO: 196).

QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCAVSGYSISSGYYWGWIRQPPGKGL
EWIGSISHTGNTYYNPPLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTA
VYYCARFMGFGRPEYWGQGTLVTVSS*astkgpsvfplapsskstsg*
gtaalgclvkdyfpepvtvswnsgaltsgvhtfpavlqssglysls
svvtvpsssl gtqtyicnvnhkpsntkvdkkvepkscdkthtcppc
papeaagapsvflfppkpkdtlmisrtpevtcvvvdvshedpevkf
nwyvdgvevhnaktkpreeqynstyrvvsvltvlhqdwlngkeykc
kvsnkalpapiektiskakgqprepqvytlppsreemtknqvsltc
lvkgfypsdiavewesngqpennykttppvldsdgsfflyskltvd
ksrwqqgnvfscsvmhealhnhytqkslslspgkk

Cadena liviana para AbV (SEQ ID NO:214), con CDRs Ll, L2, y L3 subrayadas (SEQ ID NOs: 194,195, y 172, respectivamente). La secuencia de cadena liviana lambda constante es indicada por minuscula cursiva (SEQ ID NO: 198).

SSELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDSLRTYYASWYQQKPGQAPVLV
IYGKHKRPSGIPDRFSGSSSGNTASLTITGAQAEDEADYYCVARSV
VGNPHVLFGGGTQLTVLgqpkaapsvtlfppsseelqankatlvcl
isdfypgavtvawkadsspvkagvetttpskqsnnkyaassylslt
peqwkshrsyscqvthegstvektvaptecs

SEQ ID NO:218 es la cadena pesada de longitud completa para AbV:

QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCAVSGYSISSGYYWGWIRQPPGKGL
EWIGSISHTGNTYYNPPLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTA
VYYCARFMGFGRPEYWGQGTLVTVSSastkgpsvfplapsskstsg
gtaalgclvkdyfpepvtvswnsgaltsgvhtfpavlqssglysls
svvtvpsssslgtqtyicnvnhkpsntkvdkkvepkscdkthtcppc
papeaagapsvflfppkpkdtlmisrtpevtcvvvdvshedpevkf
nwyvdgvevhnaktkpreeqynstyrvvsvltvlhqdwlngkeykc
kvsnkalpapiektiskakgqprepqvytlppsreemtknqvsltc
lvkgfypsdiavewesngqpennyktppvldsdgsfflyskltvd
ksrwqqgnvfscsvmhealhnhytqkslslspgk

Figura 25b

SEQ ID NO: 14 es la porción V_H de la cadena pesada de longitud completa:

QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCAVSGYSISSGYYWGWIRQPPGKGL
EWIGSISHTGNTYYNPPLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTA
VYYCARFMGFGRPEYWGQGTLVTVSS

SEQ ID NO:163 es la porción CDR HI de la porción V_H de la cadena pesada de longitud completa: SGYYWG

SEQ ID NO: 164 es la porción CDR H2 de la porción V_H de la cadena pesada de longitud completa:
SISHTGNTYYNPPLKS

SEQ ID NO: 165 es la porción CDR H3 de la porción V_H de la cadena pesada de longitud completa: FMGFGRPEY

SEQ ID NO: 196 es la región constante de cadena pesada con la triple mutación (L234A L235A G237A) mostrada en minúsculas subrayadas en negrilla:

astkgpsvfplapsskstsggtaalgclvkdyfpepvtvswnsgal
tsgvhtfpavlqssglyslssvvtvpsssl gtqtyicnvnhkpsnt
*kvdkkvepkscdkthtcppcpape**aa**g**a**psvflfppkpkdtlmisr*
tpevtcvvvdvshedpevkfnwyvdgvevhnaktkpreeqynstyr
vvsvltvlhqdwlngkeykckvsnkalpapiektiskakgqprepq
vytlppsreemtknqvsltclvkgfypsdiavewesngqpennykt
tppvldsdgsfflyskltvdksrwqqgnvfscsvmhealhnhytqk
slslspgk

SEQ ID NO:214 es la cadena liviana de longitud completa para AbV:

SSELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDSLRTYYASWYQQKPGQAPVLV
IYGKHKRPSGIPDRFSGSSSGNTASLTITGAQAEDEADYYCVARSV
VGNPHVLFGGGTQLTVL*gqpkaapsvtlfppsseelqankatlvcl*
isdfypgavtvawkadsspvkagvetttpskqsnnkyaassylslt
peqwkshrsyscqvthegstvektvaptecs

Figura 25c

SEQ ID NO:215 es la porción V_L de la cadena liviana de longitud completa:

SSELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDSLRTYYASWYQQKPGQAPVLV
IYGKHKRPSGIPDRFSGSSSGNTASLTITGAQAEDEADYYCVARSV
VGNPHVLFGGGTQLTVL

SEQ ID NO: 194 es la porción CDR L1 de la porción V_L de la cadena liviana de longitud completa:
QGDSLRTYYAS

SEQ ID NO: 195 es la porción CDR L2 de la porción V_L de la cadena liviana de longitud completa: GKHKRPS

SEQ ID NO: 172 es la porción CDR L3 de la porción V_L de la cadena liviana de longitud completa:
VARSVVGNPHVL

SEQ ID NO: 198 es la región constante de cadena liviana lambda:

gqpkaapsvtlfppsseelqankatlvclisdfypgavtvawkads
spvkagvetttpskqsnnkyaassylsltpeqwkshrsyscqvthe
gstvektvaptecs

Figure 1a

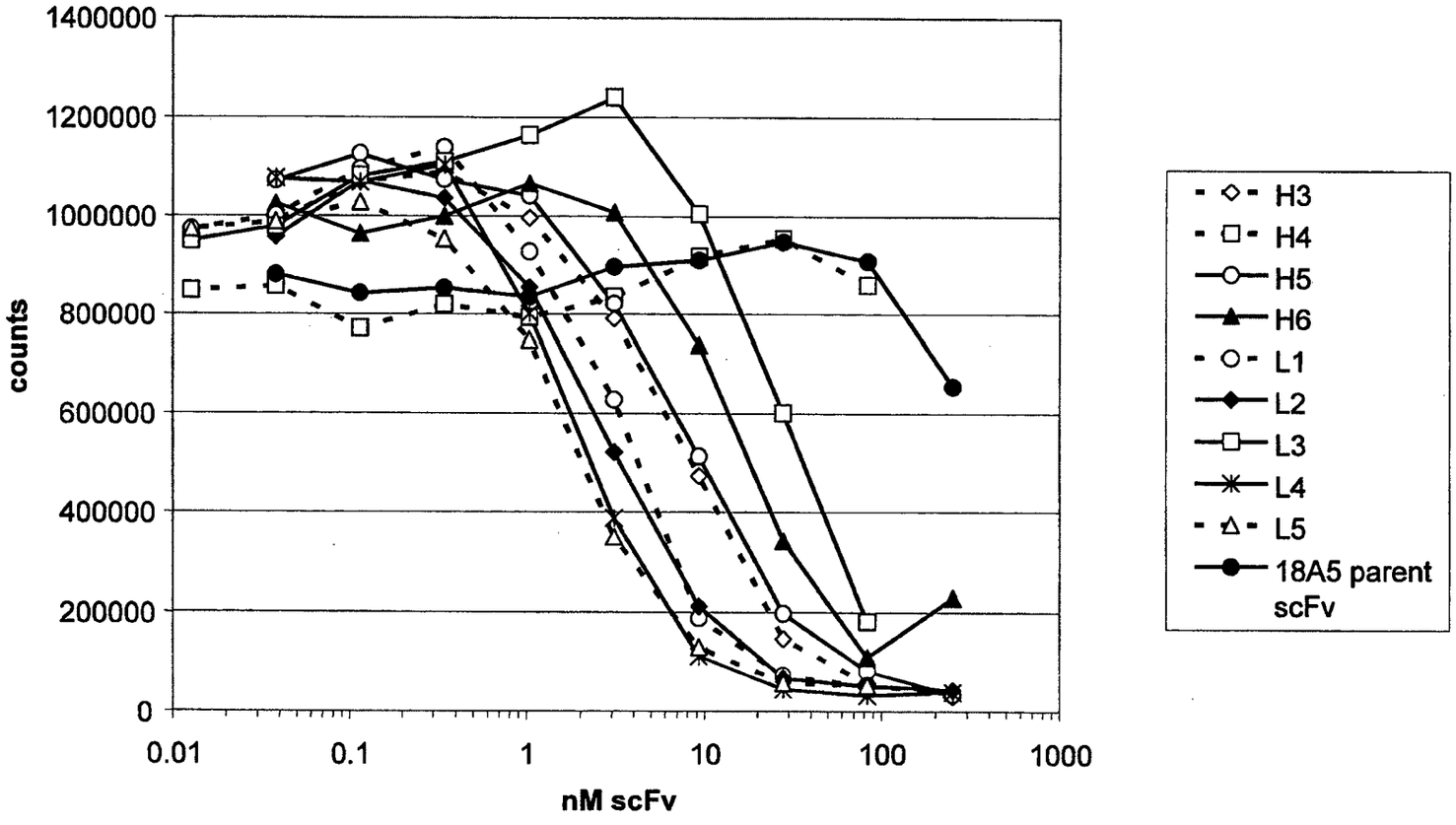

1400000
1200000
1000000
800000
600000
400000
200000
0
counts
0.01
0.1
1
10
100
1000
nM scFv
H3
H4
H5
H6
L1
L2
L3
L4
L5
18A5 parent scFv

Figure 1b

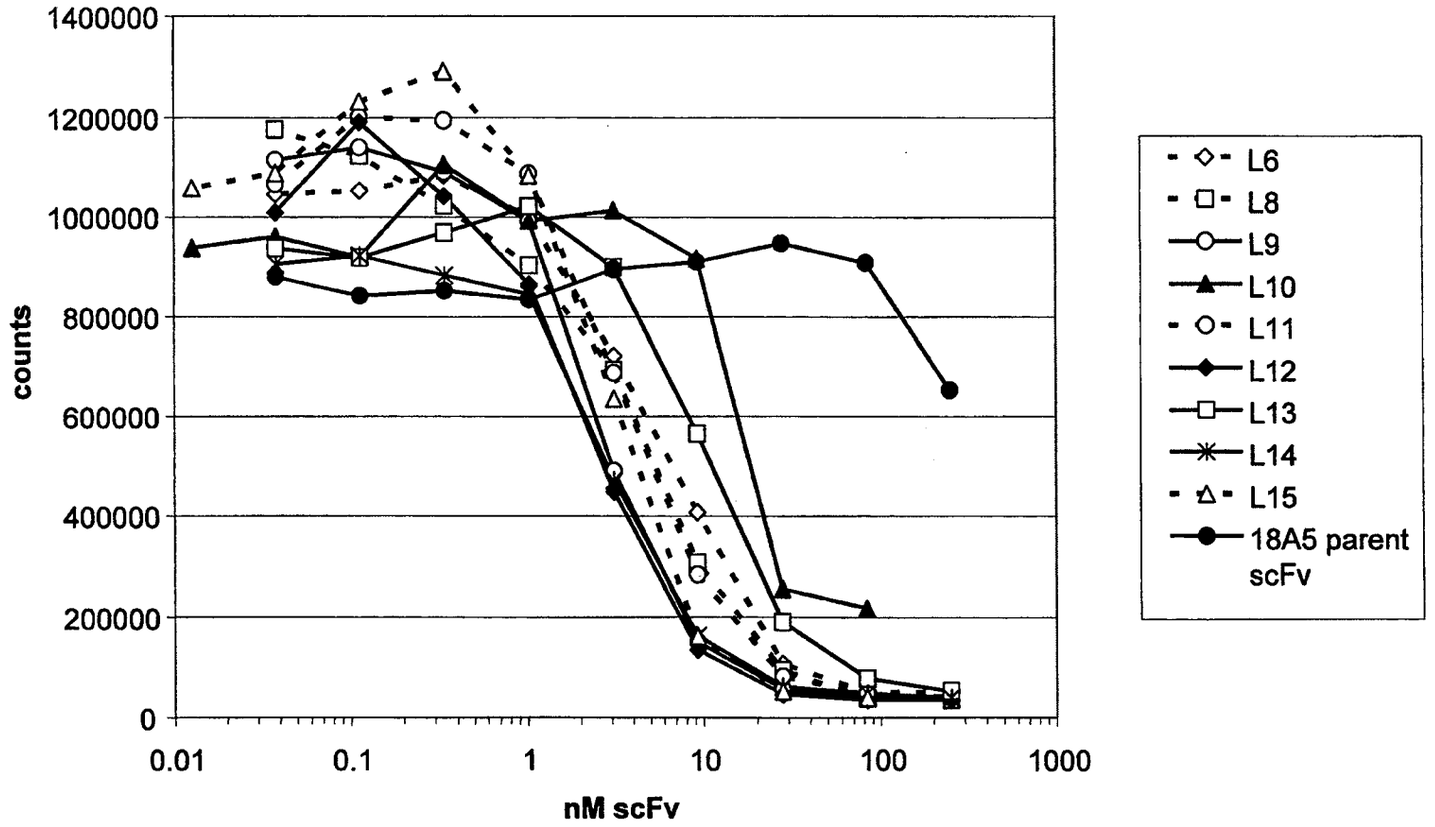

1400000
1200000
1000000
800000
600000
400000
200000
0
counts
0.01
0.1
1
10
100
1000
nM scFv
L6
L8
L9
L10
L11
L12
L13
L14
L15
18A5 parent scFv

Figure 1c

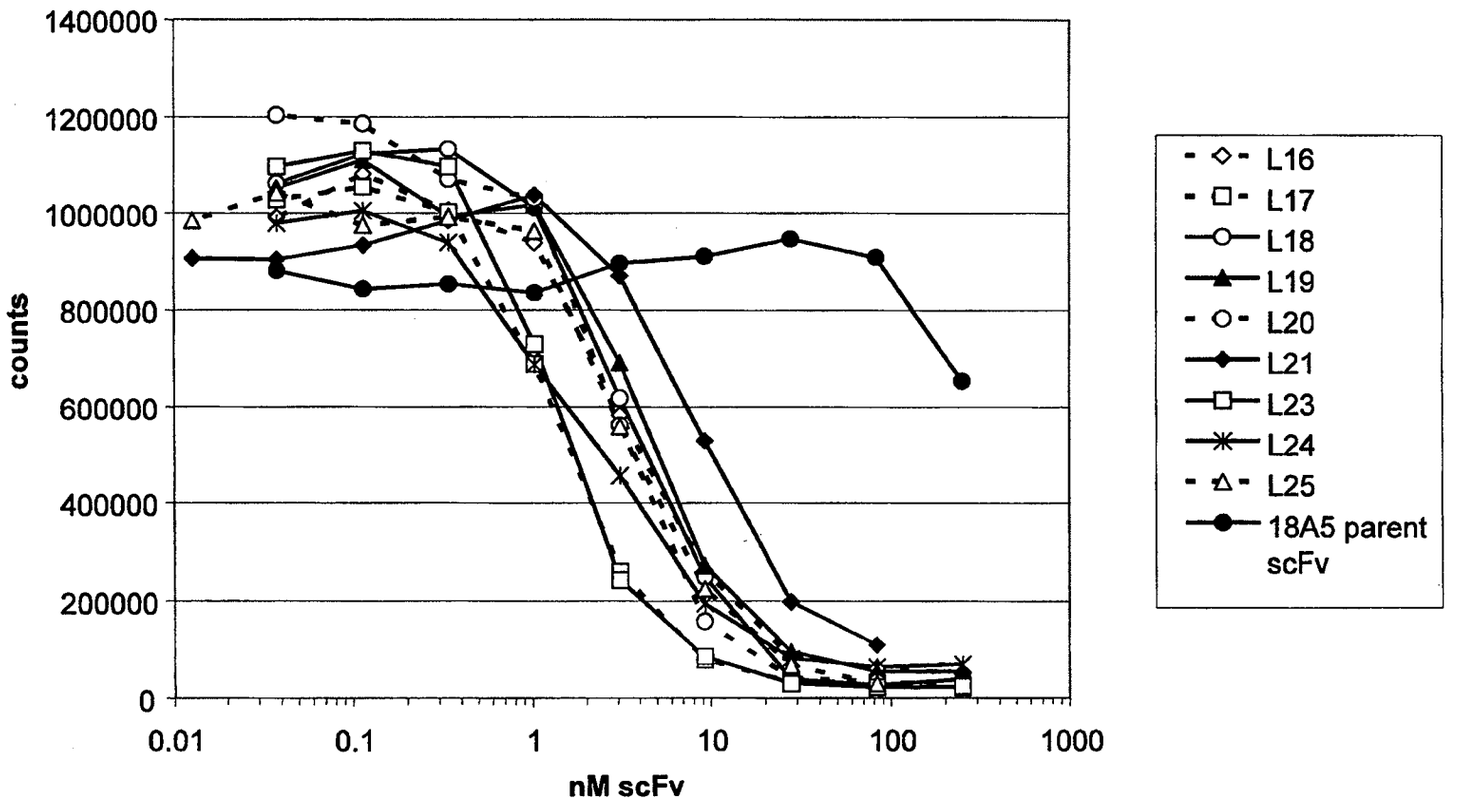

1400000
1200000
1000000
800000
600000
400000
200000
0
counts
0.01
0.1
1
10
100
1000
nM scFv
L16
L17
L18
L19
L20
L21
L23
L24
L25
18A5 parent scFv

Figure 2a

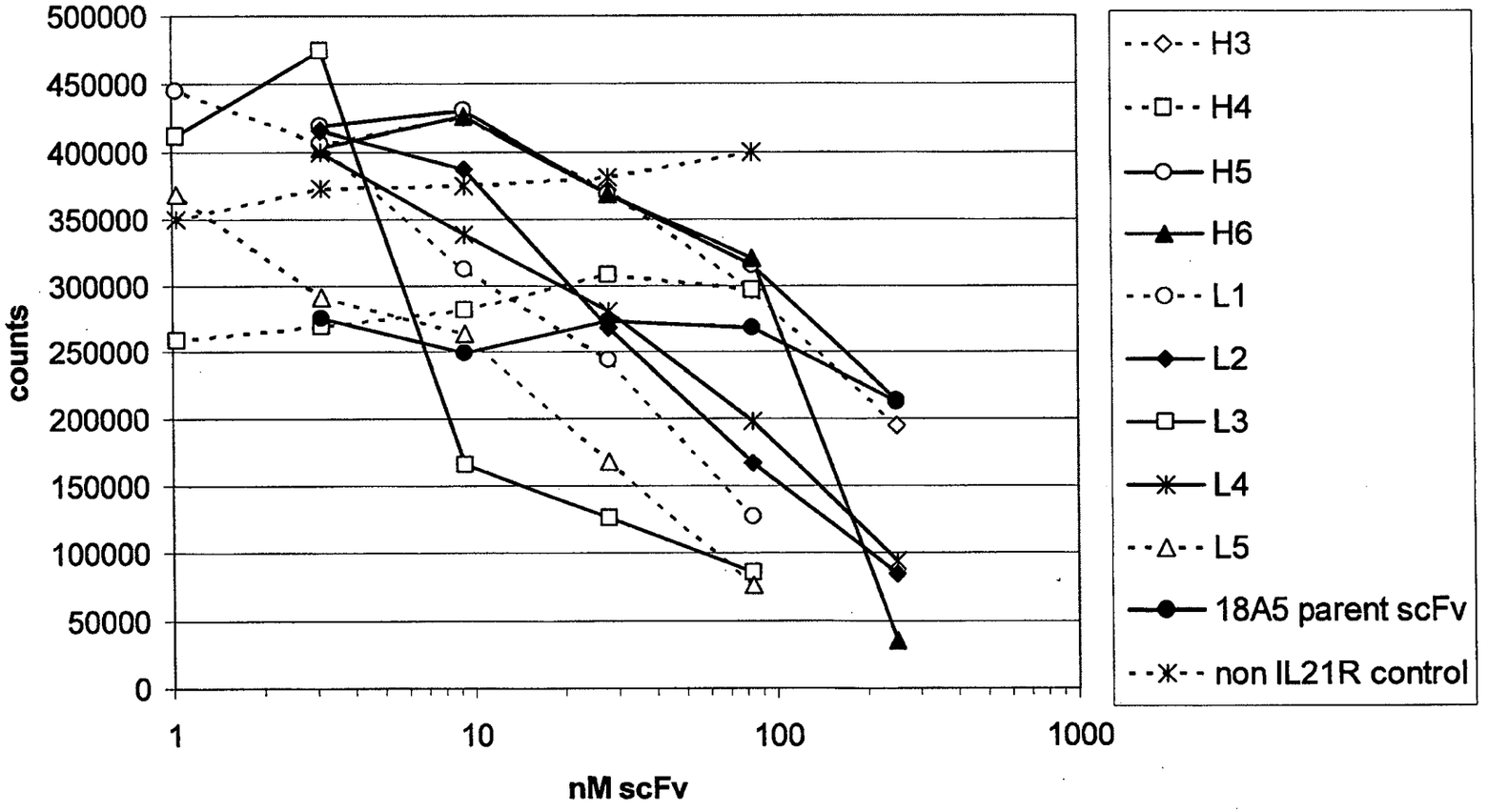

500000
450000
400000
350000
300000
250000
200000
150000
100000
50000
0
counts
1
10
100
1000
nM scFv
H3
H4
H5
H6
L1
L2
L3
L4
L5
18A5 parent scFv
non IL21R control

Figure 2b

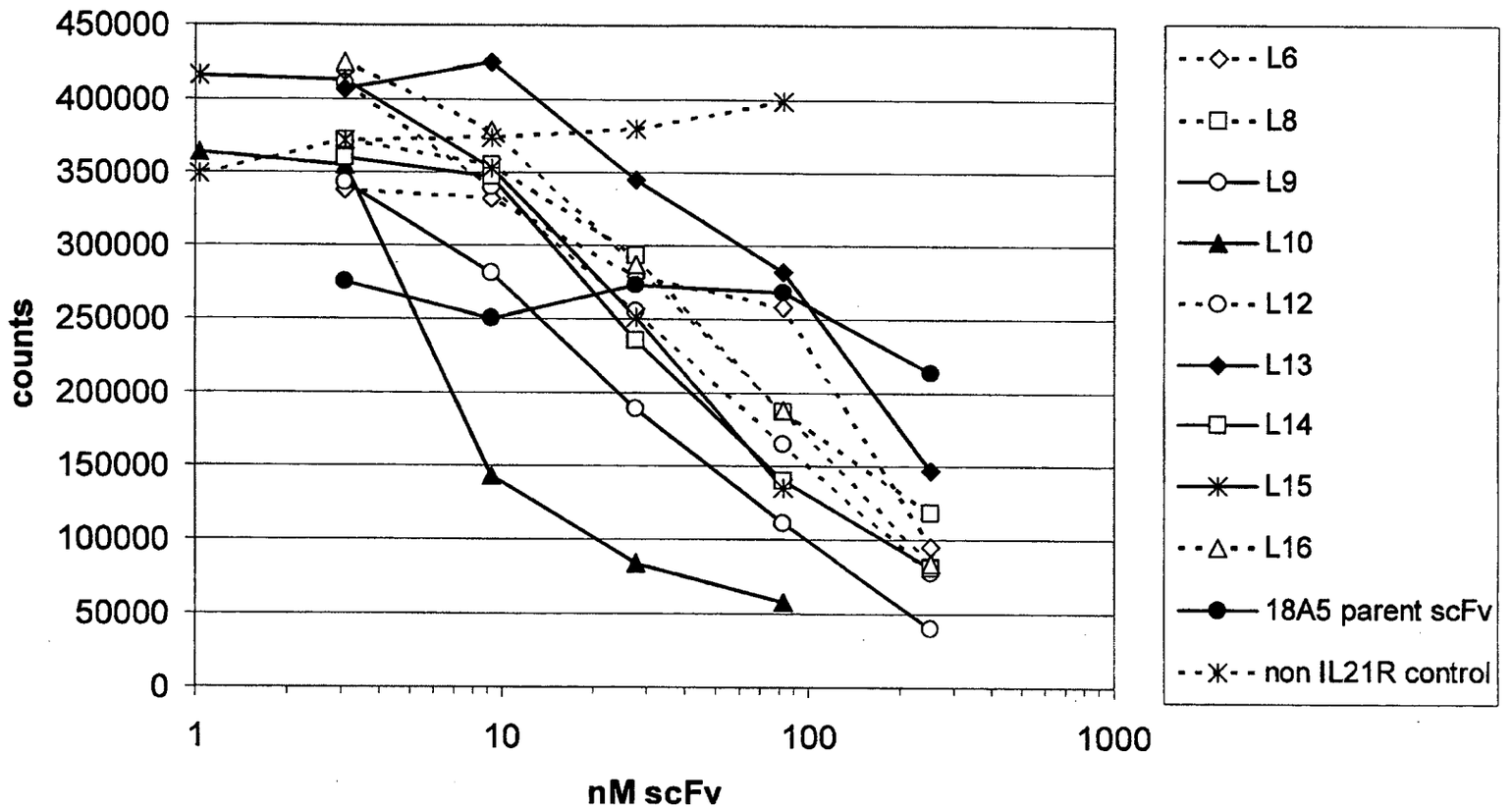

450000
400000
350000
300000
250000
200000
150000
100000
50000
0
counts
1
10
100
1000
nM scFv
L6
L8
L9
L10
L12
L13
L14
L15
L16
18A5 parent scFv
non IL21R control

Figure 2c

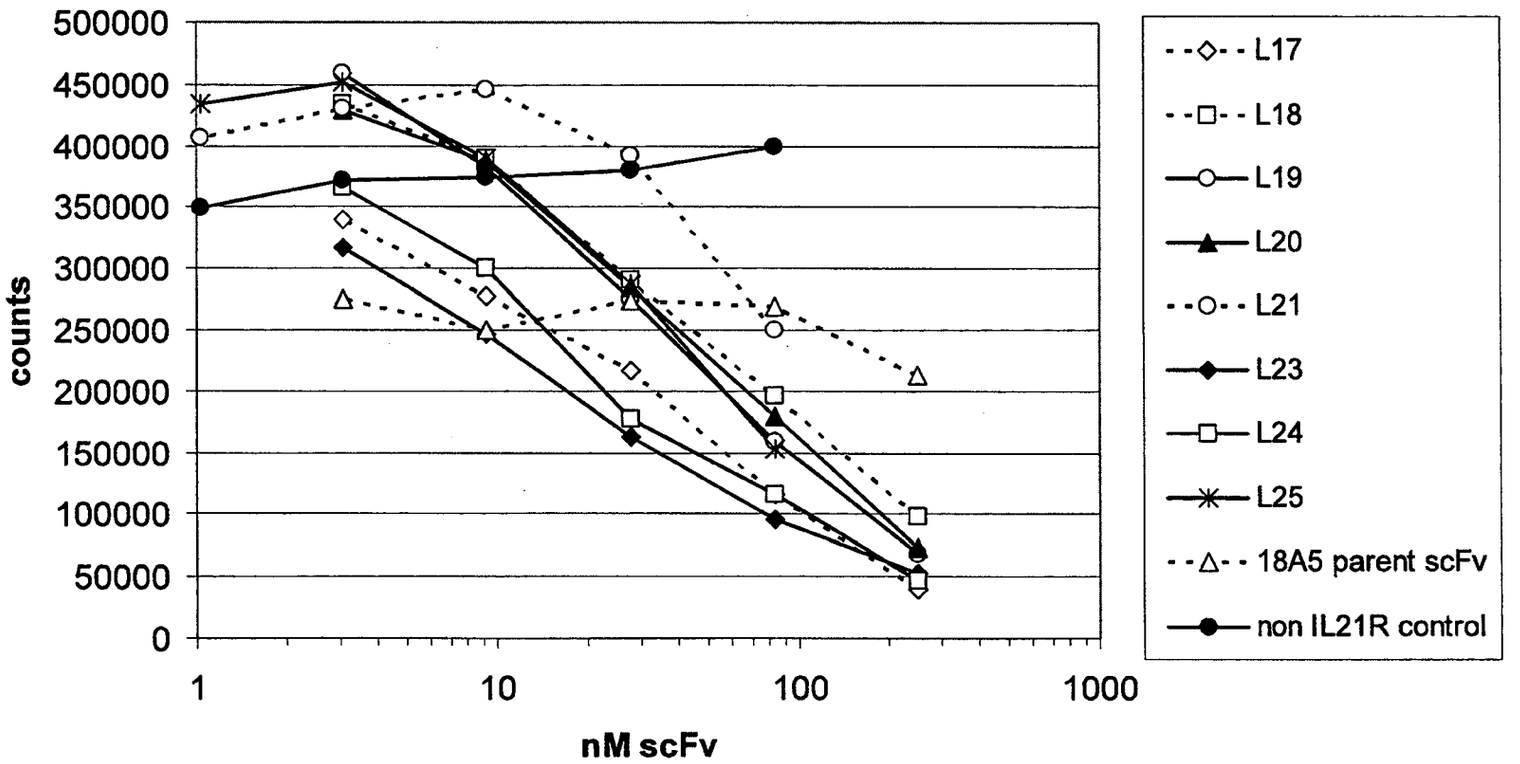

500000
450000
400000
350000
300000
250000
200000
150000
100000
50000
0
counts
1
10
100
1000
nM scFv
L17
L18
L19
L20
L21
L23
L24
L25
18A5 parent scFv
non IL21R control

Figure 3a

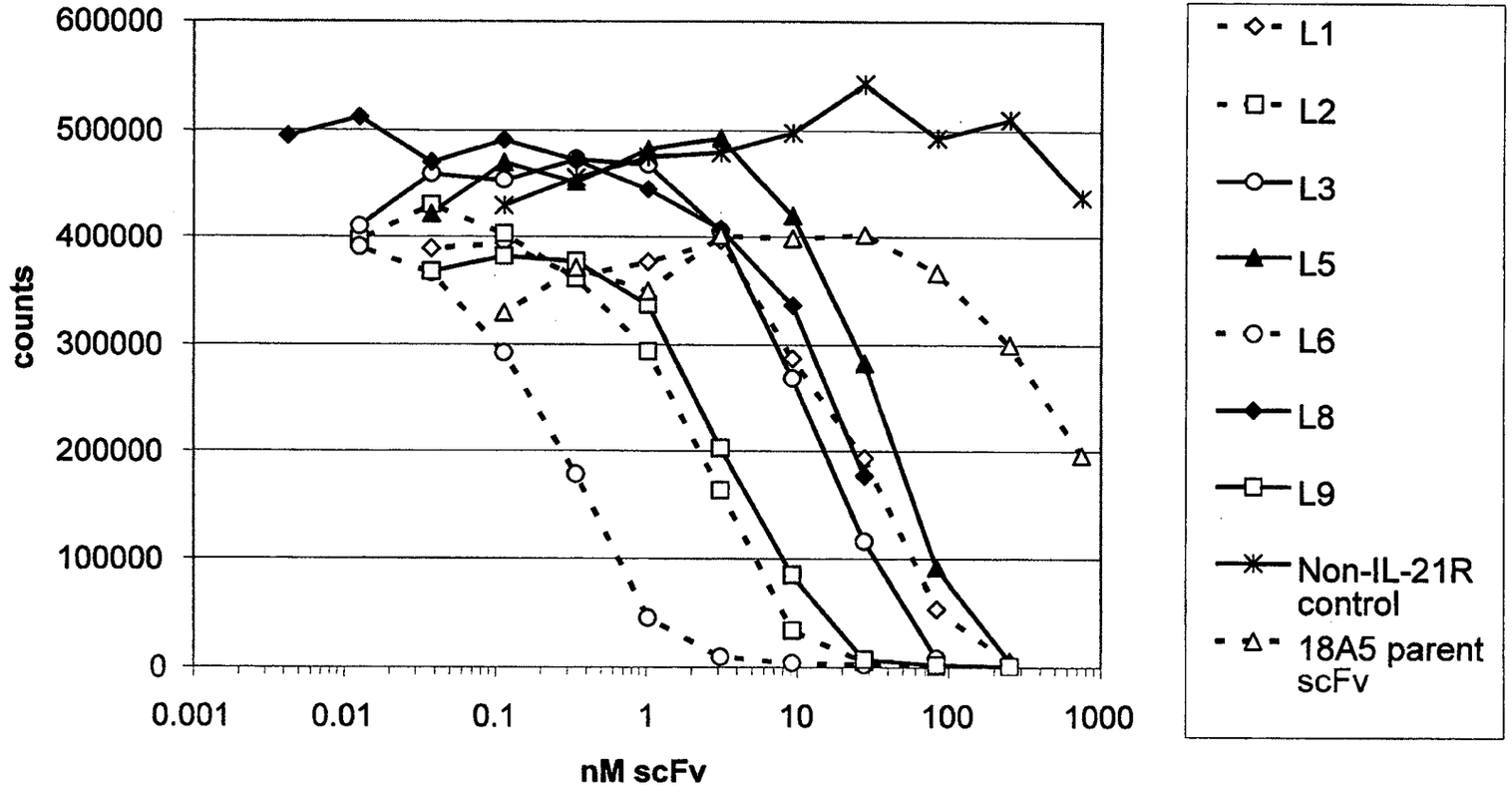

600000
500000
400000
300000
200000
100000
0
counts
0.001
0.01
0.1
1
10
100
1000
nM scFv
L1
L2
L3
L5
L6
L8
L9
Non-IL-21R control
18A5 parent scFv

Figure 3b

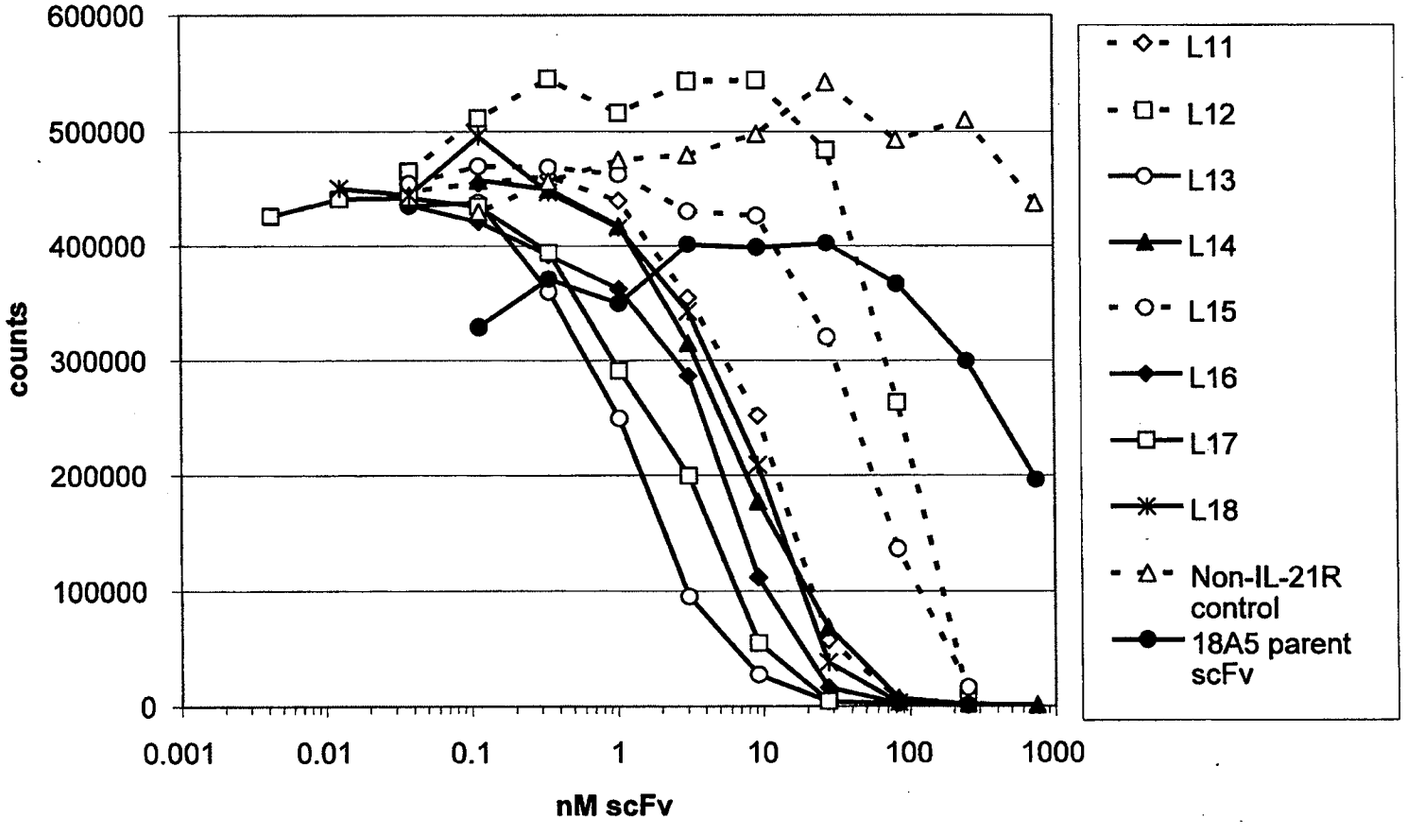

600000
500000
400000
300000
200000
100000
0
counts
0.001
0.01
0.1
1
10
100
1000
nM scFv
L11
L12
L13
L14
L15
L16
L17
L18
Non-IL-21R control
18A5 parent scFv

