



Industria y Comercio

S U P E R I N T E N D E N C I A

Delegatura de propiedad Industrial

División de Nuevas Creaciones

PCT
SOLICITUD

PATENTE DE INVENCION

21. EXPEDIENTE No.

06-52258

54. TÍTULO

ANTICUERPOS QUE SE UNEN AL RECEPTOR DE
INTERLEUQUINA 4

51. CLASIFICACIÓN INTERNACIONAL

C07K16/28, A61K39/395, A61P37/05

71. SOLICITANTE

IMMUNEX CORPORATION

DOMICILIO

THOUSAND OAKS, CALIFORNIA 91320-1799, U.S.A.

74. APODERADO

EMILIO FERRERO
C.C. 438.019 de Usaquén

22. BOGOTÁ, D. C.,

SS

**Industria y Comercio**

SUPERINTENDENCIA

PETITORIO

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

Rad: 06-052258- 00000-0000

Fec: 2006-05-31 16:57:21 Dep. 2020 NUECREACIONES¹

Tra. 11 PATENTE/VI

Eve: 375 PASENACIONAL

Act 411 PRESENTACION

Folios: 352

FORMULARIO UNICO DE SOLICITUD DE PATENTE**PCT****ENTRADA EN FASE NACIONAL**

07-06-2006

SOLICITUD DE:**1**☒ Patente de Invención.☐ Patente de Modelo de Utilidad.☒ Capítulo I.☐ Capítulo II.**2****SOLICITANTE
(71)**Nombre: IMMUNEX CORPORATION
sociedad constituida y existente bajo las
leyes del estado de California, Estados
Unidos de América.Dirección: One Amgen Center Drive
Thousand Oaks
California 91320-1799
Estados Unidos de AméricaDomicilio: Thousand Oaks
California 91320-1799
Estados Unidos de América**IDENTIFICACIÓN**

C.C.

☐

NIT

☐

C.E.

☐

Otro

☐

Cual

Número

3**REPRESENTANTE
APODERADO**Nombre: EMILIO FERRERO
Dirección: Carrera 4ª. No. 72-35
Teléfono: 347 36 11
Fax: 211 86 50
E-mail: clientes@camyp.com
Domicilio: Bogotá, Colombia.**IDENTIFICACIÓN**

C.C.

☒

NIT

☐

C.E.

☐

Otro

☐

Cual

Número 438.019 T.P 31.929

4**INVENTOR (ES)
(72)**1. Paul J. CARTER
4312-86th Avenue S.E.
Mercer Island,
Washington 98040
Estados Unidos de América2. Hongxing ZHOU
6324-151st Avenue S.E.
Bellevue,
Washington 98006
Estados Unidos de América**5****PCT (86)**Solicitud Internacional No. PCT/US2004/037242Publicación Internacional No. WO 2005/047331 A3Fecha: 4 de noviembre de 2004Fecha: 26 de mayo de 2005**6****Título (54)****ANTICUERPOS QUE SE UNEN AL RECEPTOR DE INTERLEUQUINA 4****7****Clasificación Internacional (51)** C07K 16/28 , A61P 35/00 , A61K 39/395.**8****Prioridad**SI ☒ NO ☐

(33) País de Origen

US

(32) Fecha

7 de noviembre de 2003

(31) Número de Solicitud

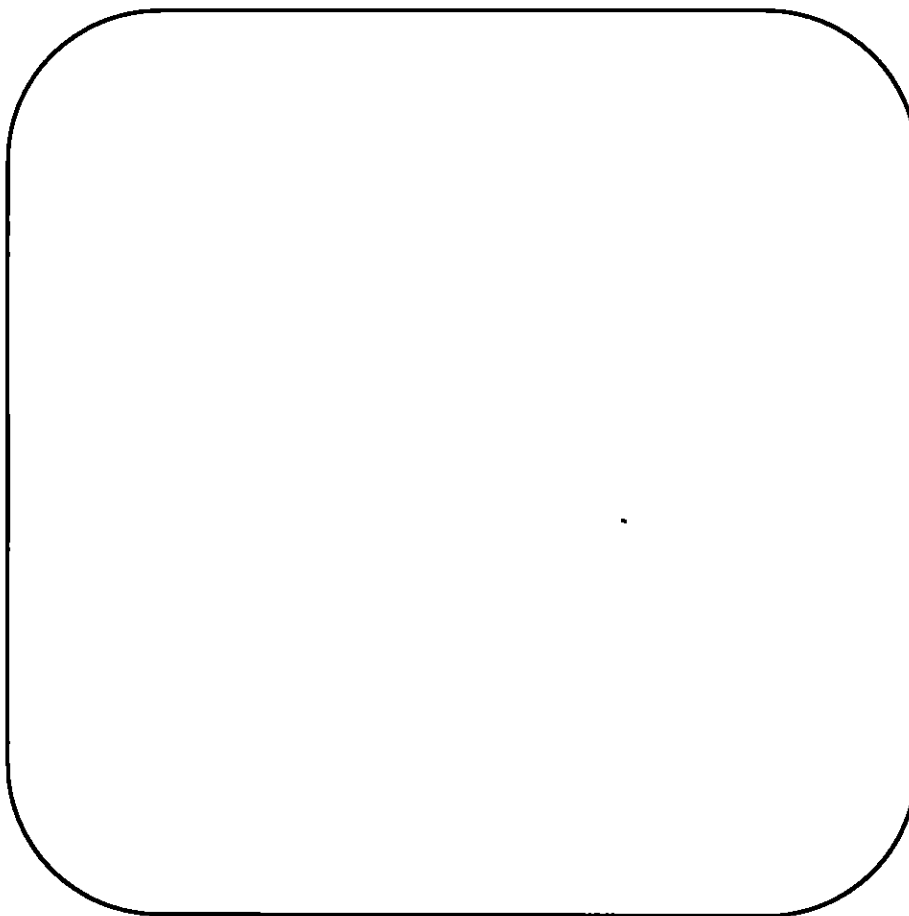
60/518,166**9****Comprobante de pago No.:** 06-38,520**Fecha:** 22 de mayo de 2006

10

Anexos:

- ☒ Comprobante de pago de la tasa de presentación de la solicitud por \$ 463.000.00.
- ☐ Comprobante de pago por reivindicación de prioridad.
- ☒ Documento que acredita la existencia y representación legal cuando el solicitante sea persona jurídica.
- ☒ Poderes, si fuere el caso.
- ☐ Documento de cesión del inventor al solicitante o a su causante.
- ☐ Declaraciones.
- ☒ Copia de la solicitud internacional. (Resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos)
- ☒ Traducción de la solicitud internacional al castellano. (Resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos)
- ☐ Copia del examen preliminar efectuado por la IPEA.
- ☐ Traducción del examen preliminar 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 12x12
- ☐ 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.
- ☒ Otros: VER HOJA DE DOCUMENTOS ANEXOS

11

FIGURA CARACTERÍSTICA

12

Solicito la concesión de la patente,

NOMBRE: EMILIO FERREROFIRMA : 

C.C. 438.019 de Usaquén T.P. 31.929

3.

DOCUMENTOS ANEXOS

1. ☒ Publicación Internacional WO 2005/047331 A3
2. ☒ **Forma PCT/ISA/237**. Opinión Escrita de la Autoridad Encargada de la Búsqueda Internacional.
3. ☒ Extracto de publicación.

ADOS
CIO SISKI
ERA 4° N° 72-35
JTA, 8 - COLOMBIA

REPRESENTACION Y PODER

Yo (nosotros), abajo firmado (s)/I (we), the undersigned

Immunex Corporation

domiciliado (s) en/of

One Amgen Center Drive, Thousand Oaks,
CA 91320-1799, UNITED STATES OF AMERICA

por el presente nombramos a EMILIO FERRERO, tpa. 31929; GONZALO PERDOMO, tpa. 831; LUZ CLEMENCIA DE PAEZ, tpa. 23555 y GERMAN CAVELIER, tpa. 832, domiciliados en la Carrera 4° N° 72-35, Bogotá, Colombia, en obediencia a lo dispuesto en el parágrafo 1° del Artículo 543 del Código de Comercio, el primero como principal y los demás como suplentes, en su orden, como mis (nuestros) representantes en todos los asuntos de propiedad industrial con facultad para recibir notificaciones y nombrar apoderados judiciales o extrajudiciales. El primer representante suplente reemplazará al principal en caso de ausencia o impedimento temporal o definitivo de aquél. La misma regla se aplicará cuando el segundo representante suplente haya de reemplazar al primero, o el tercero al segundo. En tales casos, el representante principal, o el primero, o segundo suplente, en su caso, o ambos, declararán su intención de no ejercer la representación mediante declaración autenticada por Notario Público en Colombia, o por Notario u otro Funcionario Público, o Cónsul de Colombia, en el extranjero; y si se tratare de impedimento, con el certificado respectivo. Si alguno de los nombrados faltare definitivamente, el siguiente tomará su lugar. Cuando cesare la ausencia o impedimento del representante principal, o de su primero o segundo suplentes, en su caso, podrán ejercer la representación, en su orden, uno u otros según el caso, asumiéndola por el solo hecho de ejercerla, cesando en ese momento el ejercicio de la representación por el primero, segundo o tercer suplente en su caso.

Además, confiero (conferimos) poder a los abogados arriba nombrados, para obtener la protección de mi (nuestra) propiedad industrial y contra la competencia desleal, a cuyo efecto autorizo (amos) a los dichos apoderados para que me (nos) representen ante cualesquiera entidades o personas, ejerzan o no jurisdicción, especialmente ante las del orden administrativo, contencioso-administrativo y judicial, así como los tribunales de arbitramento, en todo lo concerniente a los siguientes asuntos: a) Obtención de patentes de invención, modelos de utilidad, y diseños industriales; el registro de marcas de fábrica, colectivas, defensivas, de servicio, lemas comerciales, nombres comerciales, enseñas, variedades vegetales y denominaciones de origen; su renovación, traspaso, cambio de nombre o domicilio, cancelación voluntaria; y el registro de licencias de uso de esos derechos; b) Las acciones de competencia desleal, protección del consumidor, oposiciones u observaciones, cancelación administrativa y judicial, nulidad, medidas cautelares, concesión de licencias, la tutela, la protección de secretos industriales, y en general los juicios civiles, penales, administrativos o contencioso-administrativos relacionados con estos derechos, acciones y procesos que promovamos o se nos promuevan. Y para que en todos los asuntos arriba determinados, puedan sustituir este mandato, transigir, conciliar, admitir los hechos del proceso, desistir, cancelar, recibir, renunciar, y ratificar los actos de agentes oficiosos.

4
Representación y Poder con autenticación notarial
Apostille para patentes, modelos de utilidad, dise
industriales, marcas de fábrica, nombres comercial
enseñas, lemas comerciales, licencias.

Representation and Power-of- Attorney with notari
authentication and Apostille for patents, utility mod
industrial designs, trademarks, commercial nam
trade emblems, slogans, licenses.

REPRESENTATION AND POWER-OF-ATTORNEY

in due compliance with the terms of paragraph 1st. of article 543 of the Commercial Code, do hereby appoint EMILIO FERRERO, tpa. 31929; GONZALO PERDOMO, tpa. 831; LUZ CLEMENCIA DE PAEZ, tpa. 23555 and GERMAN CAVELIER, tpa. 832, domiciled at Carrera 4° N° 72-35, Bogotá, Colombia, the first as principal and the others as alternate in the order of their appointment, as our representatives for all industrial property matters with faculty to receive notifications and to appoint attorneys in and out of Court. The first alternate shall replace the principal in case of his absence or of temporal or definitive impediment. The same rule will apply when the second alternate representative is to replace the first one, or when the third is to replace the first or second alternates in their turn, or both of them, second. In such cases, the principal representative, or the first or second alternates in their turn, or both of them, shall state their intention not to act as representatives through declaration given before a Notary Public in Colombia, or before a Notary or another Public Official or a Colombian Consul abroad; and in case of impediment, the appropriate certificate shall suffice. If any of the appointees were to be definitely absent, the following alternate shall take his place. When the absence or impediment of the principal representative or of the first or second alternate in their turn ceases, the representation can be taken again in their sequence, by the principal, the first or second alternate depending on case, and the mere fact of its exercise will suffice. The exercise of the representation by the first, second or third alternates in their turn shall end at such time.

In addition, we grant a Power of Attorney in favor of the above-named attorneys-at-law so that they may obtain the protection of my (our) industrial property and against the unfair competition, for which purpose (we) authorize the said attorneys to represent me (us) before any authorities or persons, with or without jurisdiction, specially those administrative, administrative contentions and judicial, as well as before Arbitration Court in all matters concerning the following: a) Obtainment of patents, utility models and industrial designs; the registration of trademarks, collective defensive and service marks, slogans, commercial names, trade emblem vegetal varieties and denominations of origin; its renewal, assignment, change of name or domicile, voluntary cancellation; and the registration of licenses of use of the above rights; b) Actions of unfair competition, protection to the consumer, oppositions or observations, administrative or Court cancellation, nullity, infringement, granting of licenses, the action for writ mandamus, the protection of trade secrets, and in general the civil, penal, and administrative suits relating to those rights, actions and suits instituted by me (us) or against me (us). And that in all the above matters they may substitute this Power of Attorney, compromise, conciliate, admit the facts of the case, desist, cancel, receive, resign, and ratify acts done by representatives without a power of attorney.

Dado y firmado hoy/Given and signed this

21st day of April 2006

en/in

Jerry

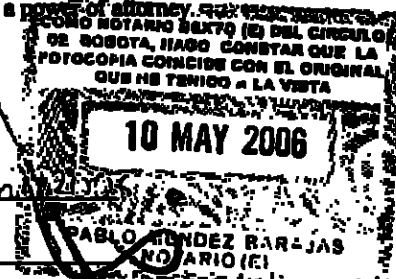
por/by

LOUISE KUDALAM-GARDINER (AUTORIZADO)

L. Gardiner

Firma

Signature





Members of the Notaries Society

To all to whom these presents shall come:

I, **GEOFFREY ST. CLAIR CORNWALL**, a Notary Public in and for the Island of Jersey, British Channel Islands, by virtue of a Faculty granted to me on the third day of April in the year of our Lord one thousand nine hundred and seventy-four by our most Reverend Father in God, Arthur Michael, Archbishop of Canterbury, registered by the Clerk of the Crown in Chancery on the sixth day of May in the said year and by the Ecclesiastical Court of the Island of Jersey by Act dated the twentieth day of May in the said year,

DO HEREBY CERTIFY AND ATTEST

That the documents placed before me provide evidence that the signature set and subscribed at the foot of the hereunto annexed document is genuine, the same having been duly subscribed by Louise Audhlam-Gardiner of Lysaght & Co, 39 La Motte Street, St Helier, Jersey pursuant to a General Power of Attorney dated 28 February 2001 given by Immunex Corporation, a company duly incorporated and existing in accordance with the laws of the United States of America whose registered office is situate at One Amgen Center Drive, Thousand Oaks, CA 91320-1799, UNITED STATES OF AMERICA, and is authorised to sign such document on its behalf.

IN FAITH AND TESTIMONY WHEREOF I have hereunto set my hand and affixed my Seal of Office at St. Helier in the said Island (where revenue stamps are not used) this **24** day of April in the year of our Lord two thousand and six.

In testimonio veritatis
Protocol Ref.:
2006/ **52013**

GEOFFREY ST. C. CORNWALL
NOTARY PUBLIC
12-14 DAVID PLACE
ST. HELIER, JERSEY JER 4TD
TEL: 01534 760180 FAX: 01534 760186

Cornwall & Harman

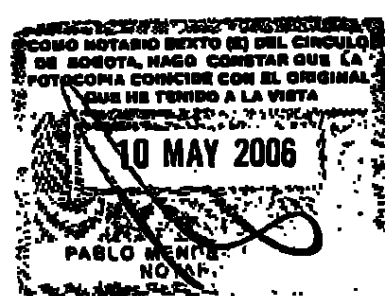
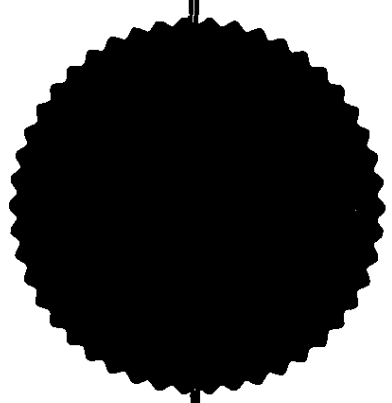
Notaries
Public

12-14 David Place
St. Helier
JERSEY
JE2 4TD
Channel Islands

Telephone:
(44) (01) 534 760180

Fax:
(44) (01) 534 760128

E-mail:
geoff.cornwall@notary.je



APOSTILLE

(Hague Convention of 5 October 1961/Convention de La Haye du 5 octobre 1961)

BAILIWICK OF JERSEY

1. Country: Jersey, Channel Islands
Pays: Jersey, Iles de la Manche.

This public document/ Le présent acte public

2. Has been signed by **GEOFFREY ST C CORNWALL**
A été signé par

NOTARY PUBLIC

3. Acting in the capacity of
Agissant en qualité de

THE SAID NOTARY PUBLIC

4. Bears the seal/stamp of
Est revêtu du sceau/timbre de

Certified/Attesté

5. At St. Helier/à St. Helier 6 the/le **23/4/06**

7. By Her Britannic Majesty's Lieutenant Governor of Jersey/
Par le Lieutenant Gouverneur de Sa Majesté Britannique à Jersey

8. Number/sous No. **JYG 15661**

E. HAYWOOD

9. Stamp:
Timbre:

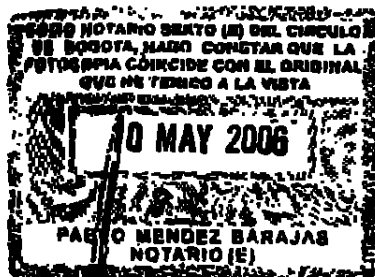


10 Signature:

E. Haywood

For the Lieutenant Governor of Jersey/
Pour le Lieutenant Gouverneur de Jersey

If this document is to be used in a country which is not party to the Hague Convention of 5 October 1961, it should be sent to the consular section of the mission representing that country.



TRADUCCIÓN OFICIAL No. 05.10/06 realizada por Diego Vargas, Traductor Oficial, Resolución No. 0001 de 1999 del Ministerio de Justicia y registrado ante el Ministerio de Relaciones Exteriores de Colombia.

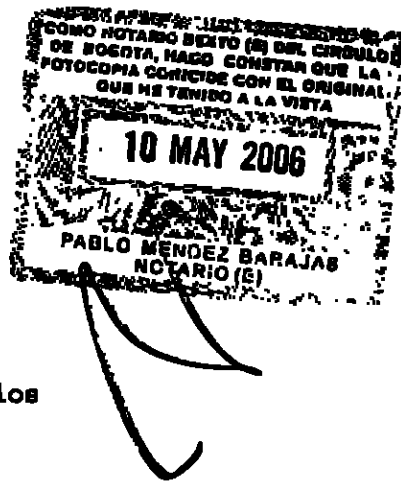
A continuación se traducen los sellos y legalizaciones de un documento mediante el cual **Immunex Corporation**, domiciliada en One Amgen Center Drive, Thousand Oaks, CA 91320-1799, Estados Unidos de América, otorga derechos de representación y poder a los Doctores EMILIO FERRERO, tpa. 31929; GONZALO PERDOMO, tpa. 831; LUZ CLEMENCIA DE PÁEZ, tpa. 23555 y GERMÁN CAVELIER, tpa. 832, domiciliados en la Carrera 4 N° 72 35.

Dado y firmado el 21 de abril de 2006 en Jersey por Louise Audhlam-Gardiner (Signatario Autorizado)

Firma Ilegible
Firma

(Anexo)

Escudo de Armas
Miembro de la Sociedad de Notarios



A TODOS AQUELLOS A QUIENES ESTOS PRESENTES LLEGAREN:

Yo, GOEFFREY ST. CLAIR CORNWALL, Notario Público en y para la Isla de Jersey, Islas Anglonormandas Británicas, en virtud de una Facultad a mí otorgada el tres de Abril del año del Señor mil novecientos setenta y cuatro por nuestro Reverendísimo Padre en Dios, Arthur Michael, Arzobispo de Canterbury, registrado por el Secretario de la Corona en la Cancillería el seis de Mayo de dicho año y por el Tribunal Eclesiástico de la Isla de Jersey por medio de Acta con fecha del veinte de Mayo de dicho año.

P R EL PRESENTE CERTIFICO Y DECLARO

Que los documentos presentados ante mí son evidencia de que la firma fijada y suscrita al pie del documento adjunto al presente es

auténtica, la cual fue debidamente suscrita por Louise Audhlam-Gardiner de Lysaght & Co, 39 La Motte Street, St Helier, Jersey de conformidad con un Poder General con fecha del 28 de Febrero de 2001 otorgado por Immunex Corporation, una sociedad debidamente constituida y existente de conformidad con las leyes de los Estados Unidos de América, cuyo domicilio social está ubicado en One Amgen Center Drive, Thousand Oaks, CA 91320-1799, ESTADOS UNIDOS DE AMÉRICA y está autorizada para firmar dicho documento a nombre suyo.

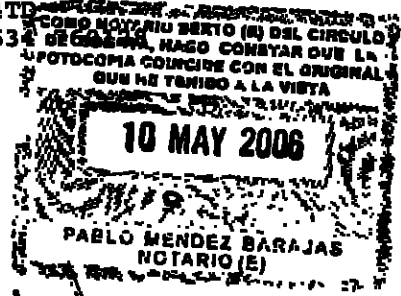
EN FE Y TESTIMONIO DE LO CUAL al presente firmo y fijo mi sello de oficio en St. Helier en la Isla (en donde no hay impuestos de timbre) hoy 24 de Abril del año de nuestro Señor dos mil seis.

In testimonio veritatis

Protocol Ref.: *Firma Ilegible*

2006/52013
GEOFFREY ST.C.CORNWALL
NOTARIO PÚBLICO
12-14 DAVID PLACE
ST. HELIER, JERSEY JE2 4TD
TEL:01534 760180 FAX:01534 760181

Sello de oblea ilegible



(Respaldo)

APOSTILLA

(Convención de La Haya de Octubre 5 de 1961/ Convention de la Haye du 5 octobre 1961)

DISTRITO DE JERSEY

- 1. País: Jersey, Islas Anglonormandas
Pays: Jersey, Iles de la Manche

Este documento público/ Le présent acte public

- 2. Ha sido firmado por GEOFFREY STC CORNWALL
a été signé par.....
- 3. Actuando en calidad de NOTARIO PÚBLICO
agissant en qualité de.....
- 4. lleva el sello/estampilla de EL MENCIONADO NOTARIO PÚBLICO

est revêtu du sceau/timbre de.....

Certificado/Attesté

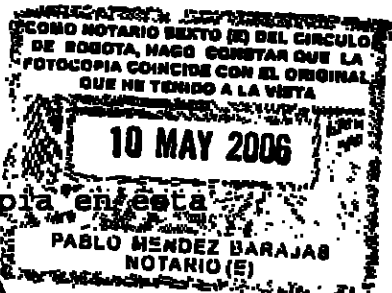
5. en St. Helier/ à St. Helier
6. El/le 25/4/06
7. Por el Vicegobernador de Su Majestad Británica de Jersey /
Par le Lieutenant Gouverneur de Sa Majesté Britannique à Jersey
8. Número/ sous No. JYG 15661
9. Estampilla:
timbre:
10. Firma: E. HAYOOD
Firma ^{AA} ilegible

Por el Vicegobernador de Jersey/
Pour le Lieutenant Gouverneur de Jersey

Si este documento va a ser usado en un país que no es miembro de la Convención de La Haya del 5 de Octubre de 1961, deberá ser enviado a la sección consular de la misión que represente a dicho país.

Es traducción fiel y completa de la cual se deja copia en esta oficina para su confrontación.

DVZ/ID-7758/WPCL002G/COLO 07071-841-001-5



Diego A. Vargas
DIEGO A. VARGAS Z.
TRADUCTOR E INTERPRETE OFICIAL
ESPAÑOL - INGLES - INGLES - ESPAÑOL
RES. 0001 DE ENERO 4 DE 1999
MINISTERIO DE JUSTICIA

NO SE ASUME
RESPONSABILIDAD DEL TEXTO

2006 MAY -9 P 1:41

ues

DEFECLELACIONES
SANTAFE DE BOGOTA

MINISTERIO DE RELACIONES
EXTERIORES

92779

Dupe Vargo

CUA FERIA ARABES EN EL
MUSEO DE BOGOTA

COMO NOTARIO SEXTO DEL CIRCULO DE SANTAFE DE BOGOTA, HAGO CONSTAR QUE LA(S) FIRMA(S) Diego Felipe Vargo Vargu

COINCIDE(N) CON LA FIRMA REGISTRADA POR EL (ELLOS) EN ESTA NOTARIA

SANTAFE DE BOGOTA, 09 MAY 2006



COMO NOTARIO SEXTO DEL CIRCULO DE BOGOTA, HAGO CONSTAR QUE LA FOTOCOPIA COINCIDE CON EL ORIGINAL QUE ME TENGO A LA VISTA

10 MAY 2006

PAULO MENDEZ BARRALAS
NOTARIO (E)

[Handwritten signature]

(19) World Intellectual Property
Organization
International Bureau



(43) International Publication Date
26 May 2005 (26.05.2005)

PCT

(10) International Publication Number
WO 2005/047331 A3

(51) International Patent Classification⁷: C07K 16/28,
A61P 35/00

(21) International Application Number:
PCT/US2004/037242

(22) International Filing Date:
4 November 2004 (04.11.2004)

(25) Filing Language: English

(26) Publication Language: English

(30) Priority Data:
60/518,166 7 November 2003 (07.11.2003) US

(71) Applicant (for all designated States except US): IM-
MUNEX CORPORATION [US/US]; One Amgen Center
Drive, Thousand Oaks, CA 91320-1799 (US).

(72) Inventors; and

(75) Inventors/Applicants (for US only): CARTER, Paul J.
[US/US]; 4312 - 86th Avenue S.E., Mercer Island, WA
98040 (US). ZHOU, Hongxing [CN/US]; 6324 - 151st Av-
enue S.E., Bellevue, WA 98006 (US).

(74) Agent: MACHIN, Nathan A.; 1201 Amgen Court West,
Seattle, WA 98119-3105 (US).

(81) Designated States (unless otherwise indicated, for every
kind of national protection available): AE, AG, AL, AM,

AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN,
CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI,
GB, GD, GE, GH, GM, GR, GU, HK, HN, ID, IL, IN, JP, KE,
KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD,
MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NI, NO, NZ, OM, PG,
PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SY, TJ, TM,
TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, 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, HU, IE, IS, IT, LU, MC, NL, PL, PT, RO, SE,
SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ,
GW, ML, MR, NE, SN, TD, TO).

Published:
— with international search report
— before the expiration of the time limit for amending the
claims and to be republished in the event of receipt of
amendments

(88) Date of publication of the international search report:
3 November 2005

For two-letter codes and other abbreviations, refer to the "Guid-
ance Notes on Codes and Abbreviations" appearing at the begin-
ning of each regular issue of the PCT Gazette.

(54) Title: ANTIBODIES THAT BIND INTERLEUKIN-4 RECEPTOR

(57) Abstract: The present invention relates to antibodies that bind to the IL-4 receptor, fragments, muteins, and derivatives of such antibodies, nucleic acids encoding such antibodies, fragments, muteins and derivatives, and methods of making and using such anti-
bodies, fragments, muteins, derivatives and nucleic acids. Methods for treating medical conditions induced by interleukin-4 involve
administering an IL-4 receptor binding antibody, or an IL-4 receptor binding fragment, mutein, or derivative of an IL-4 receptor
binding antibody, to a patient afflicted with such a condition. Particular antibodies provided herein include human monoclonal anti-
bodies. Certain of the antibodies inhibit both IL-4-induced and IL-13-induced biological activities.

WO 2005/047331 A3

TITLE**Antibodies That Bind Interleukin-4 Receptor****CROSS-REFERENCE TO RELATED APPLICATION**

- 5 This application claims the benefit of U.S. provisional application no. 60/518,186, filed November 7, 2003.

BACKGROUND OF THE INVENTION

- 10 Interleukin-4 (IL-4), previously known as B cell stimulating factor, or BSF-1, was originally characterized by its ability to stimulate the proliferation of B cells in response to low concentrations of antibodies directed to surface immunoglobulin. IL-4 has been shown to possess a far broader spectrum of biological activities, including growth co-stimulation of T cells, mast cells, granulocytes, megakaryocytes, and erythrocytes. In addition, IL-4 stimulates the proliferation of several IL-2- and IL-3-dependent cell lines, induces the expression of class II major
- 15 histocompatibility complex molecules on resting B cells, and enhances the secretion of IgE and IgG1 isotypes by stimulated B cells. IL-4 is associated with a TH2-type immune response, being one of the cytokines secreted by TH2 cells.

- 20 Murine and human IL-4 have been identified and characterized, including cloning of IL-4 cDNAs and determination of the nucleotide and encoded amino acid sequences. See Yokota *et al.*, 1986, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 83:5894; Noma *et al.*, 1986, Nature 319:840; Grabstein *et al.*, 1986, J. Exp. Med. 163:1405; and U.S. Patent 5,017,691.

- 25 IL-4 binds to particular cell surface receptors, which results in transduction of a biological signal to cells such as various immune effector cells. IL-4 receptors are described, and DNA and amino acid sequence information presented, in Moseley *et al.*, 1989, Cell 59:335-48, (murine IL-4R); Idzerda *et al.*, 1990, J. Exp. Med. 171:861-73, (human IL-4R); and U.S. Patent 5,599,905. The IL-4 receptor described in these publications is sometimes referred to as IL-4R alpha.

- 30 Other proteins have been reported to be associated with IL-4R alpha on some cell types, and to be components of multi-subunit IL-4 receptor complexes. One such subunit is IL-2R gamma, also known as IL-2R gamma c. See the discussion of IL-4R complexes in Sato *et al.*, 1994, Current Opinion in Cell Biology, 6:174-79. IL-4R alpha also has been reported to be a component of certain multi-subunit IL-13 receptor complexes. See Zurawski *et al.*, 1995, J. Biol. Chem. 270:13869; de Vries, 1998, J. Allergy Clin. Immunol. 102:165; and Callard *et al.*, 1998, Immunology Today, 17:108.

- 35 IL-4 has been implicated in a number of disorders, examples of which are allergy and asthma.

SUMMARY OF THE INVENTION

- 40 The present invention provides methods and compositions relating to novel IL-4R antagonists, in particular antibodies and antibody derivatives, that bind IL-4R alpha.
- In one aspect, the present invention provides an antibody, wherein the light chain variable domain comprises a sequence of amino acids that differs from SEQ ID NO:4 only by: at least one amino acid substitution selected from the group consisting of S26T, S30N, S30G, S31N, S32D,

S32N, A52T, S54Y, T57P, T57S, G93D, S94H, S94R, P96A, P97G, and T99M, and, optionally, one or more amino acid substitutions selected from the group consisting of E1D, L4M, S7T, G9A, K40R, F50Y, S68F, S77T, V86I, K105R, V108L, and E107D, and/or the heavy chain variable domain comprises a sequence of amino acids that differs from SEQ ID NO:16 only by: at least

5 one amino acid substitution selected from the group consisting of N58S, Y101W, F102Y, D103T, D103N, D103P, Y104H, Y104N, Y104W, and Y104R, and, optionally, one or more amino acid substitutions selected from the group consisting of Q6E, H13Q, G24A, R86S, and M90T, wherein said antibody binds to IL-4 receptor alpha. In one embodiment, the light chain CDR1 comprises a sequence selected from the group consisting of residues 24-35 of SEQ ID NO:6, residues 24-35

10 of SEQ ID NO:8, residues 24-35 of SEQ ID NO:10, residues 24-35 of SEQ ID NO:12; and residues 24-35 of SEQ ID NO:14, the light chain CDR2 comprises a sequence selected from the group consisting of residues 51-57 of SEQ ID NO:4, residues 51-57 of SEQ ID NO:6, residues 51-57 of SEQ ID NO:10, and residues 51-57 of SEQ ID NO:12, the light chain CDR3 comprises a sequence selected from the group consisting of residues 90-99 of SEQ ID NO:4, residues 90-99

15 of SEQ ID NO:6, residues 90-99 of SEQ ID NO:8, and residues 90-99 of SEQ ID NO:14, the heavy chain CDR1 comprises the sequence residues 31-35 of SEQ ID NO:16, the heavy chain CDR2 comprises a sequence selected from the group consisting of residues 50-65 of SEQ ID NO:16, and residues 50-65 of SEQ ID NO:18, and/or the heavy chain CDR3 comprises a sequence selected from the group consisting of residues 98-104 of SEQ ID NO:16, residues 98-

20 104 of SEQ ID NO:18, residues 98-104 of SEQ ID NO:20, residues 98-104 of SEQ ID NO:22, residues 98-104 of SEQ ID NO:24, residues 98-104 of SEQ ID NO:26, residues 98-104 of SEQ ID NO:30, and residues 98-104 of SEQ ID NO:34. In another embodiment, the light chain FR1 comprises a sequence selected from the group consisting of residues 1-23 of SEQ ID NO:4, residues 1-23 of SEQ ID NO:10, residues 1-23 of SEQ ID NO:12, and residues 1-23 of SEQ ID

25 NO:14, the light chain FR2 comprises a sequence selected from the group consisting of residues 36-50 of SEQ ID NO:4, and residues 36-50 of SEQ ID NO:14, the light chain FR3 comprises a sequence selected from the group consisting of residues 58-89 of SEQ ID NO:4, residues 58-89 of SEQ ID NO:10, and residues 58-89 of SEQ ID NO:12, the light chain FR4 comprises a sequence selected from the group consisting of residues 100-109 of SEQ ID NO:4, residues 100-

30 109 of SEQ ID NO:8, and residues 100-109 of SEQ ID NO:12, the heavy chain FR1 comprises a sequence selected from the group consisting of residues 1-30 of SEQ ID NO:16, and residues 1-30 of SEQ ID NO:42, the heavy chain FR2 comprises the sequence of residues 1-30 of SEQ ID NO:16, the heavy chain FR3 comprises a sequence selected from the group consisting of residues 66-97 of SEQ ID NO:16, residues 66-97 of SEQ ID NO:18, and residues 66-97 of SEQ

35 ID NO:42, and/or the heavy chain FR4 comprises the sequence of residues 105-115 of SEQ ID NO:16.

In another aspect, the present invention provides an antibody comprising: a light chain variable domain comprising a sequence that is at least 80% identical to a sequence selected from the group consisting of SEQ ID NO:4, 6, 8, 10, 12, and 14, with the proviso that said light chain

40 variable domain does not comprise the sequence of SEQ ID NO:4, and/or a heavy chain variable domain comprising a sequence that is at least 80% identical to a sequence selected from the group consisting of SEQ ID NO:16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46, 48,

50, 52, 54, 56, 58, 60, and 62, with the proviso that said heavy chain variable domain does not comprise the sequence of SEQ ID NO:16, wherein said antibody binds to IL-4 receptor alpha. In one embodiment, said light chain variable domain comprises a sequence that is at least 85% identical to a sequence selected from the group consisting of SEQ ID NO:4, 6, 8, 10, 12, and 14, and/or said heavy chain variable domain comprises a sequence that is at least 85% identical to a sequence selected from the group consisting of SEQ ID NO:16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46, 48, 50, 52, 54, 56, 58, 60, and 62. In another embodiment, said light chain variable domain comprises a sequence that is at least 90% identical to a sequence selected from the group consisting of SEQ ID NO:4, 6, 8, 10, 12, and 14, and/or said heavy chain variable domain comprises a sequence that is at least 90% identical to a sequence selected from the group consisting of SEQ ID NO:16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46, 48, 50, 52, 54, 56, 58, 60, and 62. In another embodiment, said light chain variable domain comprises a sequence that is at least 95% identical to a sequence selected from the group consisting of SEQ ID NO:4, 6, 8, 10, 12, and 14, and/or said heavy chain variable domain comprises a sequence that is at least 95% identical to a sequence selected from the group consisting of SEQ ID NO:16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46, 48, 50, 52, 54, 56, 58, 60, and 62. In another embodiment, said light chain variable domain comprises a sequence that is selected from the group consisting of SEQ ID NO:4, 6, 8, 10, 12, and 14, and/or said heavy chain variable domain comprises a sequence that is selected from the group consisting of SEQ ID NO:16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46, 48, 50, 52, 54, 56, 58, 60, and 62.

In another aspect, the present invention provides an antibody wherein the light chain variable domain comprises a sequence of at least 15 contiguous amino acids of a sequence selected from the group consisting of: SEQ ID NO:4, 6, 8, 10, 12, and 14, with the proviso that said light chain variable domain does not comprise the sequence of SEQ ID NO:4, and/or wherein the heavy chain variable domain comprises a sequence of at least 15 contiguous amino acids of a sequence selected from the group consisting of SEQ ID NO:16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46, 48, 50, 52, 54, 56, 58, 60, and 62, with the proviso that said heavy chain variable domain does not comprise the sequence of SEQ ID NO:16, wherein said antibody binds to IL-4 receptor alpha. In one embodiment, the light chain variable domain comprises a sequence of at least 20 contiguous amino acids of a sequence selected from the group consisting of: SEQ ID NO:4, 6, 8, 10, 12, and 14, and/or the heavy chain variable domain comprises a sequence of at least 20 contiguous amino acids of a sequence selected from the group consisting of SEQ ID NO:16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46, 48, 50, 52, 54, 56, 58, 60, and 62. In another embodiment, the light chain variable domain comprises a sequence of at least 25 contiguous amino acids of a sequence selected from the group consisting of: SEQ ID NO:4, 6, 8, 10, 12, and 14, and/or the heavy chain variable domain comprises a sequence of at least 25 contiguous amino acids of a sequence selected from the group consisting of: SEQ ID NO:16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46, 48, 50, 52, 54, 56, 58, 60, and 62. In another embodiment, the light chain variable domain comprises a sequence of at least 35 contiguous amino acids of a sequence selected from the group consisting of: SEQ ID NO:4, 6, 8, 10, 12, and 14, and/or the heavy chain variable domain comprises a sequence of at least 35 contiguous amino acids of a sequence selected from the group consisting of: SEQ ID NO:16, 18, 20, 22, 24, 26, 28,

30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46, 48, 50, 52, 54, 56, 58, 60, and 62. In another embodiment, the light chain variable domain comprises a sequence of at least 50 contiguous amino acids of a sequence selected from the group consisting of: SEQ ID NO:4, 6, 8, 10, 12, and 14, and/or the heavy chain variable domain comprises a sequence of at least 50 contiguous amino acids of a sequence selected from the group consisting of: SEQ ID NO:16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46, 48, 50, 52, 54, 56, 58, 60, and 62. In another embodiment, the light chain variable domain comprises a sequence of at least 75 contiguous amino acids of a sequence selected from the group consisting of: SEQ ID NO:4, 6, 8, 10, 12, and 14, and/or the heavy chain variable domain comprises a sequence of at least 75 contiguous amino acids of a sequence selected from the group consisting of: SEQ ID NO:16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46, 48, 50, 52, 54, 56, 58, 60, and 62. In another embodiment, the light chain variable domain comprises a sequence of at least 100 contiguous amino acids of a sequence selected from the group consisting of: SEQ ID NO:4, 6, 8, 10, 12, and 14, and/or the heavy chain variable domain comprises a sequence of at least 100 contiguous amino acids of a sequence selected from the group consisting of: SEQ ID NO:16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46, 48, 50, 52, 54, 56, 58, 60, and 62.

In another aspect, the present invention provides an antibody comprising: a light chain variable domain comprising an amino acid sequence that is encoded by a nucleotide sequence that is at least 80% identical to a nucleotide sequence selected from the group consisting of SEQ ID NO:3, 5, 7, 9, 11, and 13, and/or a heavy chain variable domain comprising an amino acid sequence that is encoded by a nucleotide sequence that is at least 80% identical to a nucleotide sequence selected from the group consisting of SEQ ID NO:15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, 45, 47, 49, 51, 53, 55, 57, 59, and 61, with the proviso that said antibody does not comprise both the light chain variable domain sequence of SEQ ID NO:4 and the heavy chain variable domain sequence of SEQ ID NO:16, and wherein said antibody binds to IL-4 receptor alpha. In another embodiment, said light chain variable domain comprises an amino acid sequence that is encoded by a nucleotide sequence that is at least 85% identical to a nucleotide sequence selected from the group consisting of SEQ ID NO:3, 5, 7, 9, 11, and 13, and/or said heavy chain variable domain comprises an amino acid sequence that is encoded by a nucleotide sequence that is at least 85% identical to a nucleotide sequence selected from the group consisting of SEQ ID NO:15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, 45, 47, 49, 51, 53, 55, 57, 59, and 61. In another embodiment, said light chain variable domain comprises an amino acid sequence that is encoded by a nucleotide sequence that is at least 90% identical to a nucleotide sequence selected from the group consisting of SEQ ID NO:3, 5, 7, 9, 11, and 13, and/or said heavy chain variable domain comprises an amino acid sequence that is encoded by a nucleotide sequence that is at least 90% identical to a nucleotide sequence selected from the group consisting of SEQ ID NO:15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, 45, 47, 49, 51, 53, 55, 57, 59, and 61. In another embodiment, said light chain variable domain comprises an amino acid sequence that is encoded by a nucleotide sequence that is at least 95% identical to a nucleotide sequence selected from the group consisting of SEQ ID NO:3, 5, 7, 9, 11, and 13, and/or said heavy chain variable domain comprises an amino acid sequence that is encoded by a nucleotide sequence that is at least 95% identical to a nucleotide sequence selected from the

group consisting of SEQ ID NO:15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, 45, 47, 49, 51, 53, 55, 57, 59, and 61. In another embodiment, said light chain variable domain comprises an amino acid sequence that is encoded by a nucleotide sequence that is at least 98% identical to a nucleotide sequence selected from the group consisting of SEQ ID NO:3, 5, 7, 9, 11, and 13, and/or said heavy chain variable domain comprises an amino acid sequence that is encoded by a nucleotide sequence that is at least 98% identical to a nucleotide sequence selected from the group consisting of SEQ ID NO:15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, 45, 47, 49, 51, 53, 55, 57, 59, and 61. In another embodiment, said light chain variable domain comprises an amino acid sequence that is encoded by a nucleotide sequence selected from the group consisting of SEQ ID NO:5, 7, 9, 11, and 13, and/or said heavy chain variable domain comprises an amino acid sequence that is encoded by a nucleotide sequence selected from the group consisting of SEQ ID NO:16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46, 48, 50, 52, 54, 56, 58, 60, and 62.

In another aspect, the present invention provides an antibody comprising: a light chain variable domain comprising an amino acid sequence that is encoded by a nucleotide sequence that hybridizes under moderately stringent conditions to the complement of a nucleotide sequence selected from the group consisting of SEQ ID NO:3, 5, 7, 9, 11, and 13, and/or a heavy chain variable domain comprising an amino acid sequence that is encoded by a nucleotide sequence that hybridizes under moderately stringent conditions to the complement of a nucleotide sequence selected from the group consisting of SEQ ID NO:15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, 45, 47, 49, 51, 53, 55, 57, 59, and 61, with the proviso that said antibody does not comprise both the light chain variable domain sequence of SEQ ID NO:4 and the heavy chain variable domain sequence of SEQ ID NO:16, and wherein said antibody binds to IL-4 receptor alpha. In one embodiment, said light chain variable domain comprises an amino acid sequence that is encoded by a nucleotide sequence that hybridizes under stringent conditions to the complement of a nucleotide sequence selected from the group consisting of SEQ ID NO:3, 5, 7, 9, 11, and 13, and/or said heavy chain variable domain comprises an amino acid sequence that is encoded by a nucleotide sequence that hybridizes under stringent conditions to the complement of a nucleotide sequence selected from the group consisting of SEQ ID NO:15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, 45, 47, 49, 51, 53, 55, 57, 59, and 61.