Figure 3c

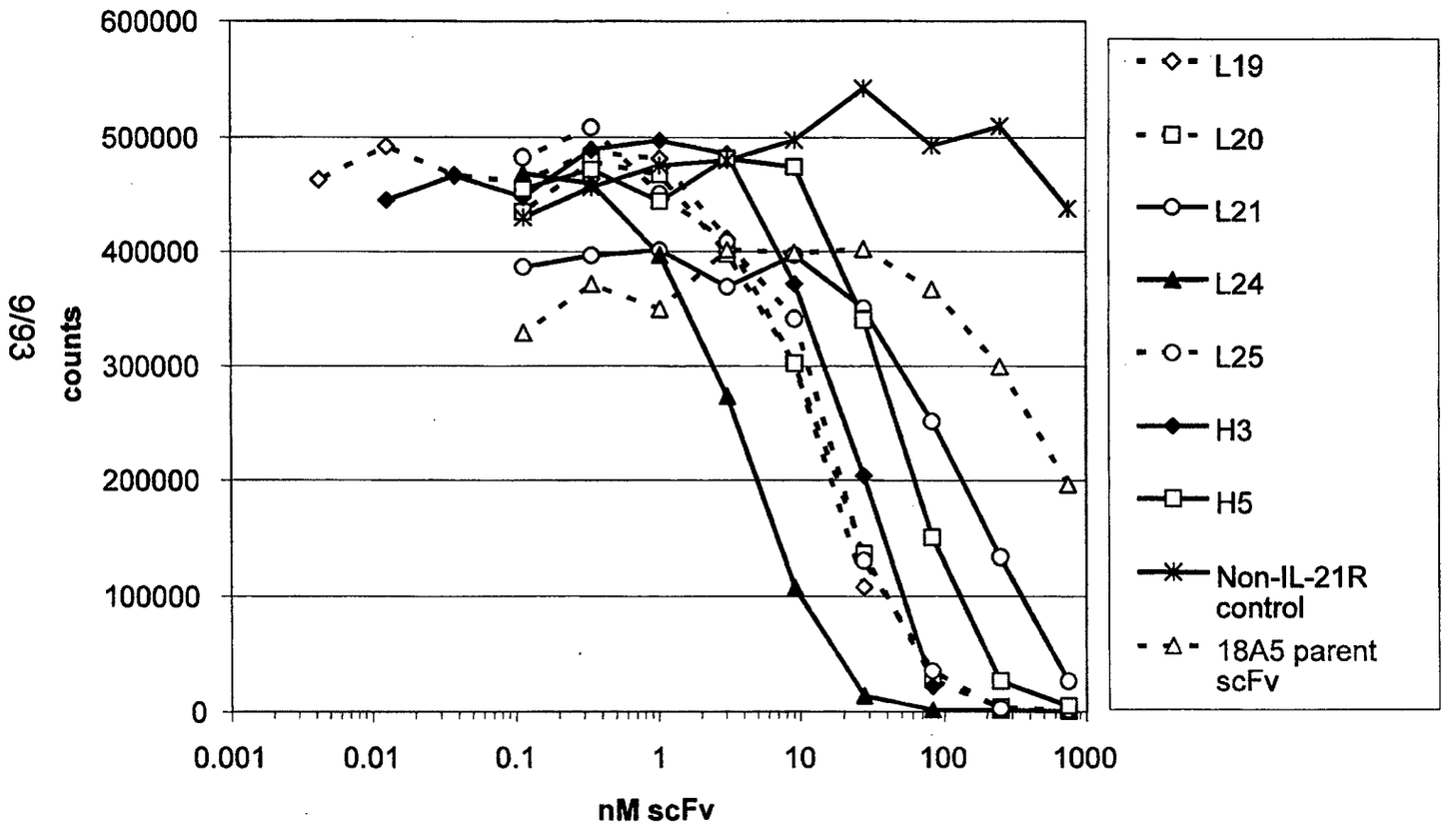

600000
500000
400000
300000
200000
100000
0
E6/6 counts
0.001
0.01
0.1
1
10
100
1000
nM scFv
L19
L20
L21
L24
L25
H3
H5
Non-IL-21R control
18A5 parent scFv

Figure 4a

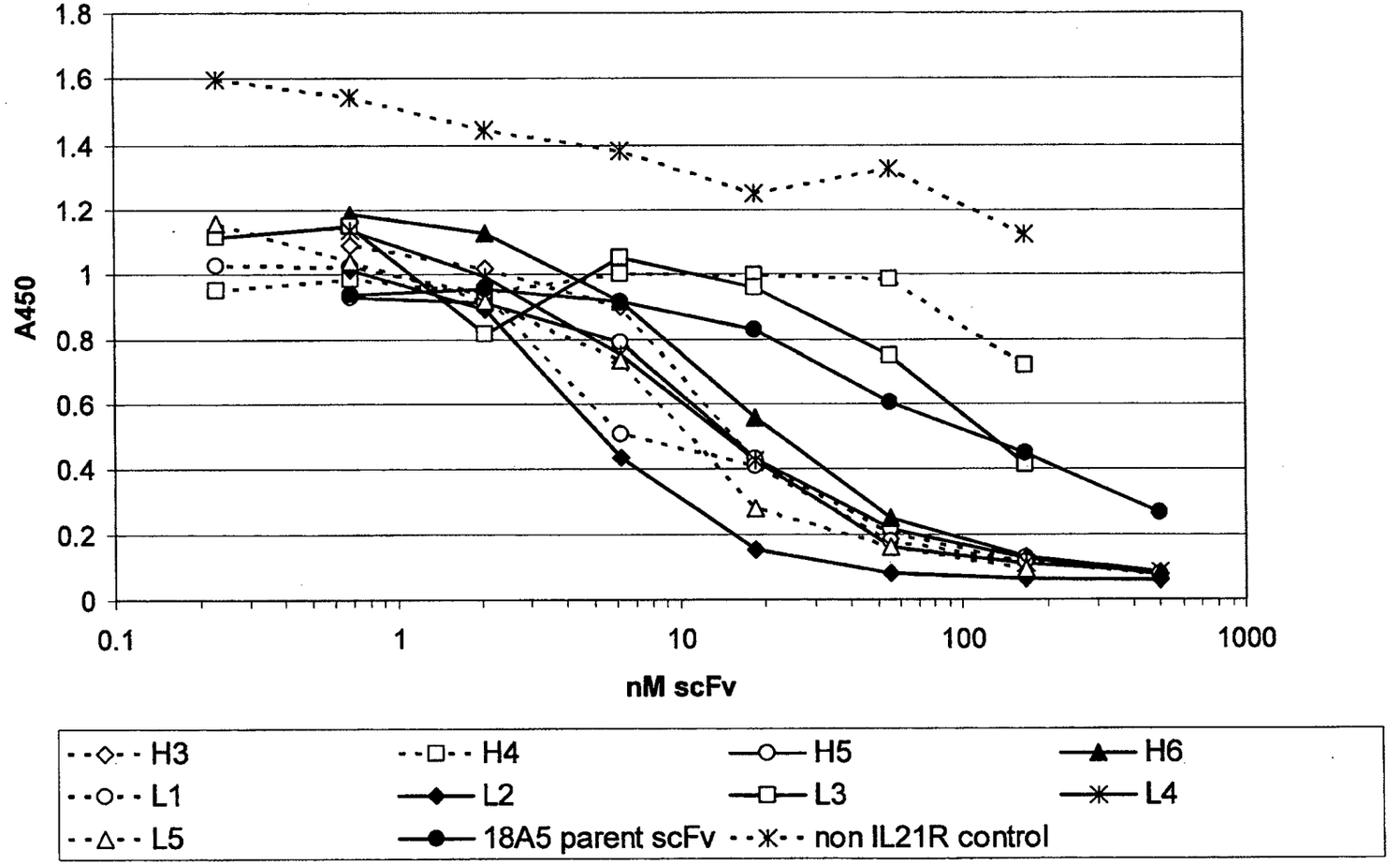

1.8
1.6
1.4
1.2
1
0.8
0.6
0.4
0.2
0
A450
0.1
1
10
100
1000
nM scFv
H3
H4
H5
H6
L1
L2
L3
L4
L5
18A5 parent scFv
non IL21R control

Figure 4b

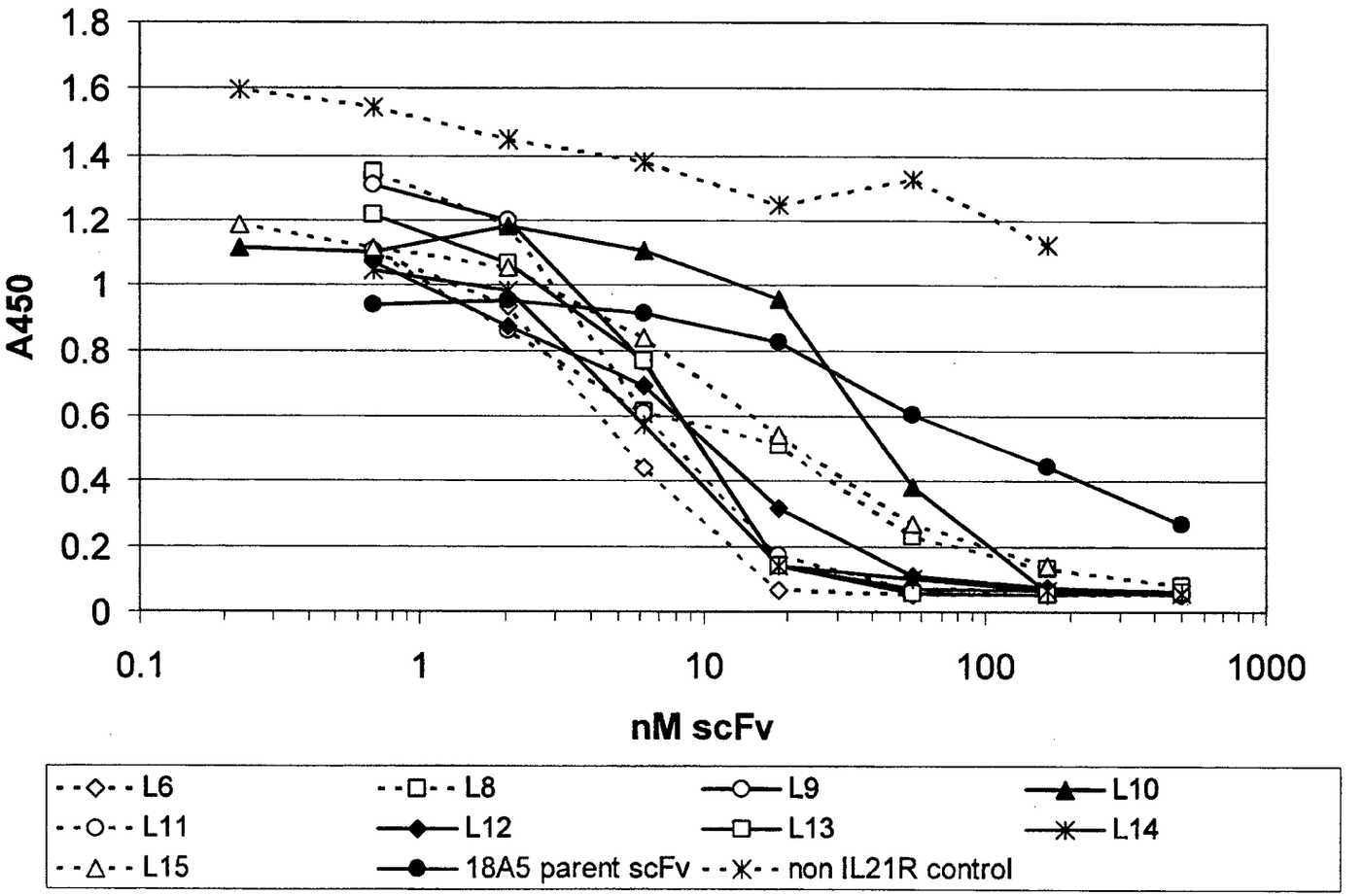

1.8
1.6
1.4
1.2
1
0.8
0.6
0.4
0.2
0
A450
0.1
1
10
100
1000
nM scFv
L6
L8
L9
L10
L11
L12
L13
L14
L15
18A5 parent scFv
non IL21R control

Figure 4c

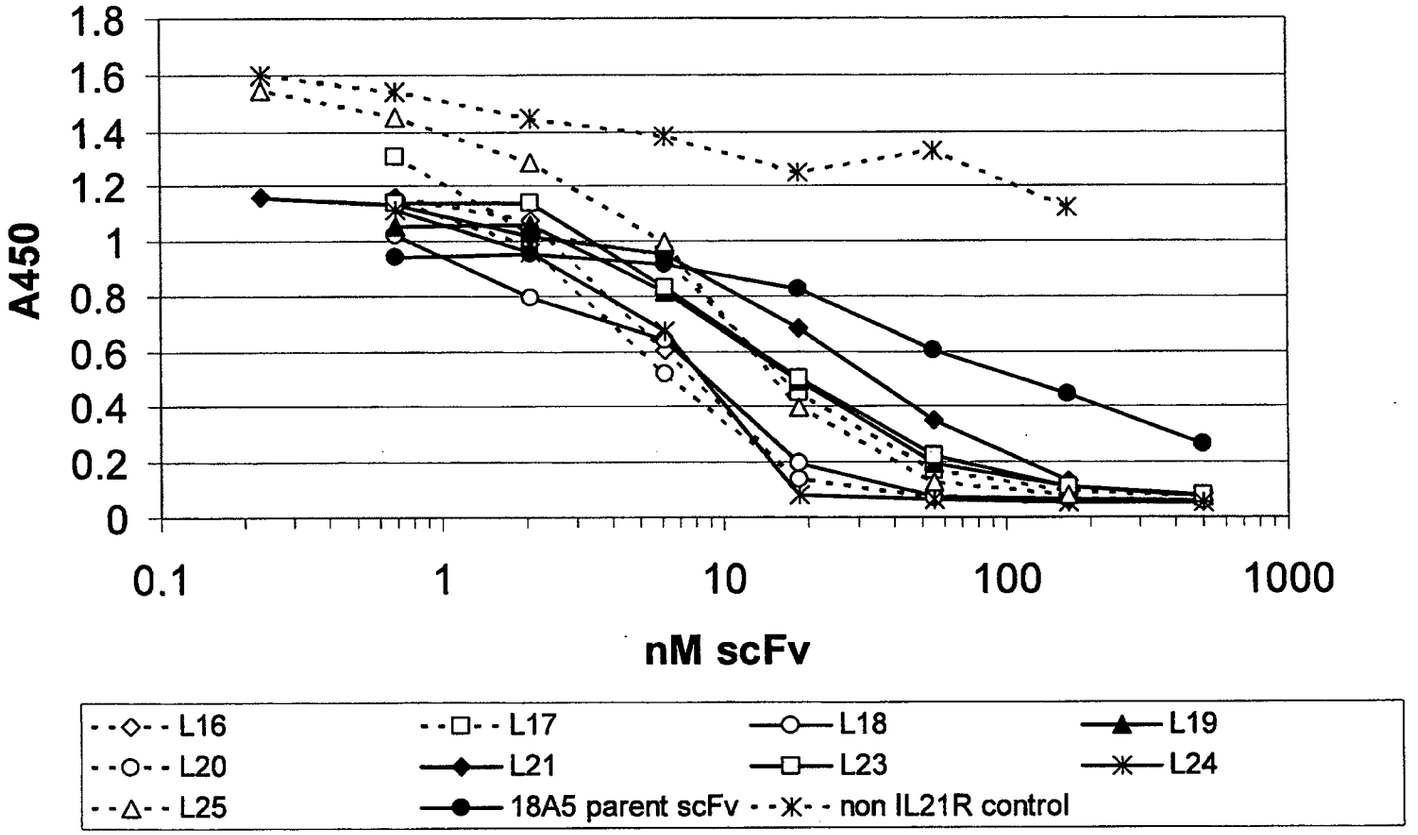

1.8
1.6
1.4
1.2
1
0.8
0.6
0.4
0.2
0
A450
0.1
1
10
100
1000
nM scFv
L16
L17
L18
L19
L20
L21
L23
L24
L25
18A5 parent scFv
non IL21R control

Figure 5a

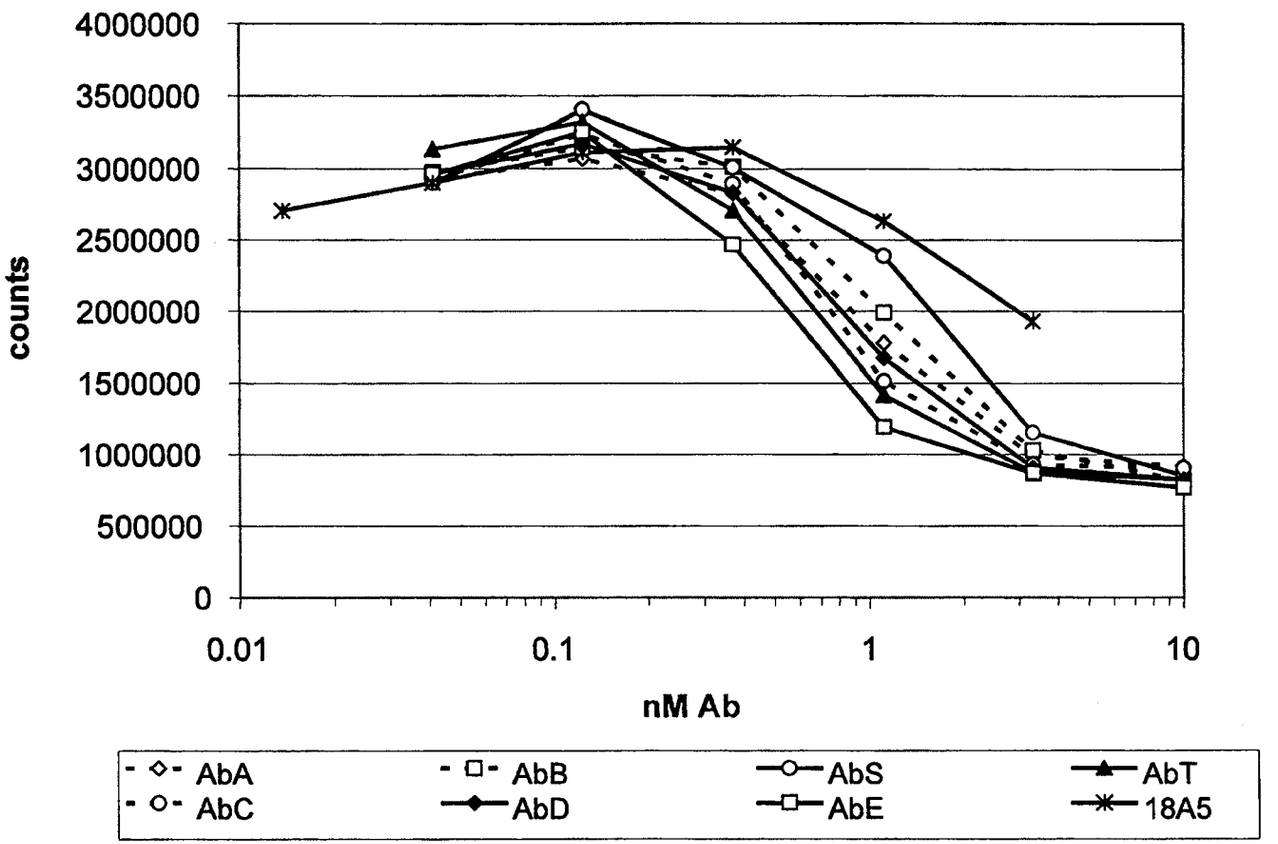

4000000
3500000
3000000
2500000
2000000
1500000
1000000
500000
0
counts
0.01
0.1
1
10
nM Ab
AbA
AbB
AbS
AbT
AbC
AbD
AbE
18A5

Figure 5b

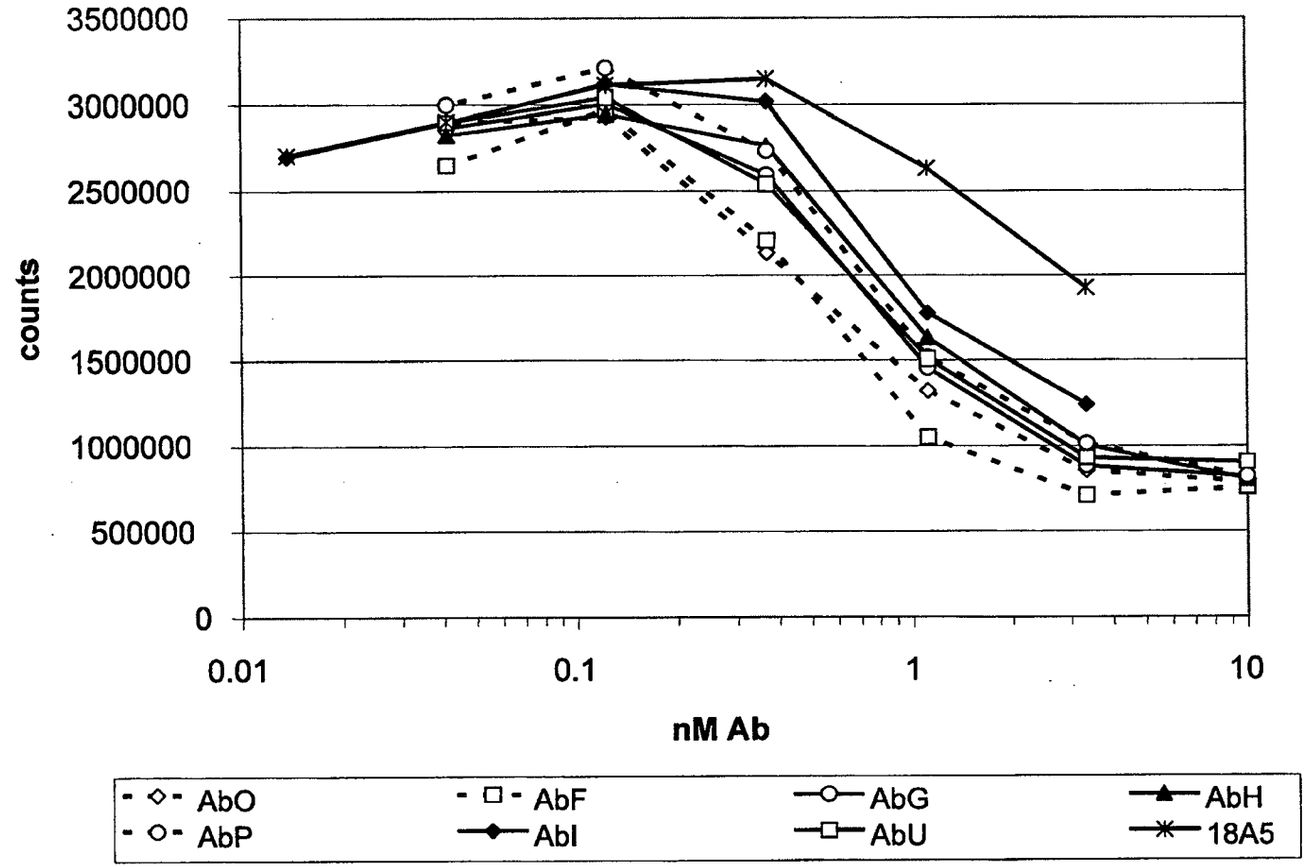

3500000
3000000
2500000
2000000
1500000
1000000
500000
0
counts
0.01
0.1
1
10
nM Ab
AbO
AbP
AbF
AbI
AbG
AbU
AbH
18A5

Figure 5c

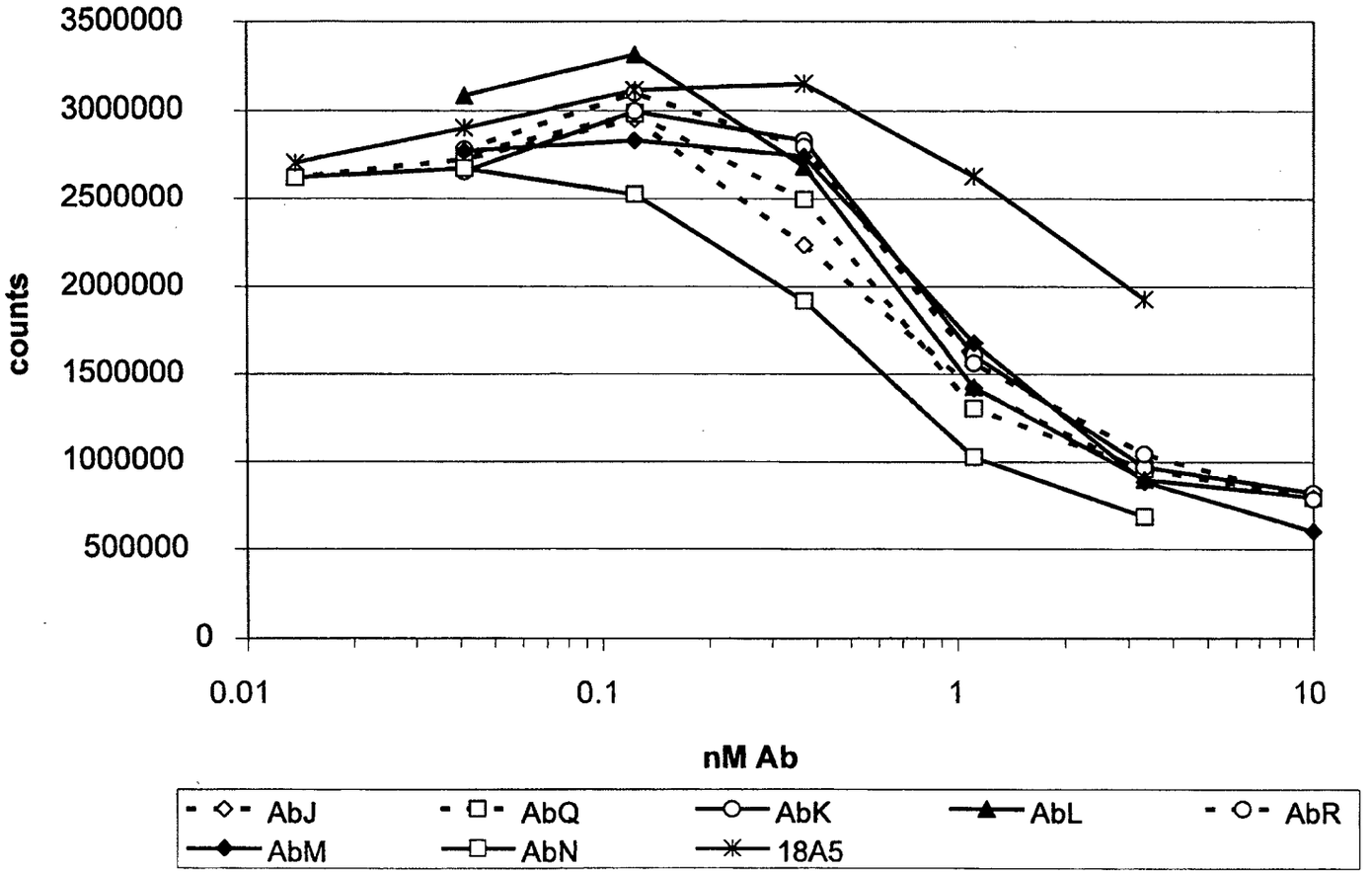

3500000
3000000
2500000
2000000
1500000
1000000
500000
0
counts
0.01
0.1
1
10
nM Ab
AbJ
AbQ
AbK
AbL
AbR
AbM
AbN
18A5

Figure 5d

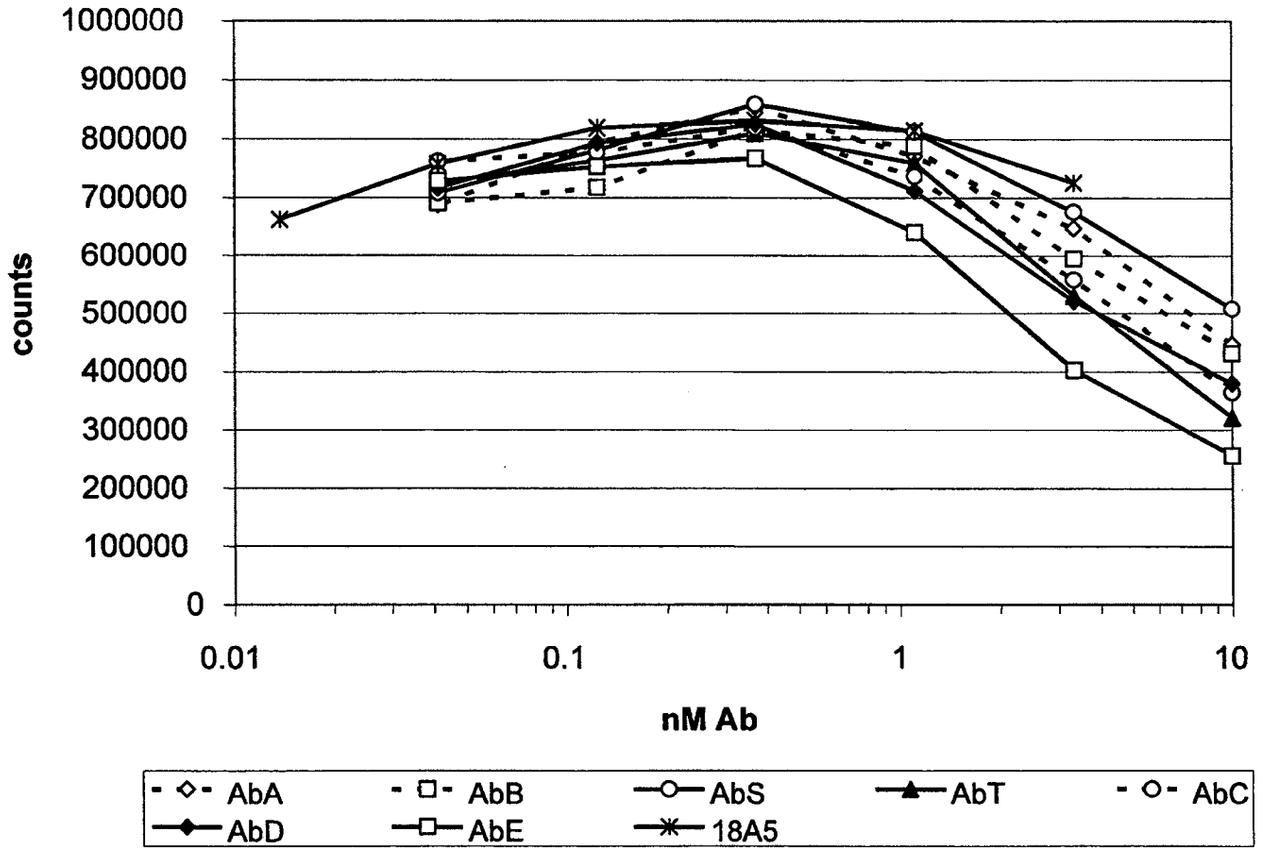

1000000
900000
800000
700000
600000
500000
400000
300000
200000
100000
0
counts
0.01
0.1
1
10
nM Ab
AbA
AbB
AbS
AbT
AbC
AbD
AbE
18A5

Figure 5e

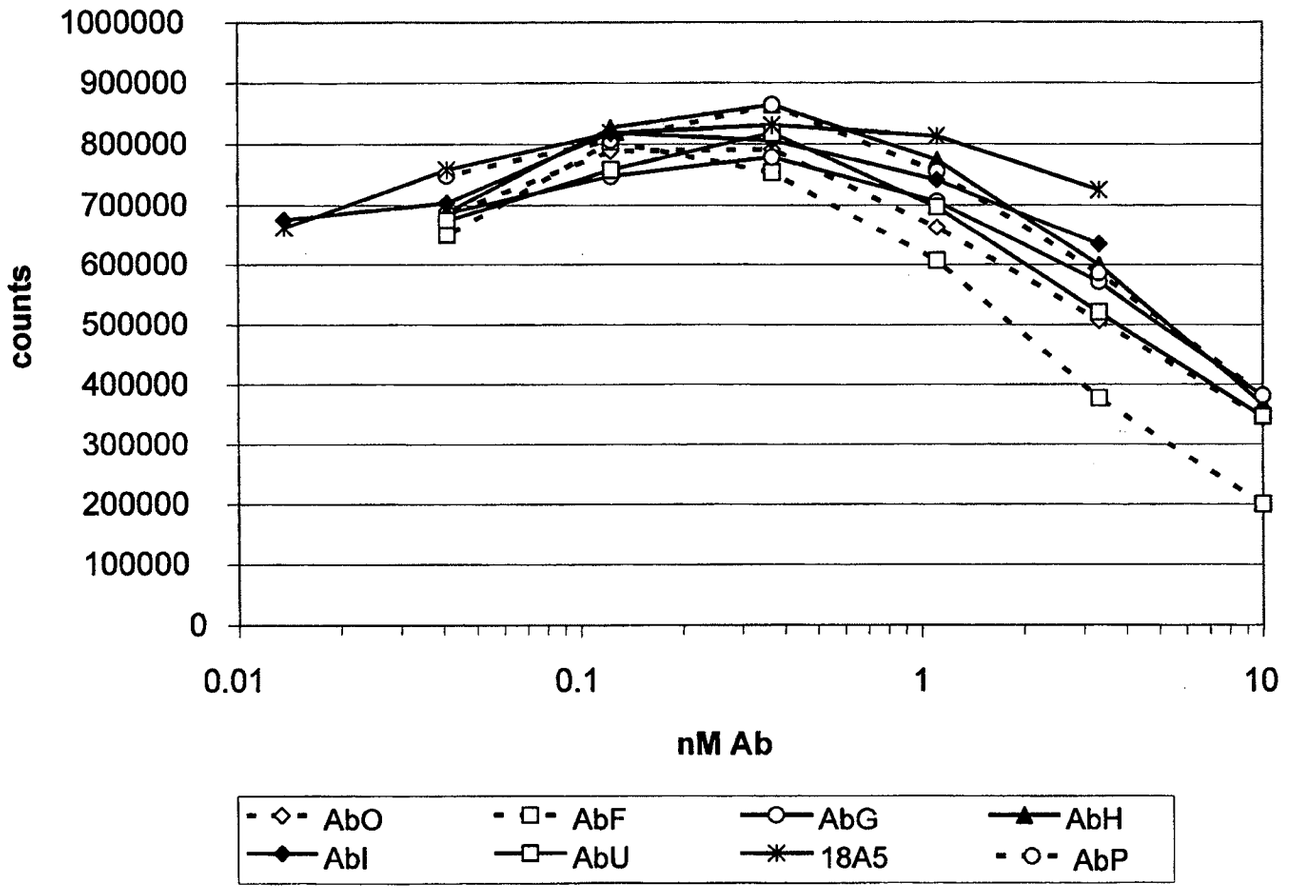

1000000
900000
800000
700000
600000
500000
400000
300000
200000
100000
0
counts
0.01
0.1
1
10
nM Ab
AbO
AbF
AbG
AbH
AbI
AbU
18A5
AbP

Figure 5f

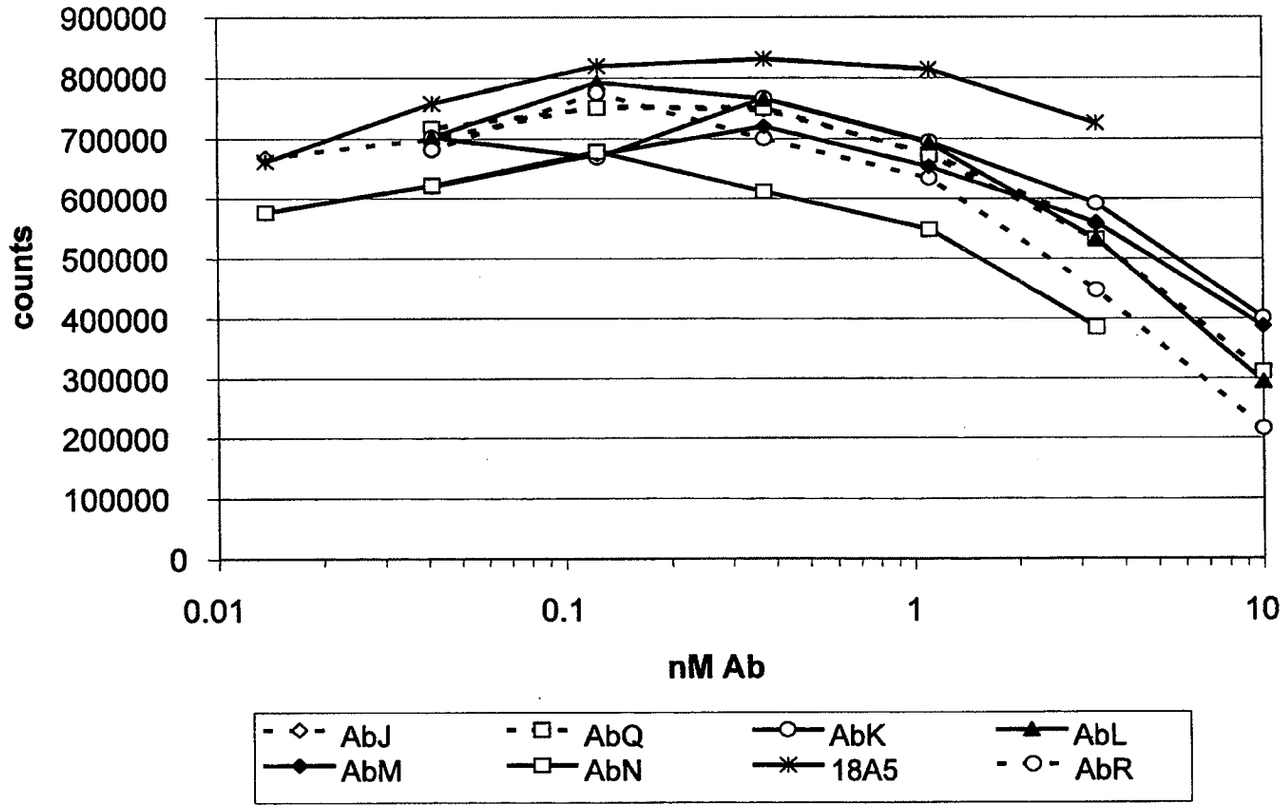

900000
800000
700000
600000
500000
400000
300000
200000
100000
0
counts
0.01
0.1
1
10
nM Ab
AbJ
AbQ
AbK
AbL
AbM
AbN
18A5
AbR