In another aspect, the present invention provides an isolated antibody, wherein the light chain variable region of said antibody comprises an amino acid sequence selected from the group consisting of SEQ ID NO:6, 8, 10, 12, and 14, and said antibody binds to IL-4 receptor alpha.

In another aspect, the present invention provides an isolated antibody, wherein the heavy chain variable region of said antibody comprises an amino acid sequence selected from the group consisting of SEQ ID NO:16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46, 48, 50, 52, 54, 56, 58, 60, and 62, and said antibody binds to IL-4 receptor alpha.

In another aspect, the present invention provides an antibody selected from the group consisting of L2H1, L3H1, L4H1, L5H1, L1H2, L1H3, L1H4, L1H5, L1H6, L1H7, L1H8, L1H9, L1H10, L1H11, L2H4, L2H12, L2H13, L2H14, L6H1, L2H2, L2H3, L2H6, L2H7, L2H8, L2H9, L2H10, and L2H11.

In another aspect, the present invention provides a human, humanized, or chimeric antibody.

In another aspect, the present invention provides a monoclonal antibody.

5 In another aspect, the present invention provides an antibody selected from the group consisting of an IgD, IgE, IgM, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, and IgA4 having at least one mutation in a hinge region that alleviates a tendency to form intra-H chain disulfide bond antibody.

In another aspect, the present invention provides an isolated polypeptide comprising an IL-4 receptor binding portion of an antibody of the invention. In one embodiment, said polypeptide comprises a Fab, F(ab')₂, scFv, diabody, triabody, or tetrabody.

10 In another aspect, the present invention provides an isolated nucleic acid comprising a nucleotide sequence encoding the light chain of an antibody of the invention, the heavy chain of an antibody of the invention, or a polypeptide of the invention.

In another aspect, the present invention provides a vector comprising an isolated nucleic acid of the invention. In another embodiment, said vector is an expression vector.

15 In another aspect, the present invention provides an isolated cell comprising a nucleic acid of the invention. In one embodiment, said cell is a hybridoma. In another embodiment, said cell is a transgenic cell.

20 In another aspect, the present invention provides a cell comprising an antibody of the invention. In one embodiment, said cell is a hybridoma. In another embodiment, said cell is a transgenic cell.

In another aspect, the present invention provides a cell comprising a polypeptide of the invention. In one embodiment, said cell is a transgenic cell.

25 In another aspect, the present invention provides a method of making an antibody of the invention comprising incubating a cell comprising a nucleic acid encoding the light chain of said antibody and a nucleic acid encoding the heavy chain of said antibody under conditions that allow said cell to express said light chain and said heavy chain and that allow said light chain and said heavy chain to assemble into said antibody, and isolating said antibody from said cell. In one embodiment, said cell is a hybridoma. In another embodiment, said cell is a transgenic cell.

30 In another aspect, the present invention provides a method of inhibiting an IL-4 receptor comprising contacting a cell expressing IL-4 receptor alpha with an antibody of the invention or a polypeptide of the invention under conditions that allow said antibody or said polypeptide to bind to said IL-4 receptor alpha. In one embodiment, said cell is a human cell. In another embodiment, said human cell is in a human.

35 In another aspect, the present invention provides a method of treating a condition in a subject comprising administering to said subject an amount of an antibody of the invention or of a polypeptide of the invention effective for treating said condition. In one embodiment, said condition is an inflammatory or cancerous condition. In another embodiment, said inflammatory or cancerous condition is an immunological condition. In another embodiment, said condition is asthma, septic arthritis, dermatitis herpetiformis, chronic idiopathic urticaria, ulcerative colitis, scleroderma, hypertrophic scarring, Whipple's Disease, benign prostate hyperplasia, a lung disorder in which IL-4 receptor plays a role, condition in which IL-4 receptor-mediated epithelial barrier disruption plays a role, a disorder of the digestive system in which IL-4 receptor plays a

40

role, an allergic reaction to a medication, Kawasaki disease, sickle cell disease, Churg-Strauss syndrome, Grave's disease, pre-eclampsia, Sjogren's syndrome, autoimmune lymphoproliferative syndrome, autoimmune hemolytic anemia, Barrett's esophagus, autoimmune uveitis, tuberculosis, cystic fibrosis, allergic bronchopulmonary mycosis, chronic obstructive pulmonary disease, bleomycin-induced pneumopathy and fibrosis, radiation-induced pulmonary fibrosis, pulmonary alveolar proteinosis, adult respiratory distress syndrome, sarcoidosis, hyper IgE syndrome, idiopathic hypereosinophil syndrome, an autoimmune blistering disease, pemphigus vulgaris, bullous pemphigoid, myasthenia gravis, chronic fatigue syndrome, or nephrosis.

In another aspect, the present invention provides a pharmaceutical composition comprising an antibody of the invention or a polypeptide of the invention and an excipient, diluent, or buffer.

BRIEF DESCRIPTION OF THE DRAWINGS

Figures 1A-C present the nucleotide sequence of the coding region of a human IL-4 receptor alpha cDNA. The amino acid sequence encoded by the cDNA is presented as well. The cDNA clone was isolated from a cDNA library derived from a human T cell line T22. The encoded protein comprises (from N- to C-terminus) an N-terminal signal peptide, followed by an extracellular domain, a transmembrane region (underlined), and a cytoplasmic domain, as discussed further in PCT publication WO 01/92340 A3. The nucleotide sequence and amino acid sequences of Figures 1A to 1C also are presented in SEQ ID NO:1 and 2, respectively.

Figures 2A-2D present polynucleotide sequences encoding the light chain variable regions of L1 (SEQ ID NO:3), L2 (SEQ ID NO:5), L3, (SEQ ID NO:7), L4 (SEQ ID NO:9), L5 (SEQ ID NO:11), and L6 (SEQ ID NO:13), and polynucleotide sequences encoding the heavy chain variable regions of H1 (SEQ ID NO:15), H2 (SEQ ID NO:17), H3 (SEQ ID NO:19), H4 (SEQ ID NO:21), H5 (SEQ ID NO:23), H6 (SEQ ID NO:25), H7 (SEQ ID NO:27), H8 (SEQ ID NO:29), H9 (SEQ ID NO:31), H10 (SEQ ID NO:33), H11 (SEQ ID NO:35), H12 (SEQ ID NO:37), H13 (SEQ ID NO:39), H14 (SEQ ID NO:41), H15 (SEQ ID NO:43), H16 (SEQ ID NO:45), H17 (SEQ ID NO:47), H18 (SEQ ID NO:49), H19 (SEQ ID NO:51), H20 (SEQ ID NO:53), H21 (SEQ ID NO:55), H22 (SEQ ID NO:57), H23 (SEQ ID NO:59), and H24 (SEQ ID NO:61). The sequences are shown using one-letter nucleotide abbreviations. Sequences corresponding to CDR1, CDR2, and CDR3 regions are shown in bold type for each sequence and underlined in L1 and H1. Sequences corresponding to FR1, FR2, FR3, and FR4 are shown in plain type.

Figure 3 presents the amino acid sequences of the light chain variable regions of L1 (SEQ ID NO:4), L2 (SEQ ID NO:6), L3, (SEQ ID NO:8), L4 (SEQ ID NO:10), L5 (SEQ ID NO:12), and L6 (SEQ ID NO:14), and amino acid sequences of the heavy chain variable regions of H1 (SEQ ID NO:16), H2 (SEQ ID NO:18), H3 (SEQ ID NO:20), H4 (SEQ ID NO:22), H5 (SEQ ID NO:24), H6 (SEQ ID NO:26), H7 (SEQ ID NO:28), H8 (SEQ ID NO:30), H9 (SEQ ID NO:32), H10 (SEQ ID NO:34), H11 (SEQ ID NO:36), H12 (SEQ ID NO:38), H13 (SEQ ID NO:40), H14 (SEQ ID NO:42), H15 (SEQ ID NO:44), H16 (SEQ ID NO:46), H17 (SEQ ID NO:48), H18 (SEQ ID NO:50), H19 (SEQ ID NO:52), H20 (SEQ ID NO:54), H21 (SEQ ID NO:56), H22 (SEQ ID NO:58), H23 (SEQ ID NO:60), and H24 (SEQ ID NO:62). The sequences of the L1 and H1 variable regions are shown using one-letter amino acid abbreviations. Other light chain and heavy chain variable sequences

are indicated by dashes at residues where they are identical to L1 or H1 and with the appropriate one-letter amino acid abbreviation where they differ from L1 or H1. Sequences corresponding to CDR1, CDR2, and CDR3 regions are shown in bold type for each sequence and underlined in L1 and H1. Sequences corresponding to FR1, FR2, FR3, and FR4 are shown in plain type.

5

DETAILED DESCRIPTION OF THE INVENTION

The present invention provides compositions and methods relating to anti-IL-4 receptor (IL-4R) antibodies, including methods for treating certain conditions mediated by IL-4R, and for inhibiting biological activities of Interleukin-4 (IL-4) and Interleukin-13 (IL-13) *in vivo*. Compositions of the invention include, for example, anti-IL-4R antibodies, polypeptides, polynucleotides, cells comprising or expressing antibodies, polypeptides or polynucleotides of the invention, and pharmaceutical compositions, examples of which are provided below.

Polynucleotide and polypeptide sequences are indicated using standard one- or three-letter abbreviations. Unless otherwise indicated, polypeptide sequences have their amino termini at the left and their carboxy termini at the right and single-stranded nucleic acid sequences, and the top strand of double-stranded nucleic acid sequences, have their 5' termini at the left and their 3' termini at the right. A particular polypeptide or polynucleotide sequence also can be described by explaining how it differs from a reference sequence. For example, the phrase "a polypeptide sequence that differs from SEQ ID NO:4 at S28T" describes a polypeptide sequence that is identical to SEQ ID NO:4 except that the serine residue at position 28 of SEQ ID NO:4 is replaced by a threonine residue.

Polynucleotide and polypeptide sequences of particular light and heavy chain variable regions are shown in Figures 2 and 3, respectively, where they are labeled, for example, L1 ("light chain variable region 1"), H1 ("heavy chain variable region 1"), etc. Antibodies comprising a light chain and heavy chain from Figure 3 are indicated by combining the name of the light chain and the name of the heavy chain variable regions. For example, "L4H7," indicates an antibody comprising the light chain variable sequence of L4 and the heavy chain variable sequence of H7.

"Light chain variable domain (or region)," "heavy chain variable domain (or region)," "CDR1, 2, and 3" and "FR1, 2, 3, and 4" are defined according to the scheme of Kabat *et al.* in *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, 5th Ed., US Dept. of Health and Human Services, PHS, NIH, NIH Publication no. 91-3242, 1991.

The "percent identity" of two polynucleotide or two polypeptide sequences is determined by comparing the sequences using the GAP computer program (a part of the GCG Wisconsin Package, version 10.3 (Accelrys, San Diego, CA)) using its default parameters.

A biological molecule (e.g., a polypeptide, antibody, or nucleic acid) is "isolated" or "substantially purified" if it is sufficiently free of other biological molecules, cell debris, and other substances to be used in standard laboratory protocols (e.g., a binding or hybridization assay). Methods of substantially purifying polypeptides, antibodies, and nucleic acids are well-known in the art.

The terms "peptide," "polypeptide" and "protein" are used interchangeably throughout and refer to a molecule comprising two or more amino acid residues joined to each other by peptide bonds.

The terms "polynucleotide," "oligonucleotide" and "nucleic acid" are used interchangeably throughout and include DNA molecules (e.g., cDNA or genomic DNA), RNA molecules (e.g., mRNA), analogs of the DNA or RNA generated using nucleotide analogs (e.g., peptide nucleic acids and non-naturally occurring nucleotide analogs), and hybrids thereof. The nucleic acid molecule can be single-stranded or double-stranded. In one embodiment, the nucleic acid molecules of the invention comprise a contiguous open reading frame encoding an antibody, or a fragment, derivative, mutant, or variant thereof, of the invention.

Two single-stranded nucleic acid molecules are "the complement" of each other if their sequences can be aligned in an anti-parallel orientation such that every nucleotide in one sequence is opposite its complementary nucleotide in the other sequence, without the introduction of gaps, and without unpaired nucleotides at the 5' or the 3' end of either sequence. A nucleic acid molecule that is "complementary" to a given nucleotide sequence is one that is sufficiently complementary to the given nucleotide sequence that it can hybridize under moderately stringent conditions to the given nucleotide sequence. Thus, a nucleic acid can be complementary to another nucleic acid without being its complement.

A "vector" is a nucleic acid that can be used to introduce another nucleic acid linked to it into a cell. One type of vector is a "plasmid," which refers to a linear or circular double stranded DNA molecule into which additional nucleic acid segments can be ligated. Another type of vector is a viral vector (e.g., replication defective retroviruses, adenoviruses and adeno-associated viruses), wherein additional DNA segments can be introduced into the viral genome. Certain vectors are capable of autonomous replication in a host cell into which they are introduced (e.g., bacterial vectors comprising a bacterial origin of replication and episomal mammalian vectors). Other vectors (e.g., non-episomal mammalian vectors) are integrated into the genome of a host cell upon introduction into the host cell, and thereby are replicated along with the host genome. An "expression vector" is a type of vector that can direct the expression of a chosen polynucleotide.

A nucleotide sequence is "operably linked" to a regulatory sequence if the regulatory sequence affects the expression (e.g., the level, timing, or location of expression) of the nucleotide sequence. A "regulatory sequence" is a nucleic acid that affects the expression (e.g., the level, timing, or location of expression) of a nucleic acid. The regulatory sequence can, for example, exert its effects directly on the regulated nucleic acid, or through the action of one or more polypeptides (e.g., polypeptides that bind to the regulatory sequence and/or the nucleic acid). Examples of regulatory sequences include promoters, enhancers and other expression control elements (e.g., polyadenylation signals). Further examples of regulatory sequences are described in, for example, Goeddel, 1990, *Gene Expression Technology: Methods In Enzymology* 185, Academic Press, San Diego, CA and Baron *et al.*, 1995, *Nucleic Acids Res.* 23:3805-08.

A "host cell" is a cell that can be used to express a nucleic acid, e.g., a nucleic acid of the invention. A host cell can be a prokaryote, for example, *E. coli*, or it can be a eukaryote, for example, a single-celled eukaryote (e.g., a yeast or other fungus), a plant cell (e.g., a tobacco or tomato plant cell), an animal cell (e.g., a human cell, a monkey cell, a hamster cell, a rat cell, a mouse cell, or an insect cell) or a hybridoma. Examples of host cells include the COS-7 line of monkey kidney cells (ATCC CRL 1651) (see Gluzman *et al.*, 1981, *Cell* 23:175), L cells, C127

cells, 3T3 cells (ATCC CCL 163), Chinese hamster ovary (CHO) cells or their derivatives such as Veggie CHO and related cell lines which grow in serum-free media (see Rasmussen *et al.*, 1998, Cytotechnology 28:31) or CHO strain DX-B11, which is deficient in DHFR (see Urlaub *et al.*, 1980, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 77:4216-20), HeLa cells, BHK (ATCC CRL 10) cell lines, the

5 CV1/EBNA cell line derived from the African green monkey kidney cell line CV1 (ATCC CCL 70) (see McMahon *et al.*, 1991, EMBO J. 10:2821), human embryonic kidney cells such as 293, 293 EBNA or MSR 293, human epidermal A431 cells, human Colo205 cells, other transformed primate cell lines, normal diploid cells, cell strains derived from in vitro culture of primary tissue, primary

10 explants, HL-60, U937, HaK or Jurkat cells. Typically, a host cell is a cultured cell that can be transformed or transfected with a polypeptide-encoding nucleic acid, which can then be expressed in the host cell. The phrase "recombinant host cell" can be used to denote a host cell that has been transformed or transfected with a nucleic acid to be expressed. A host cell also can be a cell that comprises the nucleic acid but does not express it at a desired level unless a regulatory

15 sequence is introduced into the host cell such that it becomes operably linked with the nucleic acid. It is understood that the term host cell refers not only to the particular subject cell but to the progeny or potential progeny of such a cell. Because certain modifications may occur in succeeding generations due to either mutation or environmental influences, such progeny may not, in fact, be identical to the parent cell, but are still included within the scope of the term as used herein.

20 A "chimeric antibody" is an antibody in which a portion of the heavy and/or light chain is identical with, homologous to, or derived from an antibody from a particular species or belonging to a particular antibody class or subclass, while the remainder of the chain(s) is/are identical with, homologous to, or derived from an antibody (-ies) from another species or belonging to another antibody class or subclass. Also included are fragments of such antibodies, that exhibit the

25 desired biological activity (*i.e.*, the ability to specifically bind IL-4 receptor). See, U.S. Patent No. 4,816,567 and Morrison, 1985, Science 229:1202-07.

A "CDR grafted antibody" is an antibody comprising one or more CDRs derived from an antibody of a particular species or isotype and the framework of another antibody of the same or different species or isotype.

30 A "multi-specific antibody" is an antibody that recognizes more than one epitope on one or more antigens. A subclass of this type of antibody is a "bi-specific antibody" which recognizes two distinct epitopes on the same or different antigens.

A "variant" of a polypeptide (*e.g.*, an antibody) comprises an amino acid sequence wherein one or more amino acid residues are inserted into, deleted from and/or substituted into

35 the amino acid sequence relative to another polypeptide sequence. Variants of the invention include fusion proteins.

A "derivative" of a polypeptide is a polypeptide (*e.g.*, an antibody) that has been chemically modified in some manner distinct from insertion, deletion, or substitution variants, *e.g.*, via conjugation to another chemical moiety. Unless otherwise indicated, the term "antibody" includes,

40 in addition to antibodies comprising two full-length heavy chains and two full-length light chains, derivatives, variants, fragments, and mutants thereof, examples of which are described below.

A molecule (e.g., an antibody) "specifically binds IL-4 receptor" if it binds to IL-4 receptor, or a fragment thereof, with at least 10 times higher affinity than the molecule binds to a polypeptide unrelated to IL-4 receptor.

5 An "antigen binding domain" or "antigen binding region" is the portion of an antibody molecule which contains the amino acid residues (or other moieties) that interact with an antigen and confer on the antibody its specificity and affinity for the antigen.

An "epitope" is the portion of a molecule that is bound by an antibody. An epitope can comprise non-contiguous portions of the molecule (e.g., in a polypeptide, amino acid residues that are not contiguous to one another in the polypeptide's sequence but that, together in the context of
10 the molecule, are bound by an antibody).

Indications

In one aspect, the present invention provides methods of treating, preventing, curing, relieving, or ameliorating a disease, disorder, condition, or illness. Among the conditions to be
15 treated in accordance with the present invention are asthma, septic/reactive arthritis, dermatitis herpetiformis, chronic idiopathic urticaria, scleroderma, hypertrophic scarring, Whipple's Disease, benign prostate hyperplasia, lung disorders in which IL-4 plays a role, conditions in which IL-4-induced epithelial barrier disruption plays a role, disorders of the digestive system in which IL-4 plays a role, including inflammatory bowel disease and other inflammatory conditions in the
20 gastrointestinal tract, allergic reactions to medication, Kawasaki disease, sickle cell disease (including sickle cell crisis), Churg-Strauss syndrome, Grave's disease, pre-eclampsia, Sjogren's syndrome, autoimmune lymphoproliferative syndrome, autoimmune hemolytic anemia, Barrett's esophagus, autoimmune uveitis, tuberculosis, and nephrosis, as described in more detail below. IL-4R antagonists also find use as adjuvants to allergy immunotherapy and as vaccine adjuvants.

25 Examples of antibodies suitable for treating these conditions are described below, and include, e.g., antibodies that bind IL-4R and inhibit the binding of IL-4 thereto. Particularly useful antibodies also inhibit the binding of IL-13 to IL-13 receptor (IL-13R). Particular embodiments of the invention include novel antibodies and antibody derivatives, fragments, mutants and variants, polypeptides, nucleic acid molecules, cells, methods of making the preceding, methods of
30 inhibiting IL-4R α , and methods of treating a subject, examples of which are described below.

In one aspect, the present invention provides methods comprising administering an anti-IL-4R α antibody to a subject. In one embodiment, the subject is afflicted with, or at risk for developing, a condition (including, e.g., an illness, infection, injury, disease, or disorder) that is caused, induced, mediated, potentiated, exacerbated, or otherwise affected, directly or indirectly,
35 by the activity of IL-4R α . Such conditions include, for example, conditions caused, induced, mediated, potentiated, exacerbated, or otherwise affected, directly or indirectly, by IL-4 and/or IL-13. Other factors or cytokines also may play a role in such conditions.

The biological activities of IL-4 are mediated through binding to specific cell surface receptors, referred to as interleukin-4 receptors (IL-4R). IL-4-induced conditions include those
40 arising from biological responses that result from the binding of IL-4 to a native IL-4 receptor on a cell, or which may be inhibited or suppressed by preventing IL-4 from binding to an IL-4 receptor. Conditions that may be treated include, but are not limited to, medical disorders characterized by

abnormal expression of IL-4 or of one or more components of an IL-4R or IL-13R (including, for example, overexpression, misexpression in a particular tissue or cell type, or misexpression at a particular developmental stage), or by an abnormal host response to IL-4 production. Further examples are conditions in which IL-4-induced antibody production, or proliferation or influx of a particular cell type, plays a role. IL-4-induced disorders include those in which IL-4 induces upregulation of IL-4 receptors or enhanced production of another protein that plays a role in a disease (e.g., another cytokine).