Figure 5g

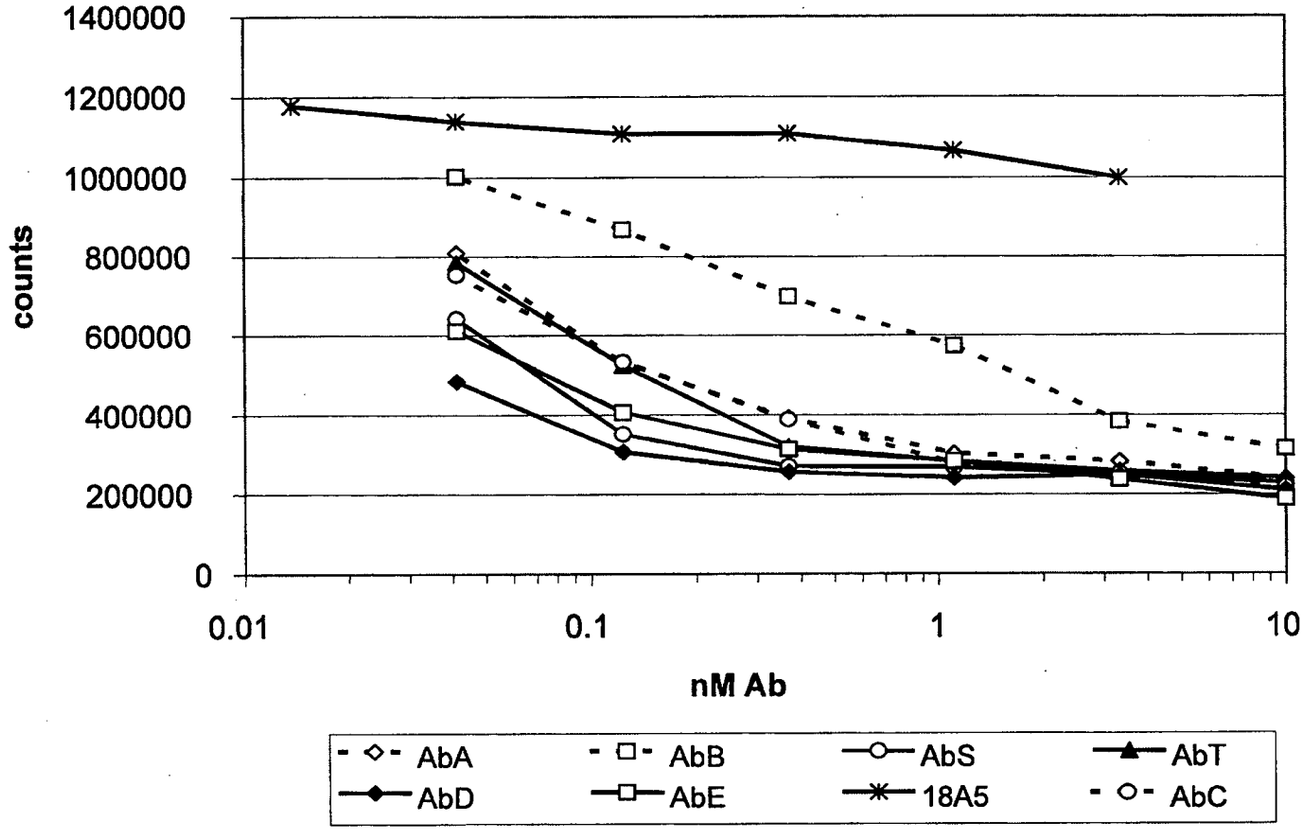

1400000
1200000
1000000
800000
600000
400000
200000
0
counts
0.01
0.1
1
10
nM Ab
AbA
AbB
AbS
AbT
AbD
AbE
18A5
AbC

Figure 5h

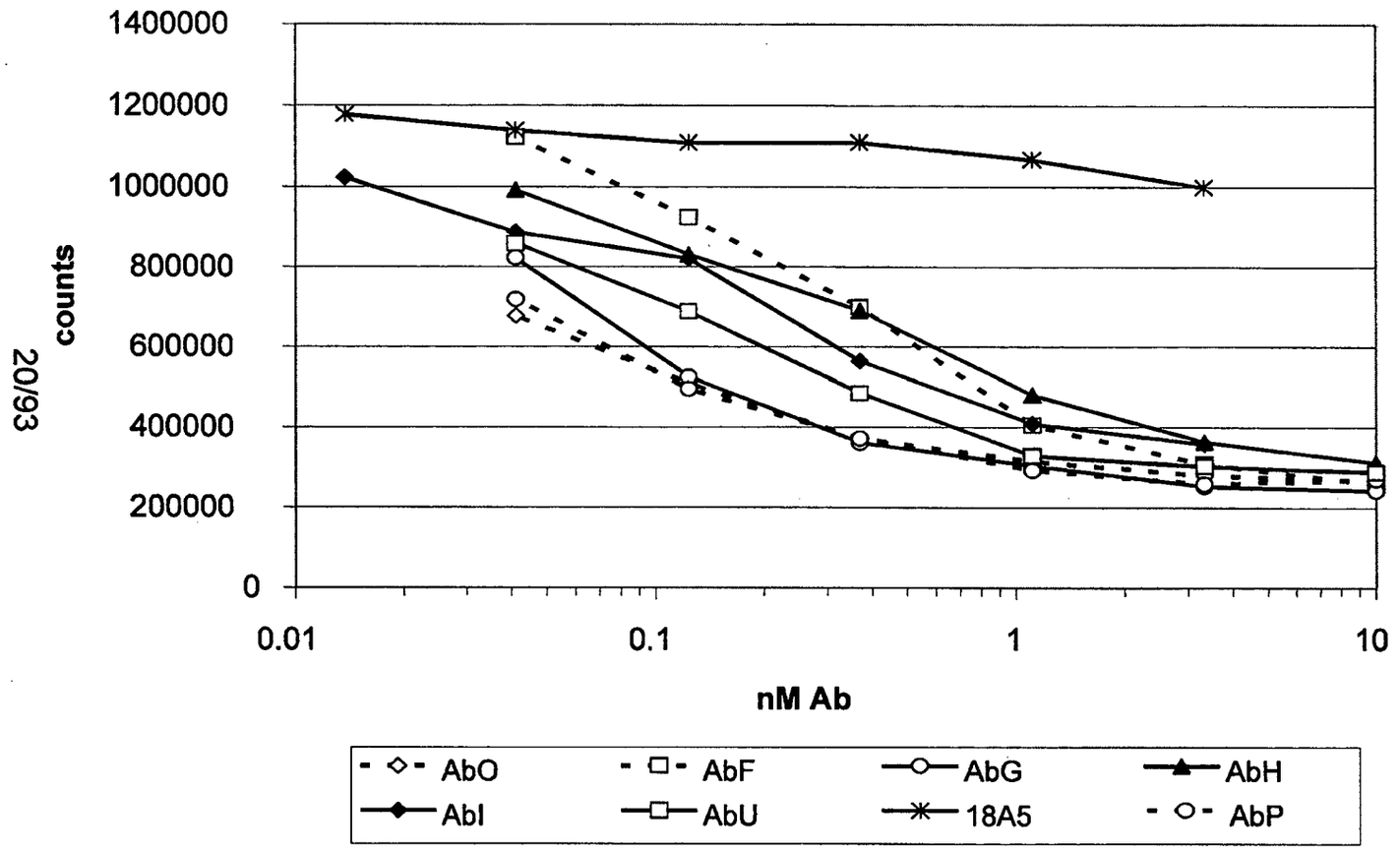

1400000
1200000
1000000
800000
600000
400000
200000
0
counts
20/93
0.01
0.1
1
10
nM Ab
AbO
AbF
AbG
AbH
AbI
AbU
18A5
AbP

Figure 5i

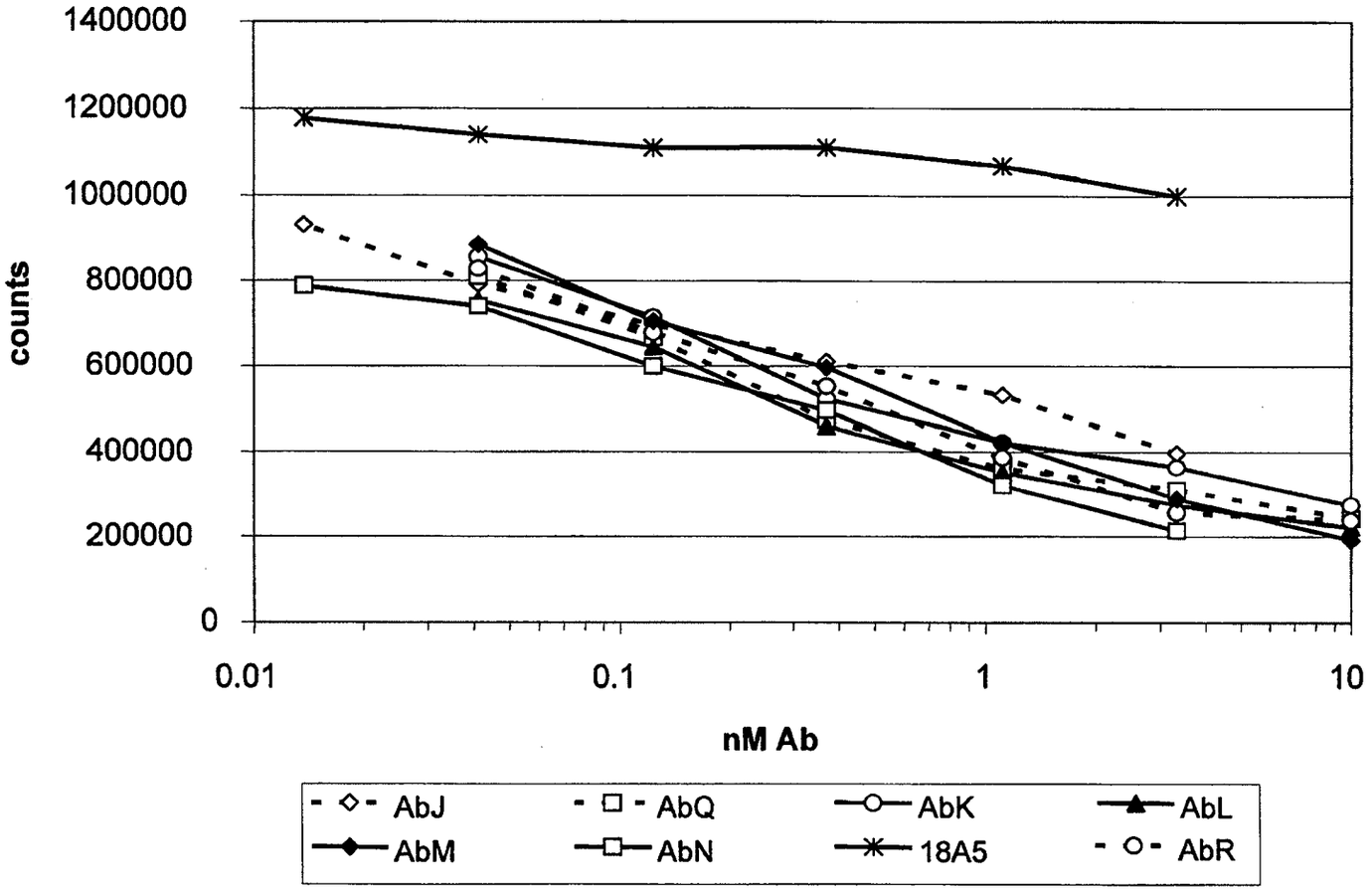

1400000
1200000
1000000
800000
600000
400000
200000
0
counts
0.01
0.1
1
10
nM Ab
AbJ
AbQ
AbK
AbL
AbM
AbN
18A5
AbR

Figure 6a

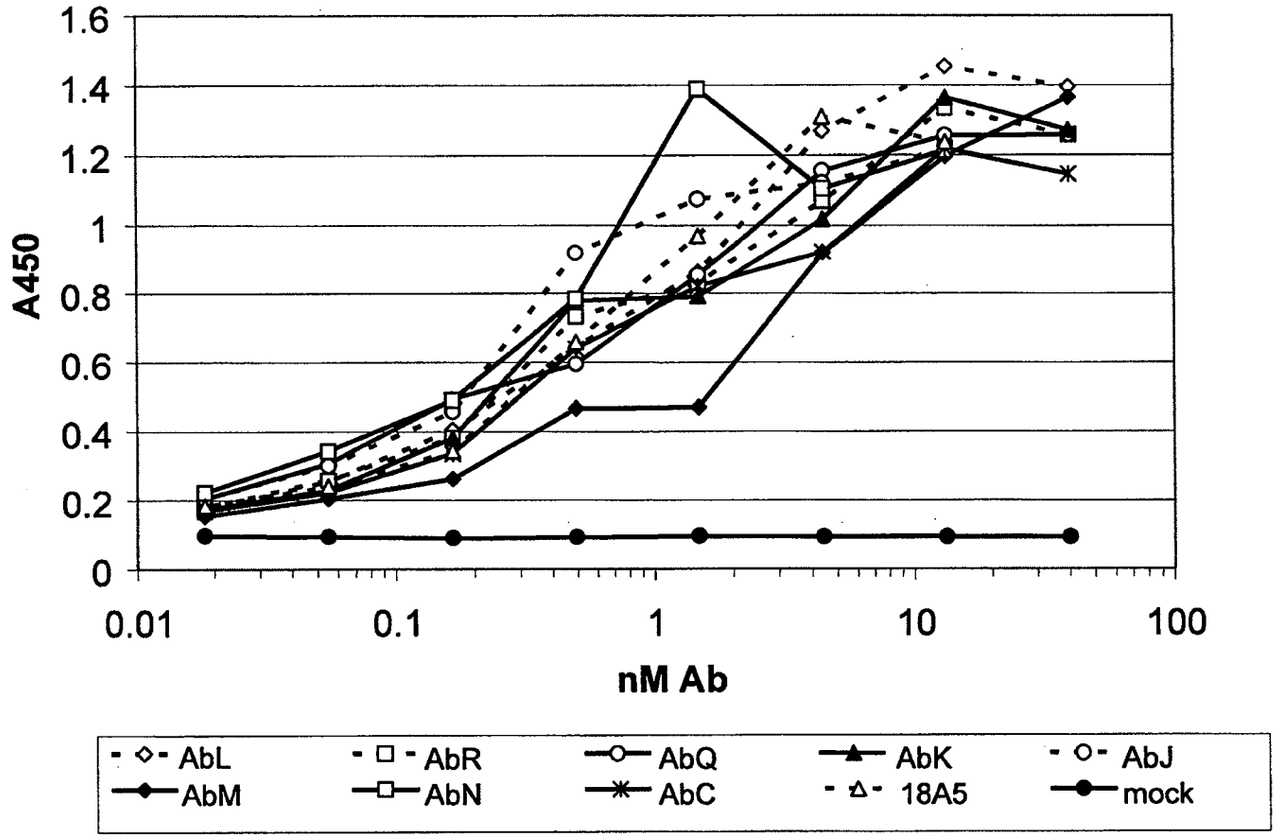

1.6
1.4
1.2
1
0.8
0.6
0.4
0.2
0
A450
0.01
0.1
1
10
100
nM Ab
AbL
AbR
AbQ
AbK
AbJ
AbM
AbN
AbC
18A5
mock

Figure 6b

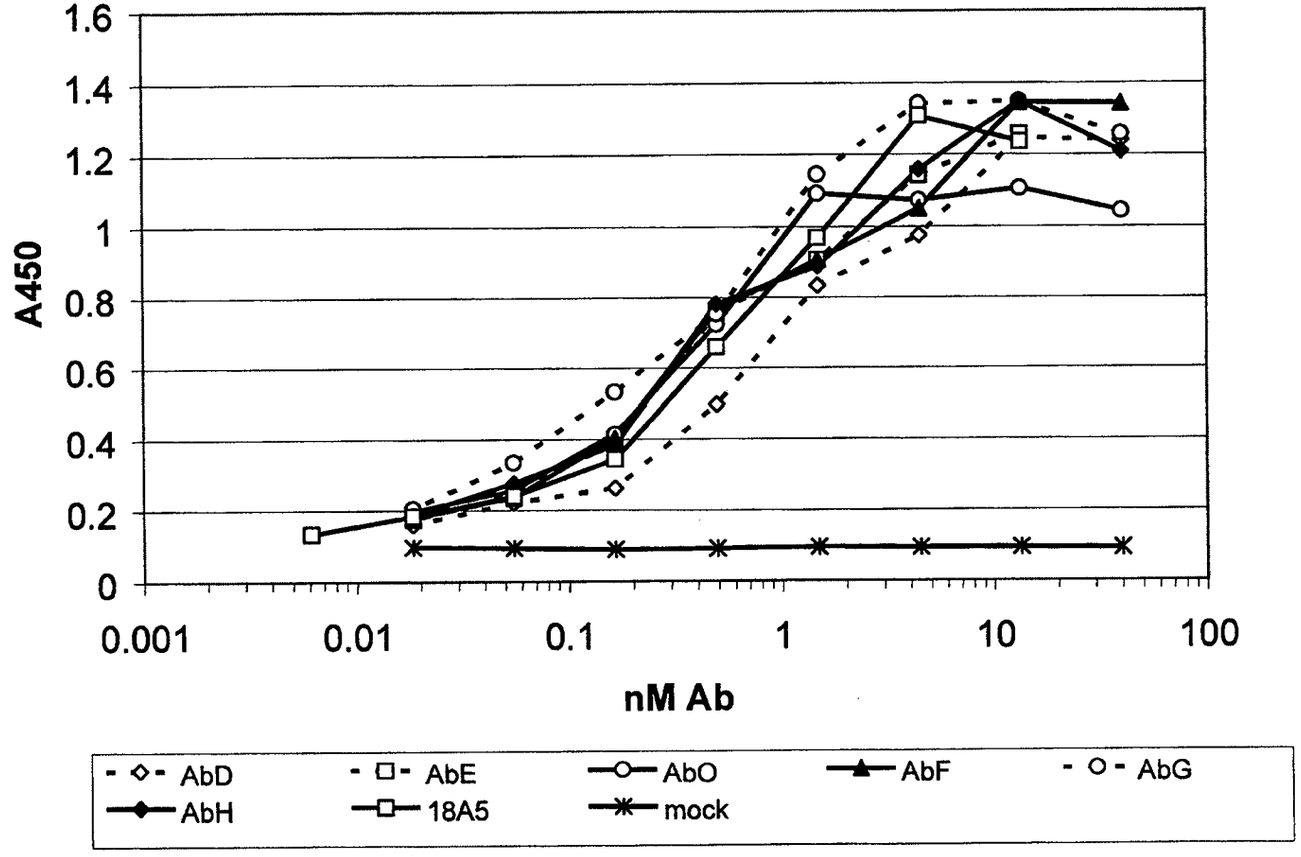

1.6
1.4
1.2
1
0.8
0.6
0.4
0.2
0
A450
0.001
0.01
0.1
1
10
100
nM Ab
AbD
AbE
AbO
AbF
AbG
AbH
18A5
mock

Figure 6c

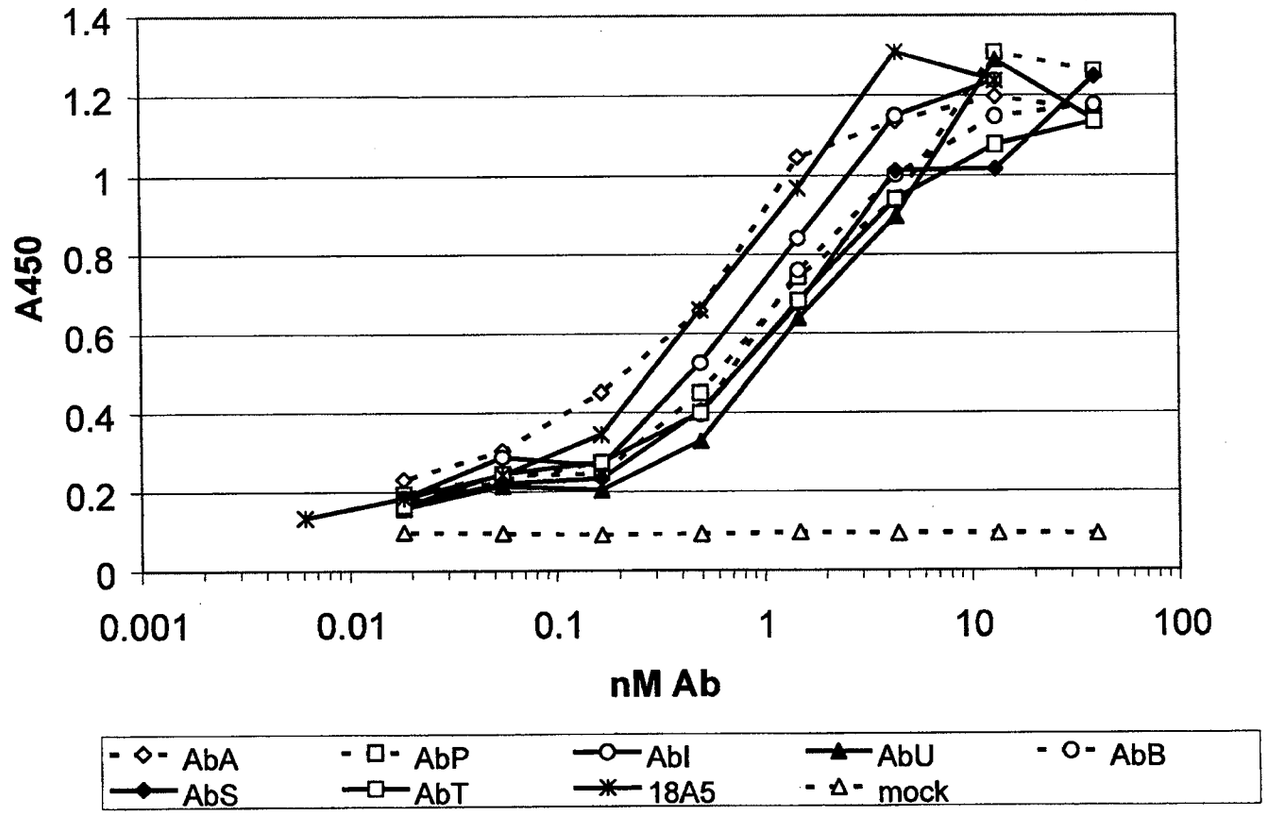

1.4
1.2
1
0.8
0.6
0.4
0.2
0
A450
0.001
0.01
0.1
1
10
100
nM Ab
AbA
AbP
AbI
AbU
AbB
AbS
AbT
18A5
mock

Figure 6d

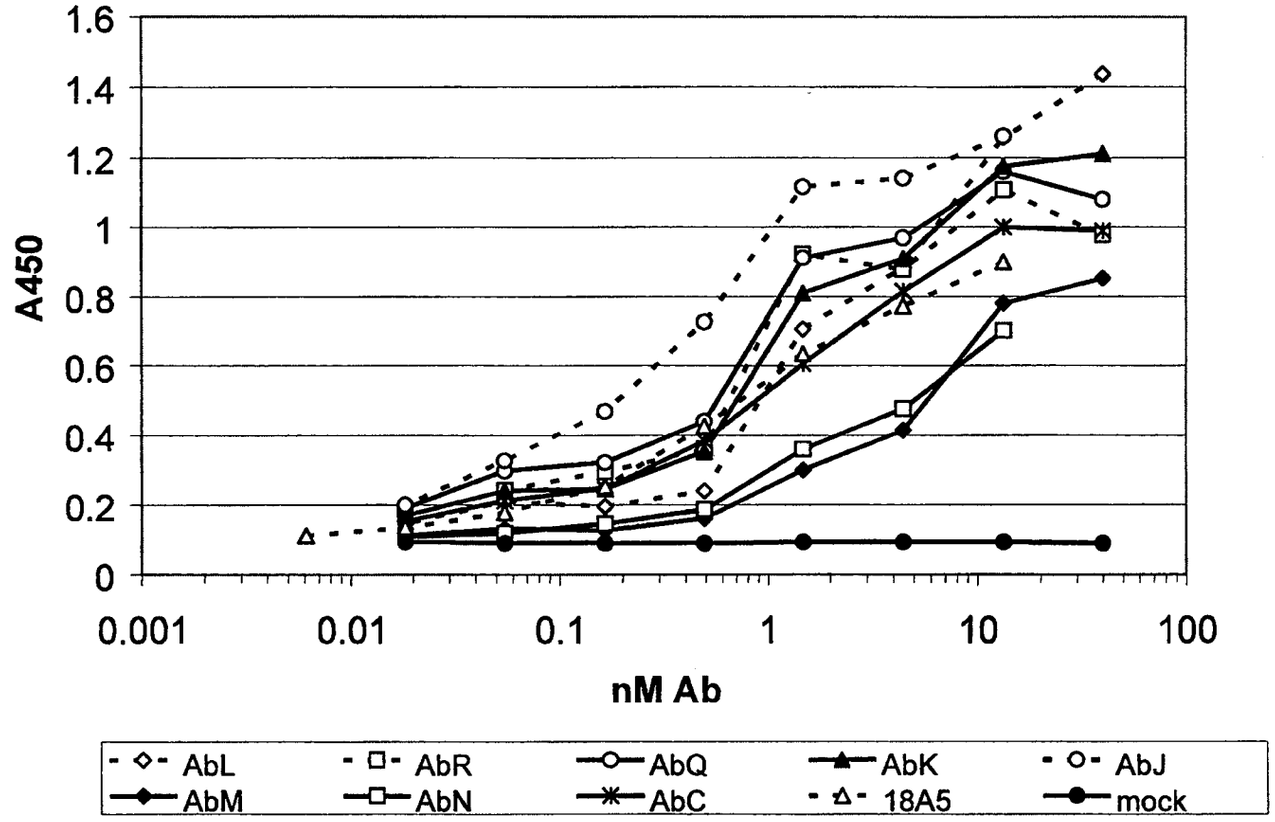

1.6
1.4
1.2
1
0.8
0.6
0.4
0.2
0
A450
0.001
0.01
0.1
1
10
100
nM Ab
AbL
AbR
AbQ
AbK
AbJ
AbM
AbN
AbC
18A5
mock

Figure 6e

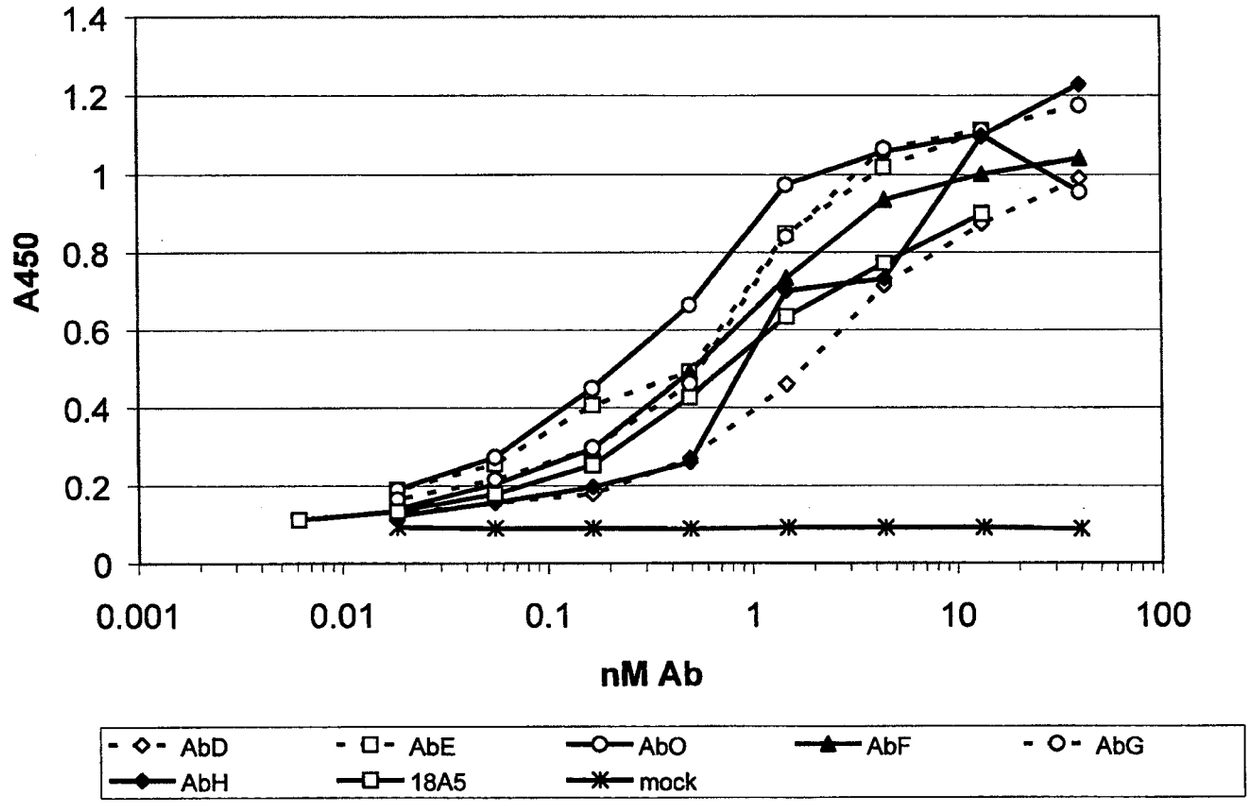

1.4
1.2
1
0.8
0.6
0.4
0.2
0
A450
0.001
0.01
0.1
1
10
100
nM Ab
AbD
AbE
AbO
AbF
AbG
AbH
18A5
mock

Figure 6f

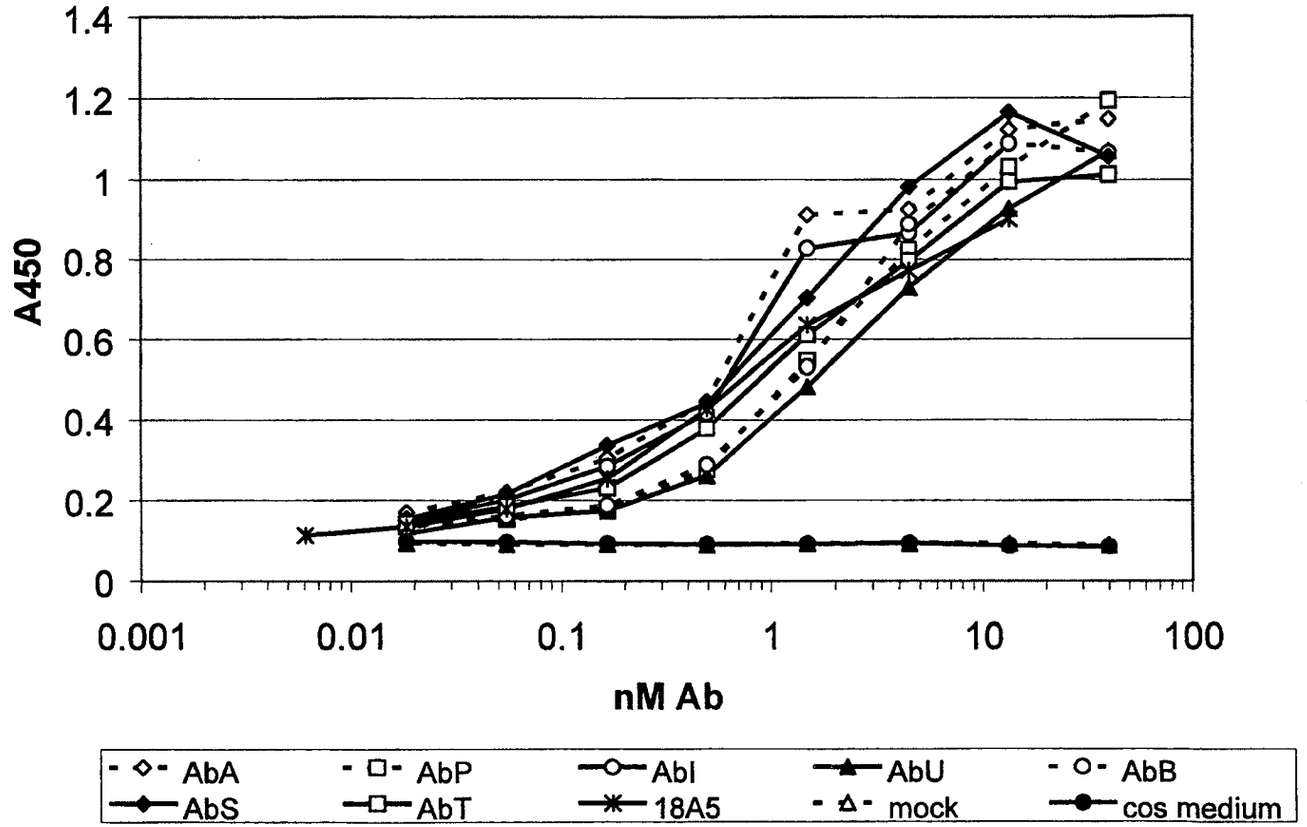

1.4
1.2
1
0.8
0.6
0.4
0.2
0
A450
0.001
0.01
0.1
1
10
100
nM Ab
AbA
AbP
AbI
AbU
AbB
AbS
AbT
18A5
mock
cos medium

Figure 6g

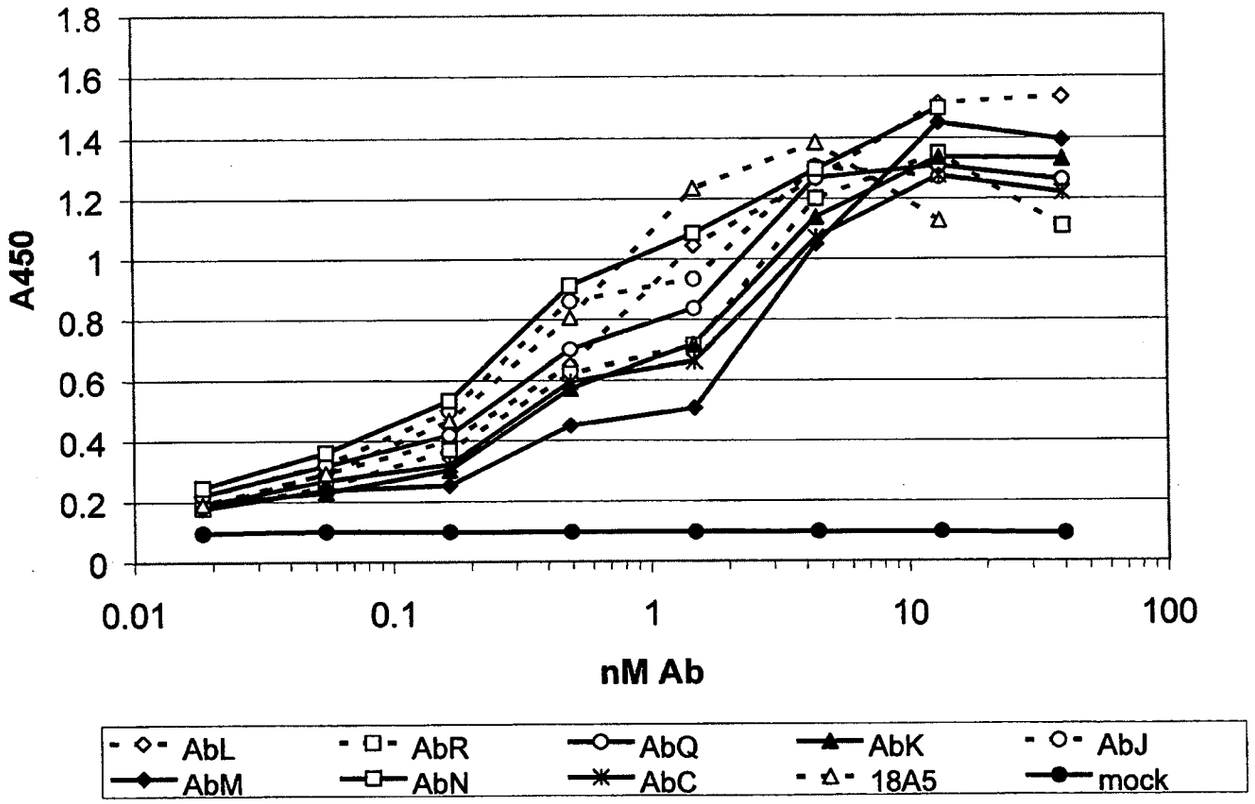

1.8
1.6
1.4
1.2
1
0.8
0.6
0.4
0.2
0
A450
0.01
0.1
1
10
100
nM Ab
AbL
AbR
AbQ
AbK
AbJ
AbM
AbN
AbC
18A5
mock