A method for treating a mammal, including a human subject, who has such a medical disorder comprises administering an anti-IL-4R antibody, or derivative thereof, to the mammal or otherwise contacting an IL-4R of the mammal with the antibody or derivative, e.g., in an *ex vivo* procedure. Conditions that may be treated in accordance with the present invention are described, for example, in USSN 09/847,818, filed May 1, 2001, the relevant disclosure of which is incorporated by reference herein. Such conditions include, but are not limited to, asthma, septic/reactive arthritis, dermatitis herpetiformis, urticaria (especially chronic idiopathic urticaria), ulcers, gastric inflammation, mucosal inflammation, ulcerative colitis, Crohn's Disease, inflammatory bowel disease, other disorders of the digestive system in which IL-4 plays a role (e.g., IL-4-induced inflammation of part of the gastrointestinal tract), conditions in which IL-4-induced barrier disruption plays a role (e.g., conditions characterized by decreased epithelial barrier function in the lung or gastrointestinal tract), scleroderma, hypertrophic scarring, Whipple's Disease, benign prostate hyperplasia, IL-4-induced pulmonary conditions (including those listed below), allergic reactions to medication, Kawasaki disease, sickle cell disease or crisis, Churg-Strauss syndrome, Grave's disease, pre-eclampsia, Sjogren's syndrome, autoimmune lymphoproliferative syndrome, autoimmune hemolytic anemia, Barrett's esophagus, autoimmune uveitis, tuberculosis, nephrosis, pemphigus vulgaris or bullous pemphigoid (autoimmune blistering diseases), and myasthenia gravis (an autoimmune muscular disease).

Anti-IL-4R antibodies, and derivatives thereof, also find use as adjuvants to allergy immunotherapy and as vaccine adjuvants. Accordingly, an anti-IL-4R antibody may be employed as an adjuvant to allergy immunotherapy treatment. Anti-IL-4R antibody find further use as vaccine adjuvants, such as adjuvants for cancer vaccines and infectious disease vaccines. The use of IL-4 adjuvants, especially when directing the immune response toward a TH1 response would be beneficial in treating or preventing the disease in question.

Septic/reactive arthritis

An anti-IL-4R antibody may be employed in treating septic arthritis, which also is known as reactive arthritis or bacterial arthritis. Septic arthritis can be triggered by (result from, or develop subsequent to) infection with such microbes as *Staphylococcus aureus*, *Chlamydia trachomatis*, *Yersinia* e.g., *Y. enterocolitica*, *Salmonella*, e.g., *S. enteritidis*, *Shigella* and *Campylobacter*. *S. aureus* has been reported to be the major human pathogen in septic arthritis, responsible for the majority of cases.

IL-4 and IL-4-dependent Th2 responses play roles in promoting septic arthritis. Anti-IL-4R antibody can be employed in accordance with the invention to inhibit IL-4 and also to suppress the Th2 response in patients having septic arthritis or at risk for developing septic arthritis.

IL-4 increases bacterial burden and bacterial persistence in joints, by inhibiting clearance of the bacteria. Anti-IL-4R antibody may be employed to assist in the clearance of bacteria associated with reactive arthritis, thereby reducing clinical manifestations such as swelling in joints. Anti-IL-4R antibody may be administered to a human subject afflicted with septic arthritis, to reduce IL-4-mediated joint inflammation. In one approach, an antagonist is injected into a joint, e.g., into synovial fluid in the knee.

The use of an anti-IL-4R antibody may benefit subjects having (or at risk for) septic arthritis by suppressing a TH2 response and promoting a TH1 response against the infection. TH2 cytokines may contribute to bacterial persistence in the joint, whereas a TH1 response plays a role in eliminating the bacteria.

The antibody may be administered to subjects infected with bacteria or other microbes such as those listed above, to prevent development of septic arthritis. An Antibody may be administered, for example, after diagnosis with such an infection, but before development of clinical symptoms of septic arthritis.

Whipple's Disease

Tropheryma whippellii is the causative bacterium for Whipple's Disease, also known as Intestinal lipodystrophy and lipophagia granulomatosis. The disease is characterized by steatorrhea, frequently generalized lymphadenopathy, arthritis, fever, and cough. Also reported in Whipple's Disease patients are an abundance of "foamy" macrophages in the jejunal lamina propria, and lymph nodes containing periodic acid-schiff positive particles appearing bacilliform by electron microscopy (Steadman's Medical Dictionary, 26th Edition, Williams & Wilkins, Baltimore, MD, 1995).

The use of anti-IL-4R antibody may benefit subjects having (or at risk for developing) Whipple's Disease, by restoring a normal balance between the TH1 and TH2 components of the patient's immune response. Increased production of IL-4 (a TH2-type cytokine) and decreased levels of certain TH1-type cytokines have been associated with Whipple's Disease. TH2 cytokines may contribute to bacterial persistence, whereas a TH1 response plays a role in clearing the causative bacteria. IL-4R antagonists may be administered to subjects infected with *T. whippellii*, whether or not the subject exhibits clinical symptoms of Whipple's Disease.

Dermatitis herpetiformis

Dermatitis herpetiformis, also known as Duhring's disease, is a chronic skin condition characterized by blistering skin lesions, cutaneous IgA deposits, and itching. Patients have an immunobullous skin disorder with an associated gluten sensitive enteropathy, which is mediated by a Th2 immune response. Anti-IL-4R antibody is administered in accordance with the present invention, to inhibit IL-4 and the Th2 response, thus promoting healing of current lesions and reducing or preventing the formation of blisters on the extensor body surfaces.

Hypertrophic scarring

In accordance with the present invention, anti-IL-4R antibody is administered to subjects who have, or are susceptible to developing, hypertrophic scarring. In one method provided herein,

an anti-IL-4R antibody is administered to a subject with a burn injury. An immune response to burns and other injury is believed to play a role in the pathogenesis of hypertrophic scarring. Increased production of TH2-type cytokines, including IL-4, and reduced levels of certain TH1-type cytokines have been reported in burn patients who have hypertrophic scarring. The use of anti-IL-4R antibodies may benefit subjects having (or at risk for developing) hypertrophic scarring, by suppressing a TH2-type immune response.

Urticaria

Urticaria, especially chronic forms thereof such as chronic idiopathic urticaria (CIU), may be treated with an anti-IL-4R antibody in accordance with the present invention. CIU patients have higher serum levels of IL-4 than controls, and may have a predominantly TH2-type cytokine profile. Mast cells and Th2-type T cells are implicated as primary effector cells in chronic urticaria. IL-4 stimulates mast cell proliferation. Mast cell degranulation leads to histamine release, subsequent erythema, eosinophilia, redness of skin, and itching. Anti-IL-4R antibodies are administered to inhibit IL-4 and reduce the TH2-type response, thereby helping to control a subject's urticaria.

Ulcerative colitis; other disorders of the gastrointestinal tract

IL-4 is implicated in the pathogenesis of ulcerative colitis. Th2-type cytokines including IL-4 may predominate in the colonic mucosa of patients with this disorder. The use of anti-IL-4R antibodies to suppress the TH2 response may alleviate this condition.

In addition to ulcerative colitis, other disorders of the gastrointestinal tract or digestive system may be treated with anti-IL-4R antibodies. Examples of such disorders include, but are not limited to, inflammatory bowel disease (IBD), with ulcerative colitis and Crohn's Disease being forms of IBD, gastritis, ulcers, and mucosal inflammation.

Any gastrointestinal condition in which IL-4 plays a role may be treated with an anti-IL-4R antibody in accordance with the present invention. For example, conditions involving IL-4-induced inflammation of part of the gastrointestinal tract may be treated with an anti-IL-4R antibody. Particular embodiments are directed to treatment of chronic inflammatory conditions in the gastrointestinal tract.

Other embodiments are directed to conditions in which IL-4-induced barrier disruption plays a role, e.g., conditions characterized by decreased epithelial barrier function in at least a portion of the gastrointestinal tract. Such conditions may, for example, involve damage to the epithelium that is induced by IL-4, directly or indirectly.

The intestinal epithelium forms a relatively impermeable barrier between the lumen and the submucosa. Disruption of the epithelial barrier has been associated with conditions such as inflammatory bowel disease. See the discussion in Youakim, A. and M. Ahdieh (*Am. J. Physiol. 276 (Gastrointest. Liver Physiol. 39):G1279-G1288, 1999*), hereby incorporated by reference in its entirety. A damaged or "leaky" barrier can allow antigens to cross the barrier, which in turn elicits an immune response that may cause further damage to gastrointestinal tissue. Such an immune response may include recruitment of neutrophils or T cells, for example. An anti-IL-4R antibody may be administered to inhibit undesirable stimulation of an immune response.

Lung disorders

Methods for treating IL-4-induced pulmonary disorders are provided herein. Such disorders include, but are not limited to, lung fibrosis, including chronic fibrotic lung disease, other conditions characterized by IL-4-induced fibroblast proliferation or collagen accumulation in the lungs, pulmonary conditions in which a TH2-type immune response plays a role, conditions characterized by decreased barrier function in the lung (e.g., resulting from IL-4-induced damage to the epithelium), or conditions in which IL-4 plays a role in an inflammatory response (e.g., asthma).

Cystic fibrosis is characterized by the overproduction of mucus and development of chronic infections. Inhibiting IL-4 and the Th2 response will reduce mucus production and help control infections such as allergic bronchopulmonary aspergillosis (ABPA).

Allergic bronchopulmonary mycosis occurs primarily in patients with cystic fibrosis or asthma, where a Th2 immune response is dominant. Inhibiting IL-4 and the Th2 response will help clear and control these infections.

Chronic obstructive pulmonary disease is associated with mucus hypersecretion and fibrosis. Inhibiting IL-4 and the Th2 response will reduce the production of mucus and the development of fibrosis thereby improving respiratory function and delaying disease progression.

Bleomycin-induced pneumopathy and fibrosis, and radiation-induced pulmonary fibrosis are disorders characterized by fibrosis of the lung which is manifested by the influx of Th2, CD4⁺ cells and macrophages, which produce IL-4 which in turn mediates the development of fibrosis. Inhibiting IL-4 and the Th2 response will reduce or prevent the development of these disorders.

Pulmonary alveolar proteinosis is characterized by the disruption of surfactant clearance. IL-4 increases surfactant product. Use of anti-IL-4R antibody will decrease surfactant production and decrease the need for whole lung lavage.

Adult respiratory distress syndrome (ARDS) may be attributable to a number of factors, one of which is exposure to toxic chemicals. One patient population susceptible to ARDS is critically ill patients who go on ventilators. ARDS is a frequent complication in such patients. Anti-IL-4R antibody treatment may alleviate ARDS by reducing inflammation and adhesion molecules, although methods for treating such subjects in accordance with the present invention are not limited by a particular mechanism of action. Anti-IL-4R antibody may be used to prevent or treat ARDS.

Sarcoidosis is characterized by granulomatous lesions. Use of anti-IL-4R antibody to treat sarcoidosis, particularly pulmonary sarcoidosis, is contemplated herein.

Conditions in which IL-4-induced barrier disruption plays a role (e.g., conditions characterized by decreased epithelial barrier function in the lung) may be treated with anti-IL-4R antibody. Damage to the epithelial barrier in the lungs may be induced by IL-4 directly or indirectly. The epithelium in the lung functions as a selective barrier that prevents contents of the lung lumen from entering the submucosa. A damaged or "leaky" barrier allows antigens to cross the barrier, which in turn elicits an immune response that may cause further damage to lung tissue. Such an immune response may include recruitment of eosinophils or mast cells, for example. An anti-IL-4R antibody may be administered to inhibit such undesirable stimulation of an immune response.

Anti-IL-4R antibodies may be employed to promote healing of lung epithelium, thus restoring barrier function. Anti-IL-4R antibody may be employed to promote healing of lung epithelium in asthmatics, for example. Alternatively, the antagonist is administered for prophylactic purposes, to prevent IL-4-induced damage to lung epithelium.

5

Tuberculosis

A TH2-type immune response is implicated in playing a role in causing tissue damage (e.g., necrosis of lung tissue) in tuberculosis (TB) patients. Elevated levels of IL-4 are associated with TB. IL-4 production may be particularly elevated in cavitary tuberculosis (i.e., in TB patients who have developed pulmonary cavities, which can be detected/visualized by such techniques as radiographs of the chest).

10

Anti-IL-4R antibodies may benefit TB patients (especially those with cavitary TB) by suppressing a TH2-type immune response. Methods for treating such subjects in accordance with the present invention are not limited by a particular mechanism of action, however. Anti-IL-4R antibody advantageously are administered in an amount that restores the desired balance between the TH1 and TH2 components of the immune response, and reduces IL-4-induced tissue damage in a patient.

15

Churg-Strauss syndrome

Churg-Strauss syndrome, a disease also known as allergic granulomatous angiitis, is characterized by inflammation of the blood vessels in persons with a history of asthma or allergy, and by eosinophilia. Anti-IL-4R antibodies may be administered to alleviate inflammation in subjects with this syndrome. The use of anti-IL-4R antibodies to suppress a TH2-type immune response, and to combat eosinophilia, would benefit the subjects.

20

25

Pre-eclampsia

Pre-eclampsia is a toxemia of late pregnancy. The condition is characterized by a sharp rise in blood pressure, generally accompanied by edema and albuminuria, during the third term of pregnancy.

30

Elevated TH1-type and TH2-type immune responses may play a role in the condition. One method provided herein comprises administering an anti-IL-4R antibody to a pregnant woman who has developed pre-eclampsia. The anti-IL-4R antibody is administered in an amount, and for a period of time, sufficient to reduce the level of IL-4 (or of TH2-type cytokines collectively) to a level that is considered normal during pregnancy. In general, the anti-IL-4R antibody is administered repeatedly throughout the duration of the pregnancy.

35

Scleroderma

Anti-IL-4R antibodies are administered to subjects with scleroderma in accordance with the invention. The antibodies reduce IL-4-induced collagen synthesis by fibroblasts in the patients. The antibodies may be employed in preventing or reducing fibrosis in skin and lung tissues, as well as other tissues in which fibrosis occurs in scleroderma patients, suppressing collagen synthesis in such tissues, and in treating scleroderma-related pulmonary disease.

40

Benign Prostate Hyperplasia

Benign prostate hyperplasia (BPH), also known as benign prostate hypertrophy, may be treated with anti-IL-4R antibodies. While not wishing to be bound by a particular mechanism of action, administration of an anti-IL-4R antibody may benefit a subject with BPH by suppressing IL-4-induced inflammation, or by suppressing a TH2-type immune response.

Grave's Disease

Antibodies directed against thyrotropin receptor play an important role in Grave's Disease, a disorder characterized by hyperthyroidism. Studies of cytokine production in Grave's Disease patients show a shift toward a TH2-type cytokine response. Use of an anti-IL-4R antibody to suppress the TH2-type immune response, and suppress antibody production, would benefit Grave's Disease patients.

Sickle Cell Disease

Sickle cell disease patients typically experience intermittent periods of acute exacerbation called crises, with the crises being categorized as anemic or vaso-occlusive. Anti-IL-4R antibodies find use in treating or preventing sickle cell crises, especially in subjects with elevated IL-4 levels or in whom the immune response has shifted toward a TH2-type response. Sickle cell disease (especially sickle cell crisis) has been associated with increased susceptibility to infectious diseases, including bacterial infections. Administering anti-IL-4R antibodies to sickle cell disease patients may help the patient mount an immune response against infectious diseases.

Sjogren's syndrome

The autoimmune disease known as Sjogren's syndrome or sicca syndrome typically combines dry eyes and dry mouth with a disorder of the connective tissues, such as rheumatoid arthritis, lupus, scleroderma, or polymyositis. The vast majority of patients are middle age (or older) females. Sjogren's syndrome is an inflammatory disease of glands (e.g., lacrimal and salivary glands) and other tissues of the body. The syndrome typically is associated with autoantibody production.

Anti-IL-4R antibodies may be administered to reduce the inflammatory response (such as inflammation of glands, including lacrimal glands) in such subjects. Anti-IL-4R antibodies may benefit Sjogren's syndrome patients by suppressing a TH2-type immune response. Methods for treating subjects in accordance with the present invention are not limited by a particular mechanism of action, however.

Autoimmune lymphoproliferative syndrome

Manifestations of autoimmune lymphoproliferative syndrome include lymphoproliferation and autoantibody production. Patients with the syndrome reportedly have an inherited deficiency in apoptosis. Anti-IL-4R antibodies may benefit subjects with this syndrome by suppressing a TH2-type immune response. Methods for treating such subjects in accordance with the present invention are not limited by a particular mechanism of action, however.

Autoimmune hemolytic anemia

Excessive IL-4 secretion, and a deficiency in TH1-type cytokines, are implicated in contributing to the pathogenesis of autoimmune hemolytic anemia. Anti-IL-4R antibodies are administered in accordance with the present invention, to benefit the patients by reducing autoantibody production, and by restoring a more normal balance between the TH1 and TH2 components of the immune response.

Autoimmune uveitis

Uveitis involves inflammation of the uvea (generally considered to include the iris, ciliary body, and choroid, considered together). Excess IL-4 secretion is implicated as playing a role in pathogenesis of this sight-threatening inflammatory eye disease. In accordance with the present invention, anti-IL-4R antibodies are administered to a subject with, or at risk for developing, uveitis. In one embodiment, anti-IL-4R antibodies are administered to an individual who has autoimmune uveoretinitis.

Kawasaki Disease

Also known as the mucocutaneous lymph node syndrome, Kawasaki disease (KD) mainly afflicts young children. The disease is characterized by particular changes in the mucus membranes lining the lips and mouth, and by enlarged, tender lymph glands. Symptoms typically include fever, conjunctivitis, inflammation of the lips and mucous membranes of the mouth, swollen glands in the neck, and a rash covering the hands and feet, leading to hardened, swollen and peeling skin on hands and feet. In children with Kawasaki Disease (KD), inflammation of arteries (vasculitis) may develop. Due to the effect of the disease on the vascular system, KD reportedly is the main cause of acquired heart disease in children.

Anti-IL-4R antibodies may be administered to subjects with Kawasaki Disease. Excessive IL-4 secretion and a deficiency in TH1-type cytokines contribute to the pathogenesis of the disease.

Barrett's esophagus

Barrett's esophagus is a condition characterized by alteration (subsequent to irritation) of the cells in the epithelial tissue that lines the lower portion of the esophagus. Frequent reflux of the stomach contents into the esophagus, over time, can lead to Barrett esophagus. Patients with Barrett esophagus are at risk for developing esophageal cancer (e.g., adenocarcinoma). While not wishing to be bound by a particular mechanism of action, administration of an anti-IL-4R antibody may benefit a subject with Barrett's esophagus by suppressing a TH2-type immune response. In one embodiment, an anti-IL-4R antibody is administered to a subject with esophagitis, to inhibit progression to Barrett's esophagus.

Nephrosis

Nephrosis, also known as nephrotic syndrome, is a kidney disease that is non-inflammatory and non-malignant. In the condition known as minimal change nephrosis,

glomerular damage (believed to arise from structural changes in glomerular visceral epithelial cells) results in abnormalities that include proteinuria. A TH2-type immune response (especially secretion of the TH2-type cytokines IL-4 and IL-13) are implicated as playing a role in pathogenesis of minimal change nephrosis.

5

Other indications

Additional examples of conditions that may be treated in accordance with the present invention include but are not limited to the following. Anti-IL-4R antibodies may be employed in treating or preventing hyper IgE syndrome, idiopathic hypereosinophil syndrome, allergic reactions to medication, autoimmune blistering diseases (e.g., pemphigus vulgaris or bullous pemphigoid), myasthenia gravis (an autoimmune muscular disease), and chronic fatigue syndrome. Anti-IL-4R antibodies may be employed in treating GVHD; particular methods for treating GVHD in combination with other therapeutic agents are described below. Anti-IL-4R antibodies also find use in treating or preventing hepatotoxicity induced by drugs such as diclofenac (a non-steroidal anti-inflammatory drug).

An anti-IL-4R antibody may be employed as an adjuvant to allergy immunotherapy treatment. Anti-IL-4R antibodies find further use as vaccine adjuvants, such as adjuvants for cancer vaccines and infectious disease vaccines. The use of anti-IL-4R antibodies is especially advantageous when favoring a TH1-type immune response would be beneficial in preventing or treating the condition for which the vaccine is being administered. Anti-IL-4R antibodies may be employed when reducing an antibody-mediated immune response and/or promoting a T-cell-mediated immune response is desired.

Anti-IL-4R antibodies

In one aspect, the present invention provides antibodies, and fragments, derivatives, mutants, and variants thereof, which bind to IL-4 receptor alpha, e.g., human IL-4 receptor alpha.

Anti-IL-4R antibodies that may be employed in accordance with the present invention include antibodies that inhibit a biological activity of IL-4. Examples of such biological activities include associating with another receptor component (e.g., IL-2R gamma or IL-13R alpha), binding (either alone or as part of a multimeric receptor complex) a signaling molecule (e.g., IL-4 or IL-13), and transducing a signal in response to binding a signaling molecule.

Different anti-IL-4R antibodies may bind to different domains or epitopes of IL-4R or act by different mechanisms of action. Examples include but are not limited to antibodies that interfere with binding of IL-4 to IL-4R or that inhibit signal transduction. The site of action may be, for example, intracellular (e.g., by interfering with an intracellular signaling cascade) or extracellular. An antibody need not completely inhibit an IL-4 induced activity to find use in the present invention; rather, antibodies that reduce a particular activity of IL-4 are contemplated for use as well.

The above-presented discussions of particular mechanisms of action for anti-IL-4R antibodies in treating particular diseases are illustrative only, and the methods presented herein are not bound thereby. The mechanisms of action by which anti-IL-4R antibodies ameliorate diseases are not limited to those discussed above.

An anti-IL-4R antibody may inhibit an IL-4-mediated influx of cells involved in an immune or inflammatory response. An antibody may act by, for example, reducing proliferation, activation, migration, influx, or accumulation of a particular cell type, or by inhibiting a biological response directly or indirectly attributable to a particular cell type. Examples of particular cell types are

5 fibroblasts, mast cells, and eosinophils.

As discussed above, some conditions may be treated by suppressing a TH2-type immune response. IL-4R is associated with a TH2 response, and is one of the cytokines secreted by T-helper cells of type 2 (TH2 cells). An anti-IL-4R antibody may be administered to reduce a TH2-type immune response. The IL-4R antibody may be said to reduce proliferation of TH2 cells, to

10 suppress a TH2 response, to shift the immune response toward a TH1 response, or to favor a TH1-type response. Antagonists of other TH2-type cytokine(s), such as IL-5, IL-10, or IL-13, may be additionally administered to subjects who have a disorder involving elevated levels of such cytokines. Techniques for measuring the amount of such cytokines in a subject, e.g., in the subject's serum, are well known.

15 One embodiment of the invention is directed to a method for inhibiting IL-4-induced damage to epithellum, comprising administering an anti-IL-4R antibody to a subject who has, or is at risk of developing, a condition in which IL-4-mediated epithelial barrier disruption plays a role.

Particular embodiments of methods provided herein comprise administering an anti-IL-4R antibody to inhibit IL-4-induced damage to epithellum in the gastrointestinal tract or lung. Such

20 methods may be employed to prevent epithelial damage, or to restore epithelial barrier function (i.e., promote repair or healing of the epithelium). The ability of an anti-IL-4R antibody to inhibit IL-4-induced damage to epithellum may be confirmed in any of a number of suitable assays, such as those described herein.

Any inflammation associated with (or subsequent to) an infection also may be treated with

25 an anti-IL-4R antibody. The antibody may be administered to inhibit any IL-4-induced component of an inflammatory response resulting from microbial infection in the gastrointestinal tract, for example.

Combinations of two or more antibodies or antibody derivatives, or of an antibody or antibody derivative and one or more other IL-4, IL-13, IL-4R and/or IL-13R antagonists (as

30 described, for example, in US Patents 5,599,905, 5,840,869, 5,858,296, 5,767,065, 5,717,072, 6,391,581, 5,710,023, Idzerda *et al.*, 1990, J. Exp. Med. 171:861-73, and Mosley *et al.*, 1989, Cell 59:335-48, incorporated herein by reference in their entireties) may be employed in methods and compositions of the present invention.

Oligonucleotide-directed site-specific mutagenesis procedures can be employed to

35 provide an altered gene having particular codons altered according to the substitution, deletion, or insertion required. Examples of techniques for making such alterations are described in Walder *et al.*, 1988, Gene 42:133; Bauer *et al.* 1985, Gene 37:73; Cralk, BioTechniques, January 1985, 12-19; Smith *et al.*, 1981, *Genetic Engineering: Principles and Methods*, Plenum Press; and U.S. Patent Nos. 4,518,584 and 4,737,462. These and other methods can be used to make, for

40 example, derivatives of anti-IL-4R antibodies that have, for example, increased affinity, avidity, or specificity for IL-4R as compared to the underivatized antibody.

Other derivatives of anti-IL-4R antibodies within the scope of this invention include covalent or aggregative conjugates of anti-IL-4R antibodies, or fragments thereof, with other proteins or polypeptides, such as by expression of recombinant fusion proteins comprising heterologous polypeptides fused to the N-terminus or C-terminus of an anti-IL-4R antibody polypeptide. For example, the conjugated peptide may be a heterologous signal (or leader) polypeptide, e.g., the yeast alpha-factor leader, or a peptide such as an epitope tag. Anti-IL-4R antibody-containing fusion proteins can comprise peptides added to facilitate purification or identification of the anti-IL-4R antibody (e.g., poly-His). An anti-IL-4R antibody polypeptide also can be linked to the FLAG peptide Asp-Tyr-Lys-Asp-Asp-Asp-Lys (DYKDDDDK) (SEQ ID NO:89) as described in Hopp *et al.*, *Bio/Technology* 6:1204, 1988, and U.S. Patent 5,011,912. The FLAG peptide is highly antigenic and provides an epitope reversibly bound by a specific monoclonal antibody (mAb), enabling rapid assay and facile purification of expressed recombinant protein. Reagents useful for preparing fusion proteins in which the FLAG peptide is fused to a given polypeptide are commercially available (Sigma, St. Louis, MO).

Oligomers that contain one or more anti-IL-4R antibody polypeptides may be employed as IL-4R antagonists. Oligomers may be in the form of covalently-linked or non-covalently-linked dimers, trimers, or higher oligomers. Oligomers comprising two or more anti-IL-4R antibody polypeptides are contemplated for use, with one example being a homodimer. Other oligomers include heterodimers, heterotrimers, etc.

One embodiment is directed to oligomers comprising multiple anti-IL-4R antibody polypeptides joined via covalent or non-covalent interactions between peptide moieties fused to the anti-IL-4R antibody polypeptides. Such peptides may be peptide linkers (spacers), or peptides that have the property of promoting oligomerization. Leucine zippers and certain polypeptides derived from antibodies are among the peptides that can promote oligomerization of IL-4R polypeptides attached thereto, as described in more detail below.

In particular embodiments, the oligomers comprise from two to four anti-IL-4R antibody polypeptides. The anti-IL-4R antibody moieties of the oligomer may be in any of the forms described above, e.g., variants or fragments. Preferably, the oligomers comprise anti-IL-4R antibody polypeptides that have IL-4R binding activity.

In one embodiment, an oligomer is prepared using polypeptides derived from immunoglobulins. Preparation of fusion proteins comprising certain heterologous polypeptides fused to various portions of antibody-derived polypeptides (including the Fc domain) has been described, e.g., by Ashkenazi *et al.*, 1991, PNAS USA 88:10535; Byrn *et al.*, 1990, Nature 344:677; and Hollenbaugh *et al.*, 1992 "Construction of Immunoglobulin Fusion Proteins", in *Current Protocols in Immunology*, Suppl. 4, pages 10.19.1 - 10.19.11.

One embodiment of the present invention is directed to a dimer comprising two fusion proteins created by fusing an IL-4R binding fragment of an anti-IL-4R antibody to the Fc region of an antibody. The dimer can be made by, for example, inserting a gene fusion encoding the fusion protein into an appropriate expression vector, expressing the gene fusion in host cells transformed with the recombinant expression vector, and allowing the expressed fusion protein to assemble much like antibody molecules, whereupon interchain disulfide bonds form between the Fc moieties to yield the dimer.

The term "Fc polypeptide" as used herein includes native and mutain forms of polypeptides derived from the Fc region of an antibody. Truncated forms of such polypeptides containing the hinge region that promotes dimerization are also included. Fusion proteins comprising Fc moieties (and oligomers formed therefrom) offer the advantage of facile purification by affinity chromatography over Protein A or Protein G columns.

One suitable Fc polypeptide, described in PCT application WO 93/10151 (hereby incorporated by reference), is a single chain polypeptide extending from the N-terminal hinge region to the native C-terminus of the Fc region of a human IgG1 antibody. Another useful Fc polypeptide is the Fc mutain described in U.S. Patent 5,457,035 and in Baum *et al.*, 1994, EMBO J. 13:3992-4001. The amino acid sequence of this mutain is identical to that of the native Fc sequence presented in WO 93/10151, except that amino acid 19 has been changed from Leu to Ala, amino acid 20 has been changed from Leu to Glu, and amino acid 22 has been changed from Gly to Ala. The mutain exhibits reduced affinity for Fc receptors.

In other embodiments, the variable portion of the heavy and/or light chains of an anti-IL-4R antibody may be substituted for the variable portion of an antibody heavy and/or light chain.

Alternatively, the oligomer is a fusion protein comprising multiple anti-IL-4R antibody polypeptides, with or without peptide linkers (spacer peptides). Among the suitable peptide linkers are those described in U.S. Patents 4,751,180 and 4,935,233.

Another method for preparing oligomeric anti-IL-4R antibody derivatives involves use of a leucine zipper. Leucine zipper domains are peptides that promote oligomerization of the proteins in which they are found. Leucine zippers were originally identified in several DNA-binding proteins (Landschutz *et al.*, 1988, Science 240:1759), and have since been found in a variety of different proteins. Among the known leucine zippers are naturally occurring peptides and derivatives thereof that dimerize or trimerize. Examples of leucine zipper domains suitable for producing soluble oligomeric proteins are described in PCT application WO 94/10308, and the leucine zipper derived from lung surfactant protein D (SPD) described in Hoppe *et al.*, 1994, FEBS Letters 344:191, hereby incorporated by reference. The use of a modified leucine zipper that allows for stable trimerization of a heterologous protein fused thereto is described in Fanslow *et al.*, 1994, Semin. Immunol. 6:267-78. In one approach, recombinant fusion proteins comprising an anti-IL-4R antibody fragment or derivative fused to a leucine zipper peptide are expressed in suitable host cells, and the soluble oligomeric anti-IL-4R antibody fragments or derivatives that form are recovered from the culture supernatant.

Anti-IL-4R antibody polypeptides and fusion proteins described herein may be prepared by any of a number of conventional techniques. For example, anti-IL-4R antibody polypeptides may be purified from cells that naturally express them, or they may be produced in recombinant expression systems, using any technique known in the art.

Any expression system known in the art can be used to make the recombinant polypeptides of the invention. In general, host cells are transformed with a recombinant expression vector that comprises DNA encoding a desired anti-IL-4R antibody polypeptide. Among the host cells that may be employed are prokaryotes, yeast or higher eukaryotic cells. Prokaryotes include gram negative or gram positive organisms, for example *E. coli* or *Bacillus*. Higher eukaryotic cells include insect cells and established cell lines of mammalian origin.

Examples of suitable mammalian host cell lines include the COS-7 line of monkey kidney cells (ATCC CRL 1651) (Gluzman *et al.*, 1981, Cell 23:175), L cells, 293 cells, C127 cells, 3T3 cells (ATCC CCL 163), Chinese hamster ovary (CHO) cells, HeLa cells, BHK (ATCC CRL 10) cell lines, and the CV1/EBNA cell line derived from the African green monkey kidney cell line CV1 (ATCC CCL 70) as described by McMahon *et al.*, 1981, EMBO J. 10: 2821. Appropriate cloning and expression vectors for use with bacterial, fungal, yeast, and mammalian cellular hosts are described by Pouwels *et al.* (*Cloning Vectors: A Laboratory Manual*, Elsevier, New York, 1985).

The transformed cells are cultured under conditions that promote expression of the anti-IL-4R antibody polypeptide, and the polypeptide is recovered by conventional protein purification procedures. One such purification procedure includes the use of affinity chromatography, *e.g.*, over a matrix having all or a portion (*e.g.*, the extracellular domain) of IL-4R bound thereto. Polypeptides contemplated for use herein include substantially homogeneous recombinant mammalian anti-IL-4R antibody polypeptides substantially free of contaminating endogenous materials.

In one aspect, the present invention provides antibodies that interfere with the binding of IL-4 to an IL-4 receptor. Such antibodies, referred to herein as blocking antibodies, may be raised against IL-4R, or a fragment, variant or derivative thereof, and screened in conventional assays for the ability to interfere with binding of IL-4 to IL-4 receptors. Examples of suitable assays are assays that test the antibodies for the ability to inhibit binding of IL-4 to cells expressing IL-4R, or that test antibodies for the ability to reduce a biological or cellular response that results from the binding of IL-4 to cell surface IL-4 receptors.

It has been reported that IL-4R alpha is a component of certain multi-subunit IL-13 receptor complexes (Zurawski *et al.*, 1995, J. Biol. Chem. 270: 13868; de Vries, 1998, J. Allergy Clin. Immunol. 102:165; and Callard *et al.*, 1998, Immunology Today, 17:108, each incorporated by reference herein). Accordingly, in one embodiment, an antibody is provided that blocks binding of IL-4 and also of IL-13 to cells. The antibodies inhibit IL-4-induced biological activity and also inhibit IL-13-induced activity, and thus may be employed in treating conditions induced by either or both cytokines. Examples of such conditions include but are not limited to IgE-mediated conditions, asthma, allergic conditions, allergic rhinitis, and dermatitis including atopic dermatitis.

Antibodies that bind to IL-4R alpha may be screened in various conventional assays to determine whether they interfere with the binding of IL-13 to IL-4R alpha-containing IL-13 receptor complexes. Antibodies may be screened, for example, in binding assays or tested for the ability to inhibit an IL-13-induced biological activity. An example of a suitable assay is illustrated in Example 2 below.

Antibodies specific for IL-4R alpha may be prepared using any technique known in the art. See, for example, *Monoclonal Antibodies, Hybridomas: A New Dimension in Biological Analyses*, Kennet *et al.* (eds.), Plenum Press, New York (1980); and *Antibodies: A Laboratory Manual*, Harlow and Land (eds.), Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY, (1988).

Antigen-binding fragments of antibodies of the invention may be produced by conventional techniques. Examples of such fragments include, but are not limited to, Fab and F(ab')₂ fragments. Antibody fragments and derivatives produced by genetic engineering techniques are also contemplated. Unless otherwise specified, the terms "antibody" and "monoclonal antibody"

as used herein encompass both whole antibodies and antigen-binding fragments and/or derivatives thereof.

Additional embodiments include chimeric antibodies, e.g., humanized versions of murine monoclonal antibodies. Such humanized antibodies may be prepared by known techniques, and offer the advantage of reduced immunogenicity when the antibodies are administered to humans. In one embodiment, a humanized monoclonal antibody comprises the variable domain of a murine antibody (or all or part of the antigen binding site thereof) and a constant domain derived from a human antibody. Alternatively, a humanized antibody fragment may comprise the antigen binding site of a murine monoclonal antibody and a variable domain fragment (lacking the antigen-binding site) derived from a human antibody. Procedures for the production of chimeric and further engineered monoclonal antibodies include those described in Riechmann *et al.*, 1988, *Nature* 332:323, Liu *et al.*, 1987, *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 84:3439, Larrick *et al.*, 1989, *BioTechnology* 7:934, and Winter *et al.*, 1993, *TIPS* 14:139. In one embodiment, the chimeric antibody is a CDR grafted antibody.

Procedures have been developed for generating human or partially human antibodies in non-human animals. For example, mice in which one or more endogenous immunoglobulin genes have been inactivated by various means have been prepared. Human immunoglobulin genes have been introduced into the mice to replace the inactivated mouse genes. Antibodies produced in the animal incorporate human immunoglobulin polypeptide chains encoded by the human genetic material introduced into the animal. In one embodiment, a non-human animal, such as a transgenic mouse, is immunized with an IL-4R polypeptide, such that antibodies directed against the IL-4R polypeptide are generated in said animal. One example of a suitable immunogen is a soluble human IL-4R, such as a polypeptide comprising the extracellular domain of the protein of SEQ ID NO:2, or other immunogenic fragment of the protein of SEQ ID NO:2.

Examples of techniques for production and use of transgenic animals for the production of human or partially human antibodies are described in U.S. Patents 5,814,318, 5,589,825, and 5,545,806, which are incorporated by reference herein.

In another aspect, the present invention provides monoclonal antibodies that bind to IL-4 receptor. Monoclonal antibodies may be produced using any technique known in the art, e.g., by immortalizing spleen cells harvested from the transgenic animal after completion of the immunization schedule. The spleen cells can be immortalized using any technique known in the art, e.g., by fusing them with myeloma cells to produce hybridomas. Myeloma cells for use in hybridoma-producing fusion procedures preferably are non-antibody-producing, have high fusion efficiency, and enzyme deficiencies that render them incapable of growing in certain selective media which support the growth of only the desired fused cells (hybridomas). Examples of suitable cell lines for use in mouse fusions include Sp-20, P3-X63/Ag8, P3-X63-Ag8.653, NS1/1.Ag 4 1, Sp210-Ag14, FO, NSO/U, MPC-11, MPC11-X45-GTG 1.7 and S194/5XX0 Bul; examples of cell lines used in rat fusions include R210.RCY3, Y3-Ag 1.2.3, IR983F and 4B210. Other cell lines useful for cell fusions are U-266, GM1500-GRG2, LICR-LON-HMy2 and UC729-6.

In one embodiment, a hybridoma cell line is produced by immunizing an animal (e.g., a transgenic animal having human immunoglobulin sequences) with an IL-4R immunogen; harvesting spleen cells from the immunized animal; fusing the harvested spleen cells to a

myeloma cell line, thereby generating hybridoma cells; establishing hybridoma cell lines from the hybridoma cells, and identifying a hybridoma cell line that produces an antibody that binds an IL-4R polypeptide. Such hybridoma cell lines, and anti-IL-4R monoclonal antibodies produced therefrom, are encompassed by the present invention.

5 Monoclonal antibodies secreted by a hybridoma cell line can be purified using any technique known in the art. Hybridomas or mAbs may be further screened to identify mAbs with particular properties, such as the ability to block an IL-4- and/or an IL-13-induced activity. Example of such screens are provided in Examples 2, 3, and 4.

Further examples of procedures for preparing antibodies directed against human IL-4
10 (including monoclonal antibodies), assays by which blocking antibodies are identified, and techniques for generating humanized or genetically engineered derivatives of anti-IL-4 antibodies, are described in U.S. Patents 5,041,381, 5,863,537, 5,928,904, and 5,676,940, which are hereby incorporated by reference. Further examples of antibodies that may be employed as IL-4 antagonists are described in WO 91/09059, also incorporated by reference herein.

15 In another aspect, the present invention provides human antibodies that bind IL-4R. In one embodiment of the invention, human antibodies raised against IL-4R alpha and produced by techniques involving use of transgenic mice, block binding of IL-4 and also IL-13 to cells. Such antibodies are IL-4 antagonists and additionally function as IL-13 antagonists.

Antibodies of the invention can comprise any constant region known in the art. The light
20 chain constant region can be, for example, a kappa- or lambda-type light chain constant region, e.g., a human kappa- or lambda-type light chain constant region. The heavy chain constant region can be, for example, an alpha-, delta-, epsilon-, gamma-, or mu-type heavy chain constant regions, e.g., a human alpha-, delta-, epsilon-, gamma-, or mu-type heavy chain constant region. In one embodiment, the light or heavy chain constant region is a fragment, derivative, variant, or
25 mutin of a naturally occurring constant region.

Antibodies directed against an IL-4R can be used, for example, in assays to detect the presence of IL-4R polypeptides, either *in vitro* or *in vivo*. The antibodies also may be employed in purifying IL-4R proteins by immunoaffinity chromatography. Those antibodies that additionally can block binding of IL-4 to IL-4R may be used to inhibit a biological activity that results from such
30 binding. Blocking antibodies find use in the methods of the present invention. Such antibodies which function as IL-4 antagonists may be employed in treating any IL-4-induced condition, including but not limited to asthma and allergies, e.g., allergic rhinitis, contact dermatitis, and atopic dermatitis. In one embodiment, a human anti-IL-4R monoclonal antibody generated by procedures involving immunization of transgenic mice is employed in treating such conditions.

35 Antibodies may be employed in an *in vitro* procedure, or administered *in vivo* to inhibit an IL-4-induced biological activity. Disorders caused or exacerbated (directly or indirectly) by the interaction of IL-4 with cell surface IL-4 receptors, examples of which are provided above, thus may be treated. In one embodiment, the present invention provides a therapeutic method comprising *in vivo* administration of an IL-4 and/or IL-13 blocking antibody to a mammal in need
40 thereof in an amount effective for reducing an IL-4- and/or IL-13-induced biological activity.

Antibodies of the invention include, but are not limited to, partially human and fully human monoclonal antibodies that inhibit a biological activity of IL-4 and also inhibit a biological activity of

IL-13. One embodiment is directed to a human monoclonal antibody that at least partially blocks binding of IL-4 to a cell, and at least partially blocks binding of IL-13 to a cell. In one embodiment, the antibodies are generated by immunizing a transgenic mouse with an IL-4 receptor immunogen. In another embodiment, the immunogen is a human IL-4 receptor polypeptide.

- 5 Hybridoma cell lines derived from the thus-immunized mice, wherein the hybridoma secretes a monoclonal antibody that binds IL-4R, also are provided herein.

Although human, partially human, or humanized antibodies will be suitable for many applications, particularly those involving administration of the antibody to a human subject, other types of antibodies will be suitable for other applications. The non-human antibodies of the invention can be, for example, derived from any antibody-producing animal, such as mouse, rat, rabbit, goat, donkey, or non-human primate (such as monkey (e.g., cynomolgous or rhesus monkey) or ape (e.g., chimpanzee)). Non-human antibodies of the invention can be used, for example, in *in vitro* and cell-culture based applications, or any other application where an immune response to the antibody of the invention does not occur or is insignificant, can be prevented, is not a concern, or is desired. In one embodiment, a non-human antibody of the invention is administered to a non-human subject. In another embodiment, the non-human antibody does not elicit an immune response in the non-human subject. In another embodiment, the non-human antibody is from the same species as the non-human subject, e.g., a mouse antibody of the invention is administered to a mouse. An antibody from a particular species can be made by, for example, immunizing an animal of that species with the desired immunogen (e.g., a soluble IL-4 receptor polypeptide) or using an artificial system for generating antibodies of that species (e.g., a bacterial or phage display-based system for generating antibodies of a particular species), or by converting an antibody from one species into an antibody from another species by replacing, e.g., the constant region of the antibody with a constant region from the other species, or by replacing one or more amino acid residues of the antibody so that it more closely resembles the sequence of an antibody from the other species. In one embodiment, the antibody is a chimeric antibody comprising amino acid sequences derived from antibodies from two or more different species.

In another aspect, the present invention provides antibodies that comprise a light chain variable region selected from the group consisting of L1-L6 and/or a heavy chain variable region selected from the group consisting of H1-H24, and fragments, derivatives, muteins, and variants thereof (see Figures 2 and 3). Such an antibody can be denoted using the nomenclature "LxHy", wherein x corresponds to the number of the light chain variable region and y corresponds to the number of the heavy chain variable region as they are labeled in Figure 3. For example, L4H17 refers to an antibody with a light chain variable region comprising the amino acid sequence of L4 and a heavy chain variable region comprising the amino acid sequence of H17, as shown in Figure 3. Figures 2 and 3 also indicate the location of the CDR and framework regions of each of these variable domain sequences. Antibodies of the invention include, for example, L2H1, L3H1, L4H1, L5H1, L1H2, L1H3, L1H4, L1H5, L1H6, L1H7, L1H8, L1H9, L1H10, L1H11, L2H4, L2H12, L2H13, L2H14, L6H1, L2H2, L2H3, L2H6, L2H7, L2H8, L2H9, L2H10, and L2H11. Additional antibody variable sequences, e.g., human antibody variable sequences, also can be used. See, e.g., Sblattero *et al.*, 1998, *Immunotechnology* 3:271-78, de Haard *et al.*, 1999, *J. Biol. Chem.* 274:18218-30.