Figure 6h

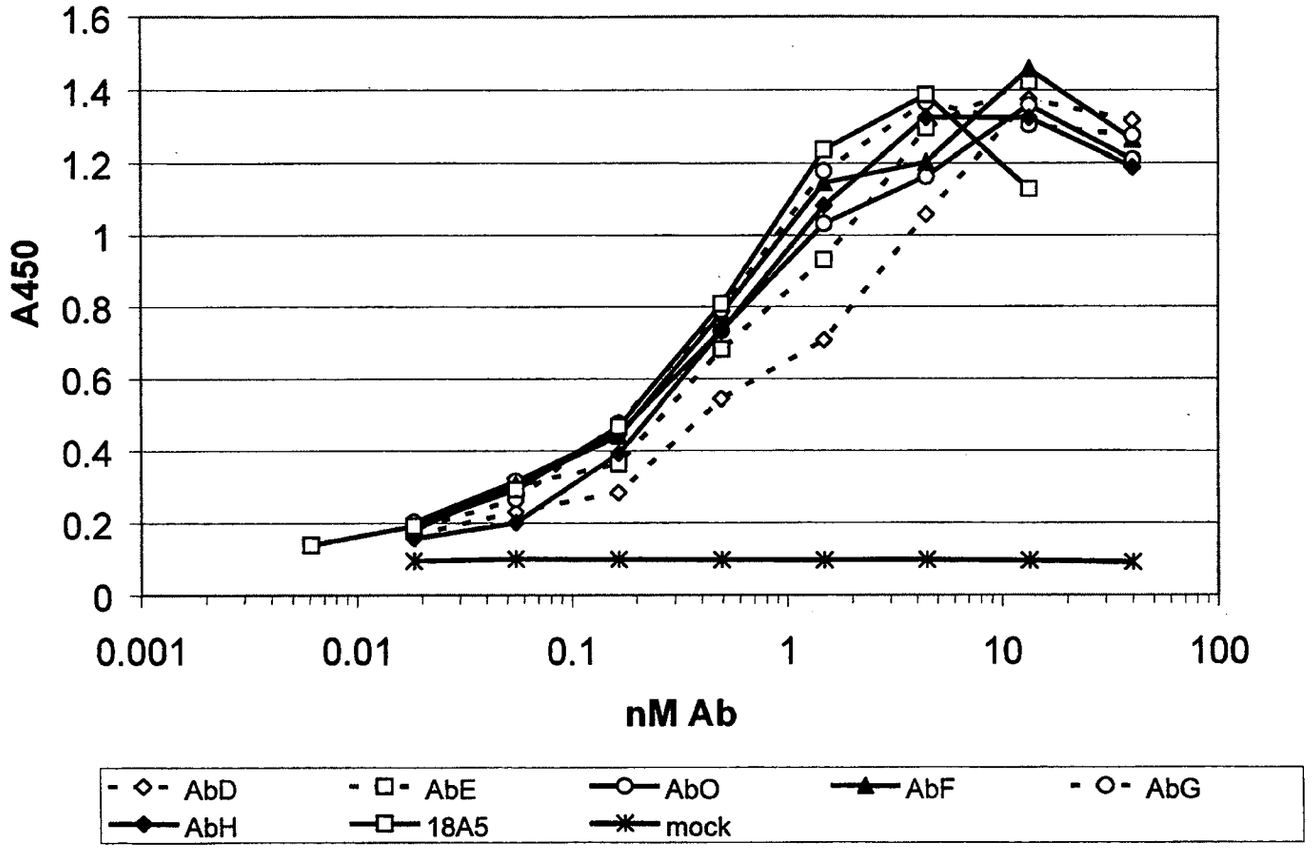

1.6
1.4
1.2
1
0.8
0.6
0.4
0.2
0
A450
0.001
0.01
0.1
1
10
100
nM Ab
AbD
AbE
AbO
AbF
AbG
AbH
18A5
mock

Figure 6i

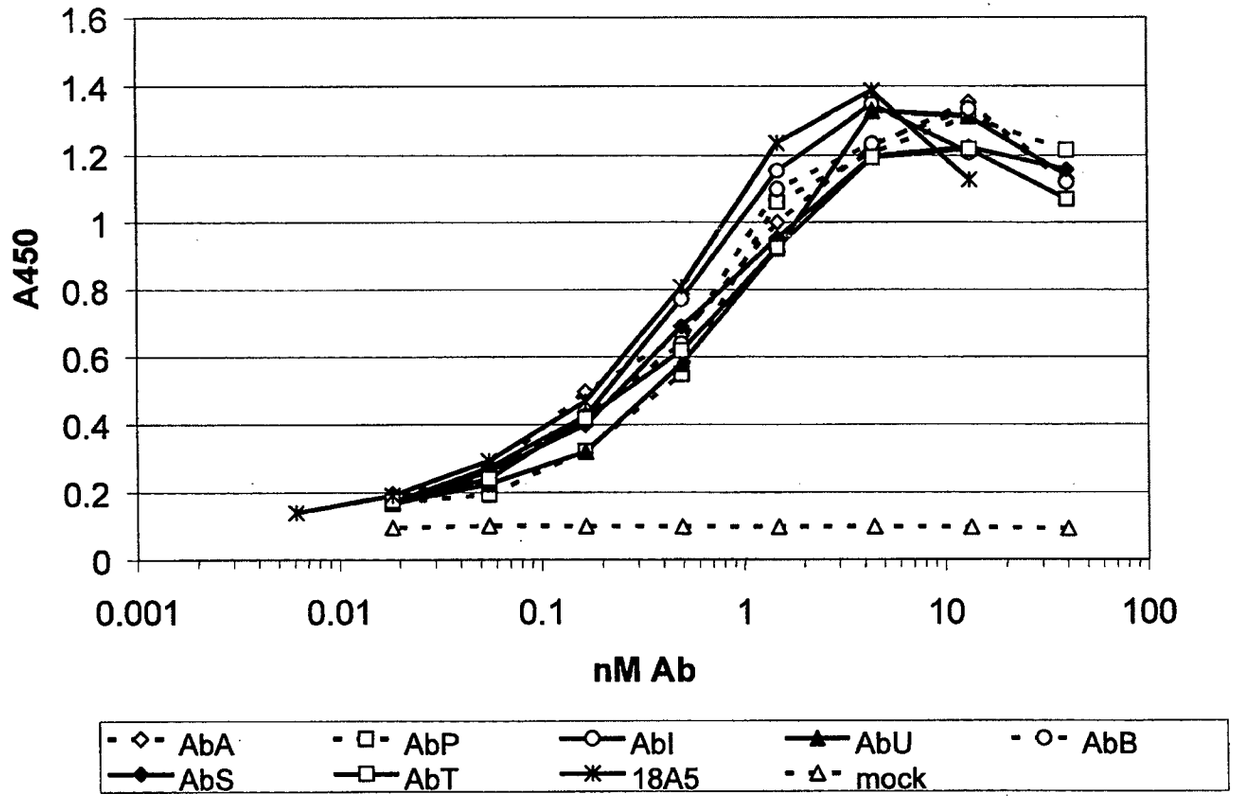

1.6
1.4
1.2
1
0.8
0.6
0.4
0.2
0
A450
0.001
0.01
0.1
1
10
100
nM Ab
AbA
AbP
AbI
AbU
AbB
AbS
AbT
18A5
mock

Figure 6j

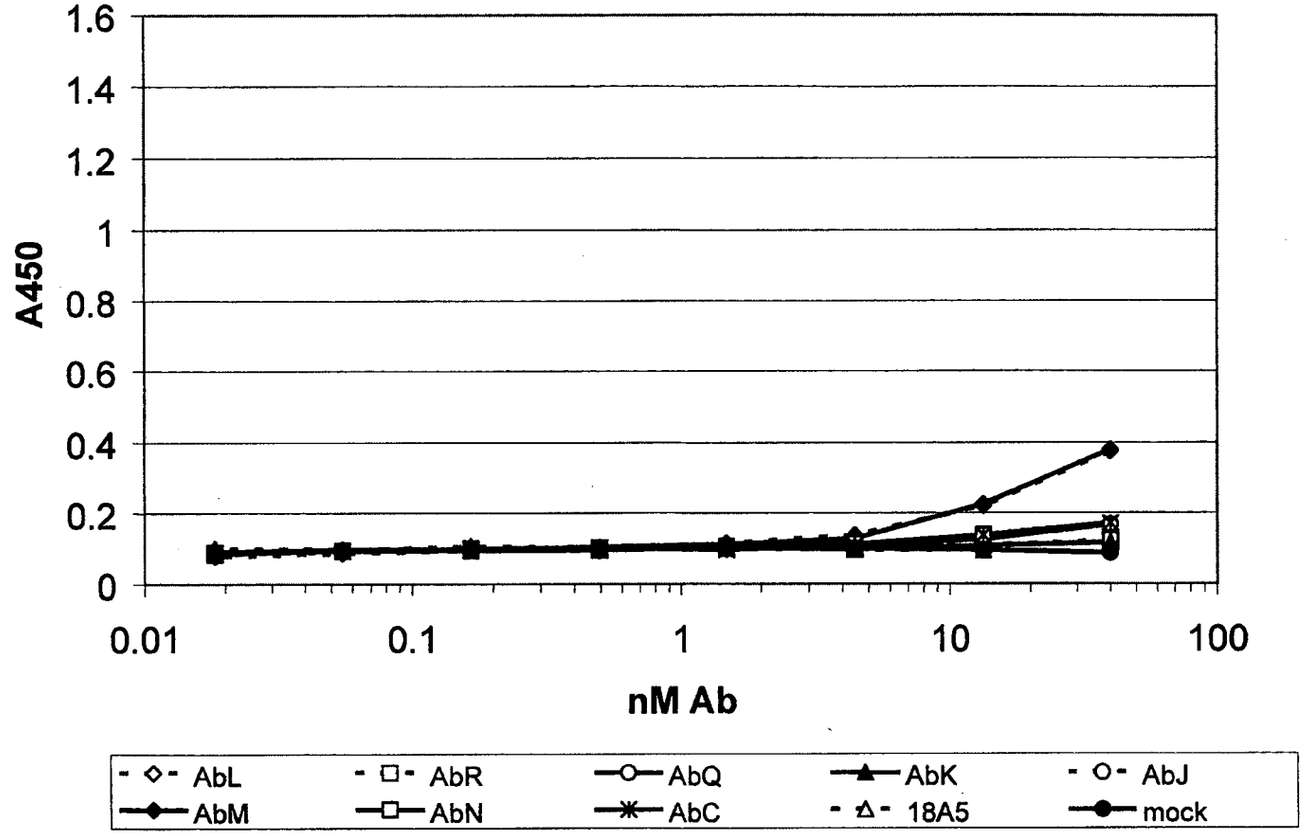

1.6
1.4
1.2
1
0.8
0.6
0.4
0.2
0
A450
0.01
0.1
1
10
100
nM Ab
AbL
AbR
AbQ
AbK
AbJ
AbM
AbN
AbC
18A5
mock

Figure 6k

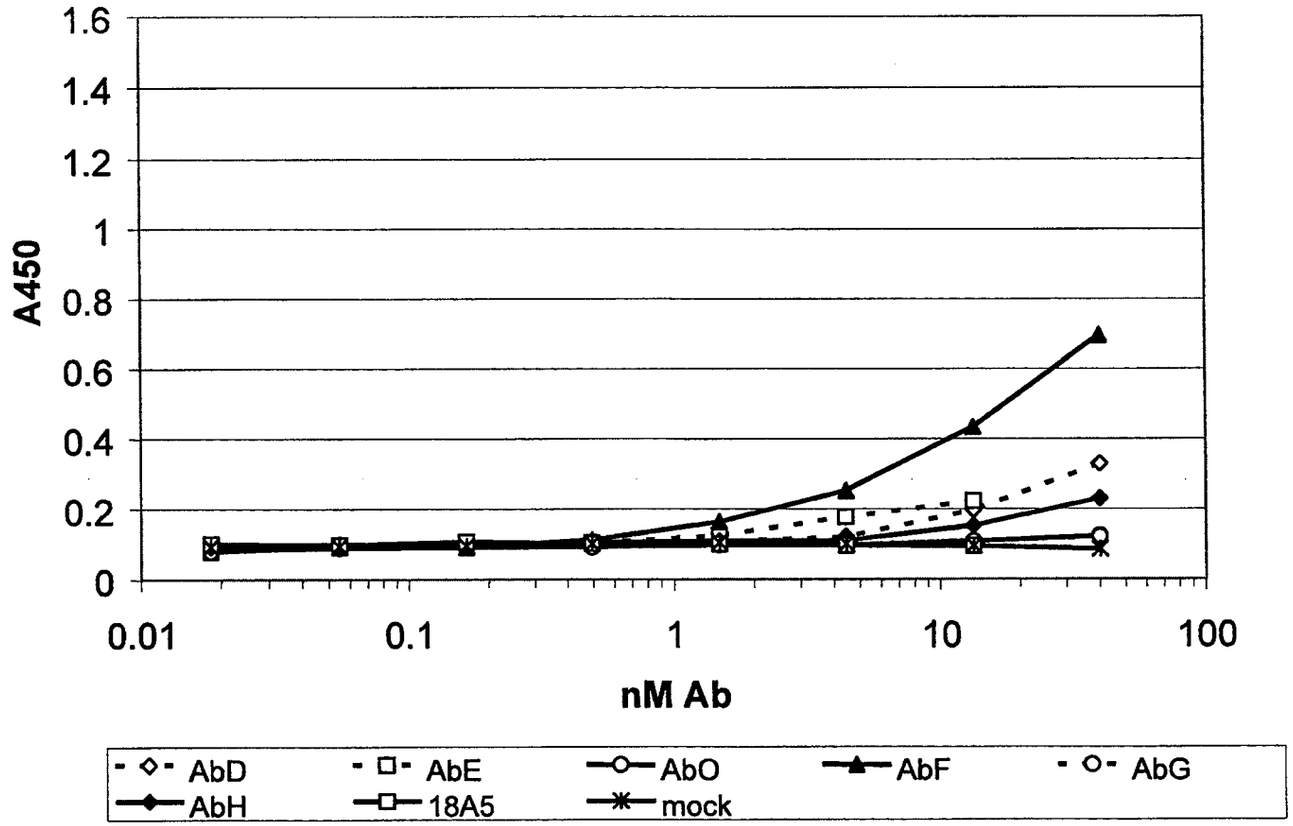

1.6
1.4
1.2
1
0.8
0.6
0.4
0.2
0
A450
0.01
0.1
1
10
100
nM Ab
AbD
AbE
AbO
AbF
AbG
AbH
18A5
mock

Figure 6I

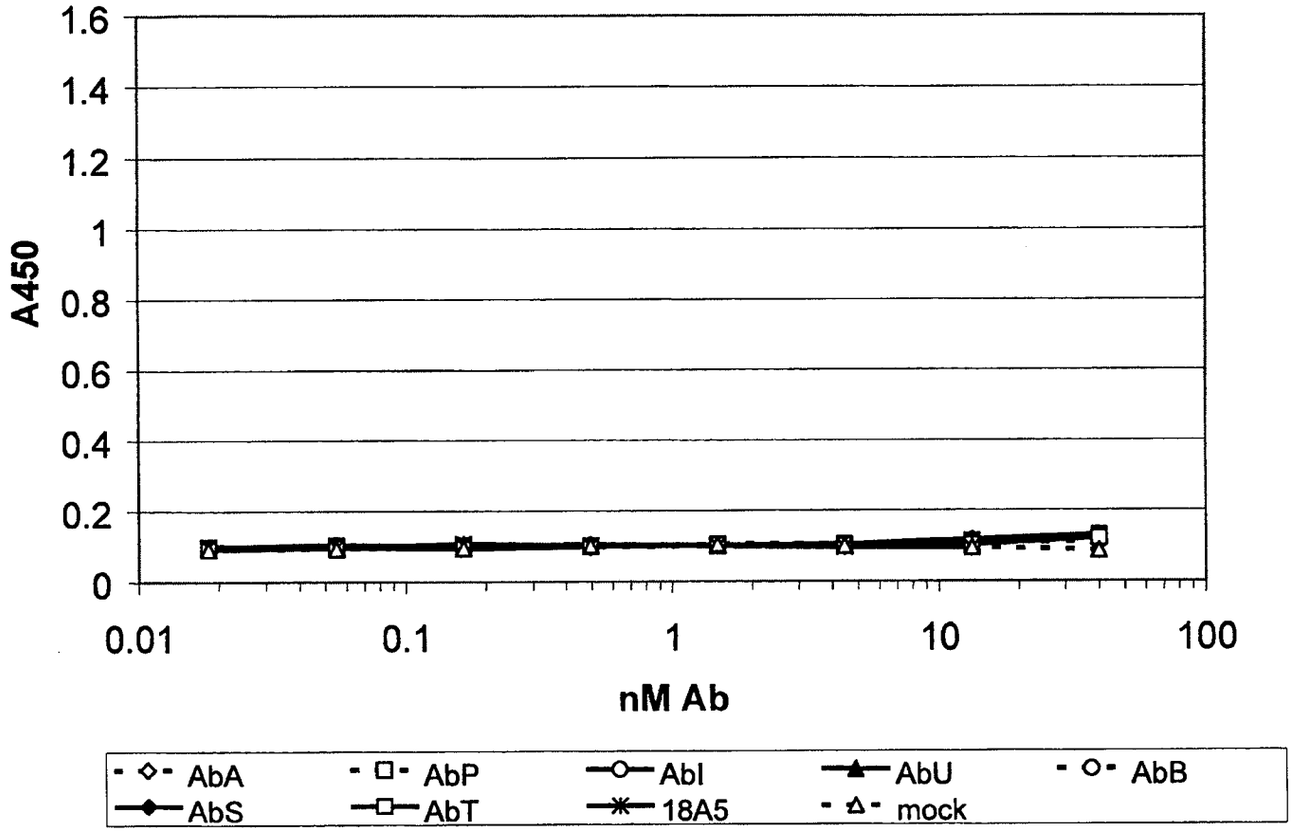

1.6
1.4
1.2
1
0.8
0.6
0.4
0.2
0
A450
0.01
0.1
1
10
100
nM Ab
AbA
AbP
AbI
AbU
AbB
AbS
AbT
18A5
mock

Figure 7a

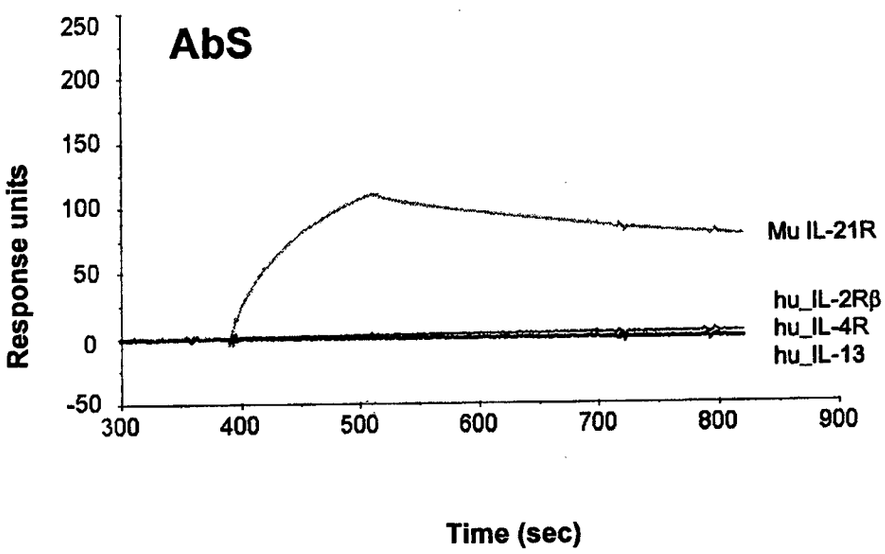

AbS
250
200
150
100
50
0
-50
Response units
300
400
500
600
700
800
900
Time (sec)
Mu IL-21R
hu_IL-2Rβ
hu_IL-4R
hu_IL-13

Figure 7b

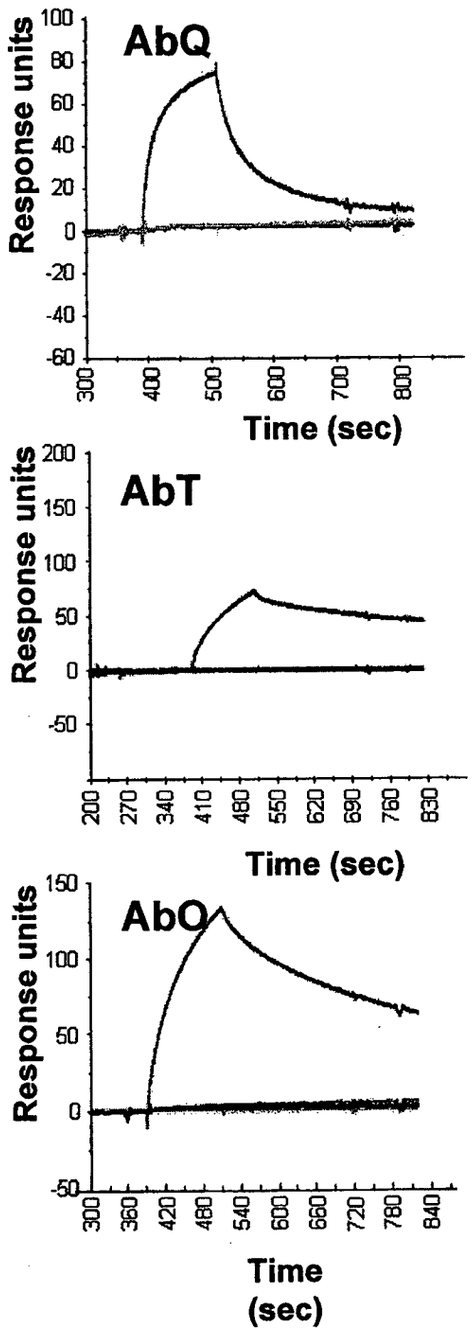
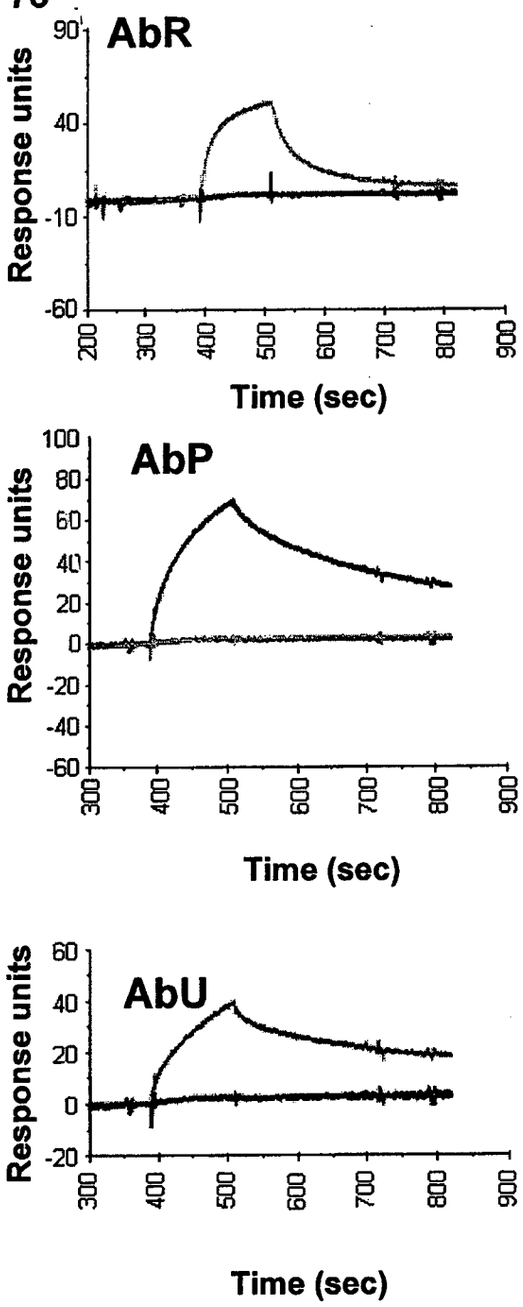

AbQ
Response units
100
80
60
40
20
0
-20
-40
-60
300
400
500
600
700
800
Time (sec)
AbT
Response units
200
150
100
50
0
-50
200
270
340
410
480
550
620
690
760
830
Time (sec)
AbO
Response units
150
100
50
0
-50
300
360
420
480
540
600
660
720
780
840
Time
(sec)

Figure 7c


AbR
Response units
90
40
-10
-60
200
300
400
500
600
700
800
900
Time (sec)
AbP
Response units
100
80
60
40
20
0
-20
-40
-60
300
400
500
600
700
800
900
Time (sec)
AbU
Response units
60
40
20
0
-20
300
400
500
600
700
800
900
Time (sec)

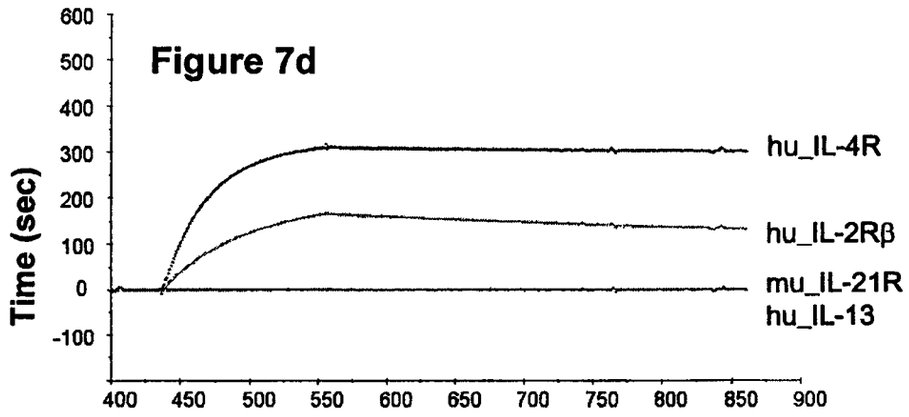

Figure 7d
Time (sec)
600
500
400
300
200
100
0
-100
400
450
500
550
600
650
700
750
800
850
900
hu_IL-4R
hu_IL-2Rβ
mu_IL-21R
hu_IL-13
Time (sec)

Figure 8a

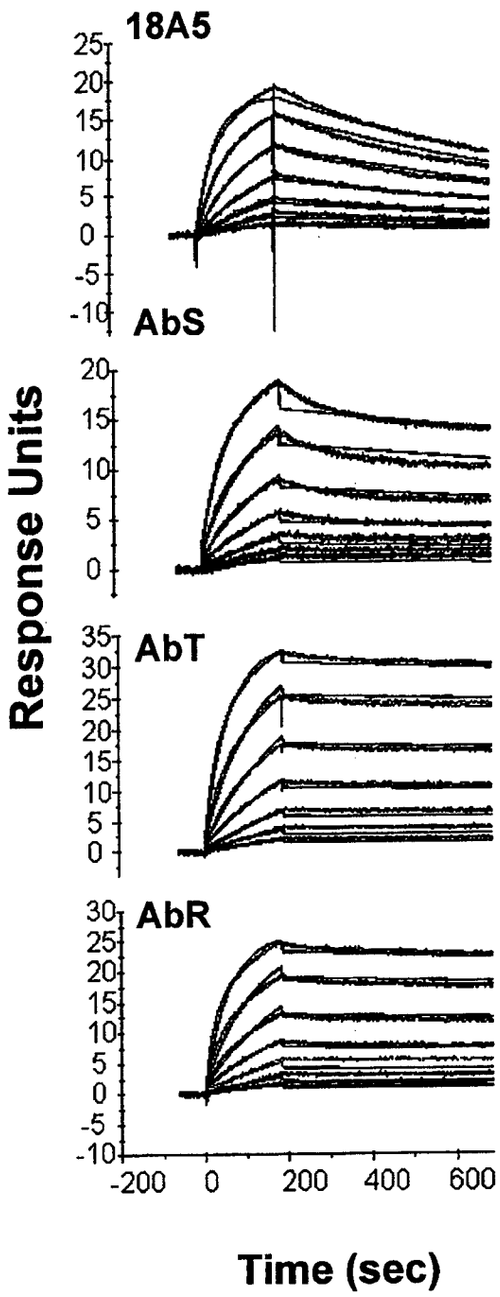

18A5
AbS
AbT
AbR
Response Units
Time (sec)
25
20
15
10
5
0
-5
-10
35
30
-200
0
200
400
600

Figure 8b

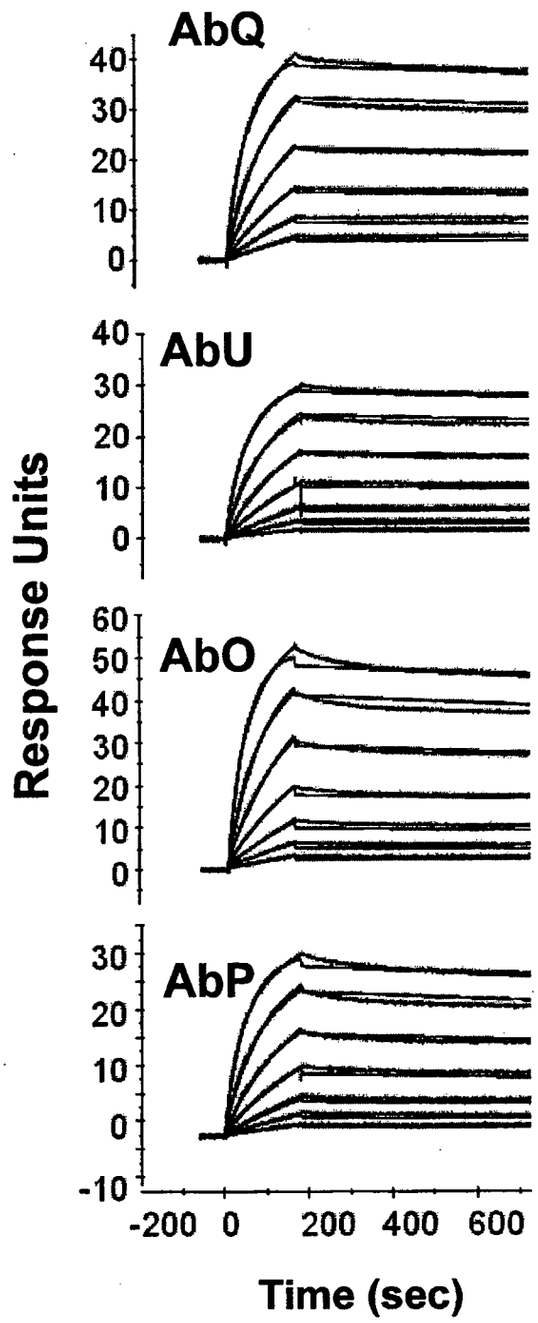

AbQ
AbU
AbO
AbP
Response Units
Time (sec)
40
30
20
10
0
60
50
-10
-200
200
400
600

Figure 8c

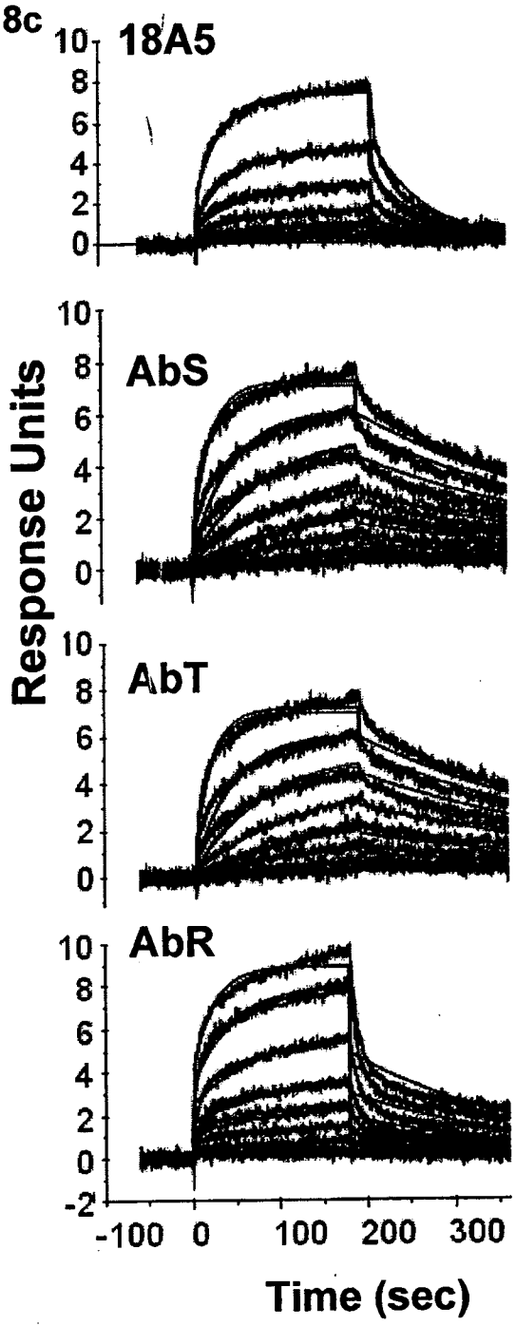

18A5
AbS
AbT
AbR
Response Units
10
8
6
4
2
0
-2
-100
0
100
200
300
Time (sec)

Figure 8d

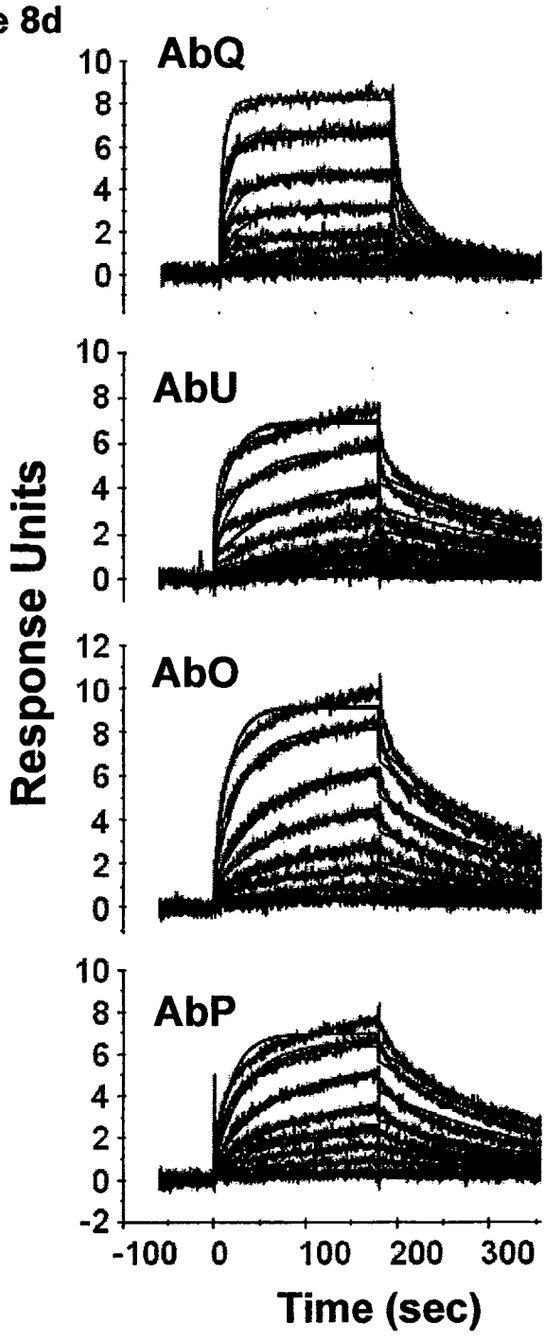

AbQ
AbU
AbO
AbP
Response Units
Time (sec)
10
8
6
4
2
0
12
-2
-100
0
100
200
300

Figure 9a

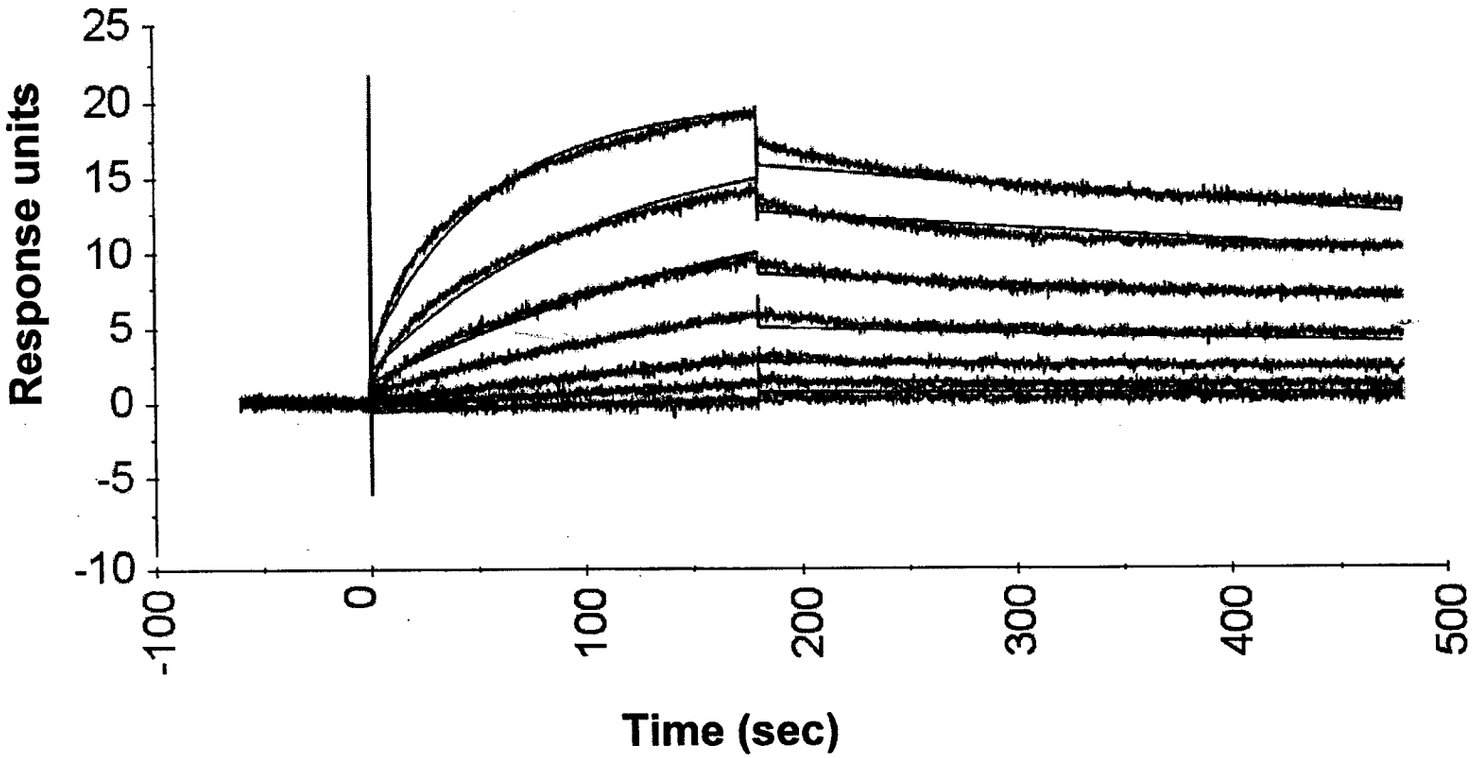

Response units
25
20
15
10
5
0
-5
-10
-100
0
100
200
300
400
500
Time (sec)

Figure 9b

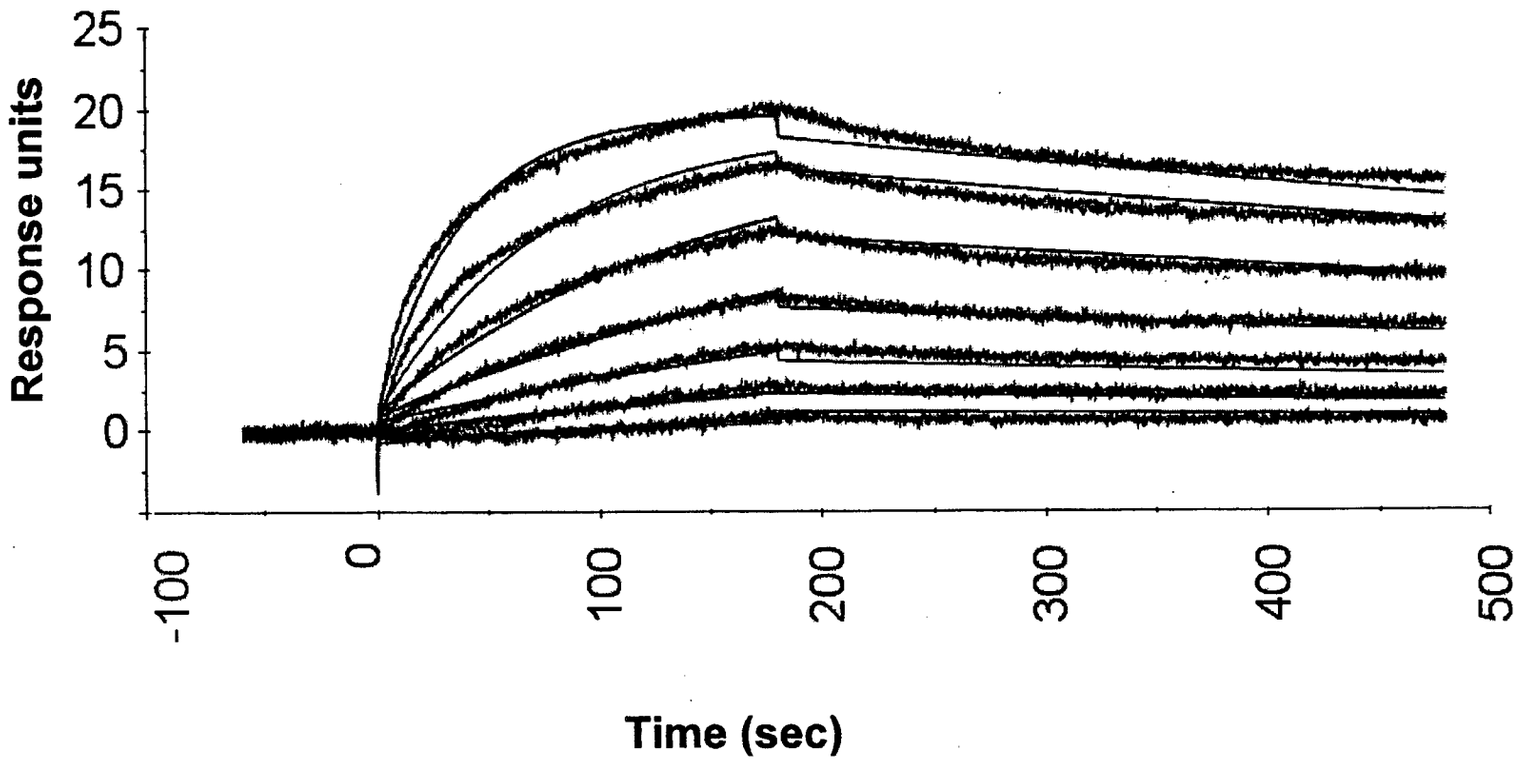


Figure 9c

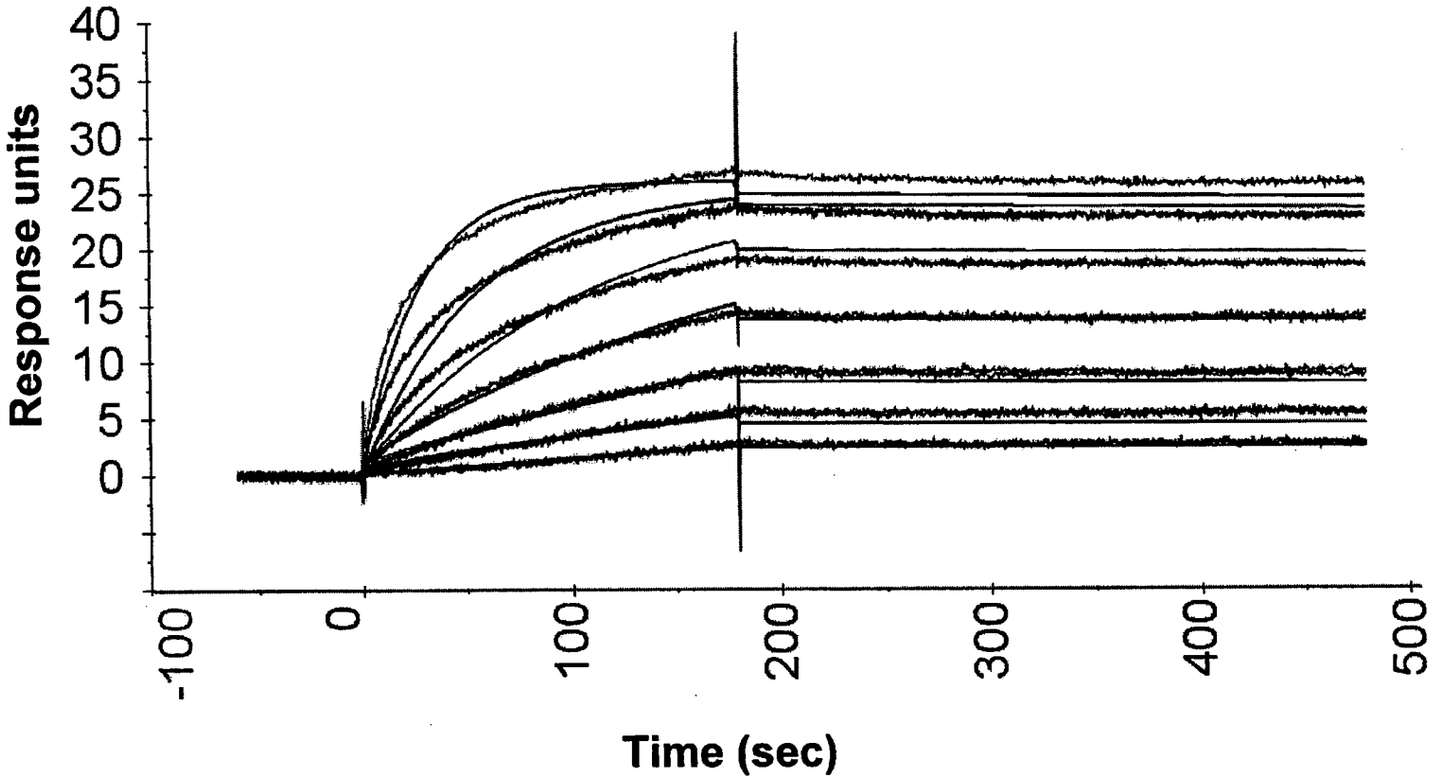

Response units
40
35
30
25
20
15
10
5
0
-100
0
100
200
300
400
500
Time (sec)

Figure 9d

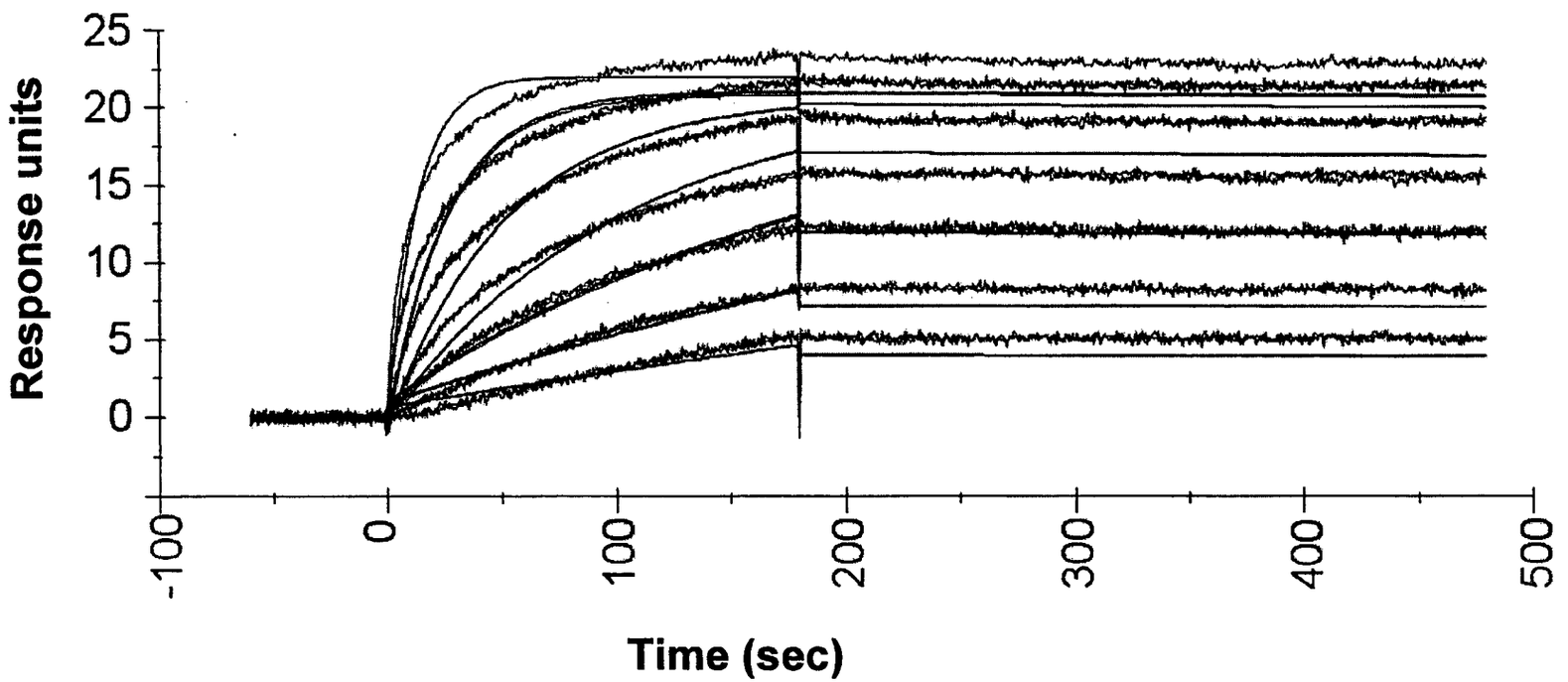


Figure 10a

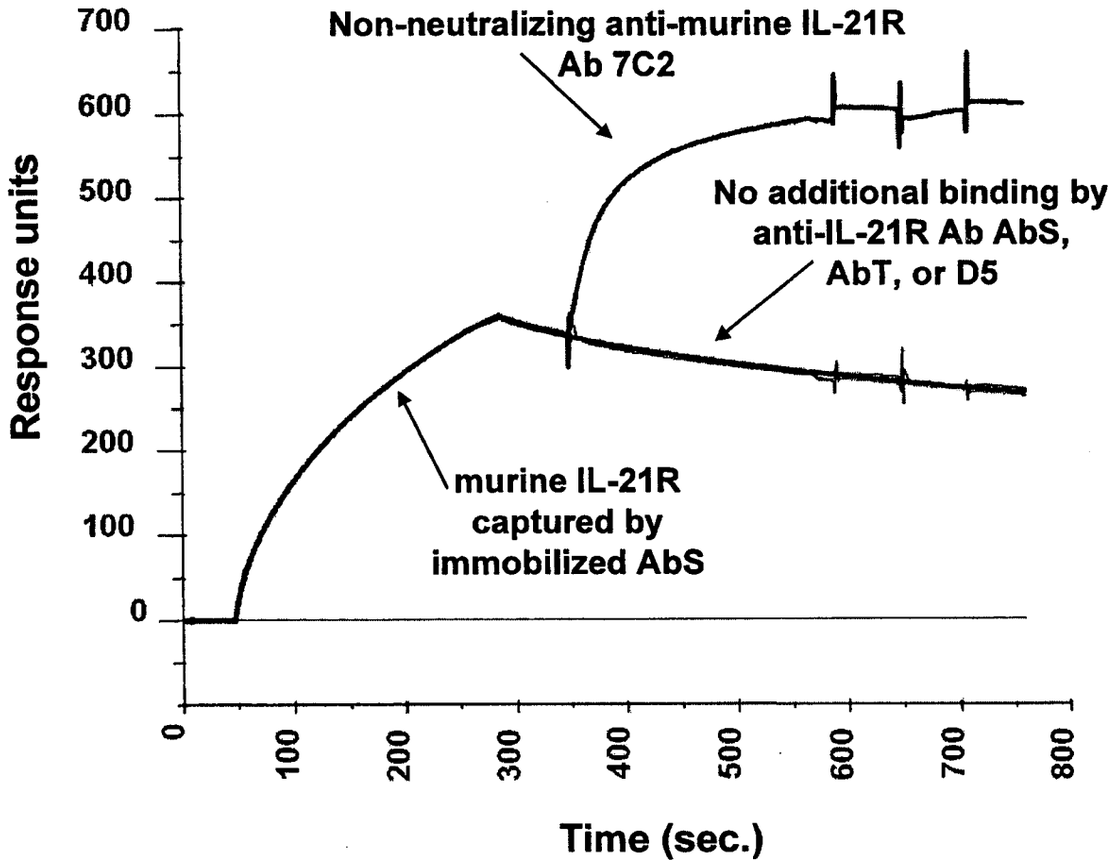

Non-neutralizing anti-murine IL-21R
Ab 7C2
No additional binding by
anti-IL-21R Ab AbS,
AbT, or D5
murine IL-21R
captured by
immobilized AbS
Response units
Time (sec.)
0
100
200
300
400
500
600
700
800

Figure 10b

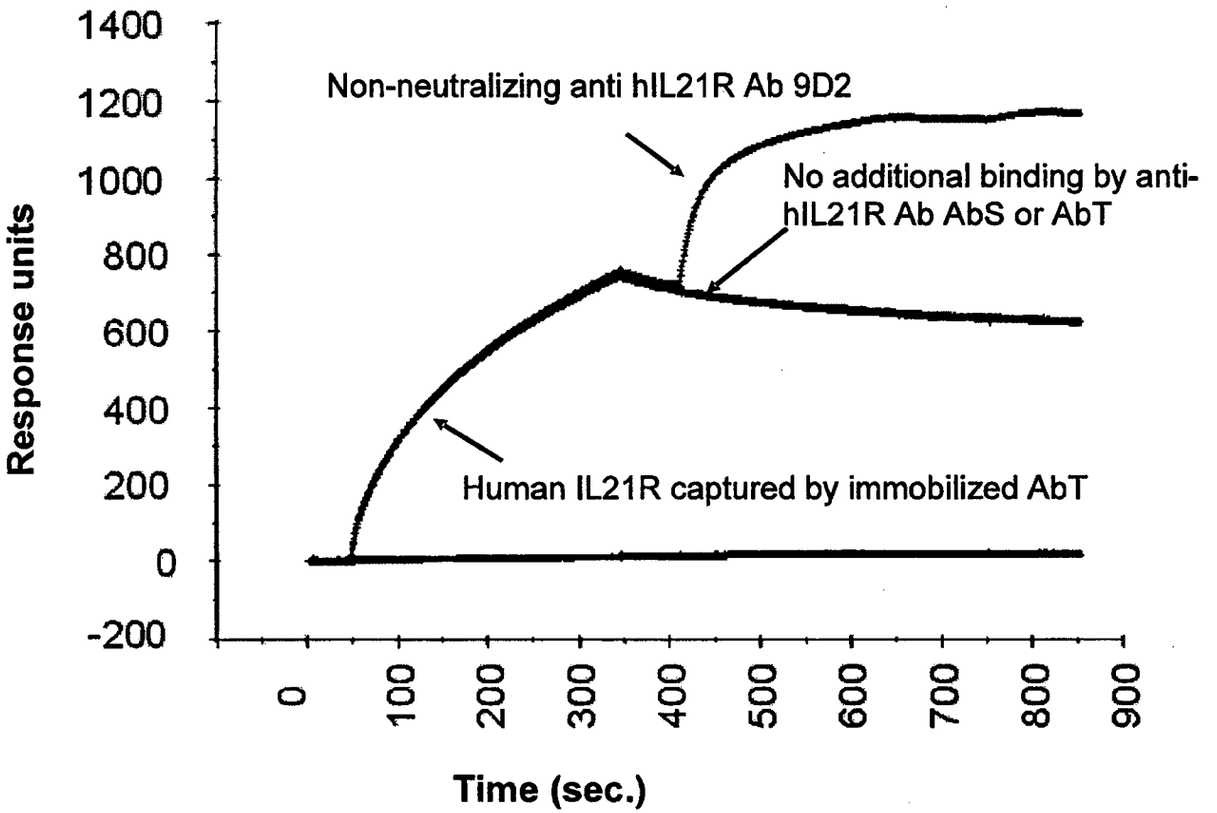

1400
1200
1000
800
600
400
200
0
-200
Response units
0
100
200
300
400
500
600
700
800
900
Time (sec.)
Non-neutralizing anti hIL21R Ab 9D2
No additional binding by anti-hIL21R Ab AbS or AbT
Human IL21R captured by immobilized AbT

Figure 11a

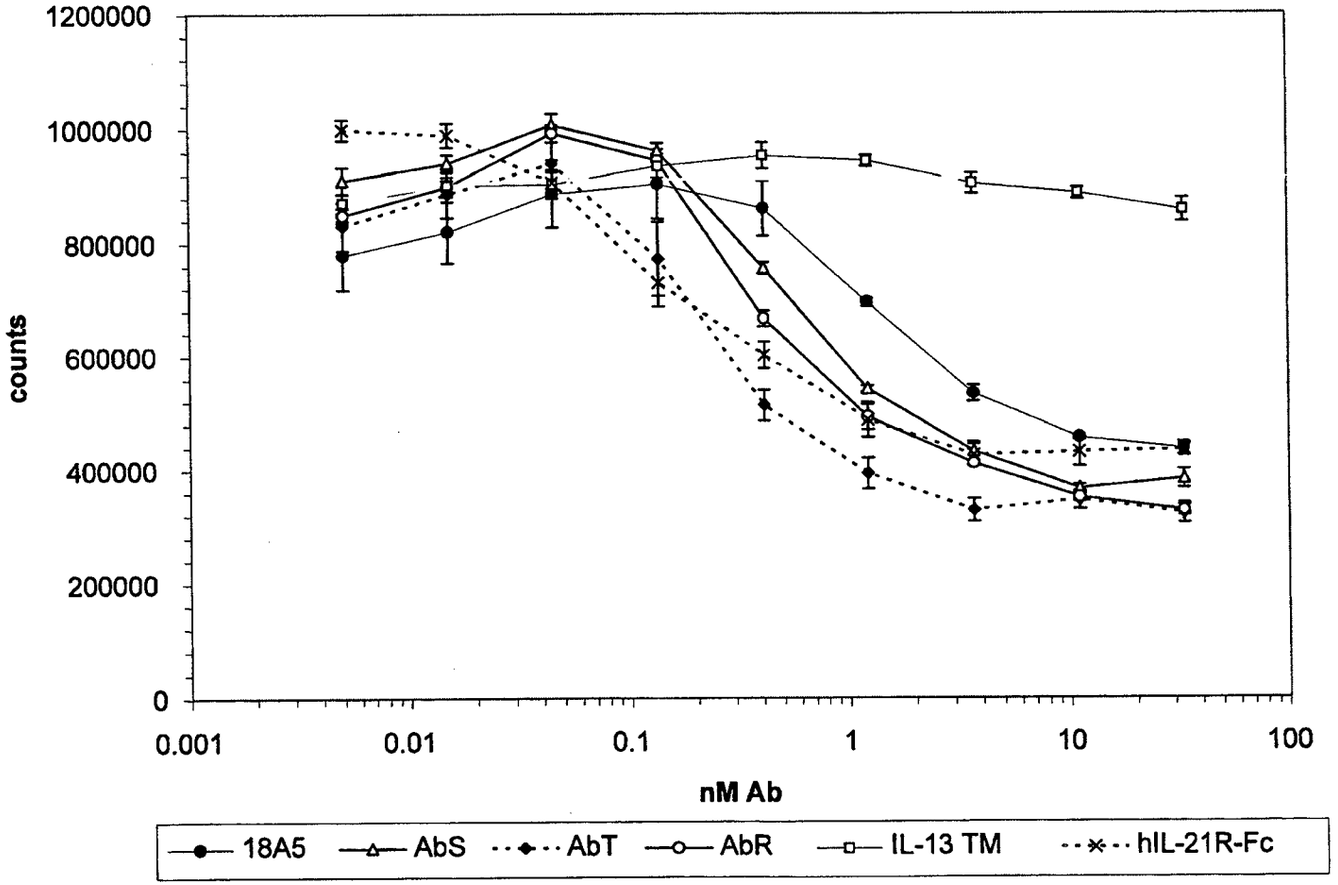

1200000
1000000
800000
600000
400000
200000
0
counts
0.001
0.01
0.1
1
10
100
nM Ab
18A5
AbS
AbT
AbR
IL-13 TM
hIL-21R-Fc

Figure 11b

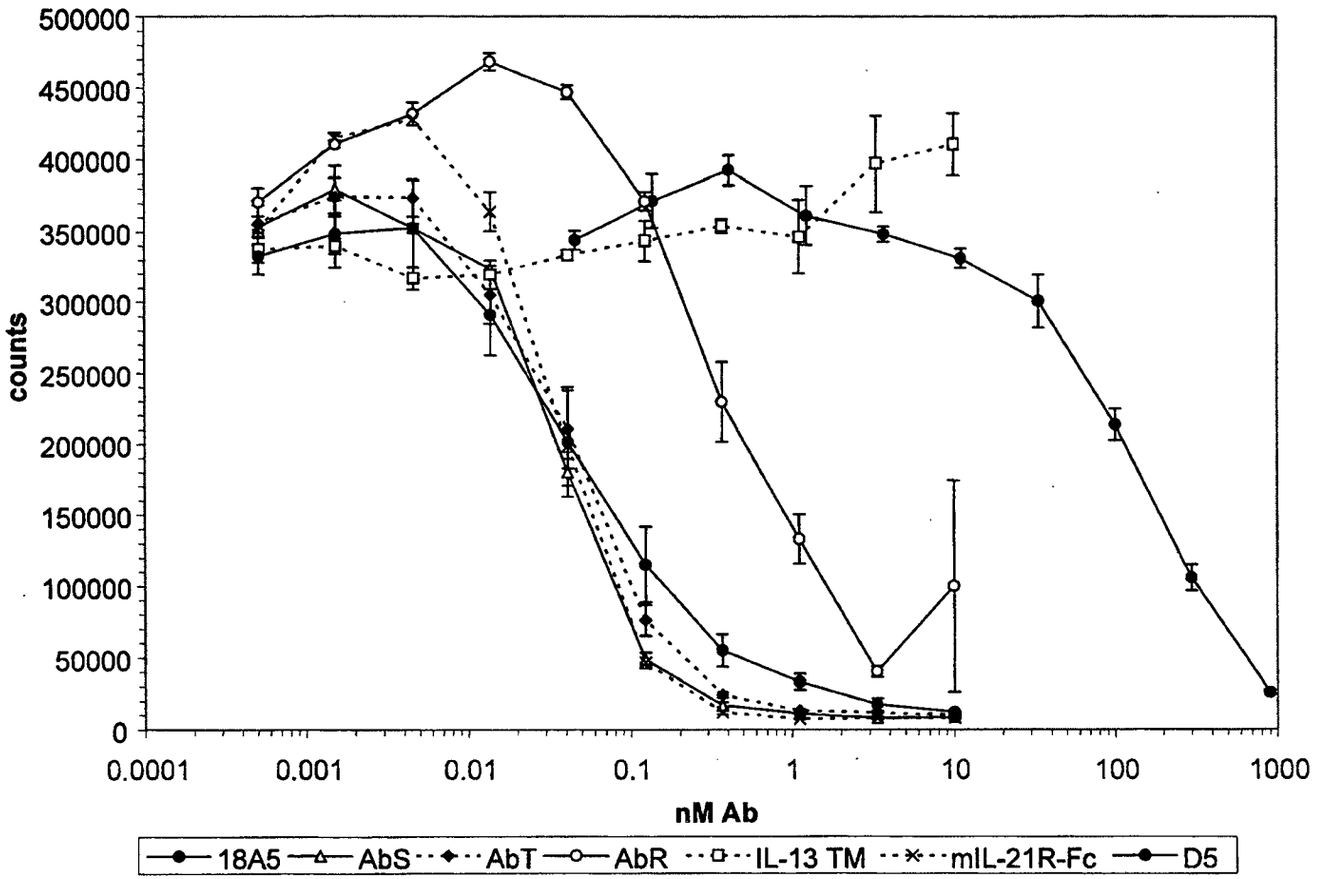

500000
450000
400000
350000
300000
250000
200000
150000
100000
50000
0
counts
0.0001
0.001
0.01
0.1
1
10
100
1000
nM Ab
18A5
AbS
AbT
AbR
IL-13 TM
mIL-21R-Fc
D5

Figure 11c

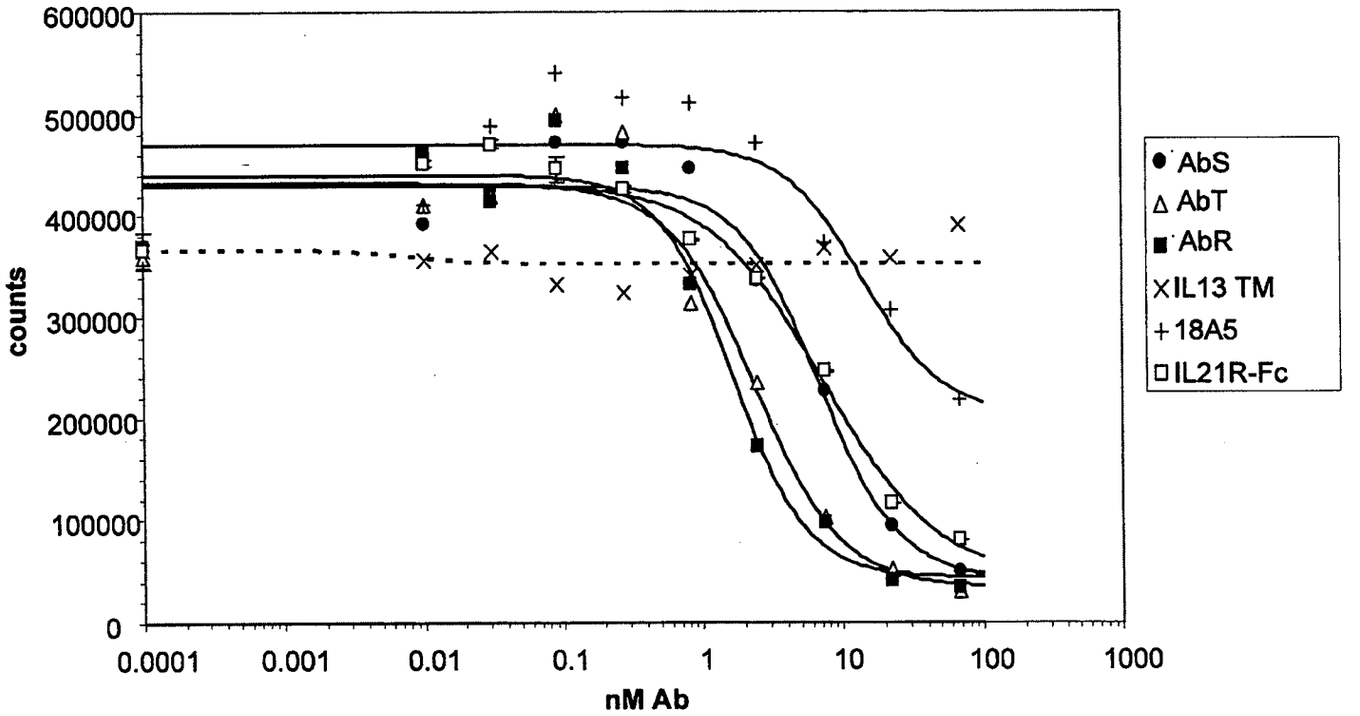

600000
500000
400000
300000
200000
100000
0
counts
0.0001
0.001
0.01
0.1
1
10
100
1000
nM Ab
AbS
AbT
AbR
IL13 TM
18A5
IL21R-Fc

Figure 12a

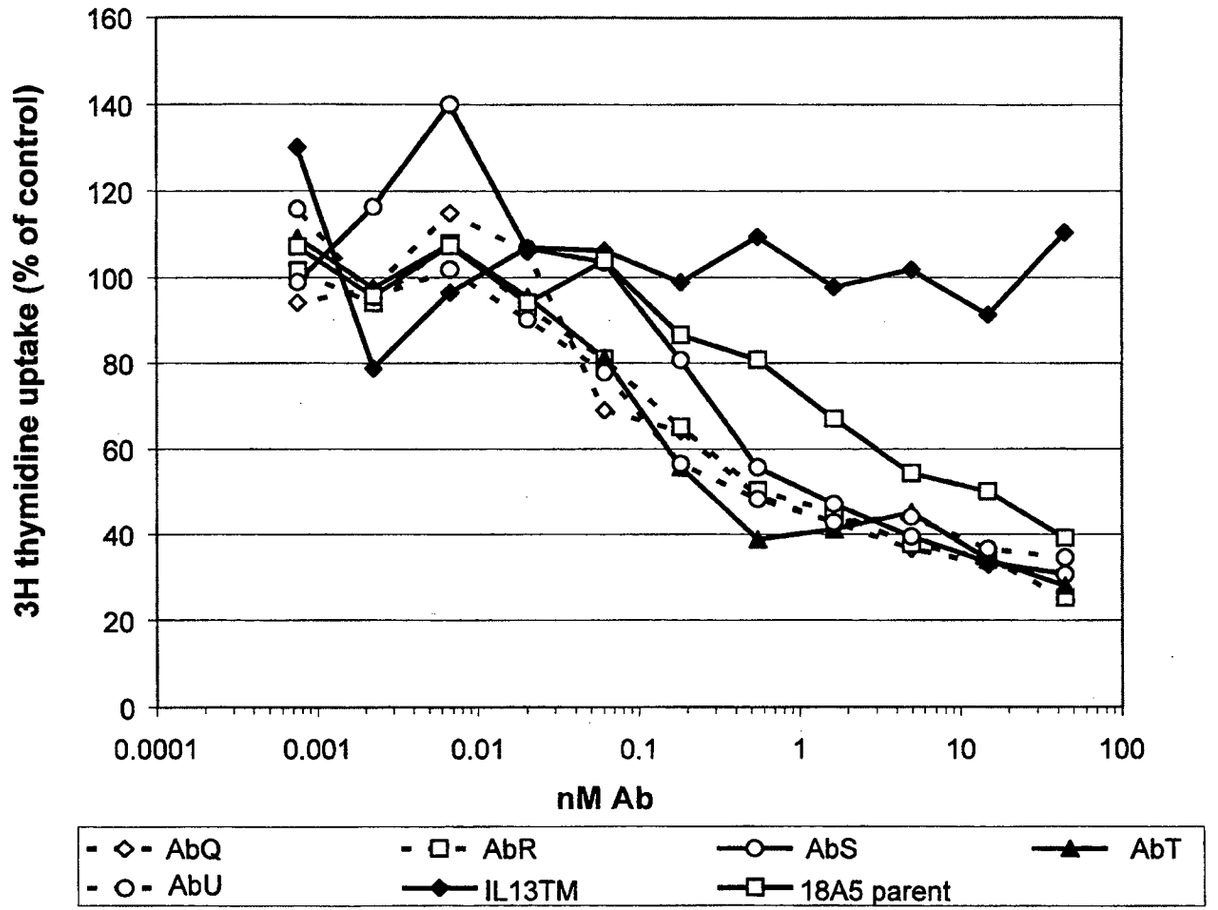

160
140
120
100
80
60
40
20
0
3H thymidine uptake (% of control)
0.0001
0.001
0.01
0.1
1
10
100
nM Ab
AbQ
AbR
AbS
AbT
AbU
IL13TM
18A5 parent

Figure 12b

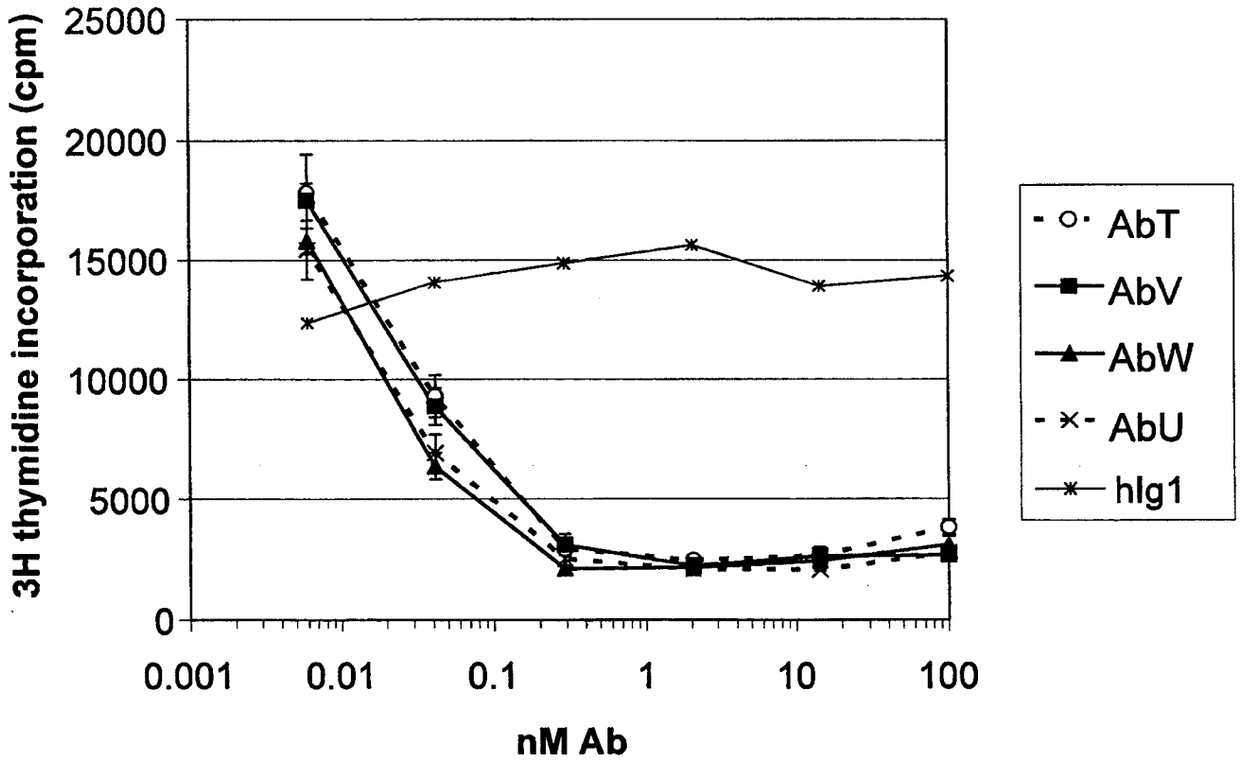

3H thymidine incorporation (cpm)
25000
20000
15000
10000
5000
0
0.001
0.01
0.1
1
10
100
nM Ab
AbT
AbV
AbW
AbU
hIg1