In one embodiment, the present invention provides an antibody comprising a light chain-variable domain comprising a sequence of amino acids that differs from the sequence of L1 only at one or more residues where any one of the sequences of L2-L6 differs from the sequence of L1 (e.g., said sequence of said antibody differs from the sequence of L1 at residue(s) 1, 4, 7 etc.). In another embodiment, said sequence of said light chain-variable domain comprises at least one amino acid residue of any of the sequence of any one of L2-L6 at a position where it differs from the sequence of L1 (e.g., said sequence comprises the residue(s) E1D, L4M, S7T, etc.). In another embodiment, said sequence differs from the sequence of L1 in at least one CDR (e.g., CDR1, CDR2, or CDR3). In another embodiment, said sequence differs from the sequence of L1 in at least one FR (e.g., FR1, FR2, FR3, or FR4). In another embodiment, the present invention provides an antibody comprising a heavy chain-variable domain comprising a sequence of amino acids that differs from the sequence of H1 only at one or more residues where any one of the sequences of H2-H24 differs from the sequence of H1 (e.g., said sequence of said antibody differs from the sequence of H1 at residue(s) 6, 13, 24 etc.). In another embodiment, said sequence of said heavy chain-variable domain comprises at least one amino acid residue of any of the sequence of any one of H2-H24 at a position where it differs from the sequence of H1 (e.g., said sequence comprises the residue(s) Q6E, H13Q, G24A, etc.). In another embodiment, said sequence differs from the sequence of H1 in at least one CDR (e.g., CDR2 or CDR3). In another embodiment, said sequence differs from the sequence of H1 in at least one FR (e.g., FR1 or FR3).

In another embodiment, the present invention provides an antibody comprising an amino acid sequence selected from the group consisting of: a light chain complementarity determining region (CDR) 1 that differs by the insertion, deletion, or substitution of no more than 3, 2, 1, or 0 amino acid residues from a sequence selected from the group consisting of: residues 24-35 of SEQ ID NO:8, wherein the N at residue 6 is not substituted by an S; residues 24-35 of SEQ ID NO:8, wherein the T at residue 5 is not substituted by an S and/or the N at residue 7 is not substituted by an S and/or the D at residue 9 is not substituted by an S; residues 24-35 of SEQ ID NO:10, wherein the D at residue 9 is not substituted by an S; residues 24-35 of SEQ ID NO:12, wherein the N at residue 7 is not substituted by S and/or the N at residue 9 is not substituted by an S; and residues 24-35 of SEQ ID NO:14, wherein the G at residue 7 is not substituted by an S; a light chain CDR2 that differs by the insertion, deletion, or substitution of no more than 3, 2, 1, or 0 amino acid residues from a sequence selected from the group consisting of: residues 51-57 of SEQ ID NO:8, wherein the P at residue 7 is not substituted by a T; residues 51-57 of SEQ ID NO:10, wherein the S at residue 7 is not substituted by a T; and residues 51-57 of SEQ ID NO:12, wherein the T at residue 2 is not substituted by an A and/or the Y at residue 4 is not substituted by an S; a light chain CDR3 that differs by the insertion, deletion, or substitution of no more than 3, 2, 1, or 0 amino acid residues from a sequence selected from the group consisting of: residues 90-99 of SEQ ID NO:8, wherein the D at residue 4 is not substituted by a G, the H at residue 5 is not substituted by an S, the A at residue 7 is not substituted by a P, and/or the G at residue 8 is not substituted by a P; residues 90-99 of SEQ ID NO:8, wherein the R at residue 5 is not substituted by an S; and residues 90-99 of SEQ ID NO:14, wherein the M at residue 10 is not substituted by a T; a heavy chain CDR2 that differs by the insertion, deletion, or substitution of no more than 3

amino acid residues from the sequence of residues 50-85 of SEQ ID NO:18, wherein the S at residue 9 is not substituted by an N; and a heavy chain CDR3 that differs by the insertion, deletion, or substitution of no more than 3, 2, 1, or 0 amino acid residues from a sequence selected from the group consisting of: residues 98-104 of SEQ ID NO:18, wherein the T at residue 6 is not substituted by a D and/or the H at residue 7 is not substituted by a Y; residues 98-104 of SEQ ID NO:20, wherein the W at residue 4 is not substituted by a Y, the Y at residue 5 is not substituted by an F, the N at residue 6 is not substituted by a D, and/or the N at residue 7 is not substituted by a Y; residues 98-104 of SEQ ID NO:22, wherein the P at residue 6 is not substituted by a D and/or the W at residue 7 is not substituted by a Y; residues 98-104 of SEQ ID NO:24, wherein the T at residue 6 is not substituted by a D and/or the R at position 7 is not substituted by a Y; residues 98-104 of SEQ ID NO:26, wherein the Y at residue 5 is not substituted by an F; residues 98-104 of SEQ ID NO:30, wherein the W at residue 4 is not substituted by a Y; and residues 98-104 of SEQ ID NO:34, wherein the W at residue 4 is not substituted by a Y and/or the Y at residue 5 is not substituted by an F; wherein said antibody binds to IL-4 receptor alpha.

In another embodiment, the antibody inhibits the binding of IL-4 to an IL-4 receptor. In another embodiment, the antibody inhibits the binding of IL-13 to an IL-13 receptor. In another embodiment, the antibody inhibits the binding of IL-4 to an IL-4 receptor and of IL-13 to an IL-13 receptor. In another embodiment, the antibody specifically binds IL-4 receptor alpha.

In another embodiment, the antibody comprises two or three such light chain complementarity determining regions (CDR).

In another embodiment, the antibody comprises two or three such heavy chain complementarity determining regions.

In another embodiment, the antibody further comprises a framework segment (FR) comprising a sequence selected from the group consisting of: a light chain framework segment (FR) 1 that differs by the insertion, deletion, or substitution of no more than 3, 2, 1, or 0 amino acid residues from a sequence selected from the group consisting of: residues 1-23 of SEQ ID NO:4; residues 1-23 of SEQ ID NO:10; residues 1-23 of SEQ ID NO:12; and residues 1-23 of SEQ ID NO:14; a light chain FR2 that differs by the insertion, deletion, or substitution of no more than 3, 2, 1, or 0 amino acid residues from a sequence selected from the group consisting of: residues 36-50 of SEQ ID NO:4; residues 36-50 of SEQ ID NO:6; and residues 36-50 of SEQ ID NO:14; a light chain FR3 that differs by the insertion, deletion, or substitution of no more than 3, 2, 1, or 0 amino acid residues from a sequence selected from the group consisting of: residues 58-89 of SEQ ID NO:4; residues 58-89 of SEQ ID NO:10; and residues 58-89 of SEQ ID NO:12; a light chain FR4 that differs by the insertion, deletion, or substitution of no more than 3, 2, 1, 0 amino acid residues from a sequence selected from the group consisting of: residues 100-109 of SEQ ID NO:4; residues 100-109 of SEQ ID NO:8; and residues 100-109 of SEQ ID NO:12; a heavy chain FR1 that differs by the insertion, deletion, or substitution of no more than 3, 2, 1, or 0 amino acid residues from a sequence selected from the group consisting of: residues 1-30 of SEQ ID NO:16; and residues 1-30 of SEQ ID NO:42; heavy chain FR2 that differs by the insertion, deletion, or substitution of no more than 3, 2, 1, or 0 amino acid residues from the sequence residues 36-49 of SEQ ID NO:16, a heavy chain FR3 that differs by the insertion, deletion, or substitution of no more than 3, 2, 1, or 0 amino acid residues from a sequence selected from the group consisting of:

residues 86-97 of SEQ ID NO:18; residues 86-97 of SEQ ID NO:18; and residues 86-97 of SEQ ID NO:42; and a heavy chain FR4 that differs by the insertion, deletion, or substitution of no more than 3 amino acid residues from the sequence residues 105-115 of SEQ ID NO:18.

In another embodiment, the antibody comprises a light chain variable domain that is at least 80, 85, 90, 95, or 100% identical to a sequence selected from the group consisting of: SEQ ID NO:8, 8, 10, 12, and 14, with the proviso that the said light chain variable domain does not comprise the sequence of SEQ ID NO:4.

In another embodiment, the antibody comprises a heavy chain variable domain that is at least 80, 85, 90, 95, or 100% identical to a sequence selected from the group consisting of: SEQ ID NO:18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 46, 48, 50, 52, 54, 56, 58, 60, and 62 with the proviso that said heavy chain variable domain does not comprise the sequence of SEQ ID NO:16.

In another embodiment, the present invention provides a fragment of such an antibody, wherein said fragment binds to IL-4 receptor alpha.

In one embodiment, particular antibodies of the invention are selected from the group consisting of L2H1; an antibody that is cross-reactive L2H1, an antibody that binds to the same epitope as L2H1; an antibody that competes with L2H1 for binding to a cell that expresses human IL-4R; an antibody that possesses a biological activity of L2H1 and an antigen-binding fragment (including one derived by recombinant means) of L2H1. In one embodiment, the antibody has a binding affinity for human IL-4R that is substantially equivalent to the binding affinity of L2H1 for human IL-4R. Hybridoma cell lines that produce any such antibodies also are provided by the present invention.

One example of a biological activity of L2H1 is the ability to function as both an IL-4 antagonist and an IL-13 antagonist. In one embodiment, an antibody of the invention possesses IL-4-blocking activity substantially equivalent to that of L2H1; and possesses IL-13-blocking activity substantially equivalent to that of L2H1. Such activity may be measured in any suitable conventional assay (e.g., as measured in the CD23 expression assay described in Example 2).

Complementarity determining regions (CDRs) of a given antibody may be identified using the system described by Kabat *et al.* in *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, 5th Ed., US Dept. of Health and Human Services, PHS, NIH, NIH Publication no. 91-3242, 1991. Particular embodiments of antibodies of the present invention comprise, within the variable domain of their light chain, at least one of the complementarity determining regions (CDRs), or hypervariable regions, found in the light chain of L2H1. CDRs of L2H1 are discussed in Example 5. Thus, among the antibodies provided herein are those comprising from one to all three of the following sequences in the light chain variable domain of L2H1: amino acid residues 24-35; residues 51-57; and residues 90-99 of SEQ ID NO:6. Particular antibodies provided herein comprise, within the variable domain of their heavy chain, at least one of the CDRs found in the heavy chain of L2H1. Thus, among the antibodies provided herein are those comprising from one to all three of the following sequences in the heavy chain variable domain: residues 31-35; residues 50-65; and residues 98-104 of SEQ ID NO:16.

The DNA sequence of the variable domain of the light chain of L2H1 is presented in SEQ ID NO:5, and the encoded amino acid sequence is presented in SEQ ID NO:6. The DNA

sequence for the variable domain of the heavy chain of L2H1 is presented as SEQ ID NO:15, and the encoded amino acid sequence is presented in SEQ ID NO:16. Antibodies of the present invention include, but are not limited to, antibodies that comprise, in their light chain, SEQ ID NO:6; and antibodies that additionally or alternatively comprise, in their heavy chain, SEQ ID NO:16.

In another embodiment, particular antibodies of the invention are selected from the group consisting of L3H1; an antibody that is cross-reactive with L3H1; an antibody that binds to the same epitope as L3H1; an antibody that competes with L3H1 for binding to a cell that expresses human IL-4R; an antibody that possesses a biological activity of L3H1; and an antigen-binding fragment of any of the foregoing antibodies. In one embodiment, the antibody has a binding affinity for human IL-4R that is substantially equivalent to the binding affinity of L3H1 for human IL-4R. Hybridoma cell lines that produce any such antibodies also are provided by the present invention.

One example of a biological activity of L3H1 is the ability to function as both an IL-4 antagonist and an IL-13 antagonist. In one embodiment, an antibody of the invention possesses IL-4-blocking activity substantially equivalent to that of L3H1, and possesses IL-13-blocking activity substantially equivalent to that of L3H1. Such activity may be measured in any suitable conventional assay (e.g., as measured in the CD23 expression assay described in Example 2).

IgG4 antibodies derived from L3H1 are provided herein. Another embodiment is directed to IgM antibodies derived from L3H1. Procedures for switching (altering) the subclass or isotype of an antibody are known in the pertinent field. Such procedures may involve, for example, recombinant DNA technology, whereby DNA encoding antibody polypeptide chains that confer the desired subclass is substituted for DNA encoding the corresponding polypeptide chain of the parent antibody.

The DNA sequence of the variable domain of the light chain of L3H1 is presented in SEQ ID NO:7, and the encoded amino acid sequence is presented in SEQ ID NO:8. The DNA sequence for the variable domain of the heavy chain of L3H1 is presented as SEQ ID NO:15, and the encoded amino acid sequence is presented in SEQ ID NO:16. Antibodies of the present invention include, but are not limited to, antibodies that comprise, in their light chain, residues 1 to 109 of SEQ ID NO:8; and antibodies that additionally or alternatively comprise, in their heavy chain, residues 1 to 115 of SEQ ID NO:16.

Particular embodiments of antibodies of the present invention comprise, within the variable domain of their light chain, at least one of the complementarity determining regions (CDRs), or hypervariable regions, found in the light chain of L3H1. CDRs of L3H1 are discussed in example 5. Thus, among the antibodies provided herein are those comprising from one to all three of the following sequences in the light chain variable domain: amino acid residues 24-35; residues 51-57; and residues 80-89 of SEQ ID NO:8. Particular antibodies provided herein comprise, within the variable domain of their heavy chain, at least one of the CDRs found in the heavy chain of L3H1. Thus, among the antibodies provided herein are those comprising from one to all three of the following sequences in the heavy chain variable domain: residues 31-35; residues 50-65; and residues 98-104 of SEQ ID NO:16.

In another embodiment, particular antibodies of the invention are selected from the group consisting of L4H1; an antibody that is cross-reactive with L4H1; an antibody that binds to the same epitope as L4H1; an antibody that competes with L4H1 for binding to a cell that expresses human IL-4R; an antibody that possesses a biological activity of L4H1; and an antigen-binding
 5 fragment of any of the foregoing antibodies. In one embodiment, the antibody has a binding affinity for human IL-4R that is substantially equivalent to the binding affinity of L4H1 for human IL-4R. Hybridoma cell lines that produce any such antibodies also are provided by the present invention.

One example of a biological activity of L4H1 is the ability to function as both an IL-4
 10 antagonist and an IL-13 antagonist. In one embodiment, an antibody of the invention possesses IL-4-blocking activity substantially equivalent to that of L4H1; and possesses IL-13-blocking activity substantially equivalent to that of L4H1. Such activity may be measured in any suitable conventional assay (e.g., as measured in the CD23 expression assay described in Example 2).

The DNA sequence of the variable domain of the light chain of L4H1 is presented in SEQ
 15 ID NO:9, and the encoded amino acid sequence is presented in SEQ ID NO:10. The DNA sequence for the variable domain of the heavy chain of L4H1 is presented as SEQ ID NO:15, and the encoded amino acid sequence is presented in SEQ ID NO:16. Antibodies of the present invention include, but are not limited to, antibodies that comprise, in their light chain, residues 1 to 109 of SEQ ID NO:10; and antibodies that additionally or alternatively comprise, in their heavy
 20 chain, residues 1 to 115 of SEQ ID NO:16.

Particular embodiments of antibodies of the present invention comprise, within the variable domain of their light chain, at least one of the complementarity determining regions (CDRs), or hypervariable regions, found in the light chain of L4H1. CDRs of L4H1 are discussed
 25 in example 5. Thus, among the antibodies provided herein are those comprising from one to all three of the following sequences in the light chain variable domain: amino acid residues 24-35; residues 51-57; and residues 90-99 of SEQ ID NO:10. Particular antibodies provided herein comprise, within the variable domain of their heavy chain, at least one of the CDRs found in the heavy chain of L4H1. Thus, among the antibodies provided herein are those comprising from one to all three of the following sequences in the heavy chain variable domain: residues 31-35;
 30 residues 50-65; and residues 99-104 of SEQ ID NO:16.

In another embodiment, particular antibodies of the invention are selected from the group consisting of L5H1; an antibody that is cross-reactive with L5H1; an antibody that binds to the same epitope as L5H1; an antibody that competes with L5H1 for binding to a cell that expresses human IL-4R; an antibody that possesses a biological activity of L5H1; and an antigen-binding
 35 fragment of any of the foregoing antibodies. In one embodiment, the antibody has a binding affinity for human IL-4R that is substantially equivalent to the binding affinity of L5H1 for human IL-4R. Hybridoma cell lines that produce any such antibodies also are provided by the present invention.

One example of a biological activity of L5H1 is the ability to function as both an IL-4
 40 antagonist and an IL-13 antagonist. In one embodiment, an antibody of the invention possesses IL-4-blocking activity substantially equivalent to that of L5H1; and possesses IL-13-blocking activity

substantially equivalent to that of L5H1. Such activity may be measured in any suitable conventional assay (e.g., as measured in the CD23 expression assay described in Example 2).

The DNA sequence of the variable domain of the light chain of L5H1 is presented in SEQ ID NO:11, and the encoded amino acid sequence is presented in SEQ ID NO:12. The DNA sequence for the variable domain of the heavy chain of L5H1 is presented as SEQ ID NO:15, and the encoded amino acid sequence is presented in SEQ ID NO:16. Antibodies of the present invention include, but are not limited to, antibodies that comprise, in their light chain, residues 1 to 109 of SEQ ID NO:12; and antibodies that additionally or alternatively comprise, in their heavy chain, residues 1 to 115 of SEQ ID NO:16.

Particular embodiments of antibodies of the present invention comprise, within the variable domain of their light chain, at least one of the complementarity determining regions (CDRs), or hypervariable regions, found in the light chain of L5H1. CDRs of L5H1 are discussed in example 5. Thus, among the antibodies provided herein are those comprising from one to all three of the following sequences in the light chain variable domain: amino acid residues 24-35; residues 51-57; and residues 90-99 of SEQ ID NO:12. Particular antibodies provided herein comprise, within the variable domain of their heavy chain, at least one of the CDRs found in the heavy chain of L5H1. Thus, among the antibodies provided herein are those comprising from one to all three of the following sequences in the heavy chain variable domain: residues 31-35; residues 50-65; and residues 98-104 of SEQ ID NO:16.

In another embodiment, particular antibodies of the invention are selected from the group consisting of L1H2; an antibody that is cross-reactive with L1H2; an antibody that binds to the same epitope as L1H2; an antibody that competes with L1H2 for binding to a cell that expresses human IL-4R; an antibody that possesses a biological activity of L1H2; and an antigen-binding fragment of any of the foregoing antibodies. In one embodiment, the antibody has a binding affinity for human IL-4R that is substantially equivalent to the binding affinity of L1H2 for human IL-4R. Hybridoma cell lines that produce any such antibodies also are provided by the present invention.

One example of a biological activity of L1H2 is the ability to function as both an IL-4 antagonist and an IL-13 antagonist. In one embodiment, an antibody of the invention possesses IL-4-blocking activity substantially equivalent to that of L1H2; and possesses IL-13-blocking activity substantially equivalent to that of L1H2. Such activity may be measured in any suitable conventional assay (e.g., as measured in the CD23 expression assay described in Example 2).

The DNA sequence of the variable domain of the light chain of L1H2 is presented in SEQ ID NO:3, and the encoded amino acid sequence is presented in SEQ ID NO:4. The DNA sequence for the variable domain of the heavy chain of L1H2 is presented as SEQ ID NO:17, and the encoded amino acid sequence is presented in SEQ ID NO:18. Antibodies of the present invention include, but are not limited to, antibodies that comprise, in their light chain, residues 1 to 109 of SEQ ID NO:4; and antibodies that additionally or alternatively comprise, in their heavy chain, residues 1 to 115 of SEQ ID NO:18.

Particular embodiments of antibodies of the present invention comprise, within the variable domain of their light chain, at least one of the complementarity determining regions (CDRs), or hypervariable regions, found in the light chain of L1H2. CDRs of L1H2 are discussed

in example 5. Thus, among the antibodies provided herein are those comprising from one to all three of the following sequences in the light chain variable domain: amino acid residues 24-35; residues 51-57; and residues 90-99 of SEQ ID NO:4. Particular antibodies provided herein comprise, within the variable domain of their heavy chain, at least one of the CDRs found in the heavy chain of L1H2. Thus, among the antibodies provided herein are those comprising from one to all three of the following sequences in the heavy chain variable domain: residues 31-35; residues 50-65; and residues 98-104 of SEQ ID NO:18.

In another embodiment, particular antibodies of the invention are selected from the group consisting of L1H3; an antibody that is cross-reactive with L1H3; an antibody that binds to the same epitope as L1H3; an antibody that competes with L1H3 for binding to a cell that expresses human IL-4R; an antibody that possesses a biological activity of L1H3; and an antigen-binding fragment of any of the foregoing antibodies. In one embodiment, the antibody has a binding affinity for human IL-4R that is substantially equivalent to the binding affinity of L1H3 for human IL-4R. Hybridoma cell lines that produce any such antibodies also are provided by the present invention.

One example of a biological activity of L1H3 is the ability to function as both an IL-4 antagonist and an IL-13 antagonist. In one embodiment, an antibody of the invention possesses IL-4-blocking activity substantially equivalent to that of L1H3; and possesses IL-13-blocking activity substantially equivalent to that of L1H3. Such activity may be measured in any suitable conventional assay (e.g., as measured in the CD23 expression assay described in Example 2).

The DNA sequence of the variable domain of the light chain of L1H3 is presented in SEQ ID NO:3, and the encoded amino acid sequence is presented in SEQ ID NO:4. The DNA sequence for the variable domain of the heavy chain of L1H3 is presented as SEQ ID NO:19, and the encoded amino acid sequence is presented in SEQ ID NO:20. Antibodies of the present invention include, but are not limited to, antibodies that comprise, in their light chain, residues 1 to 109 of SEQ ID NO:4; and antibodies that additionally or alternatively comprise, in their heavy chain, residues 1 to 115 of SEQ ID NO:20.