Figure 13

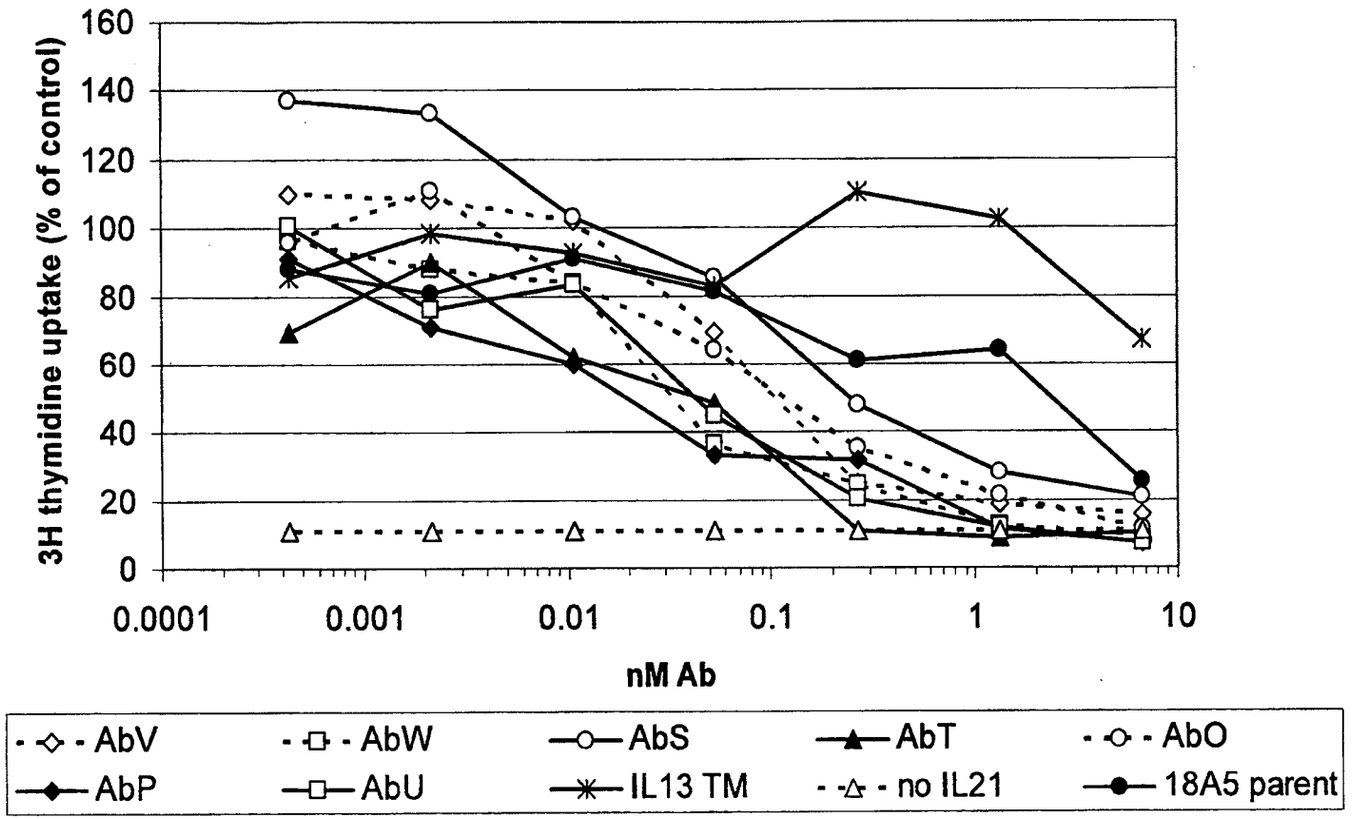

3H thymidine uptake (% of control)
160
140
120
100
80
60
40
20
0
0.0001
0.001
0.01
0.1
1
10
nM Ab
AbV
AbW
AbS
AbT
AbO
AbP
AbU
IL13 TM
no IL21
18A5 parent

Figure 14

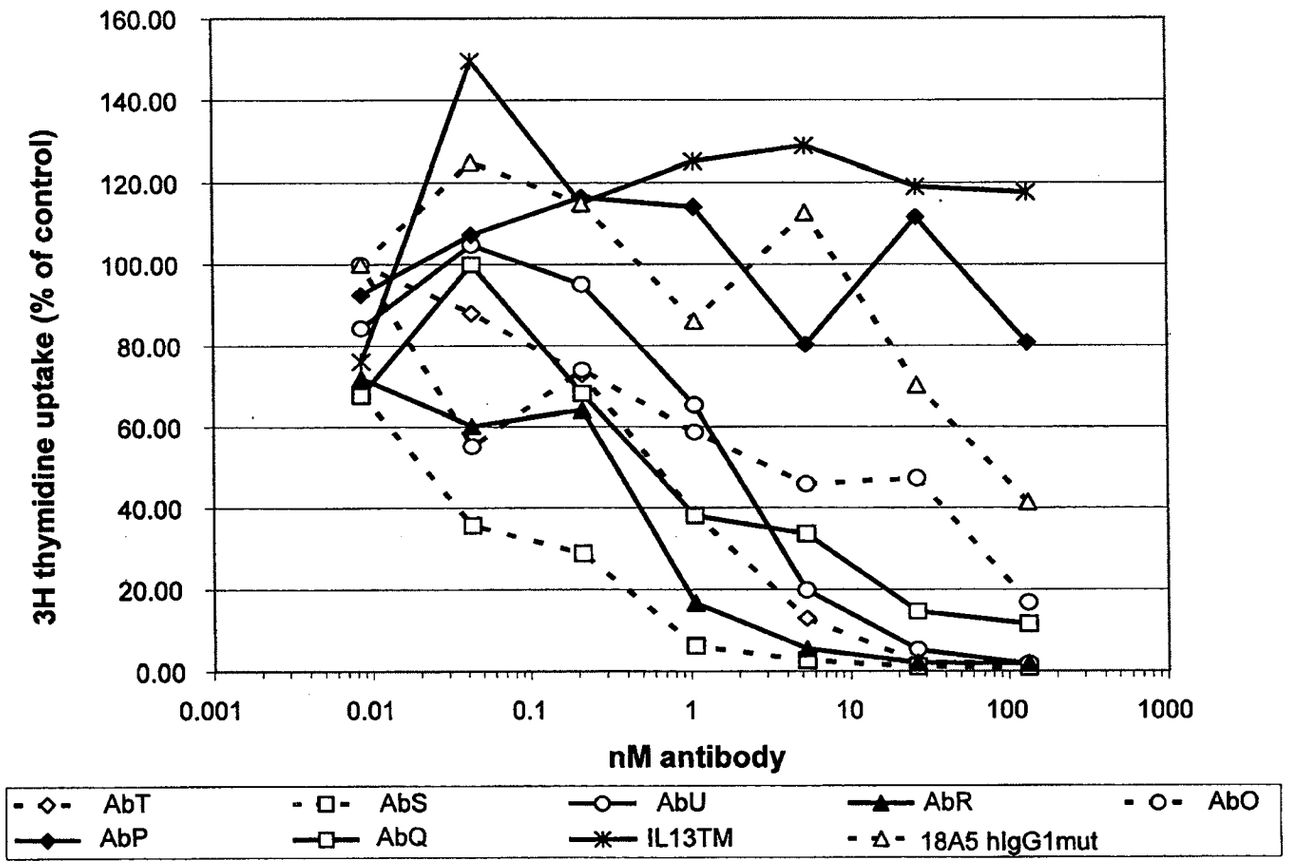

160.00
140.00
120.00
100.00
80.00
60.00
40.00
20.00
0.00
3H thymidine uptake (% of control)
0.001
0.01
0.1
1
10
100
1000
nM antibody
AbT
AbS
AbU
AbR
AbO
AbP
AbQ
IL13TM
18A5 hIgG1mut

Figure 15

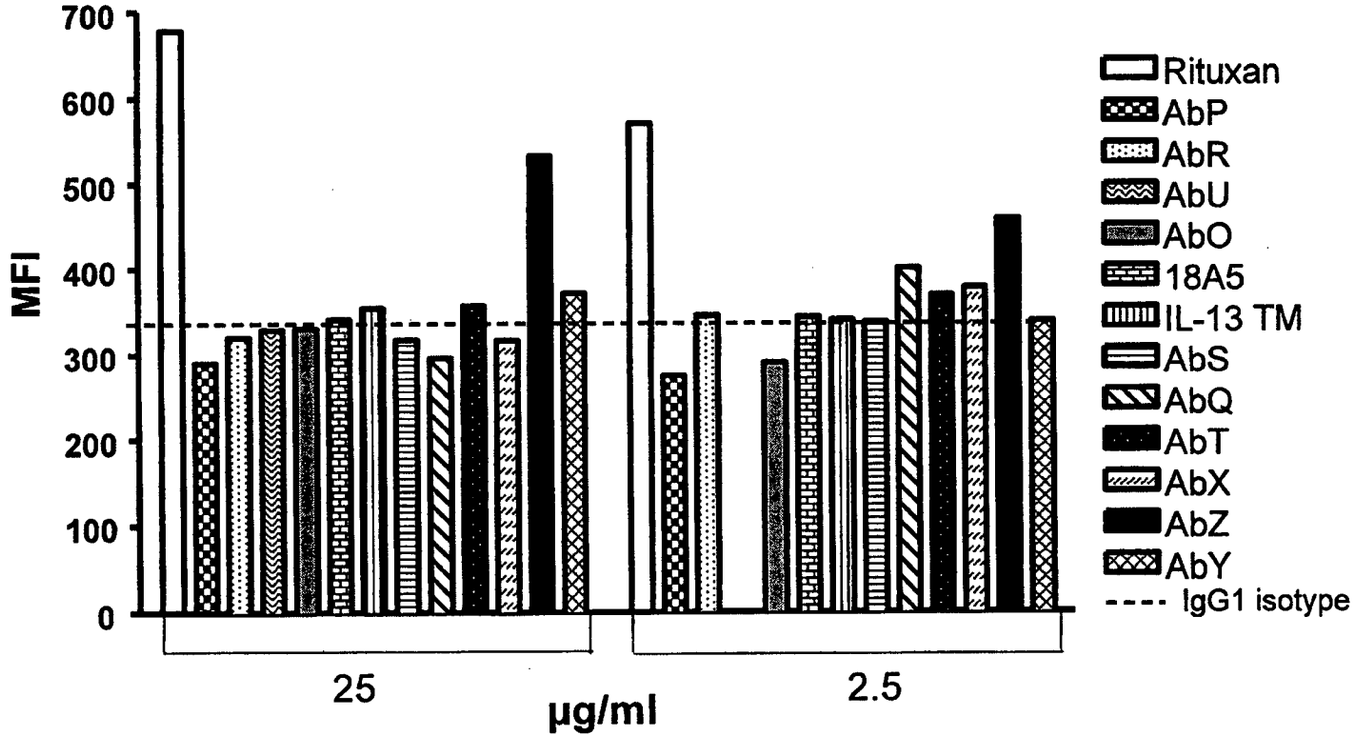

700
600
500
400
300
200
100
0
MFI
25
2.5
µg/ml
Rituxan
AbP
AbR
AbU
AbO
18A5
IL-13 TM
AbS
AbQ
AbT
AbX
AbZ
AbY
IgG1 isotype

Figure 16

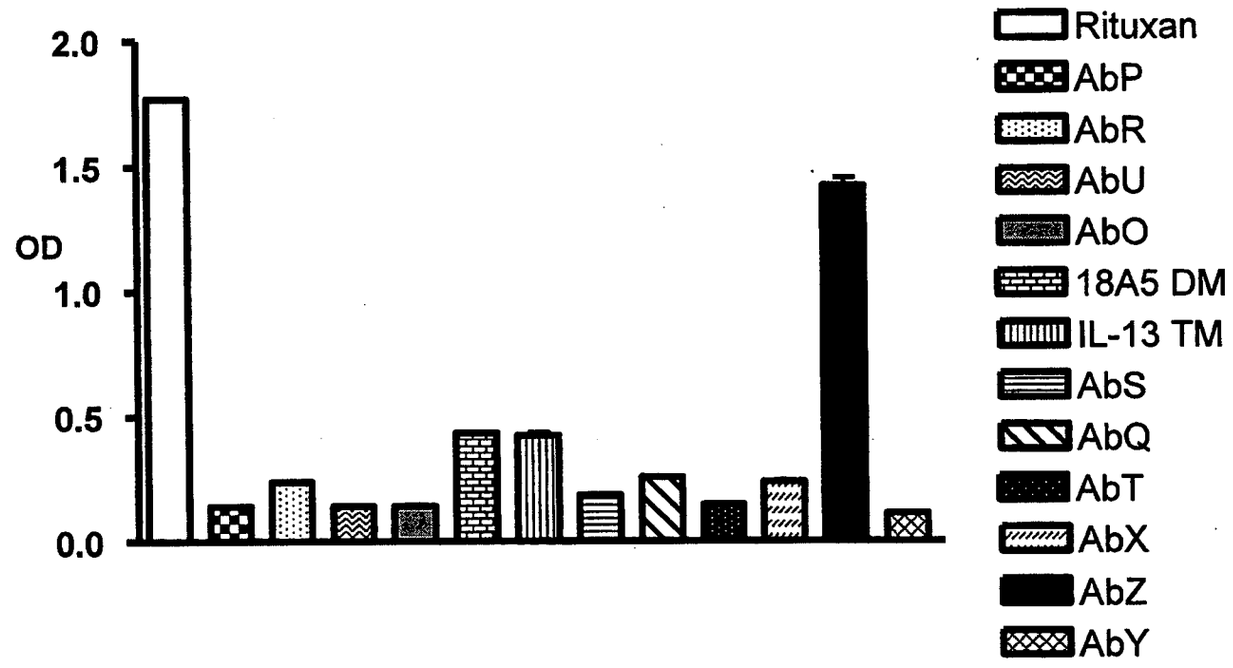

2.0
1.5
OD
1.0
0.5
0.0
Rituxan
AbP
AbR
AbU
AbO
18A5 DM
IL-13 TM
AbS
AbQ
AbT
AbX
AbZ
AbY

Figure 17a

AbQ:

Heavy chain for **AbQ** (SEQ ID NO:213), with CDRs H1, H2, and H3 underlined (SEQ ID NOs:163, 164, and 165, respectively). The heavy chain constant region is shown in lower case italics with the double mutation (L234A G237A) shown in bold lowercase underlined text (SEQ ID NO: 197).

QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCAVSGYSISSGYYWGWIRQPPGKGL
EWIGSISHTGNTYYNPPLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTA
VYYCARFMGFGRPEYWGQGTLVTVSS*astkgpsvfplapsskstsg*
gtaalgclvkdyfpepvtvswnsgaltsgvhtfpavlqssglysls
svvtvpsssl gtqtyicnvnhkpsntkvdkkvepkscdkthtcppc
papealgapsvflfppkpkdtlmisrtpevtcvvvdvshedpevkf
nwyvdgvevhnaktkpreeqynstyrvvsvltvlhqdwlngkeykc
kvsnkalpapiektiskakgqprepqvytlppsreemtknqvsltc
lvkgfypsdiavewesngqpennyk ttppvldsdgsfflyskltvd
ksrwqqgnvfscsvmhealhnhytqkslslspgk

Light chain for **AbQ** (SEQ ID NO: 214), with CDRs L1, L2, and L3 underlined (SEQ ID NOs:194, 195, and 172, respectively). The constant lambda light chain sequence is indicated by lower-case italics (SEQ ID NO:198).

SSELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDSLRTYYASWYQQKPGQAPVLV
IYGKHKRPSGIPDRFSGSSSGNTASLTITGAQAEDEADYYCVARSV
VGNPHVLFGGGTQLTVL*gqpkaapsvtlfppsseelqankatlvcl*
isdfypgavtvawkadsspvkagvetttpskqsnnkyaassylslt
peqwkshrsyscqvthegstvektvaptecs

SEQ ID NO:213 is the full-length heavy chain for **AbQ:**

QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCAVSGYSISSGYYWGWIRQPPGKGL
EWIGSISHTGNTYYNPPLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTA
VYYCARFMGFGRPEYWGQGTLVTVSS*astkgpsvfplapsskstsg*
gtaalgclvkdyfpepvtvswnsgaltsgvhtfpavlqssglysls
svvtvpsssl gtqtyicnvnhkpsntkvdkkvepkscdkthtcppc
papealgapsvflfppkpkdtlmisrtpevtcvvvdvshedpevkf
nwyvdgvevhnaktkpreeqynstyrvvsvltvlhqdwlngkeykc
kvsnkalpapiektiskakgqprepqvytlppsreemtknqvsltc
lvkgfypsdiavewesngqpennyk ttppvldsdgsfflyskltvd
ksrwqqgnvfscsvmhealhnhytqkslslspgk

Figure 17b

SEQ ID NO:14 is the V_H portion of the full-length heavy chain:

QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCAVSGYSISSGYYWGWIRQPPGKGL
EWIGSISHTGNTYYNPPLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTA
VYYCARFMGFGRPEYWGQGTLVTVSS

SEQ ID NO:163 is the CDR H1 portion of the V_H portion of the full-length heavy chain:

SGYYWG

SEQ ID NO:164 is the CDR H2 portion of the V_H portion of the full-length heavy chain:

SISHTGNTYYNPPLKS

SEQ ID NO:165 is the CDR H3 portion of the V_H portion of the full-length heavy chain:

FMGFGRPEY

SEQ ID NO:197 is the heavy chain constant region with the double mutation (L234A G237A) shown in bold lowercase underlined text:

astkgpsvfplapsskstsggtaalgclvkdyfpepvtvswnsgal
tsgvhtfpavlqssglyslssvvtvpsssl gtqtyicnvnhkpsnt
kvdkkvepkscdkthtcppcpape**a**lg**a**psvflfppkpkdtlmisr
tpevtcvvvdvshedpevkfnwyvdgvevhnaktkpreeqynstyr
vvsvltvlhqdwlngkeykckvsnkalpapiektiskakgqprepq
vytlppsreemtknqvsltclvkgfypsdiavewesngqpennykt
tppvldsdgsfflyskltvdksrwqqgnvfscsvmhealhnhytqk
slslspgk

SEQ ID NO:214 is the full-length light chain for **AbQ:**

SSELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDSLRTYYASWYQQKPGQAPVLV
IYGKHKRPSGIPDRFSGSSSGNTASLTITGAQAEDEADYYCVARSV
VGNPHVLFGGGTQLTVLgqpkaapsvtlfppsseelqankatlvcl
isdfypgavtvawkadsspvkagvetttpskqsnnkyaassylslt
peqwkshrsyscqvthegstvektvaptecs

Figure 17c

SEQ ID NO:215 is the V_L portion of the full-length light chain:

SSELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDSLRTYYASWYQQKPGQAPVLV
IYGKHKRPSGIPDRFSGSSSGNTASLTITGAQAEDEADYYCVARSV
VGNPHVLFGGGTQLTVL

SEQ ID NO:194 is the CDR L1 portion of the V_L portion of the full-length light chain:

QGDSLRTYYAS

SEQ ID NO:195 is the CDR L2 portion of the V_L portion of the full-length light chain:

GKHKRPS

SEQ ID NO:172 is the CDR L3 portion of the V_L portion of the full-length light chain:

VARSVVGNPHVL

SEQ ID NO:198 is the lambda light chain constant region:

gqpkaapsvtlfppsseelqankatlvclisdfypgavtvawkads
spvkagvetttpskqsnnkyaassylsltpeqwkshrsyscqvthe
gstvektvaptecs

Figure 18a

AbR:

Heavy chain for **AbR** (SEQ ID NO:213), with CDRs H1, H2, and H3 underlined (SEQ ID NOs:163, 164, and 165, respectively). The heavy chain constant region is shown in lower case italics with the double mutation (L234A G237A) shown in bold lowercase underlined text (SEQ ID NO: 197).

QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCAVSGYSISSGYYWGWIRQPPGKGL
EWIGSISHTGNTYYNPPLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTA
VYYCARFMGFGRPEYWGQGTLVTVSS*astkgpsvfplapsskstsg*
gtaalgclvkdyfpepvtvswnsgaltsgvhtfpavlqssglysls
svvtvpsssl gtqtyicnvnhkpsntkvdkkvepkscdkthtcppc
papealgapsvflfppkpkdtlmisrtpevtcvvvdvshedpevkf
nwyvdgvevhnaktkpreeqynstyrvvsvltvlhqdwlngkeykc
kvsnkalpapiektiskakgqprepqvytlppsreemtknqvsltc
lvkgfypsdiavewesngqpennykttppvldsdgsfflyskltvd
ksrwqqgnvfscsvmhealhnhytqkslslspgk

Light chain for **AbR** (SEQ. ID NO:216), with CDRs L1, L2, and L3 underlined (SEQ. ID NOs:194, 195, and 187, respectively). The constant lambda light chain sequence is indicated by lower-case italics (SEQ. ID. NO:198).

SSELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDSLRTYYASWYQQKPGQAPVLV
IYGKHKRPSGIPDRFSGSSSGNTASLTITGAQAEDEADYYCVTRSV
KGNPHVLFGGGTQLTVL*gqpkaapsvtlfppsseelqankatlvcl*
isdfypgavtvawkadsspvkagvetttpskqsnnkyaassylslt
peqwkshrsyscqvthegstvektvaptecs

SEQ ID NO:213 is the full-length heavy chain for **AbR:**

QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCAVSGYSISSGYYWGWIRQPPGKGL
EWIGSISHTGNTYYNPPLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTA
VYYCARFMGFGRPEYWGQGTLVTVSS*astkgpsvfplapsskstsg*
gtaalgclvkdyfpepvtvswnsgaltsgvhtfpavlqssglysls
svvtvpsssl gtqtyicnvnhkpsntkvdkkvepkscdkthtcppc
papealgapsvflfppkpkdtlmisrtpevtcvvvdvshedpevkf
nwyvdgvevhnaktkpreeqynstyrvvsvltvlhqdwlngkeykc
kvsnkalpapiektiskakgqprepqvytlppsreemtknqvsltc
lvkgfypsdiavewesngqpennykttppvldsdgsfflyskltvd
ksrwqqgnvfscsvmhealhnhytqkslslspgk

Figure 18b

SEQ ID NO:14 is the V_H portion of the full-length heavy chain:

QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCAVSGYSISSGYYWGWIRQPPGKGL
EWIGSISHTGNTYYNPPLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTA
VYYCARFMGFGRPEYWGQGTLVTVSS

SEQ ID NO:163 is the CDR H1 portion of the V_H portion of the full-length heavy chain:

SGYYWG

SEQ ID NO:164 is the CDR H2 portion of the V_H portion of the full-length heavy chain:

SISHTGNTYYNPPLKS

SEQ ID NO:165 is the CDR H3 portion of the V_H portion of the full-length heavy chain:

FMGFGRPEY

SEQ ID NO:197 is the heavy chain constant region with the double mutation (L234A G237A) shown in bold lowercase underlined text:

astkgpsvfplapsskstsggtaalgclvkdyfpepvtvswnsgal
tsgvhtfpavlqssglyslssvvtvpssslgtqtyicnvnhkpsnt
*kvdkkvepkscdkthtcppcpape**a**lg**a**psvflfppkpkdtlmisr*
tpevtcvvvdvshedpevkfnwyvdgvevhnaktkpreeqynstyr
vvsvltvlhqdwlngkeykckvsnkalpapiektiskakgqprepq
vytlppsreemtknqvsltclvkgfypsdiavewesngqpennykt
tppvldsdgsfflyskltvdksrwqqgnvfscsvmhealhnhytqk
slslspgk

SEQ ID NO:216 is the full-length light chain for **AbR:**

SSELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDSLRTYYASWYQQKPGQAPVLV
IYGKHKRPSGIPDRFSGSSSGNTASLTITGAQAEDEADYYCVTRSV
KGNPHVLFGGGTQLTVL*gqpkaapsvtlfppsseelqankatlvcl*
isdfypgavtvawkadsspvkagvetttpskqsnnkyaassylslt
peqwkshrsyscqvthegstvektvaptecs

Figure 18c

SEQ ID NO:217 is the V_L portion of the full-length light chain:

SSELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDSLRTYYASWYQQKPGQAPVLV
IYGKHKRPSGIPDRFSGSSSGNTASLTITGAQAEDEADYYCVTRSV
KGNPHVLFGGGTQLTVL

SEQ ID NO:194 is the CDR L1 portion of the V_L portion of the full-length light chain:

QGDSLRTYYAS

SEQ ID NO:195 is the CDR L2 portion of the V_L portion of the full-length light chain:

GKHKRPS

SEQ ID NO:187 is the CDR L3 portion of the V_L portion of the full-length light chain:

VTRSVKGNPHVL

SEQ ID NO:198 is the lambda light chain constant region

gqpkaapsvtlfppsseelqankatlvclisdfypgavtvawkads
spvkagvetttpskqsnnkyaassylsltpeqwkshrsyscqvthe
gstvektvaptecs

Figure 19a

AbW:

Heavy chain for **AbW** (SEQ ID NO:218), with CDRs H1, H2, and H3 underlined (SEQ ID NOs:163, 164, and 165, respectively). The heavy chain constant region is shown in lower case italics with the triple mutation (L234A L235A G237A) shown in bold lowercase underlined text (SEQ ID NO:196).

QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCAVSGYSISSGYYWGWIRQPPGKGL
EWIGSISHTGNTYYNPPLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTA
VYYCARFMGFGRPEYWGQGTLVTVSS*astkgpsvfplapsskstsg*
gtaalgclvkdyfpepvtvswnsgaltsgvhtfpavlqssglysls
svvtvpsslgtqtyicnvnhkpsntkvdkkvepkscdkthtcppc
papeaagapsvflfppkpkdtlmisrtpevtcvvvdvshedpevkf
nwyvdgvevhnaktkpreeqynstyrvvsvltvlhqdwlngkeykc
kvsnkalpapiektiskakgqprepqvytlppsreemtknqvsltc
lvkgfypsdiavewesngqpennyktppvldsdgsfflyskltvd
ksrwqqgnvfscsvmhealhnhytqkslslspgk

Light chain for **AbW** (SEQ ID NO:216), with CDRs L1, L2, and L3 underlined (SEQ ID NOs:194, 195, and 187, respectively). The constant lambda light chain sequence is indicated by lower-case italics (SEQ ID NO:198).

SSELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDSLRTYYASWYQQKPGQAPVLV
IYGKHKRPSGIPDRFSGSSSGNTASLTITGAQAEDEADYYCVTRSV
KGNPHVLFGGGTQLTVL*gqpkaapsvtlfppsseelqankatlvcl*
isdfypgavtvawkadsspvkagvetttpskqsnnkyaassylslt
peqwkshrsyscqvthegstvektvaptecs

SEQ ID NO:218 is the full-length heavy chain for **AbW:**

QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCAVSGYSISSGYYWGWIRQPPGKGL
EWIGSISHTGNTYYNPPLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTA
VYYCARFMGFGRPEYWGQGTLVTVSS*astkgpsvfplapsskstsg*
gtaalgclvkdyfpepvtvswnsgaltsgvhtfpavlqssglysls
svvtvpsslgtqtyicnvnhkpsntkvdkkvepkscdkthtcppc
papeaagapsvflfppkpkdtlmisrtpevtcvvvdvshedpevkf
nwyvdgvevhnaktkpreeqynstyrvvsvltvlhqdwlngkeykc
kvsnkalpapiektiskakgqprepqvytlppsreemtknqvsltc
lvkgfypsdiavewesngqpennyktppvldsdgsfflyskltvd
ksrwqqgnvfscsvmhealhnhytqkslslspgk

Figure 19b

SEQ ID NO:14 is the V_H portion of the full-length heavy chain:

QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCAVSGYSISSGYYWGWIRQPPGKGL
EWIGSISHTGNTYYNPPLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTA
VYYCARFMGFGRPEYWGQGTLVTVSS

SEQ ID NO:163 is the CDR H1 portion of the V_H portion of the full-length heavy chain:

SGYYWG

SEQ ID NO:164 is the CDR H2 portion of the V_H portion of the full-length heavy chain:

SISHTGNTYYNPPLKS

SEQ ID NO:165 is the CDR H3 portion of the V_H portion of the full-length heavy chain:

FMGFGRPEY

SEQ ID NO:196 is the heavy chain constant region with the triple mutation (L234A L235A G237A) shown in bold lowercase underlined text:

astkgpsvfplapsskstsggtaalgclvkdyfpepvtvswnsgal
tsgvhtfpavlqssglyslssvvtvpssslgtqtyicnvnhkpsnt
*kvdkkvepkscdkthtcppcpape**aa**g**a**psvflfppkpkdtlmisr*
tpevtcvvvdvshedpevkfnwyvdgvevhnaktkpreeqynstyr
vvsvltvlhqdwlngkeykckvsnkalpapiektiskakgqprepq
vytlppsreemtknqvsltclvkgfypsdiavewesngqpennykt
tppvldsdgsfflyskltvdksrwqqgnvfscsvmhealhnhytqk
slslspgk

SEQ ID NO:216 is the full-length light chain for **AbW:**

SSELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDSLRTYYASWYQQKPGQAPVLV
IYGKHKRPSGIPDRFSGSSSGNTASLTITGAQAEDEADYYCVTRSV
KGNPHVLFGGGTQLTVL*gqpkaapsvtlfppsseelqankatlvcl*
isdfypgavtvawkadsspvkagvetttpskqsnnkyaassylslt
peqwkshrsyscqvthegstvektvaptecs

Figure 19c

SEQ ID NO:217 is V_L portion of the full-length light chain:

SSELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDSLRTYYASWYQQKPGQAPVLV
IYGKHKRPSGIPDRFSGSSSGNTASLTITGAQAEDEADYYCVTRSV
KGNPHVLFGGGTQLTVL

SEQ ID NO:194 is the CDR L1 portion of the V_L portion of the full-length light chain:

QGDSLRTYYAS

SEQ ID NO:195 is the CDR L2 portion of the V_L portion of the full-length light chain:

GKHKRPS

SEQ ID NO:187 is the CDR L3 portion of the V_L portion of the full-length light chain:

VTRSVKGNPHVL

SEQ ID NO:198 is the lambda light chain constant region

gqpkaapsvtlfppsseelqankatlvclisdfypgavtvawkads
spvkagvetttpskqsnnkyaassylsltpeqwkshrsyscqvthe
gstvektvaptecs

Figure 20a

AbS:

Heavy chain for **AbS** (SEQ ID NO:219), with CDRs H1, H2, and H3 underlined (SEQ ID NOs:163, 164, and 169, respectively). The heavy chain constant region is shown in lower case italics with the triple mutation (L234A L235A G237A) shown in bold lowercase underlined text (SEQ ID NO:196).

QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCAVSGYSISSGYYWGWIRQPPGKGL
EWIGSISHTGNTYYNPPLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTA
VYYCARGGGISRPEYWGQGTLVTVSS*astkgpsvfplapsskstsg*
gtaalgclvkdyfpepvtvswnsgaltsgvhtfpavlqssglysls
svvtvpsslgtqtyicnvnhkpsntkvdkkvepkscdkthtcppc
papeaagapsvflfppkpkdtlmisrtpevtcvvvdvshedpevkf
nwyvdgvevhnaktkpreeqynstyrvvsvltvlhqdwlngkeykc
kvsnkalpapiektiskakgqprepqvytlppsreemtknqvsltc
lvkgfypsdiavewesngqpennykttppvldsdgsfflyskltvd
ksrwqqgnvfscsvmhealhnhytqkslslspgk

Light chain for **AbS** (SEQ ID NO:220), with CDRs L1, L2, and L3 underlined (SEQ ID NOs:194, 195, and 176, respectively). The constant lambda light chain sequence is indicated by lower-case italics (SEQ ID NO:198).

SSELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDSLRTYYASWYQQKPGQAPVLV
IYGKHKRPSGIPDRFSGSSSGNTASLTITGAQAEDEADYYCMSRSI
WGNPHVLFGGGTQLTVL*gqpkaapsvtlfppsseelqankatlvcl*
isdfypgavtvawkadsspvkagvetttpskqsnnkyaassylslt
peqwkshrsyscqvthegstvektvaptecs

SEQ ID NO:219 is the full-length heavy chain for **AbS:**

QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCAVSGYSISSGYYWGWIRQPPGKGL
EWIGSISHTGNTYYNPPLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTA
VYYCARGGGISRPEYWGQGTLVTVSS*astkgpsvfplapsskstsg*
gtaalgclvkdyfpepvtvswnsgaltsgvhtfpavlqssglysls
svvtvpsslgtqtyicnvnhkpsntkvdkkvepkscdkthtcppc
papeaagapsvflfppkpkdtlmisrtpevtcvvvdvshedpevkf
nwyvdgvevhnaktkpreeqynstyrvvsvltvlhqdwlngkeykc
kvsnkalpapiektiskakgqprepqvytlppsreemtknqvsltc
lvkgfypsdiavewesngqpennykttppvldsdgsfflyskltvd
ksrwqqgnvfscsvmhealhnhytqkslslspgk

Figure 20b

SEQ ID NO:6 is the V_H portion of the full-length heavy chain:

QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCAVSGYSISSGYYWGWIRQPPGKGL
EWIGSISHTGNTYYNPPLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTA
VYYCARGGGISRPEYWGQGTLVTVSS

SEQ ID NO:163 is the CDR H1 portion of the V_H portion of the full-length heavy chain:

SGYYWG

SEQ ID NO:164 is the CDR H2 portion of the V_H portion of the full-length heavy chain:

SISHTGNTYYNPPLKS

SEQ ID NO:169 is the CDR H3 portion of the V_H portion of the full-length heavy chain:

GGGISRPEY

SEQ ID NO:196 is the heavy chain constant region with the triple mutation (L234A L235A G237A) shown in bold lowercase underlined text:

astkgpsvfplapsskstsggtaalgclvkdyfpepvtvswnsgal
tsgvhtfpavlqssglyslssvvtvpssslgtqtyicnvnhkpsnt
*kvdkkvepkscdkthtcppcpape**aa**g**a**psvflfppkpkdtlmisr*
tpevtcvvvdvshedpevkfnwyvdgvevhnaktkpreeqynstyr
vvsvltvlhqdwlngkeykckvsnkalpapiektiskakgqprepq
vytlppsreemtknqvsltclvkgfypsdiavewesngqpennykt
tppvldsdgsfflyskltvdksrwqqgnvfscsvmhealhnhytqk
slslspgk

SEQ ID NO:220 is the full-length light chain for **AbS:**

SSELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDSLRTYYASWYQQKPGQAPVLV
IYGKHKRPSGIPDRFSGSSSGNTASLTITGAQAEDEADYYCMSRSI
WGNPHVLFGGGTQLTVL*gqpkaapsvtlfppsseelqankatlvcl*
isdfypgavtvawkadsspvkagvetttpskqsnnkyaassylslt
peqwkshrsyscqvthegstvektvaptecs

Figure 20c

SEQ ID NO:221 is the V_L portion of the full-length light chain:

SSELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDSLRTYYASWYQQKPGQAPVLV
IYGKHKRPSGIPDRFSGSSSGNTASLTITGAQAEDEADYYCMSRSI
WGNPHVLFGGGTQLTVL

SEQ ID NO:194 is the CDR L1 portion of the V_L portion of the full-length light chain:

QGDSLRTYYAS

SEQ ID NO:195 is the CDR L2 portion of the V_L portion of the full-length light chain:

GKHKRPS

SEQ ID NO:176 is the CDR L3 portion of the V_L portion of the full-length light chain:

MSRSIWGNPHVL

SEQ ID NO:198 is the lambda light chain constant region:

gqpkaapsvtlfppsseelqankatlvclisdfypgavtvawkads
spvkagvetttpskqsnnkyaassylsltpeqwkshrsyscqvthe
gstvektvaptecs

Figure 21a

AbT:

Heavy chain for **AbT** (SEQ ID NO:219), with CDRs H1, H2, and H3 underlined (SEQ ID NOs:163, 164, and 169, respectively). The heavy chain constant region is shown in lower case italics with the triple mutation (L234A L235A G237A) shown in bold lowercase underlined text (SEQ ID NO:196).

QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCAVSGYSISSGYYWGWIRQPPGKGL
EWIGSISHTGNTYYNPPLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTA
VYYCARGGGISRPEYWGQGTLVTVSS*astkgpsvfplapsskstsg*
gtaalgclvkdyfpepvtvswnsgaltsgvhtfpavlqssglysls
svvtvpsssl gtqtyicnvnhkpsntkvdkkvepkscdkthtcppc
papeaagapsvflfppkpkdtlmisrtpevtcvvvdvshedpevkf
nwyvdgvevhnaktkpreeqynstyrvvsvltvlhqdwlngkeykc
kvsnkalpapiektiskakgqprepqvytlppsreemtknqvsltc
lvkgfypsdiavewesngqpennykttppvldsdgsfflyskltvd
ksrwqqgnvfscsvmhealhnhytqkslslspgk

Light chain for **AbT** (SEQ ID NO:222), with CDRs L1, L2, and L3 underlined (SEQ ID NOs:194, 195, and 178, respectively). The constant lambda light chain sequence is indicated by lower-case italics (SEQ ID NO:198).

SSELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDSLRTYYASWYQQKPGQAPVLV
IYGKHKRPSGIPDRFSGSSSGNTASLTITGAQAEDEADYYCVARSN
KGNPHVLFGGGTQLTVL*gqpkaapsvtlfppsseelqankatlvcl*
isdfypgavtvawkadsspvkagvetttpskqsnnkyaassylslt
peqwkshrsyscqvthegstvektvaptecs

SEQ ID NO:219 is the full-length heavy chain for **AbT:**

QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCAVSGYSISSGYYWGWIRQPPGKGL
EWIGSISHTGNTYYNPPLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTA
VYYCARGGGISRPEYWGQGTLVTVSS*astkgpsvfplapsskstsg*
gtaalgclvkdyfpepvtvswnsgaltsgvhtfpavlqssglysls
svvtvpsssl gtqtyicnvnhkpsntkvdkkvepkscdkthtcppc
papeaagapsvflfppkpkdtlmisrtpevtcvvvdvshedpevkf
nwyvdgvevhnaktkpreeqynstyrvvsvltvlhqdwlngkeykc
kvsnkalpapiektiskakgqprepqvytlppsreemtknqvsltc
lvkgfypsdiavewesngqpennykttppvldsdgsfflyskltvd
ksrwqqgnvfscsvmhealhnhytqkslslspgk

Figure 21b

SEQ ID NO:6 is the V_H portion of full-length heavy chain:

QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCAVSGYSISSGYYWGWIRQPPGKGL
EWIGSISHTGNTYYNPPLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTA
VYYCARGGGISRPEYWGQGTLVTVSS

SEQ ID NO:163 is the CDR H1 portion of the V_H portion of full-length heavy chain:

SGYYWG

SEQ ID NO:164 is the CDR H2 portion of the V_H portion of full-length heavy chain:

SISHTGNTYYNPPLKS

SEQ ID NO:169 is the CDR H3 portion of the V_H portion of full-length heavy chain:

GGGISRPEY

SEQ ID NO:196 is the heavy chain constant region with the triple mutation (L234A L235A G237A) shown in bold lowercase underlined text:

astkgpsvfplapsskstsggtaalgclvkdyfpepvtvswnsgal
tsgvhtfpavlqssglyslssvvtvpsssl gtqtyicnvnhkpsnt
kvdkkvepkscdkthtcppcpape**aa**g**a**psvflfppkpkdtlmisr
tpevtcvvvdvshedpevkfnwyvdgvevhnaktkpreeqynstyr
vvsvltvlhqdwlngkeykckvsnkalpapiektiskakgqprepq
vytlppsreemtknqvsltclvkgfypsdiavewesngqpennykt
tppvldsdgsfflyskltvdksrwqqgnvfscsvmhealhnhytqk
slslspgk

SEQ ID NO:222 is the full-length light chain for **AbT:**

SSELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDSLRTYYASWYQQKPGQAPVLV
IYGKHKRPSGIPDRFSGSSSGNTASLTITGAQAEDEADYYCVARSN
KGNPHVLFGGGTQLTVLgqpkaapsvtlfppsseelqankatlvcl
isdfypgavtvawkadsspvkagvetttpskqsnnkyaassylslt
peqwkshrsyscqvthegstvektvaptecs

Figure 21c

SEQ ID NO:223 is the V_L portion of the full-length light chain:

SSELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDSLRTYYASWYQQKPGQAPVLV
IYGKHKRPSGIPDRFSGSSSGNTASLTITGAQAEDEADYYCVARSN
KGNPHVLFGGGTQLTVL

SEQ ID NO:194 is the CDR L1 portion of the V_L portion of the full-length light chain:

QGDSLRTYYAS

SEQ ID NO:195 is the CDR L2 portion of the V_L portion of the full-length light chain:

GKHKRPS

SEQ ID NO:178 is the CDR L3 portion of the V_L portion of the full-length light chain:

VARSNKGNPHVL

SEQ ID NO:198 is the lambda light chain constant region:

gqpkaapsvtlfppsseelqankatlvclisdfypgavtvawkads
spvkagvetttpskqsnnkyaassylsltpeqwkshrsyscqvthe
gstvektvaptecs

Figure 22a

AbO:

Heavy chain for **AbO** (SEQ ID NO:219), with CDRs H1, H2, and H3 underlined (SEQ ID NOs:163, 164, and 169, respectively). The heavy chain constant region is shown in lower case italics with the triple mutation (L234A L235A G237A) shown in bold lowercase underlined text (SEQ ID NO:196).

QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCAVSGYSISSGYYWGWIRQPPGKGL
EWIGSISHTGNTYYNPPLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTA
VYYCARGGGISRPEYWGQGTLVTVSS*astkgpsvfplapsskstsg*
gtaalgclvkdyfpepvtvswnsgaltsgvhtfpavlqssglysls
svvtvpsslgtqtyicnvnhkpsntkvdkkvepkscdkthtcppc
papeaagapsvflfppkpkdtlmisrtpevtcvvvdvshedpevkf
nwyvdgvevhnaktkpreeqynstyrvvsvltvlhqdwlngkeykc
kvsnkalpapiektiskakgqprepqvytlppsreemtknqvsltc
lvkgfypsdiavewesngqpennykttppvldsdgsfflyskltvd
ksrwqqgnvfscsvmhealhnhytqkslslspgk

Light chain for **AbO** (SEQ ID NO:224), with CDRs L1, L2, and L3 underlined (SEQ ID NOs:194, 195, and 185, respectively). The constant lambda light chain sequence is indicated by lower-case italics (SEQ ID NO:198).

SSELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDSLRTYYASWYQQKPGQAPVLV
IYGKHKRPSGIPDRFSGSSSGNTASLTITGAQAEDEADYYCVTRSA
KGNPHVLFGGGTQLTVL*gqpkaapsvtlfppsseelqankatlvcl*
isdfypgavtvawkadsspvkagvetttpskqsnnkyaassylslt
peqwkshrsyscqvthegstvektvaptecs

SEQ ID NO:219 is the full-length heavy chain for **AbO:**

QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCAVSGYSISSGYYWGWIRQPPGKGL
EWIGSISHTGNTYYNPPLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTA
VYYCARGGGISRPEYWGQGTLVTVSS*astkgpsvfplapsskstsg*
gtaalgclvkdyfpepvtvswnsgaltsgvhtfpavlqssglysls
svvtvpsslgtqtyicnvnhkpsntkvdkkvepkscdkthtcppc
papeaagapsvflfppkpkdtlmisrtpevtcvvvdvshedpevkf
nwyvdgvevhnaktkpreeqynstyrvvsvltvlhqdwlngkeykc
kvsnkalpapiektiskakgqprepqvytlppsreemtknqvsltc
lvkgfypsdiavewesngqpennykttppvldsdgsfflyskltvd
ksrwqqgnvfscsvmhealhnhytqkslslspgk

Figure 22b

SEQ ID NO:6 is the V_H portion of full-length heavy chain:

QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCAVSGYSISSGYYWGWIRQPPGKGL
EWIGSISHTGNTYYNPPLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTA
VYYCARGGGISRPEYWGQGTLVTVSS

SEQ ID NO:163 is the CDR H1 portion of the V_H portion of full-length heavy chain:

SGYYWG

SEQ ID NO:164 is the CDR H2 portion of the V_H portion of full-length heavy chain:

SISHTGNTYYNPPLKS

SEQ ID NO:169 is the CDR H3 portion of the V_H portion of full-length heavy chain:

GGGISRPEY

SEQ ID NO:196 is the heavy chain constant region with the triple mutation (L234A L235A G237A) shown in bold lowercase underlined text:

astkgpsvfplapsskstsggtaalgclvkdyfpepvtvswnsgal
tsgvhtfpavlqssglyslssvvtvpssslgtqtyicnvnhkpsnt
*kvdkkvepkscdkthtcppcpape**aa**g**a**psvflfppkpkdtlmisr*
tpevtcvvvdvshedpevkfnwyvdgvevhnaktkpreeqynstyr
vvsvltvlhqdwlngkeykckvsnkalpapiektiskakgqprepq
vytlppsreemtknqvsltclvkgfypsdiavewesngqpennykt
tppvldsdgsfflyskltvdksrwqqgnvfscsvmhealhnhytqk
slslspgk

SEQ ID NO:224 is the full-length light chain for **AbO:**

SSELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDSLRTYYASWYQQKPGQAPVLV
IYGKHKRPSGIPDRFSGSSSGNTASLTITGAQAEDEADYYCVTRSA
KGNPHVLFGGGTQLTVL*gqpkaapsvtlfppsseelqankatlvcl*
isdfypgavtvawkadsspvkagvetttpskqsnnkyaassylslt
peqwkshrsyscqvthegstvektvaptecs

Figure 22c

SEQ ID NO:225 is the V_L portion of the full-length light chain:

SSELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDSLRTYYASWYQQKPGQAPVLV
IYGKHKRPSGIPDRFSGSSSGNTASLTITGAQAEDEADYYCVTRSA
KGNPHVLFGGGTQLTVL

SEQ ID NO:194 is the CDR L1 portion of the V_L portion of the full-length light chain:

QGDSLRTYYAS

SEQ ID NO:195 is the CDR L2 portion of the V_L portion of the full-length light chain:

GKHKRPS

SEQ ID NO:185 is the CDR L3 portion of the V_L portion of the full-length light chain:

VTRSAKGNPHVL

SEQ ID NO:198 is the lambda light chain constant region:

gqpkaapsvtlfppsseelqankatlvclisdfypgavtvawkads
spvkagvetttpskqsnnkyaassylsltpeqwkshrsyscqvthe
gstvektvaptecs

Figure 23a

AbP:

Heavy chain for **AbP** (SEQ ID NO:219), with CDRs H1, H2, and H3 underlined (SEQ ID NOs:163, 164, and 169, respectively). The heavy chain constant region is shown in lower case italics with the triple mutation (L234A L235A G237A) shown in bold lowercase underlined text (SEQ ID NO:196).

QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCAVSGYSISSGYYWGWIRQPPGKGL
EWIGSISHTGNTYYNPPLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTA
VYYCARGGGISRPEYWGQGTLVTVSS*astkgpsvfplapsskstsg*
gtaalgclvkdyfpepvtvswnsgaltsgvhtfpavlqssglysls
svvtvpsssl gtqtyicnvnhkpsntkvdkkvepkscdkthtcppc
papeaagapsvflfppkpkdtlmisrtpevtcvvvdvshedpevkf
nwyvdgvevhnaktkpreeqynstyrvvsvltvlhqdwlngkeykc
kvsnkalpapiektiskakgqprepqvytlppsreemtknqvsltc
lvkgfypsdiavewesngqpennyk ttppvldsdgsfflyskltvd
ksrwqqgnvfscsvmhealhnhytqkslslspgk

Light chain for **AbP** (SEQ ID NO:226), with CDRs L1, L2, and L3 underlined (SEQ ID NOs:194, 195, and 189, respectively). The constant lambda light chain sequence is indicated by lower-case italics (SEQ ID NO:198).

SSELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDSLRTYYASWYQQKPGQAPVLV
IYGKHKRPSGIPDRFSGSSSGNTASLTITGAQAEDEADYYCVSRSA
KGNPHVLFGGGTQLTVL*gqpkaapsvtlfppsseelqankatlvcl*
isdfypgavtvawkadsspvkagvetttpskqsnnkyaassylslt
peqwkshrsyscqvthegstvektvaptecs

SEQ ID NO:219 is the full-length heavy chain for **AbP:**

QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCAVSGYSISSGYYWGWIRQPPGKGL
EWIGSISHTGNTYYNPPLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTA
VYYCARGGGISRPEYWGQGTLVTVSS*astkgpsvfplapsskstsg*
gtaalgclvkdyfpepvtvswnsgaltsgvhtfpavlqssglysls
svvtvpsssl gtqtyicnvnhkpsntkvdkkvepkscdkthtcppc
papeaagapsvflfppkpkdtlmisrtpevtcvvvdvshedpevkf
nwyvdgvevhnaktkpreeqynstyrvvsvltvlhqdwlngkeykc
kvsnkalpapiektiskakgqprepqvytlppsreemtknqvsltc
lvkgfypsdiavewesngqpennyk ttppvldsdgsfflyskltvd
ksrwqqgnvfscsvmhealhnhytqkslslspgk

Figure 23b

SEQ ID NO:6 is the V_H portion of full-length heavy chain:

QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCAVSGYSISSGYYWGWIRQPPGKGL
EWIGSISHTGNTYYNPPLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTA
VYYCARGGGISRPEYWGQGTLVTVSS

SEQ ID NO:163 is the CDR H1 portion of the V_H portion of full-length heavy chain:

SGYYWG

SEQ ID NO:164 is the CDR H2 portion of the V_H portion of full-length heavy chain:

SISHTGNTYYNPPLKS

SEQ ID NO:169 is the CDR H3 portion of the V_H portion of full-length heavy chain:

GGGISRPEY

SEQ ID NO:196 is the heavy chain constant region with the triple mutation (L234A L235A G237A) shown in bold lowercase underlined text:

astkgpsvfplapsskstsggtaalgclvkdyfpepvtvswnsgal
tsgvhtfpavlqssglyslssvvtvpsssl gtqtyicnvnhkpsnt
kvdkkvepkscdkthtcppcpape**aa**g**a**psvflfppkpkdtlmisr
tpevtcvvvdvshedpevkfnwyvdgvevhnaktkpreeqynstyr
vvsvltvlhqdwlngkeykckvsnkalpapiektiskakgqprepq
vytlppsreemtknqvsltclvkgfypsdiavewesngqpennykt
tppvldsdgsfflyskltvdksrwqqgnvfscsvmhealhnhytqk
slslspgk

SEQ ID NO:226 is the full-length light chain for **AbP:**

SSELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDSLRTYYASWYQQKPGQAPVLV
IYGKHKRPSGIPDRFSGSSSGNTASLTITGAQAEDEADYYCVSRSA
KGNPHVLFGGGTQLTVLgqpkaapsvtlfppsseelqankatlvcl
isdfypgavtvawkadsspvkagvetttpskqsnnkyaassylslt
peqwkshrsyscqvthegstvektvaptecs

Figure 23c

SEQ ID NO:227 is the V_L portion of the full-length light chain:

SSELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDSLRTYYASWYQQKPGQAPVLV
IYGKHKRPSGIPDRFSGSSSGNTASLTITGAQAEDEADYYCVSRSA
KGNPHVLFGGGTQLTVL

SEQ ID NO:194 is the CDR L1 portion of the V_L portion of the full-length light chain:

QGDSLRTYYAS

SEQ ID NO:195 is the CDR L2 portion of the V_L portion of the full-length light chain:

GKHKRPS

SEQ ID NO:189 is the CDR L3 portion of the V_L portion of the full-length light chain:

VSRSAKGNPHVL

SEQ ID NO:198 is the lambda light chain constant region:

gqpkaapsvtlfppsseelqankatlvclisdfypgavtvawkads
spvkagvetttpskqsnnkyaassylsltpeqwkshrsyscqvthe
gstvektvaptecs

Figure 24a

AbU:

Heavy chain for **AbU** (SEQ ID NO:219), with CDRs H1, H2, and H3 underlined (SEQ ID NOs:163, 164, and 169, respectively). The heavy chain constant region is shown in lower case italics with the triple mutation (L234A L235A G237A) shown in bold lowercase underlined text (SEQ ID NO:196).

QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCAVSGYSISSGYYWGWIRQPPGKGL
EWIGSISHTGNTYYNPPLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTA
VYYCARGGGISRPEYWGQGTLVTVSS*astkgpsvfplapsskstsg*
gtaalgclvkdyfpepvtvswnsgaltsgvhtfpavlqssglysls
svvtvpsslgtqtyicnvnhkpsntkvdkkvepkscdkthtcppc
papeaagapsvflfppkpkdtlmisrtpevtcvvvdvshedpevkf
nwyvdgvevhnaktkpreeqynstyrvvsvltvlhqdwlngkeykc
kvsnkalpapiektiskakgqprepqvytlppsreemtknqvsltc
lvkgfypsdiavewesngqpennykttppvldsdgsfflyskltvd
ksrwqqgnvfscsvmhealhnhytqkslslspgk

Light chain for **AbU** (SEQ ID NO:228), with CDRs L1, L2, and L3 underlined (SEQ ID NOs:194, 195, and 193, respectively). The constant lambda light chain sequence is indicated by lower-case italics (SEQ ID NO:198).

SSELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDSLRTYYASWYQQKPGQAPVLV
IYGKHKRPSGIPDRFSGSSSGNTASLTITGAQAEDEADYYCTTRSN
KGNPHVLFGGGTQLTVL*gqpkaapsvtlfppsseelqankatlvcl*
isdfypgavtvawkadsspvkagvetttpskqsnnkyaassylslt
peqwkshrsyscqvthegstvektvaptecs

SEQ ID NO:219 is the full-length heavy chain for **AbU:**

QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCAVSGYSISSGYYWGWIRQPPGKGL
EWIGSISHTGNTYYNPPLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTA
VYYCARGGGISRPEYWGQGTLVTVSS*astkgpsvfplapsskstsg*
gtaalgclvkdyfpepvtvswnsgaltsgvhtfpavlqssglysls
svvtvpsslgtqtyicnvnhkpsntkvdkkvepkscdkthtcppc
papeaagapsvflfppkpkdtlmisrtpevtcvvvdvshedpevkf
nwyvdgvevhnaktkpreeqynstyrvvsvltvlhqdwlngkeykc
kvsnkalpapiektiskakgqprepqvytlppsreemtknqvsltc
lvkgfypsdiavewesngqpennykttppvldsdgsfflyskltvd
ksrwqqgnvfscsvmhealhnhytqkslslspgk

Figure 24b

SEQ ID NO:6 is the V_H portion of full-length heavy chain:

QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCAVSGYSISSGYYWGWIRQPPGKGL
EWIGSISHTGNTYYNPPLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTA
VYYCARGGGISRPEYWGQGTLVTVSS

SEQ ID NO:163 is the CDR H1 portion of the V_H portion of full-length heavy chain:

SGYYWG

SEQ ID NO:164 is the CDR H2 portion of the V_H portion of full-length heavy chain:

SISHTGNTYYNPPLKS

SEQ ID NO:169 is the CDR H3 portion of the V_H portion of full-length heavy chain:

GGGISRPEY

SEQ ID NO:196 is the heavy chain constant region with the triple mutation (L234A L235A G237A) shown in bold lowercase underlined text:

astkgpsvfplapsskstsggtaalgclvkdyfpepvtvswnsgal
tsgvhtfpavlqssglyslssvvtvpssslgtqtyicnvnhkpsnt
*kvdkkvepkscdkthtcppcpape**aa**g**a**psvflfppkpkdtlmisr*
tpevtcvvvdvshedpevkfnwyvdgvevhnaktkpreeqynstyr
vvsvltvlhqdwlngkeykckvsnkalpapiektiskakgqprepq
vytlppsreemtknqvsltclvkgfypsdiavewesngqpennykt
tppvldsdgsfflyskltvdksrwqqgnvfscsvmhealhnhytqk
slslspgk

SEQ ID NO:228 is the full-length light chain for **AbU:**

SSELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDSLRTYYASWYQQKPGQAPVLV
IYGKHKRPSGIPDRFSGSSSGNTASLTITGAQAEDEADYYCTTRSN
KGNPHVLFGGGTQLTVL*gqpkaapsvtlfppsseelqankatlvcl*
isdfypgavtvawkadsspvkagvetttpskqsnnkyaassylslt
peqwkshrsyscqvthegstvektvaptecs

Figure 24c

SEQ ID NO:229 is the V_L portion of the full-length light chain:

SSELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDSLRTYYASWYQQKPGQAPVLV
IYGKHKRPSGIPDRFSGSSSGNTASLTITGAQAEDEADYYCTTRSN
KGNPHVLFGGGTQLTVL

SEQ ID NO:194 is the CDR L1 portion of the V_L portion of the full-length light chain:

QGDSLRTYYAS

SEQ ID NO:195 is the CDR L2 portion of the V_L portion of the full-length light chain:

GKHKRPS

SEQ ID NO:193 is the CDR L3 portion of the V_L portion of the full-length light chain:

TTRSNKGNPHVL

SEQ ID NO:198 is the lambda light chain constant region:

gqpkaapsvtlfppsseelqankatlvclisdfypgavtvawkads
spvkagvetttpskqsnnkyaassylsltpeqwkshrsyscqvthe
gstvektvaptecs

Figure 25a

AbV:

Heavy chain for **AbV** (SEQ ID NO:218), with CDRs H1, H2, and H3 underlined (SEQ ID NOs:163, 164, and 165, respectively). The heavy chain constant region is shown in lower case italics with the triple mutation (L234A L235A G237A) shown in bold lowercase underlined text (SEQ ID NO:196).

QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCAVSGYSISSGYYWGWIRQPPGKGL
EWIGSISHTGNTYYNPPLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTA
VYYCARFMGFGRPEYWGQGTLVTVSS*astkgpsvfplapsskstsg*
gtaalgclvkdyfpepvtvswnsgaltsgvhtfpavlqssglysls
svvtvpsssl gtqtyicnvnhkpsntkvdkkvepkscdkthtcppc
papeaagapsvflfppkpkdtlmisrtpevtcvvvdvshedpevkf
nwyvdgvevhnaktkpreeqynstyrvvsvltvlhqdwlngkeykc
kvsnkalpapiektiskakgqprepqvytlppsreemtknqvsltc
lvkgfypsdiavewesngqpennykttppvldsdgsfflyskltvd
ksrwqqgnvfscsvmhealhnhytqkslslspgkk

Light chain for **AbV** (SEQ ID NO:214), with CDRs L1, L2, and L3 underlined (SEQ ID NOs:194, 195, and 172, respectively). The constant lambda light chain sequence is indicated by lower-case italics (SEQ ID NO:198).

SSELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDSLRTYYASWYQQKPGQAPVLV
IYGKHKRPSGIPDRFSGSSSGNTASLTITGAQAEDEADYYCVARSV
VGNPHVLFGGGTQLTVL*gqpkaapsvtlfppsseelqankatlvcl*
isdfypgavtvawkadsspvkagvetttpskqsnnkyaassylslt
peqwkshrsyscqvthegstvektvaptecs

SEQ ID NO:218 is the full-length heavy chain for **AbV:**

QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCAVSGYSISSGYYWGWIRQPPGKGL
EWIGSISHTGNTYYNPPLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTA
VYYCARFMGFGRPEYWGQGTLVTVSS*astkgpsvfplapsskstsg*
gtaalgclvkdyfpepvtvswnsgaltsgvhtfpavlqssglysls
svvtvpsssl gtqtyicnvnhkpsntkvdkkvepkscdkthtcppc
papeaagapsvflfppkpkdtlmisrtpevtcvvvdvshedpevkf
nwyvdgvevhnaktkpreeqynstyrvvsvltvlhqdwlngkeykc
kvsnkalpapiektiskakgqprepqvytlppsreemtknqvsltc
lvkgfypsdiavewesngqpennykttppvldsdgsfflyskltvd
ksrwqqgnvfscsvmhealhnhytqkslslspgk

Figure 25b

SEQ ID NO:14 is the V_H portion of the full-length heavy chain:

QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCAVSGYSISSGYYWGWIRQPPGKGL
EWIGSISHTGNTYYNPPLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTA
VYYCARFMGFGRPEYWGQGTLVTVSS

SEQ ID NO:163 is the CDR H1 portion of the V_H portion of the full-length heavy chain:

SGYYWG

SEQ ID NO:164 is the CDR H2 portion of the V_H portion of the full-length heavy chain:

SISHTGNTYYNPPLKS

SEQ ID NO:165 is the CDR H3 portion of the V_H portion of the full-length heavy chain:

FMGFGRPEY

SEQ ID NO:196 is the heavy chain constant region with the triple mutation (L234A L235A G237A) shown in bold lowercase underlined text:

astkgpsvfplapsskstsggtaalgclvkdyfpepvtvswnsgal
tsgvhtfpavlqssglyslssvvtvpsssl gtqtyicnvnhkpsnt
*kvdkkvepkscdkthtcppcpape**aa**g**a**psvflfppkpkdtlmisr*
tpevtcvvvdvshedpevkfnwyvdgvevhnaktkpreeqynstyr
vvsvltvlhqdwlngkeykckvsnkalpapiektiskakgqprepq
vytlppsreemtknqvsltclvkgfypsdiavewesngqpennykt
tppvldsdgsfflyskltvdksrwqqgnvfscsvmhealhnhytqk
slslspgk

SEQ ID NO:214 is the full-length light chain for **AbV:**

SSELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDSLRTYYASWYQQKPGQAPVLV
IYGKHKRPSGIPDRFSGSSSGNTASLTITGAQAEDEADYYCVARSV
VGNPHVLFGGGTQLTVL*gqpkaapsvtlfppsseelqankatlvcl*
isdfypgavtvawkadsspvkagvetttpskqsnnkyaassylslt
peqwkshrsyscqvthegstvektvaptecs

Figure 25c

SEQ ID NO:215 is the V_L portion of the full-length light chain:

SSELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDSLRTYYASWYQQKPGQAPVLV
IYGKHKRPSGIPDRFSGSSSGNTASLTITGAQAEDEADYYCVARSV
VGNPHVLFGGGTQLTVL

SEQ ID NO:194 is the CDR L1 portion of the V_L portion of the full-length light chain:

QGDSLRTYYAS

SEQ ID NO:195 is the CDR L2 portion of the V_L portion of the full-length light chain:

GKHKRPS

SEQ ID NO:172 is the CDR L3 portion of the V_L portion of the full-length light chain:

VARSVVGNPHVL

SEQ ID NO:198 is the lambda light chain constant region:

gqpkaapsvtlfppsseelqankatlvclisdfypgavtvawkads
spvkagvetttpskqsnnkyaassylsltpeqwkshrsyscqvthe
gstvektvaptecs

Figure 26a

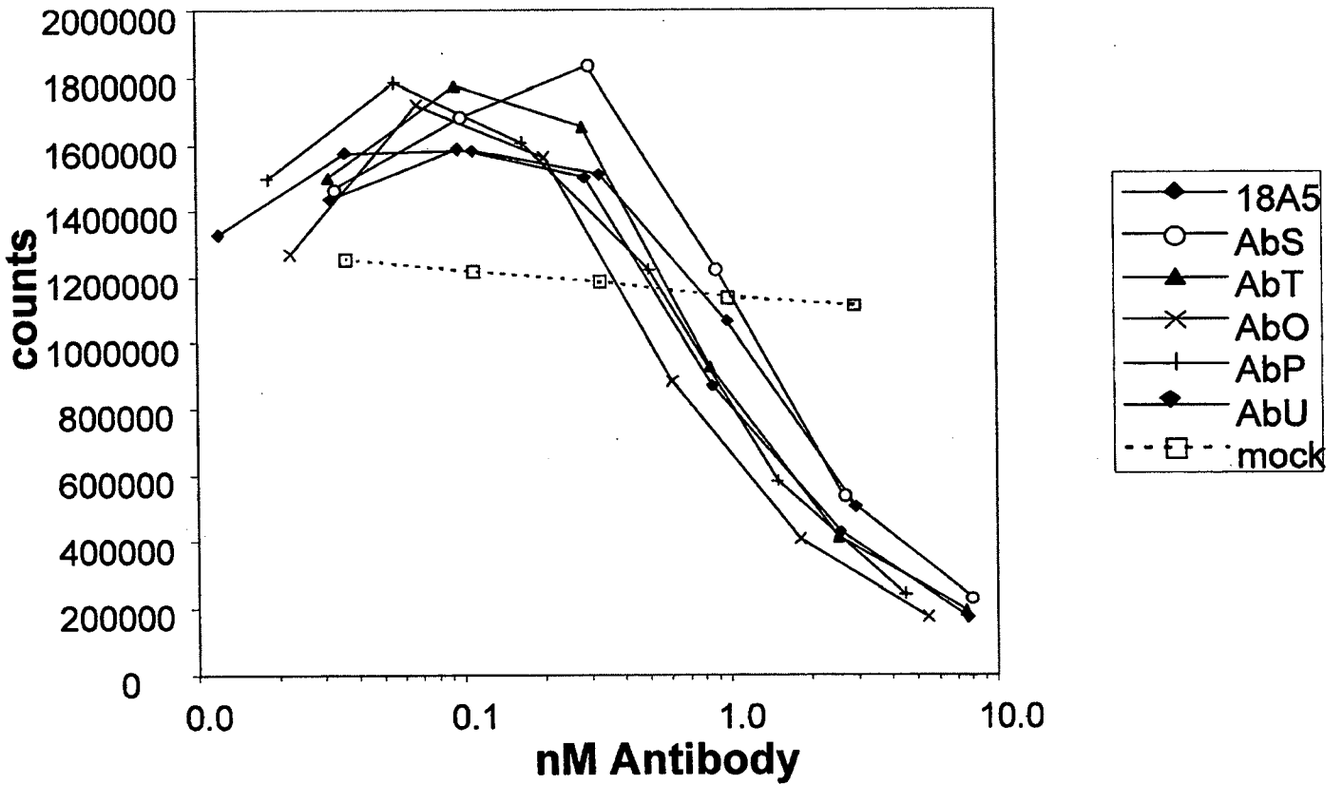

2000000
1800000
1600000
1400000
1200000
1000000
800000
600000
400000
200000
0
counts
0.0
0.1
1.0
10.0
nM Antibody
18A5
AbS
AbT
AbO
AbP
AbU
mock

Figure 26b

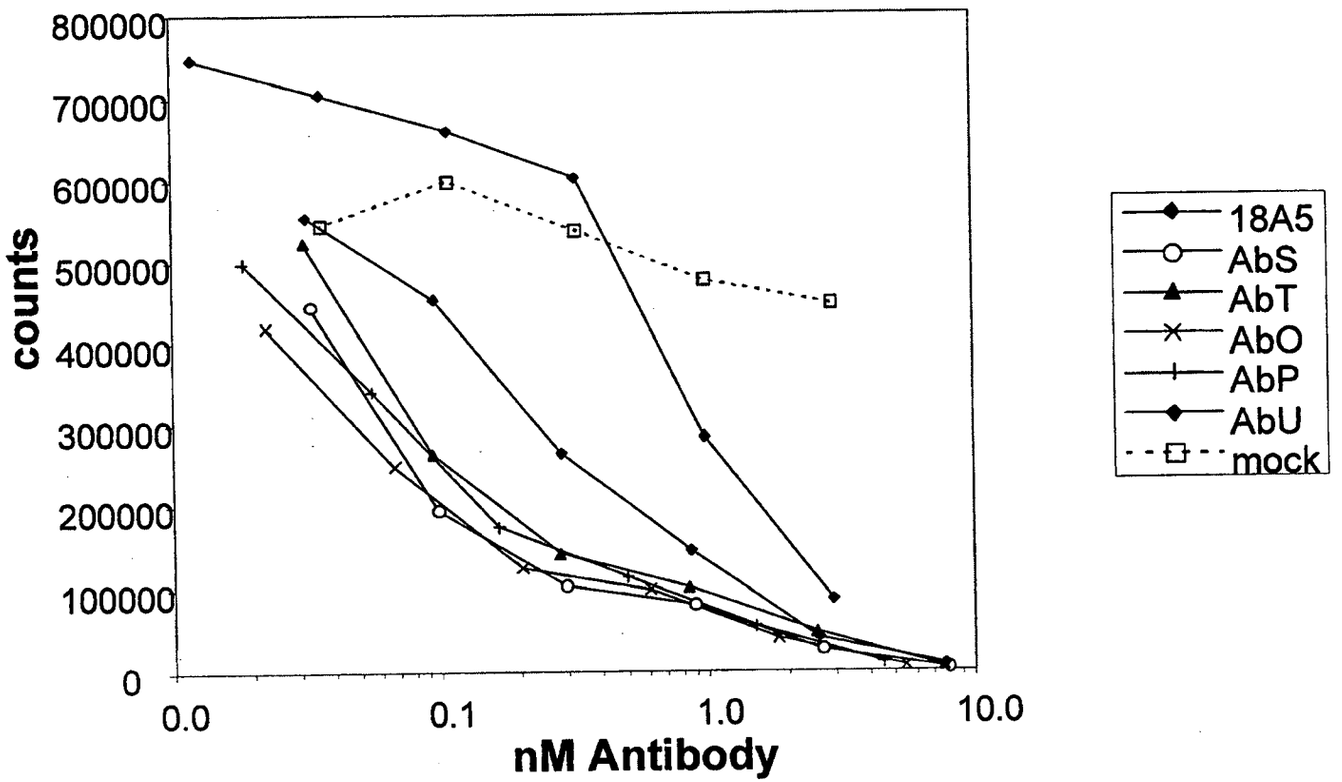

800000
700000
600000
500000
400000
300000
200000
100000
0
counts
0.0
0.1
1.0
10.0
nM Antibody
18A5
AbS
AbT
AbO
AbP
AbU
mock

Figure 26c

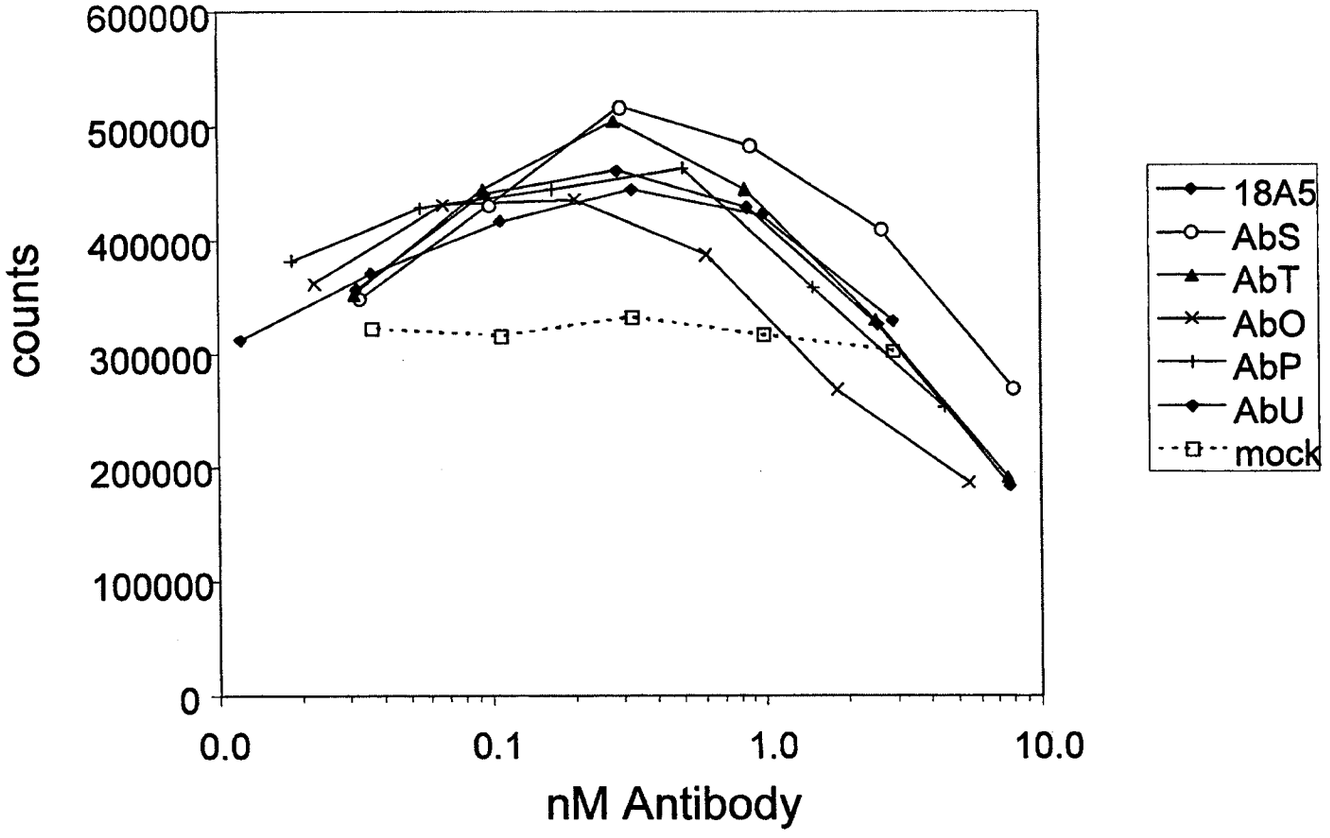

600000
500000
400000
300000
200000
100000
0
counts
0.0
0.1
1.0
10.0
nM Antibody
18A5
AbS
AbT
AbO
AbP
AbU
mock