Particular embodiments of antibodies of the present invention comprise, within the variable domain of their light chain, at least one of the complementarity determining regions (CDRs), or hypervariable regions, found in the light chain of L1H3. CDRs of L1H3 are discussed in example 5. Thus, among the antibodies provided herein are those comprising from one to all three of the following sequences in the light chain variable domain: amino acid residues 24-35; residues 51-57; and residues 90-99 of SEQ ID NO:4. Particular antibodies provided herein comprise, within the variable domain of their heavy chain, at least one of the CDRs found in the heavy chain of L1H3. Thus, among the antibodies provided herein are those comprising from one to all three of the following sequences in the heavy chain variable domain: residues 31-35; residues 50-65; and residues 98-104 of SEQ ID NO:20.

In another embodiment, particular antibodies of the invention are selected from the group consisting of L1H4; an antibody that is cross-reactive with L1H4; an antibody that binds to the same epitope as L1H4; an antibody that competes with L1H4 for binding to a cell that expresses human IL-4R; an antibody that possesses a biological activity of L1H4; and an antigen-binding fragment of any of the foregoing antibodies. In one embodiment, the antibody has a binding

affinity for human IL-4R that is substantially equivalent to the binding affinity of L1H4 for human IL-4R. Hybridoma cell lines that produce any such antibodies also are provided by the present invention.

One example of a biological activity of L1H4 is the ability to function as both an IL-4 antagonist and an IL-13 antagonist. In one embodiment, an antibody of the invention possesses IL-4-blocking activity substantially equivalent to that of L1H4; and possesses IL-13-blocking activity substantially equivalent to that of L1H4. Such activity may be measured in any suitable conventional assay (e.g., as measured in the CD23 expression assay described in Example 2).

The DNA sequence of the variable domain of the light chain of L1H4 is presented in SEQ ID NO:3, and the encoded amino acid sequence is presented in SEQ ID NO:4. The DNA sequence for the variable domain of the heavy chain of L1H4 is presented as SEQ ID NO:21, and the encoded amino acid sequence is presented in SEQ ID NO:22. Antibodies of the present invention include, but are not limited to, antibodies that comprise, in their light chain, residues 1 to 109 of SEQ ID NO:4; and antibodies that additionally or alternatively comprise, in their heavy chain, residues 1 to 115 of SEQ ID NO:22.

Particular embodiments of antibodies of the present invention comprise, within the variable domain of their light chain, at least one of the complementarity determining regions (CDRs), or hypervariable regions, found in the light chain of L1H4. CDRs of L1H4 are discussed in example 5. Thus, among the antibodies provided herein are those comprising from one to all three of the following sequences in the light chain variable domain: amino acid residues 24-35; residues 51-57; and residues 90-99 of SEQ ID NO:4. Particular antibodies provided herein comprise, within the variable domain of their heavy chain, at least one of the CDRs found in the heavy chain of L1H4. Thus, among the antibodies provided herein are those comprising from one to all three of the following sequences in the heavy chain variable domain: residues 31-35; residues 50-65; and residues 98-104 of SEQ ID NO:22.

In another embodiment, particular antibodies of the invention are selected from the group consisting of L1H5; an antibody that is cross-reactive with L1H5; an antibody that binds to the same epitope as L1H5; an antibody that competes with L1H5 for binding to a cell that expresses human IL-4R; an antibody that possesses a biological activity of L1H5; and an antigen-binding fragment of any of the foregoing antibodies. In one embodiment, the antibody has a binding affinity for human IL-4R that is substantially equivalent to the binding affinity of L1H5 for human IL-4R. Hybridoma cell lines that produce any such antibodies also are provided by the present invention.

One example of a biological activity of L1H5 is the ability to function as both an IL-4 antagonist and an IL-13 antagonist. In one embodiment, an antibody of the invention possesses IL-4-blocking activity substantially equivalent to that of L1H5; and possesses IL-13-blocking activity substantially equivalent to that of L1H5. Such activity may be measured in any suitable conventional assay (e.g., as measured in the CD23 expression assay described in Example 2).

The DNA sequence of the variable domain of the light chain of L1H5 is presented in SEQ ID NO:3, and the encoded amino acid sequence is presented in SEQ ID NO:4. The DNA sequence for the variable domain of the heavy chain of L1H5 is presented as SEQ ID NO:23, and the encoded amino acid sequence is presented in SEQ ID NO:24. Antibodies of the present

invention include, but are not limited to, antibodies that comprise, in their light chain, residues 1 to 109 of SEQ ID NO:4; and antibodies that additionally or alternatively comprise, in their heavy chain, residues 1 to 115 of SEQ ID NO:24.

Particular embodiments of antibodies of the present invention comprise, within the variable domain of their light chain, at least one of the complementarity determining regions (CDRs), or hypervariable regions, found in the light chain of L1H5. CDRs of L1H5 are discussed in example 5. Thus, among the antibodies provided herein are those comprising from one to all three of the following sequences in the light chain variable domain: amino acid residues 24-35; residues 51-57; and residues 90-99 of SEQ ID NO:4. Particular antibodies provided herein comprise, within the variable domain of their heavy chain, at least one of the CDRs found in the heavy chain of L1H5. Thus, among the antibodies provided herein are those comprising from one to all three of the following sequences in the heavy chain variable domain: residues 31-35; residues 50-65; and residues 98-104 of SEQ ID NO:24.

In another embodiment, particular antibodies of the invention are selected from the group consisting of L1H6; an antibody that is cross-reactive with L1H6; an antibody that binds to the same epitope as L1H6; an antibody that competes with L1H6 for binding to a cell that expresses human IL-4R; an antibody that possesses a biological activity of L1H6; and an antigen-binding fragment of any of the foregoing antibodies. In one embodiment, the antibody has a binding affinity for human IL-4R that is substantially equivalent to the binding affinity of L1H6 for human IL-4R. Hybridoma cell lines that produce any such antibodies also are provided by the present invention.

One example of a biological activity of L1H6 is the ability to function as both an IL-4 antagonist and an IL-13 antagonist. In one embodiment, an antibody of the invention possesses IL-4-blocking activity substantially equivalent to that of L1H6; and possesses IL-13-blocking activity substantially equivalent to that of L1H6. Such activity may be measured in any suitable conventional assay (e.g., as measured in the CD23 expression assay described in Example 2).

The DNA sequence of the variable domain of the light chain of L1H6 is presented in SEQ ID NO:3, and the encoded amino acid sequence is presented in SEQ ID NO:4. The DNA sequence for the variable domain of the heavy chain of L1H6 is presented as SEQ ID NO:25, and the encoded amino acid sequence is presented in SEQ ID NO:26. Antibodies of the present invention include, but are not limited to, antibodies that comprise, in their light chain, residues 1 to 109 of SEQ ID NO:4; and antibodies that additionally or alternatively comprise, in their heavy chain, residues 1 to 115 of SEQ ID NO:26.

Particular embodiments of antibodies of the present invention comprise, within the variable domain of their light chain, at least one of the complementarity determining regions (CDRs), or hypervariable regions, found in the light chain of L1H6. CDRs of L1H6 are discussed in example 5. Thus, among the antibodies provided herein are those comprising from one to all three of the following sequences in the light chain variable domain: amino acid residues 24-35; residues 51-57; and residues 90-99 of SEQ ID NO:4. Particular antibodies provided herein comprise, within the variable domain of their heavy chain, at least one of the CDRs found in the heavy chain of L1H6. Thus, among the antibodies provided herein are those comprising from one

to all three of the following sequences in the heavy chain variable domain: residues 31-35; residues 50-65; and residues 98-104 of SEQ ID NO:28.

In another embodiment, particular antibodies of the invention are selected from the group consisting of L1H7; an antibody that is cross-reactive with L1H7; an antibody that binds to the same epitope as L1H7; an antibody that competes with L1H7 for binding to a cell that expresses human IL-4R; an antibody that possesses a biological activity of L1H7; and an antigen-binding fragment of any of the foregoing antibodies. In one embodiment, the antibody has a binding affinity for human IL-4R that is substantially equivalent to the binding affinity of L1H7 for human IL-4R. Hybridoma cell lines that produce any such antibodies also are provided by the present invention.

One example of a biological activity of L1H7 is the ability to function as both an IL-4 antagonist and an IL-13 antagonist. In one embodiment, an antibody of the invention possesses IL-4-blocking activity substantially equivalent to that of L1H7; and possesses IL-13-blocking activity substantially equivalent to that of L1H7. Such activity may be measured in any suitable conventional assay (e.g., as measured in the CD23 expression assay described in Example 2).

The DNA sequence of the variable domain of the light chain of L1H7 is presented in SEQ ID NO:3, and the encoded amino acid sequence is presented in SEQ ID NO:4. The DNA sequence for the variable domain of the heavy chain of L1H7 is presented as SEQ ID NO:27, and the encoded amino acid sequence is presented in SEQ ID NO:28. Antibodies of the present invention include, but are not limited to, antibodies that comprise, in their light chain, residues 1 to 109 of SEQ ID NO:4; and antibodies that additionally or alternatively comprise, in their heavy chain, residues 1 to 115 of SEQ ID NO:28.

Particular embodiments of antibodies of the present invention comprise, within the variable domain of their light chain, at least one of the complementarity determining regions (CDRs), or hypervariable regions, found in the light chain of L1H7. CDRs of L1H7 are discussed in example 5. Thus, among the antibodies provided herein are those comprising from one to all three of the following sequences in the light chain variable domain: amino acid residues 24-35; residues 51-57; and residues 90-99 of SEQ ID NO:4. Particular antibodies provided herein comprise, within the variable domain of their heavy chain, at least one of the CDRs found in the heavy chain of L1H7. Thus, among the antibodies provided herein are those comprising from one to all three of the following sequences in the heavy chain variable domain: residues 31-35; residues 50-65; and residues 98-104 of SEQ ID NO:28.

In another embodiment, particular antibodies of the invention are selected from the group consisting of L1H8; an antibody that is cross-reactive with L1H8; an antibody that binds to the same epitope as L1H8; an antibody that competes with L1H8 for binding to a cell that expresses human IL-4R; an antibody that possesses a biological activity of L1H8; and an antigen-binding fragment of any of the foregoing antibodies. In one embodiment, the antibody has a binding affinity for human IL-4R that is substantially equivalent to the binding affinity of L1H8 for human IL-4R. Hybridoma cell lines that produce any such antibodies also are provided by the present invention.

One example of a biological activity of L1H8 is the ability to function as both an IL-4 antagonist and an IL-13 antagonist. In one embodiment, an antibody of the invention possesses

IL-4-blocking activity substantially equivalent to that of L1H8; and possesses IL-13-blocking activity substantially equivalent to that of L1H8. Such activity may be measured in any suitable conventional assay (e.g., as measured in the CD23 expression assay described in Example 2).

The DNA sequence of the variable domain of the light chain of L1H8 is presented in SEQ ID NO:3, and the encoded amino acid sequence is presented in SEQ ID NO:4. The DNA sequence for the variable domain of the heavy chain of L1H8 is presented as SEQ ID NO:29, and the encoded amino acid sequence is presented in SEQ ID NO:30. Antibodies of the present invention include, but are not limited to, antibodies that comprise, in their light chain, residues 1 to 109 of SEQ ID NO:4; and antibodies that additionally or alternatively comprise, in their heavy chain, residues 1 to 115 of SEQ ID NO:30.

Particular embodiments of antibodies of the present invention comprise, within the variable domain of their light chain, at least one of the complementarity determining regions (CDRs), or hypervariable regions, found in the light chain of L1H8. CDRs of L1H8 are discussed in example 5. Thus, among the antibodies provided herein are those comprising from one to all three of the following sequences in the light chain variable domain: amino acid residues 24-35; residues 51-57; and residues 90-99 of SEQ ID NO:4. Particular antibodies provided herein comprise, within the variable domain of their heavy chain, at least one of the CDRs found in the heavy chain of L1H8. Thus, among the antibodies provided herein are those comprising from one to all three of the following sequences in the heavy chain variable domain: residues 31-35; residues 50-65; and residues 98-104 of SEQ ID NO:30.

In another embodiment, particular antibodies of the invention are selected from the group consisting of L1H9; an antibody that is cross-reactive with L1H9; an antibody that binds to the same epitope as L1H9; an antibody that competes with L1H9 for binding to a cell that expresses human IL-4R; an antibody that possesses a biological activity of L1H9; and an antigen-binding fragment of any of the foregoing antibodies. In one embodiment, the antibody has a binding affinity for human IL-4R that is substantially equivalent to the binding affinity of L1H9 for human IL-4R. Hybridoma cell lines that produce any such antibodies also are provided by the present invention.

One example of a biological activity of L1H9 is the ability to function as both an IL-4 antagonist and an IL-13 antagonist. In one embodiment, an antibody of the invention possesses IL-4-blocking activity substantially equivalent to that of L1H9; and possesses IL-13-blocking activity substantially equivalent to that of L1H9. Such activity may be measured in any suitable conventional assay (e.g., as measured in the CD23 expression assay described in Example 2).

The DNA sequence of the variable domain of the light chain of L1H9 is presented in SEQ ID NO:3, and the encoded amino acid sequence is presented in SEQ ID NO:4. The DNA sequence for the variable domain of the heavy chain of L1H9 is presented as SEQ ID NO:31, and the encoded amino acid sequence is presented in SEQ ID NO:32. Antibodies of the present invention include, but are not limited to, antibodies that comprise, in their light chain, residues 1 to 109 of SEQ ID NO:4; and antibodies that additionally or alternatively comprise, in their heavy chain, residues 1 to 115 of SEQ ID NO:32.

Particular embodiments of antibodies of the present invention comprise, within the variable domain of their light chain, at least one of the complementarity determining regions

(CDRs), or hypervariable regions, found in the light chain of L1H9. CDRs of L1H9 are discussed in example 5. Thus, among the antibodies provided herein are those comprising from one to all three of the following sequences in the light chain variable domain: amino acid residues 24-35; residues 51-57; and residues 90-99 of SEQ ID NO:4. Particular antibodies provided herein

5 comprise, within the variable domain of their heavy chain, at least one of the CDRs found in the heavy chain of L1H9. Thus, among the antibodies provided herein are those comprising from one to all three of the following sequences in the heavy chain variable domain: residues 31-35; residues 50-55; and residues 98-104 of SEQ ID NO:32.

In another embodiment, particular antibodies of the invention are selected from the group

10 consisting of L1H10; an antibody that is cross-reactive with L1H10; an antibody that binds to the same epitope as L1H10; an antibody that competes with L1H10 for binding to a cell that expresses human IL-4R; an antibody that possesses a biological activity of L1H10; and an antigen-binding fragment of any of the foregoing antibodies. In one embodiment, the antibody has a binding affinity for human IL-4R that is substantially equivalent to the binding affinity of L1H10 for human

15 IL-4R. Hybridoma cell lines that produce any such antibodies also are provided by the present invention.

One example of a biological activity of L1H10 is the ability to function as both an IL-4 antagonist and an IL-13 antagonist. In one embodiment, an antibody of the invention possesses IL-4-blocking activity substantially equivalent to that of L1H10; and possesses IL-13-blocking

20 activity substantially equivalent to that of L1H10. Such activity may be measured in any suitable conventional assay (e.g., as measured in the CD23 expression assay described in Example 2).

The DNA sequence of the variable domain of the light chain of L1H10 is presented in SEQ ID NO:3, and the encoded amino acid sequence is presented in SEQ ID NO:4. The DNA sequence for the variable domain of the heavy chain of L1H10 is presented as SEQ ID NO:33,

25 and the encoded amino acid sequence is presented in SEQ ID NO:34. Antibodies of the present invention include, but are not limited to, antibodies that comprise, in their light chain, residues 1 to 109 of SEQ ID NO:4; and antibodies that additionally or alternatively comprise, in their heavy chain, residues 1 to 115 of SEQ ID NO:34.

Particular embodiments of antibodies of the present invention comprise, within the

30 variable domain of their light chain, at least one of the complementarity determining regions (CDRs), or hypervariable regions, found in the light chain of L1H10. CDRs of L1H10 are discussed in example 5. Thus, among the antibodies provided herein are those comprising from one to all three of the following sequences in the light chain variable domain: amino acid residues 24-35; residues 51-57; and residues 90-99 of SEQ ID NO:4. Particular antibodies provided herein

35 comprise, within the variable domain of their heavy chain, at least one of the CDRs found in the heavy chain of L1H10. Thus, among the antibodies provided herein are those comprising from one to all three of the following sequences in the heavy chain variable domain: residues 31-35; residues 50-55; and residues 98-104 of SEQ ID NO:34.

In another embodiment, particular antibodies of the invention are selected from the group

40 consisting of L1H11; an antibody that is cross-reactive with L1H11; an antibody that binds to the same epitope as L1H11; an antibody that competes with L1H11 for binding to a cell that expresses human IL-4R; an antibody that possesses a biological activity of L1H11; and an antigen-binding

fragment of any of the foregoing antibodies. In one embodiment, the antibody has a binding affinity for human IL-4R that is substantially equivalent to the binding affinity of L1H11 for human IL-4R. Hybridoma cell lines that produce any such antibodies also are provided by the present invention.

5 One example of a biological activity of L1H11 is the ability to function as both an IL-4 antagonist and an IL-13 antagonist. In one embodiment, an antibody of the invention possesses IL-4-blocking activity substantially equivalent to that of L1H11; and possesses IL-13-blocking activity substantially equivalent to that of L1H11. Such activity may be measured in any suitable conventional assay (e.g., as measured in the CD23 expression assay described in Example 2).

10 The DNA sequence of the variable domain of the light chain of L1H11 is presented in SEQ ID NO:3, and the encoded amino acid sequence is presented in SEQ ID NO:4. The DNA sequence for the variable domain of the heavy chain of L1H11 is presented as SEQ ID NO:35, and the encoded amino acid sequence is presented in SEQ ID NO:36. Antibodies of the present invention include, but are not limited to, antibodies that comprise, in their light chain, residues 1 to 109 of SEQ ID NO:4; and antibodies that additionally or alternatively comprise, in their heavy

15 chain, residues 1 to 115 of SEQ ID NO:36.

Particular embodiments of antibodies of the present invention comprise, within the variable domain of their light chain, at least one of the complementarity determining regions (CDRs), or hypervariable regions, found in the light chain of L1H11. CDRs of L1H11 are

20 discussed in example 5. Thus, among the antibodies provided herein are those comprising from one to all three of the following sequences in the light chain variable domain: amino acid residues 24-35; residues 51-57; and residues 90-99 of SEQ ID NO:4. Particular antibodies provided herein comprise, within the variable domain of their heavy chain, at least one of the CDRs found in the heavy chain of L1H11. Thus, among the antibodies provided herein are those comprising from

25 one to all three of the following sequences in the heavy chain variable domain: residues 31-35; residues 50-65; and residues 98-104 of SEQ ID NO:36.

In another embodiment, particular antibodies of the invention are selected from the group consisting of L2H4; an antibody that is cross-reactive with L2H4; an antibody that binds to the same epitope as L2H4; an antibody that competes with L2H4 for binding to a cell that expresses

30 human IL-4R; an antibody that possesses a biological activity of L2H4; and an antigen-binding fragment of any of the foregoing antibodies. In one embodiment, the antibody has a binding affinity for human IL-4R that is substantially equivalent to the binding affinity of L2H4 for human IL-4R. Hybridoma cell lines that produce any such antibodies also are provided by the present invention.

35 One example of a biological activity of L2H4 is the ability to function as both an IL-4 antagonist and an IL-13 antagonist. In one embodiment, an antibody of the invention possesses IL-4-blocking activity substantially equivalent to that of L2H4; and possesses IL-13-blocking activity substantially equivalent to that of L2H4. Such activity may be measured in any suitable conventional assay (e.g., as measured in the CD23 expression assay described in Example 2).

40 The DNA sequence of the variable domain of the light chain of L2H4 is presented in SEQ ID NO:5, and the encoded amino acid sequence is presented in SEQ ID NO:6. The DNA sequence for the variable domain of the heavy chain of L2H4 is presented as SEQ ID NO:21, and

the encoded amino acid sequence is presented in SEQ ID NO:22. Antibodies of the present invention include, but are not limited to, antibodies that comprise, in their light chain, residues 1 to 109 of SEQ ID NO:6; and antibodies that additionally or alternatively comprise, in their heavy chain, residues 1 to 115 of SEQ ID NO:22.

5 Particular embodiments of antibodies of the present invention comprise, within the variable domain of their light chain, at least one of the complementarity determining regions (CDRs), or hypervariable regions, found in the light chain of L2H4. CDRs of L2H4 are discussed in example 5. Thus, among the antibodies provided herein are those comprising from one to all three of the following sequences in the light chain variable domain: amino acid residues 24-35;
10 residues 51-57; and residues 90-99 of SEQ ID NO:6. Particular antibodies provided herein comprise, within the variable domain of their heavy chain, at least one of the CDRs found in the heavy chain of L2H4. Thus, among the antibodies provided herein are those comprising from one to all three of the following sequences in the heavy chain variable domain: residues 31-35; residues 50-65; and residues 98-104 of SEQ ID NO:22.

15 In another embodiment, particular antibodies of the invention are selected from the group consisting of L2H12; an antibody that is cross-reactive with L2H12; an antibody that binds to the same epitope as L2H12; an antibody that competes with L2H12 for binding to a cell that expresses human IL-4R; an antibody that possesses a biological activity of L2H12; and an antigen-binding
20 fragment of any of the foregoing antibodies. In one embodiment, the antibody has a binding affinity for human IL-4R that is substantially equivalent to the binding affinity of L2H12 for human IL-4R. Hybridoma cell lines that produce any such antibodies also are provided by the present invention.

One example of a biological activity of L2H12 is the ability to function as both an IL-4 antagonist and an IL-13 antagonist. In one embodiment, an antibody of the invention possesses
25 IL-4-blocking activity substantially equivalent to that of L2H12; and possesses IL-13-blocking activity substantially equivalent to that of L2H12. Such activity may be measured in any suitable conventional assay (e.g., as measured in the CD23 expression assay described in Example 2).