Figure 26d

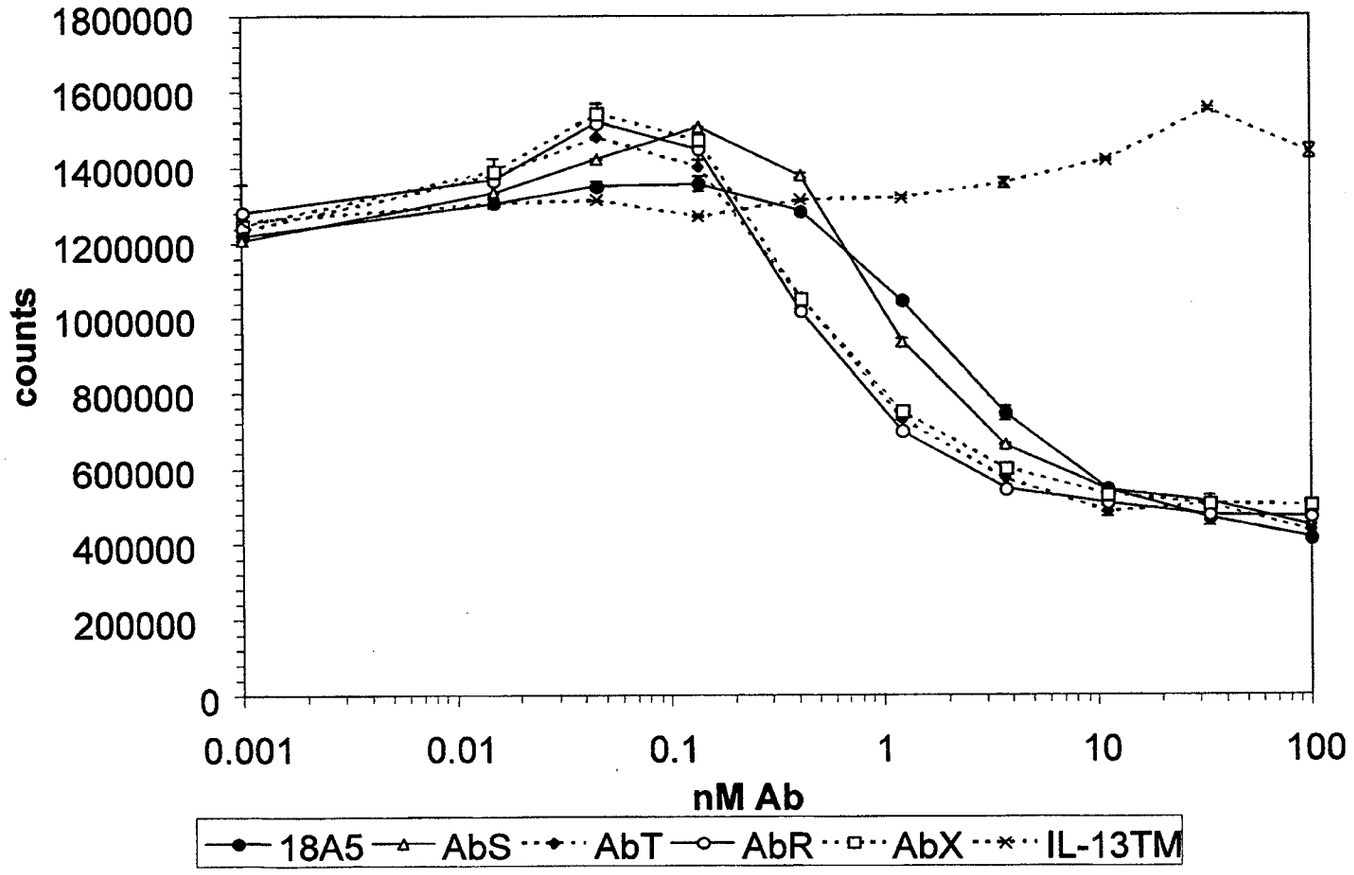

1800000
1600000
1400000
1200000
1000000
800000
600000
400000
200000
0
counts
0.001
0.01
0.1
1
10
100
nM Ab
18A5
AbS
AbT
AbR
AbX
IL-13TM

Figure 26e

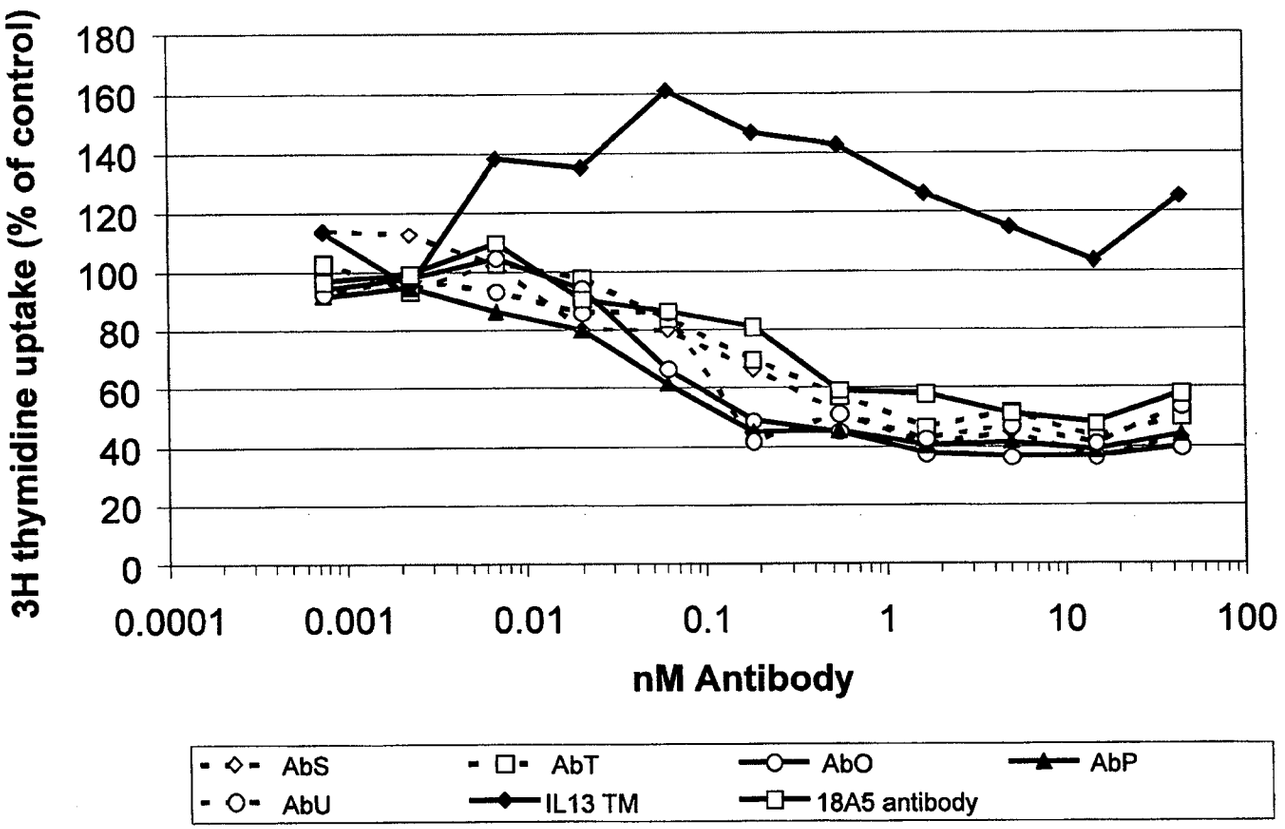

3H thymidine uptake (% of control)
180
160
140
120
100
80
60
40
20
0
0.0001
0.001
0.01
0.1
1
10
100
nM Antibody
AbS
AbT
AbO
AbP
AbU
IL13 TM
18A5 antibody

Figure 26f

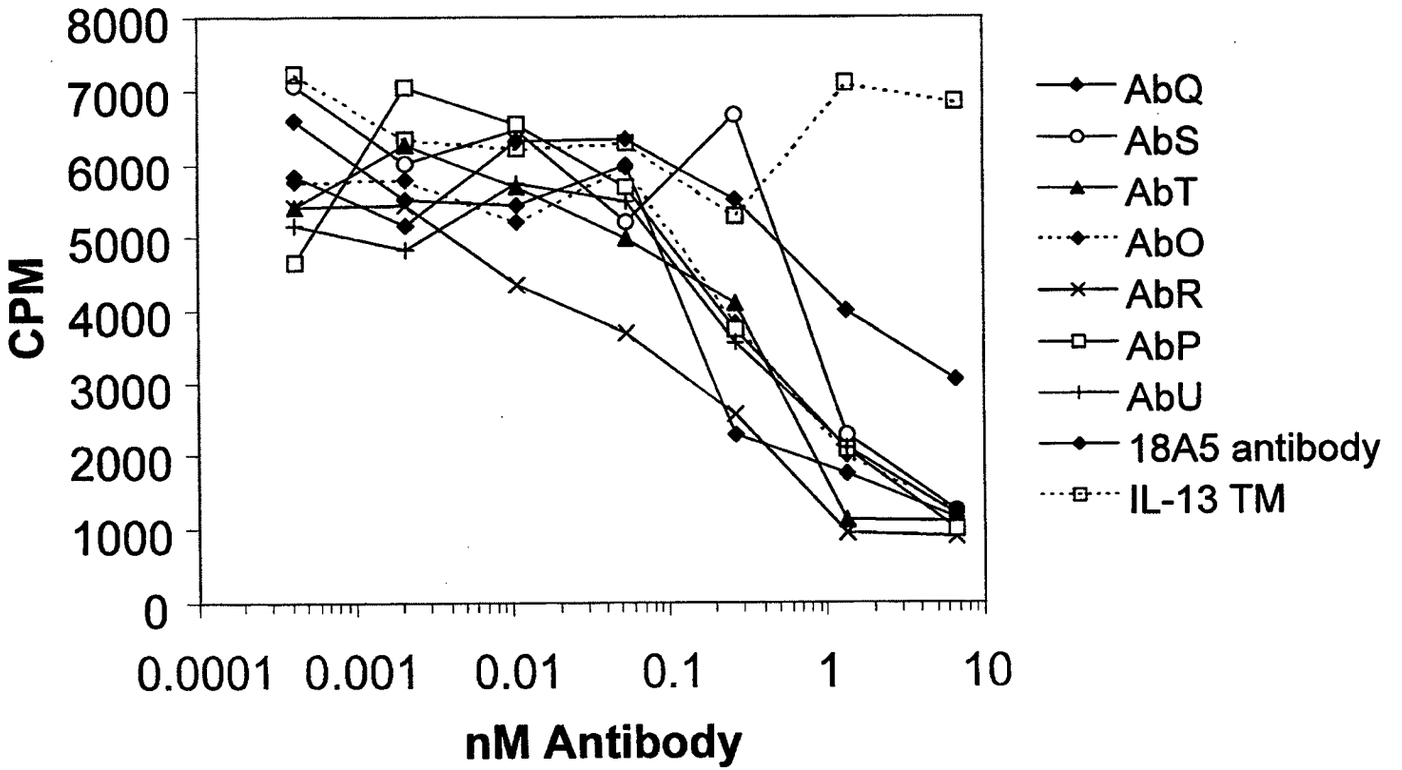

8000
7000
6000
5000
4000
3000
2000
1000
0
CPM
0.0001
0.001
0.01
0.1
1
10
nM Antibody
AbQ
AbS
AbT
AbO
AbR
AbP
AbU
18A5 antibody
IL-13 TM

Figure 26g

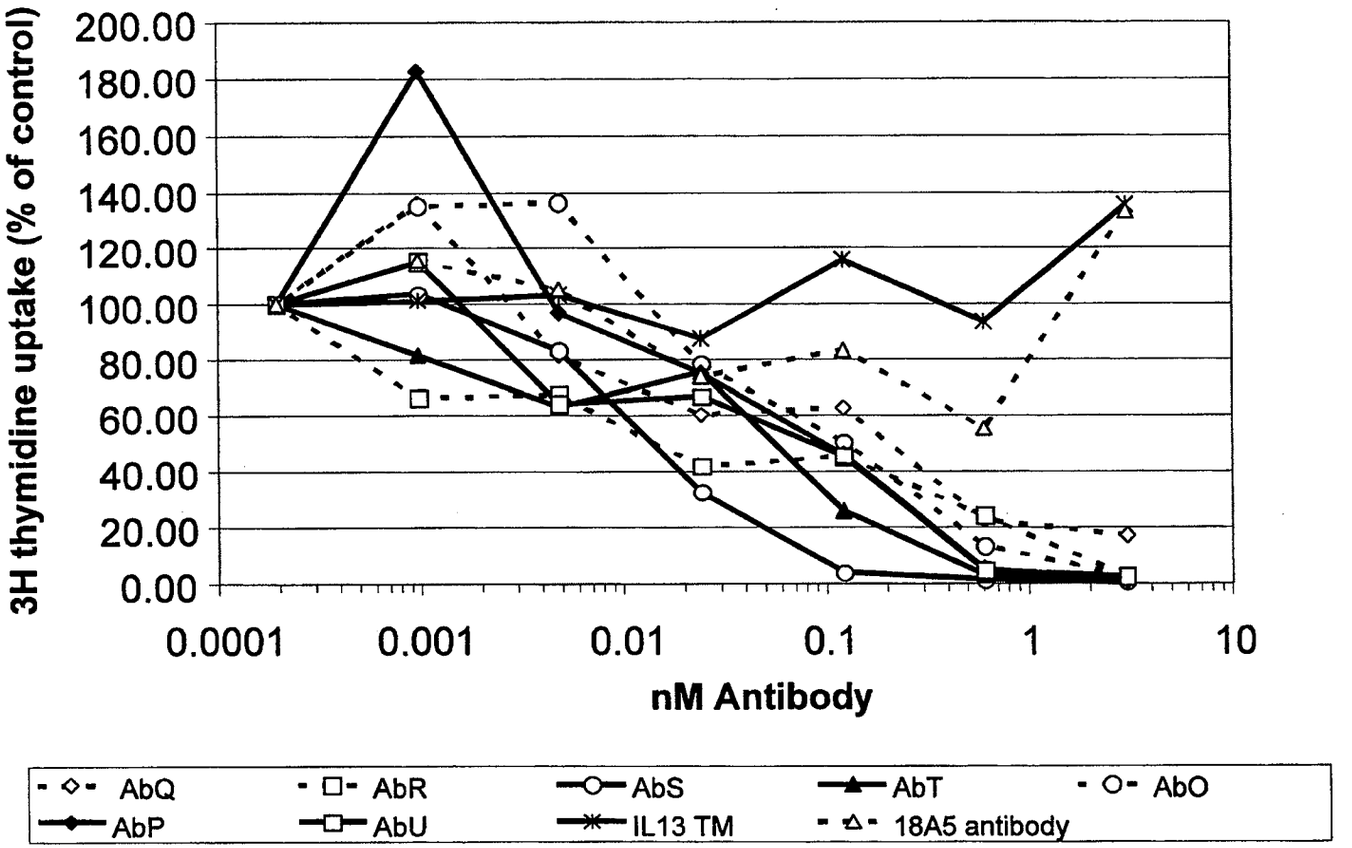

3H thymidine uptake (% of control)
200.00
180.00
160.00
140.00
120.00
100.00
80.00
60.00
40.00
20.00
0.00
0.0001
0.001
0.01
0.1
1
10
nM Antibody
AbQ
AbR
AbS
AbT
AbO
AbP
AbU
IL13 TM
18A5 antibody

Figure 27a

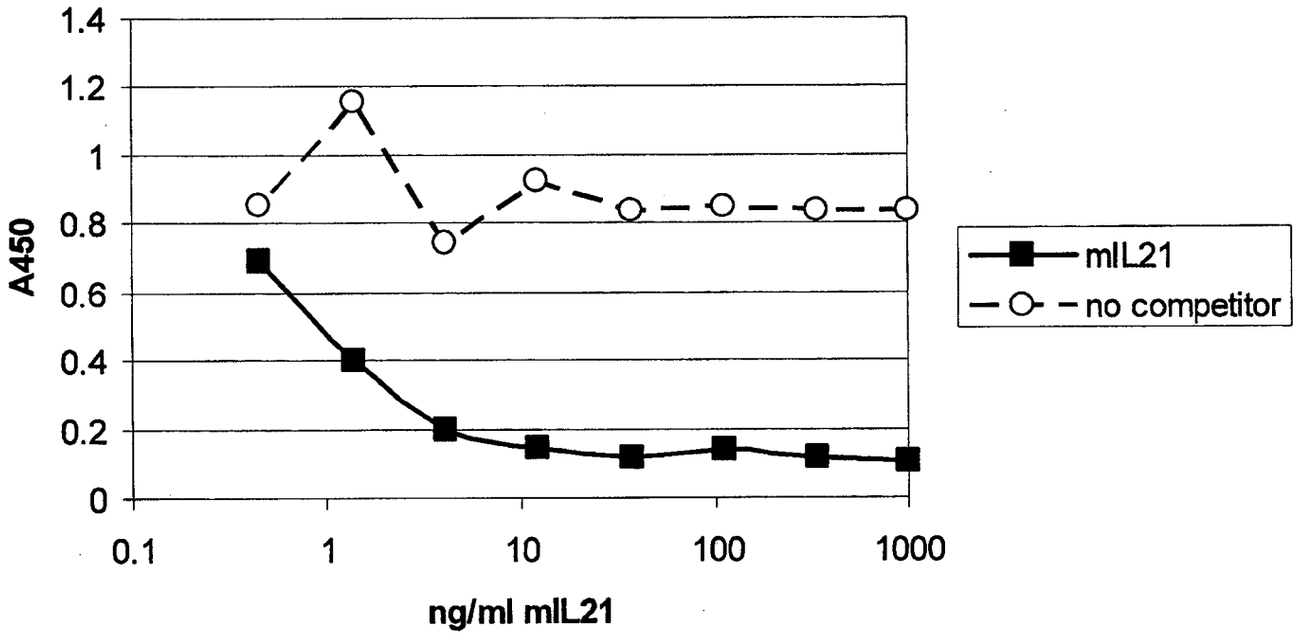

1.4
1.2
1
0.8
0.6
0.4
0.2
0
A450
0.1
1
10
100
1000
ng/ml mIL21
mIL21
no competitor

Figure 27b

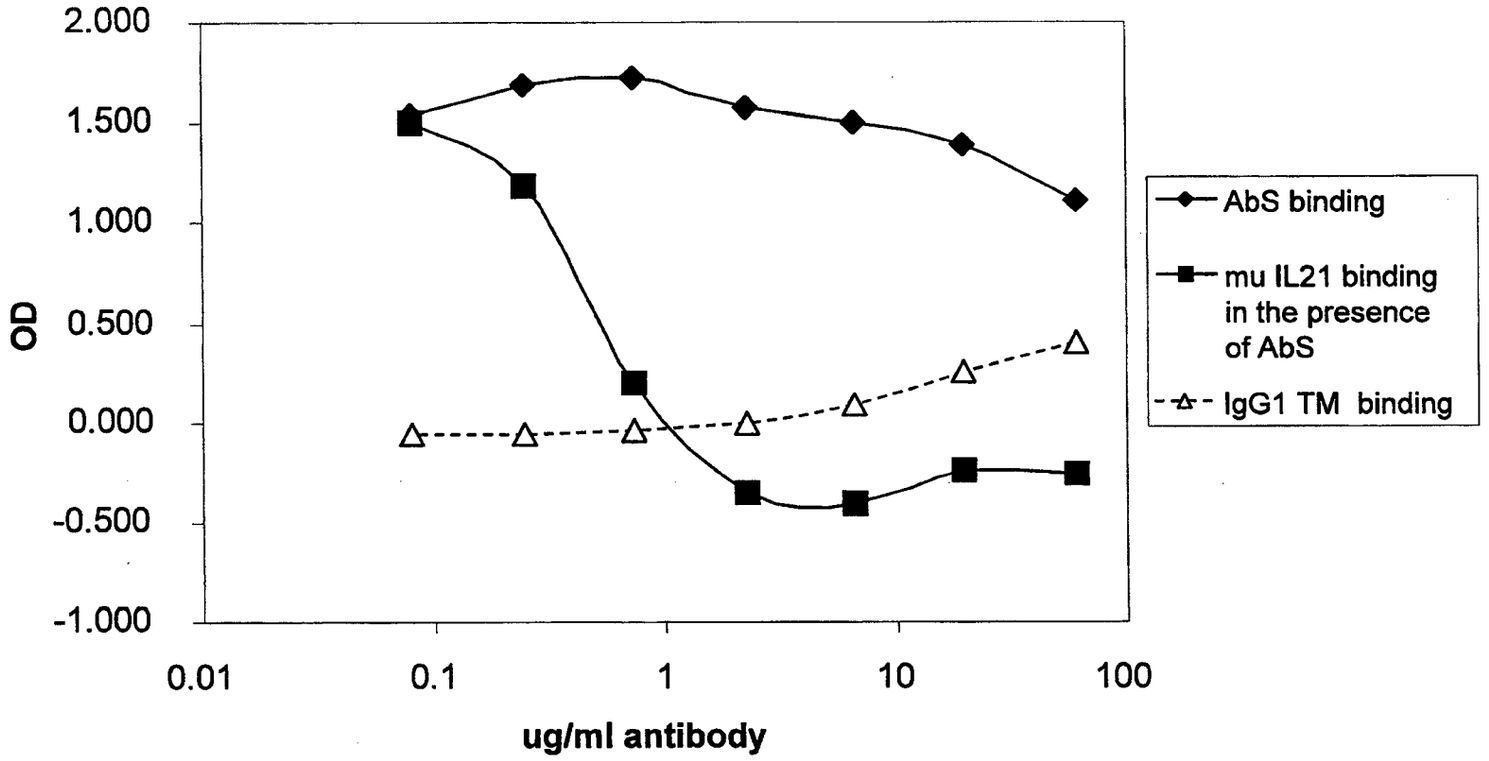
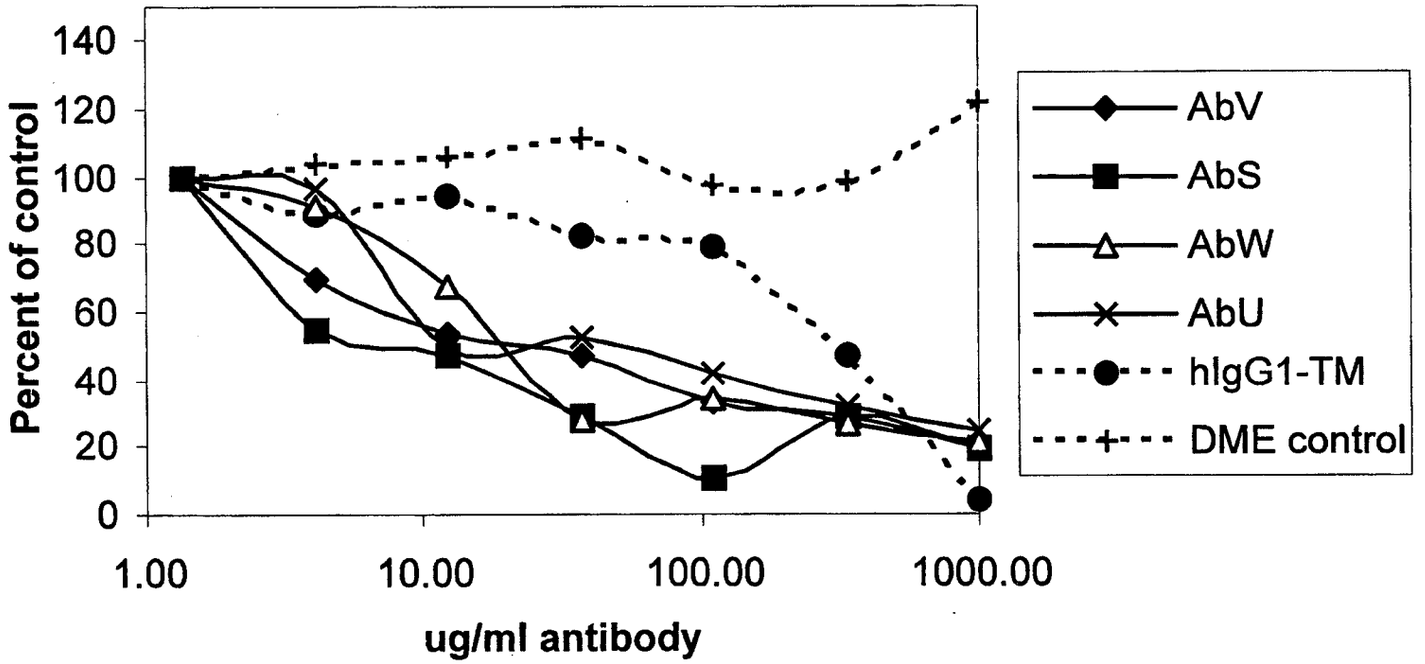

2.000
1.500
1.000
0.500
0.000
-0.500
-1.000
OD
0.01
0.1
1
10
100
ug/ml antibody
AbS binding
mu IL21 binding in the presence of AbS
IgG1 TM binding

Figure 28


140
120
100
80
60
40
20
0
Percent of control
1.00
10.00
100.00
1000.00
ug/ml antibody
AbV
AbS
AbW
AbU
hIgG1-TM
DME control

P..TENT COOPERATION TREATY

PCT

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

(PCT Article 18 and Rules 43 and 44)

Applicant's or agent's file reference	FOR FURTHER ACTION	see Form PCT/ISA/220 as well as, where applicable, item 5 below.
01997.069000		
International application No.	International filing date *(day/month/year)*	(Earliest) Priority Date *(day/month/year)*
PCT/US2009/045182	26/05/2009	23/05/2008
Applicant		
WYETH		

This international search report has been prepared by this International Searching Authority and is transmitted to the applicant according to Article 18. A copy is being transmitted to the International Bureau.

This international search report consists of a total of 4 sheets.

[X] It is also accompanied by a copy of each prior art document cited in this report.

1. **Basis of the report**

a. With regard to the **language,** the international search was carried out on the basis of:

[X] the international application in the language in which it was filed

[ ] a translation of the international application into _____, which is the language of a translation furnished for the purposes of international search (Rules 12.3(a) and 23.1(b))

b. [ ] This international search report has been established taking into account the **rectification of an obvious mistake** authorized by or notified to this Authority under Rule 91 (Rule 43.6*bis*(a)).

c. [X] With regard to any **nucleotide and/or amino acid sequence** disclosed in the international application, see Box No. I.

2. [ ] **Certain claims were found unsearchable** (See Box No. II)

3. [ ] **Unity of invention is lacking** (see Box No III)

4. With regard to the **title,**

[X] the text is approved as submitted by the applicant

[ ] the text has been established by this Authority to read as follows:

5. With regard to the **abstract,**

[X] the text is approved as submitted by the applicant

[ ] the text has been established, according to Rule 38.2(b), by this Authority as it appears in Box No. IV. The applicant may, within one month from the date of mailing of this international search report, submit comments to this Authority

6. With regard to the **drawings,**

a. the figure of the **drawings** to be published with the abstract is Figure No. 1

[X] as suggested by the applicant

[ ] as selected by this Authority, because the applicant failed to suggest a figure

[ ] as selected by this Authority, because this figure better characterizes the invention

b. [ ] none of the figures is to be published with the abstract

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US2009/045182

Box No. I Nucleotide and/or amino acid sequence(s) (Continuation of item 1.b of the first sheet)

1. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application and necessary to the claimed invention, the international search was carried out on the basis of:

   a. type of material

   [X] a sequence listing

   [ ] table(s) related to the sequence listing

   b. format of material

   [X] on paper

   [X] in electronic form

   c. time of filing/furnishing

   [X] contained in the international application as filed

   [X] filed together with the international application in electronic form

   [ ] furnished subsequently to this Authority for the purpose of search

2. [ ] In addition, in the case that more than one version or copy of a sequence listing and/or table relating thereto has been filed or furnished, the required statements that the information in the subsequent or additional copies is identical to that in the application as filed or does not go beyond the application as filed, as appropriate, were furnished.

3. Additional comments:

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2009/045182

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
INV. C07K14/715 C07K16/28

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
C07K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)
EPO-Internal, EMBL, WPI Data, EMBASE, MEDLINE, BIOSIS

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 2004/083249 A (WYETH CORP [US]; CAMBRIDGE ANTIBODY TECH [GB]; YOUNG DEBORAH A [US]; W) 30 September 2004 (2004-09-30) the whole document	1-49
X	US 2004/265960 A1 (VALGE-ARCHER VIIA [GB] ET AL) 30 December 2004 (2004-12-30) the whole document	1-49

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☒ See patent family annex.

* Special categories of cited documents :

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
"E" earlier document but published on or after the international filing date
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed
"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.
"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
2 October 2009	13/10/2009

Name and mailing address of the ISA/	Authorized officer
European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL – 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016	Sommerfeld, Teresa

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (April 2005)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No
PCT/US2009/045182

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2004083249 A	30-09-2004	AU 2004221876 A1	30-09-2004
		BR PI0408315 A	07-03-2006
		CA 2518371 A1	30-09-2004
		CL 5342004 A1	04-03-2005
		CN 1777621 A	24-05-2006
		EP 1603949 A2	14-12-2005
		JP 2007525159 T	06-09-2007
		KR 20050119120 A	20-12-2005
		MX PA05009556 A	16-11-2005
		NZ 542306 A	30-04-2008
		ZA 200507067 A	27-12-2006
US 2004265960 A1	30-12-2004	NONE	

P TENT COOPERATION TREA

From the
INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY

To:

see form PCT/ISA/220

PCT

WRITTEN OPINION OF THE INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY
(PCT Rule 43*bis*.1)

Date of mailing
(day/month/year) see form PCT/ISA/210 (second sheet)

Applicant's or agent's file reference
see form PCT/ISA/220

FOR FURTHER ACTION
See paragraph 2 below

International application No.	International filing date *(day/month/year)*	Priority date *(day/month/year)*
PCT/US2009/045182	26.05.2009	23.05.2008

International Patent Classification (IPC) or both national classification and IPC
INV. C07K14/715 C07K16/28

Applicant
WYETH

1. This opinion contains indications relating to the following items:

- ☒ Box No. I Basis of the opinion
- ☐ Box No. II Priority
- ☐ Box No. III Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability
- ☐ Box No. IV Lack of unity of invention
- ☒ Box No. V Reasoned statement under Rule 43*bis*.1(a)(i) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement
- ☐ Box No. VI Certain documents cited
- ☐ Box No. VII Certain defects in the international application
- ☐ Box No. VIII Certain observations on the international application

FILE NO. 01997 069000 PC
ATTORNEY VSM
DUE DATE 3/23/10
DOCKETED VMG 10/16/09

2. **FURTHER ACTION**

If a demand for international preliminary examination is made, this opinion will usually be considered to be a written opinion of the International Preliminary Examining Authority ("IPEA") except that this does not apply where the applicant chooses an Authority other than this one to be the IPEA and the chosen IPEA has notifed the International Bureau under Rule 66.1*bis*(b) that written opinions of this International Searching Authority will not be so considered.

If this opinion is, as provided above, considered to be a written opinion of the IPEA, the applicant is invited to submit to the IPEA a written reply together, where appropriate, with amendments, before the expiration of 3 months from the date of mailing of Form PCT/ISA/220 or before the expiration of 22 months from the priority date, whichever expires later.

For further options, see Form PCT/ISA/220.

3. For further details, see notes to Form PCT/ISA/220.

Name and mailing address of the ISA:	Date of completion of this opinion	Authorized Officer
European Patent Office D-80298 Munich Tel. +49 89 2399 - 0 Fax: +49 89 2399 - 4465	see form PCT/ISA/210	Sommerfeld, Teresa Telephone No. +49 89 2399-7197

Box No. I Basis of the opinion

1. With regard to the **language**, this opinion has been established on the basis of:

   ☒ the international application in the language in which it was filed

   ☐ a translation of the international application into , which is the language of a translation furnished for the purposes of international search (Rules 12.3(a) and 23.1 (b)).

2. ☐ This opinion has been established taking into account the **rectification of an obvious mistake** authorized by or notified to this Authority under Rule 91 (Rule 43bis.1(a))

3. With regard to any **nucleotide and/or amino acid sequence** disclosed in the international application and necessary to the claimed invention, this opinion has been established on the basis of:

   a. type of material:

   ☒ a sequence listing

   ☐ table(s) related to the sequence listing

   b. format of material:

   ☒ on paper

   ☒ in electronic form

   c. time of filing/furnishing:

   ☒ contained in the international application as filed.

   ☒ filed together with the international application in electronic form.

   ☐ furnished subsequently to this Authority for the purposes of search.

4. ☐ In addition, in the case that more than one version or copy of a sequence listing and/or table relating thereto has been filed or furnished, the required statements that the information in the subsequent or additional copies is identical to that in the application as filed or does not go beyond the application as filed, as appropriate, were furnished.

5. Additional comments:

Box No. V Reasoned statement under Rule 43*bis*.1(a)(i) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement

1. Statement

Novelty (N)	Yes:	Claims	
	No:	Claims	1,4,5,7,8,10,11,35,39,40,45,47,48
Inventive step (IS)	Yes:	Claims	
	No:	Claims	1-49
Industrial applicability (IA)	Yes:	Claims	1-49
	No:	Claims	

2. Citations and explanations

see separate sheet

The following documents have been cited in the search report:

D1: WO 2004/083249 A (WYETH CORP [US]; CAMBRIDGE ANTIBODY TECH [GB]; YOUNG DEBORAH A [US]; W) 30 September 2004 (2004-09-30)
D2: US 2004/265960 A1 (VALGE-ARCHER VIIA [GB] ET AL) 30 December 2004 (2004-12-30)

Introduction

The present application discloses antibodies against IL-21R.

Section V

Reasoned statement with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement

1. Both documents D1 and D2 disclose antibodies against IL-21R. Seq. ID. No. 65 and 66 of said documents display 96.6% and 97.2% identity, respectively, to Seq. ID. Nos. 14 and 22 of the application.
Documents D1 and D2 are thus considered novelty destroying for the subject-matter of at least claims 1, 4, 5, 7, 8, 10, 11, 35, 39, 40, 45, 47 and 48 (Art. 33(2) PCT).

2. Further claims, if at all novel over D1 and D2, add features to the subject-matter of the abovementioned claims, which are considered as mere routine technical variations. All claims are thus considered to lack an inventive step (Art. 33(3) PCT).

3. Note that the specific antibodies of the application can only be considered inventive if they present unexpected special properties in relation to those antibodies of the prior art, i.e. the antibodies of D1 and D2, from which the present antibodies are derived. In that case, claims directed to the specific antibodies, clearly defined by reference to both their heavy and light chains (at least the variable region), could be considered inventive.

From the INTERNATIONAL BUREAU

PCT

NOTIFICATION OF THE RECORDING OF A CHANGE

(PCT Rule 92*bis*.1 and Administrative Instructions, Section 422)

To:

MOLENDA, Victoria, S.
Fitzpatrick, Cella, Harper & Scinto
1290 Avenue of the Americas
New York, NY 10104-3800
ETATS-UNIS D'AMERIQUE

Date of mailing *(day/month/year)*
11 November 2010 (11.11.2010)

Applicant's or agent's file reference
01997.069000

IMPORTANT NOTIFICATION

International application No.
PCT/US2009/045182

International filing date *(day/month/year)*
26 May 2009 (26.05.2009)

1. The following indications appeared on record concerning:

☒ the applicant ☐ the inventor ☐ the agent ☐ the common representative

Name and Address
WYETH
Five Giralda Farms
Madison, NJ 07940
United States of America

State of Nationality: US
State of Residence: US
Telephone No.: 973-660-5000
Facsimile No.: 973-683-2112
E-mail address:

2. The International Bureau hereby notifies the applicant that the following change has been recorded concerning:

☐ the person ☒ the name ☐ the address ☐ the nationality ☐ the residence

Name and Address
WYETH LLC
Five Giralda Farms
Madison, NJ 07940
United States of America

State of Nationality: US
State of Residence: US
Telephone No.: 973-660-5000
Facsimile No.: 973-683-2112
E-mail address:
☐ Notifications by e-mail authorized

3. Further observations, if necessary:

4. A copy of this notification has been sent to:

☒ the receiving Office
☐ the International Searching Authority
☐ the Authority(ies) specified for supplementary search
☐ the International Preliminary Examining Authority
☒ the designated Offices concerned
☐ the elected Offices concerned
☐ other:

The International Bureau of WIPO
34, chemin des Colombettes
1211 Geneva 20, Switzerland

Facsimile No. +41 22 338 82 70

Authorized officer
Nissen Diana
e-mail pt11.pct@wipo.int
Telephone No. +41 22 338 74 11

Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
No. 10-160884- -00000-0000
Fecha: 2010-12-22 13:05:37 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve. 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 309

310

PATENTE DE INVENCIÓN ☐ MODELO DE UTILIDAD ☐ Art 33 Decisión 486/00

- ☐ Indicación que se solicita una patente.
- ☐ Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud
- ☐ Descripción de la invención
- ☐ Dibujos de ser estos pertinentes
- ☐ Comprobante de pago de las tasas establecidas (De ser el caso formato de descuento)

Completa ☐ Incompleta ☐

PATENTE DE INVENCIÓN PCT ☑ MODELO DE UTILIDAD PCT ☐ Art.33 Decisión 486/00, Circular Única

- ☑ Indicación que se solicita una PCT
- ☑ Copia de la solicitud en español, tal como fue presentada inicialmente (capítulo descriptivo, reivindicatorio, resumen)
- ☑ Dibujos de ser estos pertinentes
- ☑ Comprobante de pago de las tasas establecidas (de ser el caso formato de descuento)

Completa ☑ Incompleta ☐

DISEÑO INDUSTRIAL ☐ (Art. 119 Decisión 486/00)

- ☐ Indicación que se solicita Diseño industrial
- ☐ Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud
- ☐ Representación gráfica y fotográfica del Diseño industrial o muestra del material que incorpora el diseño
- ☐ Comprobante de pago de las tasas establecidas

Completa ☐ Incompleta ☐

ESQUEMA DE TRAZADO ☐ (Art. 92 Decisión 486/00)

- ☐ Indicación que se solicita un esquema de trazado
- ☐ Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud
- ☐ Representación gráfica de un esquema de trazado
- ☐ Comprobante de pago de las tasas establecidas

Completa ☐ incompleta ☐