The DNA sequence of the variable domain of the light chain of L2H12 is presented in SEQ ID NO:5, and the encoded amino acid sequence is presented in SEQ ID NO:6. The DNA
30 sequence for the variable domain of the heavy chain of L2H12 is presented as SEQ ID NO:37, and the encoded amino acid sequence is presented in SEQ ID NO:38. Antibodies of the present invention include, but are not limited to, antibodies that comprise, in their light chain, residues 1 to 109 of SEQ ID NO:6; and antibodies that additionally or alternatively comprise, in their heavy chain, residues 1 to 115 of SEQ ID NO:38.

35 Particular embodiments of antibodies of the present invention comprise, within the variable domain of their light chain, at least one of the complementarity determining regions (CDRs), or hypervariable regions, found in the light chain of L2H12. CDRs of L2H12 are discussed in example 5. Thus, among the antibodies provided herein are those comprising from one to all three of the following sequences in the light chain variable domain: amino acid residues
40 24-35; residues 51-57; and residues 90-99 of SEQ ID NO:6. Particular antibodies provided herein comprise, within the variable domain of their heavy chain, at least one of the CDRs found in the heavy chain of L2H12. Thus, among the antibodies provided herein are those comprising from

one to all three of the following sequences in the heavy chain variable domain: residues 31-35; residues 50-65; and residues 98-104 of SEQ ID NO:38.

In another embodiment, particular antibodies of the invention are selected from the group consisting of L2H13; an antibody that is cross-reactive with L2H13; an antibody that binds to the same epitope as L2H13; an antibody that competes with L2H13 for binding to a cell that expresses human IL-4R; an antibody that possesses a biological activity of L2H13; and an antigen-binding fragment of any of the foregoing antibodies. In one embodiment, the antibody has a binding affinity for human IL-4R that is substantially equivalent to the binding affinity of L2H13 for human IL-4R. Hybridoma cell lines that produce any such antibodies also are provided by the present invention.

One example of a biological activity of L2H13 is the ability to function as both an IL-4 antagonist and an IL-13 antagonist. In one embodiment, an antibody of the invention possesses IL-4-blocking activity substantially equivalent to that of L2H13; and possesses IL-13-blocking activity substantially equivalent to that of L2H13. Such activity may be measured in any suitable conventional assay (e.g., as measured in the CD23 expression assay described in Example 2).

The DNA sequence of the variable domain of the light chain of L2H13 is presented in SEQ ID NO:5, and the encoded amino acid sequence is presented in SEQ ID NO:6. The DNA sequence for the variable domain of the heavy chain of L2H13 is presented as SEQ ID NO:39, and the encoded amino acid sequence is presented in SEQ ID NO:40. Antibodies of the present invention include, but are not limited to, antibodies that comprise, in their light chain, residues 1 to 109 of SEQ ID NO:6; and antibodies that additionally or alternatively comprise, in their heavy chain, residues 1 to 115 of SEQ ID NO:40.

Particular embodiments of antibodies of the present invention comprise, within the variable domain of their light chain, at least one of the complementarity determining regions (CDRs), or hypervariable regions, found in the light chain of L2H13. CDRs of L2H13 are discussed in example 5. Thus, among the antibodies provided herein are those comprising from one to all three of the following sequences in the light chain variable domain: amino acid residues 24-35; residues 51-57; and residues 90-99 of SEQ ID NO:6. Particular antibodies provided herein comprise, within the variable domain of their heavy chain, at least one of the CDRs found in the heavy chain of L2H13. Thus, among the antibodies provided herein are those comprising from one to all three of the following sequences in the heavy chain variable domain: residues 31-35; residues 50-65; and residues 98-104 of SEQ ID NO:40.

In another embodiment, particular antibodies of the invention are selected from the group consisting of L2H14; an antibody that is cross-reactive with L2H14; an antibody that binds to the same epitope as L2H14; an antibody that competes with L2H14 for binding to a cell that expresses human IL-4R; an antibody that possesses a biological activity of L2H14; and an antigen-binding fragment of any of the foregoing antibodies. In one embodiment, the antibody has a binding affinity for human IL-4R that is substantially equivalent to the binding affinity of L2H14 for human IL-4R. Hybridoma cell lines that produce any such antibodies also are provided by the present invention.

One example of a biological activity of L2H14 is the ability to function as both an IL-4 antagonist and an IL-13 antagonist. In one embodiment, an antibody of the invention possesses

IL-4-blocking activity substantially equivalent to that of L2H14; and possesses IL-13-blocking activity substantially equivalent to that of L2H14. Such activity may be measured in any suitable conventional assay (e.g., as measured in the CD23 expression assay described in Example 2).

The DNA sequence of the variable domain of the light chain of L2H14 is presented in SEQ ID NO:5, and the encoded amino acid sequence is presented in SEQ ID NO:6. The DNA sequence for the variable domain of the heavy chain of L2H14 is presented as SEQ ID NO:41, and the encoded amino acid sequence is presented in SEQ ID NO:42. Antibodies of the present invention include, but are not limited to, antibodies that comprise, in their light chain, residues 1 to 109 of SEQ ID NO:6; and antibodies that additionally or alternatively comprise, in their heavy chain, residues 1 to 115 of SEQ ID NO:42.

Particular embodiments of antibodies of the present invention comprise, within the variable domain of their light chain, at least one of the complementarity determining regions (CDRs), or hypervariable regions, found in the light chain of L2H14. CDRs of L2H14 are discussed in example 5. Thus, among the antibodies provided herein are those comprising from one to all three of the following sequences in the light chain variable domain: amino acid residues 24-35; residues 51-57; and residues 90-99 of SEQ ID NO:6. Particular antibodies provided herein comprise, within the variable domain of their heavy chain, at least one of the CDRs found in the heavy chain of L2H14. Thus, among the antibodies provided herein are those comprising from one to all three of the following sequences in the heavy chain variable domain: residues 31-35; residues 50-65; and residues 98-104 of SEQ ID NO:42.

In another embodiment, particular antibodies of the invention are selected from the group consisting of L6H1; an antibody that is cross-reactive with L6H1; an antibody that binds to the same epitope as L6H1; an antibody that competes with L6H1 for binding to a cell that expresses human IL-4R; an antibody that possesses a biological activity of L6H1; and an antigen-binding fragment of any of the foregoing antibodies. In one embodiment, the antibody has a binding affinity for human IL-4R that is substantially equivalent to the binding affinity of L6H1 for human IL-4R. Hybridoma cell lines that produce any such antibodies also are provided by the present invention.

One example of a biological activity of L6H1 is the ability to function as both an IL-4 antagonist and an IL-13 antagonist. In one embodiment, an antibody of the invention possesses IL-4-blocking activity substantially equivalent to that of L6H1; and possesses IL-13-blocking activity substantially equivalent to that of L6H1. Such activity may be measured in any suitable conventional assay (e.g., as measured in the CD23 expression assay described in Example 2).

The DNA sequence of the variable domain of the light chain of L6H1 is presented in SEQ ID NO:13, and the encoded amino acid sequence is presented in SEQ ID NO:14. The DNA sequence for the variable domain of the heavy chain of L6H1 is presented as SEQ ID NO:15, and the encoded amino acid sequence is presented in SEQ ID NO:16. Antibodies of the present invention include, but are not limited to, antibodies that comprise, in their light chain, residues 1 to 109 of SEQ ID NO:14; and antibodies that additionally or alternatively comprise, in their heavy chain, residues 1 to 115 of SEQ ID NO:16.

Particular embodiments of antibodies of the present invention comprise, within the variable domain of their light chain, at least one of the complementarity determining regions

(CDRs), or hypervariable regions, found in the light chain of L6H1. CDRs of L6H1 are discussed in example 5. Thus, among the antibodies provided herein are those comprising from one to all three of the following sequences in the light chain variable domain: amino acid residues 24-35; residues 51-57; and residues 90-99 of SEQ ID NO:14. Particular antibodies provided herein

5 comprise, within the variable domain of their heavy chain, at least one of the CDRs found in the heavy chain of L6H1. Thus, among the antibodies provided herein are those comprising from one to all three of the following sequences in the heavy chain variable domain: residues 31-35; residues 50-85; and residues 98-104 of SEQ ID NO:16.

In another embodiment, particular antibodies of the invention are selected from the group

10 consisting of L2H2; an antibody that is cross-reactive with L2H2; an antibody that binds to the same epitope as L2H2; an antibody that competes with L2H2 for binding to a cell that expresses human IL-4R; an antibody that possesses a biological activity of L2H2; and an antigen-binding fragment of any of the foregoing antibodies. In one embodiment, the antibody has a binding affinity for human IL-4R that is substantially equivalent to the binding affinity of L2H2 for human IL-

15 4R. Hybridoma cell lines that produce any such antibodies also are provided by the present invention.

One example of a biological activity of L2H2 is the ability to function as both an IL-4 antagonist and an IL-13 antagonist. In one embodiment, an antibody of the invention possesses IL-4-blocking activity substantially equivalent to that of L2H2; and possesses IL-13-blocking activity

20 substantially equivalent to that of L2H2. Such activity may be measured in any suitable conventional assay (e.g., as measured in the CD23 expression assay described in Example 2).

The DNA sequence of the variable domain of the light chain of L2H2 is presented in SEQ ID NO:5, and the encoded amino acid sequence is presented in SEQ ID NO:6. The DNA sequence for the variable domain of the heavy chain of L2H2 is presented as SEQ ID NO:17, and

25 the encoded amino acid sequence is presented in SEQ ID NO:18. Antibodies of the present invention include, but are not limited to, antibodies that comprise, in their light chain, residues 1 to 109 of SEQ ID NO:6; and antibodies that additionally or alternatively comprise, in their heavy chain, residues 1 to 115 of SEQ ID NO:18.

Particular embodiments of antibodies of the present invention comprise, within the

30 variable domain of their light chain, at least one of the complementarity determining regions (CDRs), or hypervariable regions, found in the light chain of L2H2. CDRs of L2H2 are discussed in example 5. Thus, among the antibodies provided herein are those comprising from one to all three of the following sequences in the light chain variable domain: amino acid residues 24-35; residues 51-57; and residues 90-99 of SEQ ID NO:6. Particular antibodies provided herein

35 comprise, within the variable domain of their heavy chain, at least one of the CDRs found in the heavy chain of L2H2. Thus, among the antibodies provided herein are those comprising from one to all three of the following sequences in the heavy chain variable domain: residues 31-35; residues 50-85; and residues 98-104 of SEQ ID NO:18.

In another embodiment, particular antibodies of the invention are selected from the group

40 consisting of L2H3; an antibody that is cross-reactive with L2H3; an antibody that binds to the same epitope as L2H3; an antibody that competes with L2H3 for binding to a cell that expresses human IL-4R; an antibody that possesses a biological activity of L2H3; and an antigen-binding

fragment of any of the foregoing antibodies. In one embodiment, the antibody has a binding affinity for human IL-4R that is substantially equivalent to the binding affinity of L2H3 for human IL-4R. Hybridoma cell lines that produce any such antibodies also are provided by the present invention.

5 One example of a biological activity of L2H3 is the ability to function as both an IL-4 antagonist and an IL-13 antagonist. In one embodiment, an antibody of the invention possesses IL-4-blocking activity substantially equivalent to that of L2H3; and possesses IL-13-blocking activity substantially equivalent to that of L2H3. Such activity may be measured in any suitable conventional assay (e.g., as measured in the CD23 expression assay described in Example 2).

10 The DNA sequence of the variable domain of the light chain of L2H3 is presented in SEQ ID NO:5, and the encoded amino acid sequence is presented in SEQ ID NO:6. The DNA sequence for the variable domain of the heavy chain of L2H3 is presented as SEQ ID NO:19, and the encoded amino acid sequence is presented in SEQ ID NO:20. Antibodies of the present invention include, but are not limited to, antibodies that comprise, in their light chain, residues 1 to
15 109 of SEQ ID NO:6; and antibodies that additionally or alternatively comprise, in their heavy chain, residues 1 to 115 of SEQ ID NO:20.

Particular embodiments of antibodies of the present invention comprise, within the variable domain of their light chain, at least one of the complementarity determining regions (CDRs), or hypervariable regions, found in the light chain of L2H3. CDRs of L2H3 are discussed
20 in example 5. Thus, among the antibodies provided herein are those comprising from one to all three of the following sequences in the light chain variable domain: amino acid residues 24-35; residues 51-57; and residues 90-99 of SEQ ID NO:6. Particular antibodies provided herein comprise, within the variable domain of their heavy chain, at least one of the CDRs found in the heavy chain of L2H3. Thus, among the antibodies provided herein are those comprising from one
25 to all three of the following sequences in the heavy chain variable domain: residues 31-35; residues 50-65; and residues 98-104 of SEQ ID NO:20.

In another embodiment, particular antibodies of the invention are selected from the group consisting of L2H6; an antibody that is cross-reactive with L2H6; an antibody that binds to the same epitope as L2H6; an antibody that competes with L2H6 for binding to a cell that expresses
30 human IL-4R; an antibody that possesses a biological activity of L2H6; and an antigen-binding fragment of any of the foregoing antibodies. In one embodiment, the antibody has a binding affinity for human IL-4R that is substantially equivalent to the binding affinity of L2H6 for human IL-4R. Hybridoma cell lines that produce any such antibodies also are provided by the present invention.

35 One example of a biological activity of L2H6 is the ability to function as both an IL-4 antagonist and an IL-13 antagonist. In one embodiment, an antibody of the invention possesses IL-4-blocking activity substantially equivalent to that of L2H6; and possesses IL-13-blocking activity substantially equivalent to that of L2H6. Such activity may be measured in any suitable conventional assay (e.g., as measured in the CD23 expression assay described in Example 2).

40 The DNA sequence of the variable domain of the light chain of L2H6 is presented in SEQ ID NO:5, and the encoded amino acid sequence is presented in SEQ ID NO:6. The DNA sequence for the variable domain of the heavy chain of L2H6 is presented as SEQ ID NO:25, and

the encoded amino acid sequence is presented in SEQ ID NO:26. Antibodies of the present invention include, but are not limited to, antibodies that comprise, in their light chain, residues 1 to 109 of SEQ ID NO:6; and antibodies that additionally or alternatively comprise, in their heavy chain, residues 1 to 115 of SEQ ID NO:26.

5 Particular embodiments of antibodies of the present invention comprise, within the variable domain of their light chain, at least one of the complementarity determining regions (CDRs), or hypervariable regions, found in the light chain of L2H6. CDRs of L2H6 are discussed in example 5. Thus, among the antibodies provided herein are those comprising from one to all three of the following sequences in the light chain variable domain: amino acid residues 24-35;
 10 residues 51-57; and residues 90-99 of SEQ ID NO:6. Particular antibodies provided herein comprise, within the variable domain of their heavy chain, at least one of the CDRs found in the heavy chain of L2H6. Thus, among the antibodies provided herein are those comprising from one to all three of the following sequences in the heavy chain variable domain: residues 31-35; residues 50-65; and residues 98-104 of SEQ ID NO:26.

15 In another embodiment, particular antibodies of the invention are selected from the group consisting of L2H7; an antibody that is cross-reactive with L2H7; an antibody that binds to the same epitope as L2H7; an antibody that competes with L2H7 for binding to a cell that expresses human IL-4R; an antibody that possesses a biological activity of L2H7; and an antigen-binding
 20 fragment of any of the foregoing antibodies. In one embodiment, the antibody has a binding affinity for human IL-4R that is substantially equivalent to the binding affinity of L2H7 for human IL-4R. Hybridoma cell lines that produce any such antibodies also are provided by the present invention.

One example of a biological activity of L2H7 is the ability to function as both an IL-4 antagonist and an IL-13 antagonist. In one embodiment, an antibody of the invention possesses
 25 IL-4-blocking activity substantially equivalent to that of L2H7; and possesses IL-13-blocking activity substantially equivalent to that of L2H7. Such activity may be measured in any suitable conventional assay (e.g., as measured in the CD23 expression assay described in Example 2).

The DNA sequence of the variable domain of the light chain of L2H7 is presented in SEQ ID NO:5, and the encoded amino acid sequence is presented in SEQ ID NO:6. The DNA
 30 sequence for the variable domain of the heavy chain of L2H7 is presented as SEQ ID NO:27, and the encoded amino acid sequence is presented in SEQ ID NO:28. Antibodies of the present invention include, but are not limited to, antibodies that comprise, in their light chain, residues 1 to 109 of SEQ ID NO:6; and antibodies that additionally or alternatively comprise, in their heavy chain, residues 1 to 115 of SEQ ID NO:28.

35 Particular embodiments of antibodies of the present invention comprise, within the variable domain of their light chain, at least one of the complementarity determining regions (CDRs), or hypervariable regions, found in the light chain of L2H7. CDRs of L2H7 are discussed in example 5. Thus, among the antibodies provided herein are those comprising from one to all three of the following sequences in the light chain variable domain: amino acid residues 24-35;
 40 residues 51-57; and residues 90-99 of SEQ ID NO:6. Particular antibodies provided herein comprise, within the variable domain of their heavy chain, at least one of the CDRs found in the heavy chain of L2H7. Thus, among the antibodies provided herein are those comprising from one

to all three of the following sequences in the heavy chain variable domain: residues 31-35; residues 50-65; and residues 98-104 of SEQ ID NO:28.

5 In another embodiment, particular antibodies of the invention are selected from the group consisting of L2H8; an antibody that is cross-reactive with L2H8; an antibody that binds to the same epitope as L2H8; an antibody that competes with L2H8 for binding to a cell that expresses human IL-4R; an antibody that possesses a biological activity of L2H8; and an antigen-binding
10 fragment of any of the foregoing antibodies. In one embodiment, the antibody has a binding affinity for human IL-4R that is substantially equivalent to the binding affinity of L2H8 for human IL-4R. Hybridoma cell lines that produce any such antibodies also are provided by the present invention.

One example of a biological activity of L2H8 is the ability to function as both an IL-4 antagonist and an IL-13 antagonist. In one embodiment, an antibody of the invention possesses IL-4-blocking activity substantially equivalent to that of L2H8; and possesses IL-13-blocking activity
15 substantially equivalent to that of L2H8. Such activity may be measured in any suitable conventional assay (e.g., as measured in the CD23 expression assay described in Example 2).

The DNA sequence of the variable domain of the light chain of L2H8 is presented in SEQ ID NO:5, and the encoded amino acid sequence is presented in SEQ ID NO:6. The DNA sequence for the variable domain of the heavy chain of L2H8 is presented as SEQ ID NO:29, and the encoded amino acid sequence is presented in SEQ ID NO:30. Antibodies of the present
20 invention include, but are not limited to, antibodies that comprise, in their light chain, residues 1 to 109 of SEQ ID NO:6; and antibodies that additionally or alternatively comprise, in their heavy chain, residues 1 to 115 of SEQ ID NO:30.

Particular embodiments of antibodies of the present invention comprise, within the variable domain of their light chain, at least one of the complementarity determining regions
25 (CDRs), or hypervariable regions, found in the light chain of L2H8. CDRs of L2H8 are discussed in example 5. Thus, among the antibodies provided herein are those comprising from one to all three of the following sequences in the light chain variable domain: amino acid residues 24-35; residues 51-57; and residues 90-99 of SEQ ID NO:6. Particular antibodies provided herein comprise, within the variable domain of their heavy chain, at least one of the CDRs found in the
30 heavy chain of L2H8. Thus, among the antibodies provided herein are those comprising from one to all three of the following sequences in the heavy chain variable domain: residues 31-35; residues 50-65; and residues 98-104 of SEQ ID NO:30.

In another embodiment, particular antibodies of the invention are selected from the group consisting of L2H9; an antibody that is cross-reactive with L2H9; an antibody that binds to the
35 same epitope as L2H9; an antibody that competes with L2H9 for binding to a cell that expresses human IL-4R; an antibody that possesses a biological activity of L2H9; and an antigen-binding fragment of any of the foregoing antibodies. In one embodiment, the antibody has a binding affinity for human IL-4R that is substantially equivalent to the binding affinity of L2H9 for human IL-4R. Hybridoma cell lines that produce any such antibodies also are provided by the present
40 invention.

One example of a biological activity of L2H9 is the ability to function as both an IL-4 antagonist and an IL-13 antagonist. In one embodiment, an antibody of the invention possesses

IL-4-blocking activity substantially equivalent to that of L2H9; and possesses IL-13-blocking activity substantially equivalent to that of L2H9. Such activity may be measured in any suitable conventional assay (e.g., as measured in the CD23 expression assay described in Example 2).

The DNA sequence of the variable domain of the light chain of L2H9 is presented in SEQ ID NO:5, and the encoded amino acid sequence is presented in SEQ ID NO:6. The DNA sequence for the variable domain of the heavy chain of L2H9 is presented as SEQ ID NO:31, and the encoded amino acid sequence is presented in SEQ ID NO:32. Antibodies of the present invention include, but are not limited to, antibodies that comprise, in their light chain, residues 1 to 109 of SEQ ID NO:6; and antibodies that additionally or alternatively comprise, in their heavy chain, residues 1 to 115 of SEQ ID NO:32.

Particular embodiments of antibodies of the present invention comprise, within the variable domain of their light chain, at least one of the complementarity determining regions (CDRs), or hypervariable regions, found in the light chain of L2H9. CDRs of L2H9 are discussed in example 5. Thus, among the antibodies provided herein are those comprising from one to all three of the following sequences in the light chain variable domain: amino acid residues 24-35; residues 51-57; and residues 90-99 of SEQ ID NO:6. Particular antibodies provided herein comprise, within the variable domain of their heavy chain, at least one of the CDRs found in the heavy chain of L2H9. Thus, among the antibodies provided herein are those comprising from one to all three of the following sequences in the heavy chain variable domain: residues 31-35; residues 50-65; and residues 98-104 of SEQ ID NO:32.

In another embodiment, particular antibodies of the invention are selected from the group consisting of L2H10; an antibody that is cross-reactive with L2H10; an antibody that binds to the same epitope as L2H10; an antibody that competes with L2H10 for binding to a cell that expresses human IL-4R; an antibody that possesses a biological activity of L2H10; and an antigen-binding fragment of any of the foregoing antibodies. In one embodiment, the antibody has a binding affinity for human IL-4R that is substantially equivalent to the binding affinity of L2H10 for human IL-4R. Hybridoma cell lines that produce any such antibodies also are provided by the present invention.

One example of a biological activity of L2H10 is the ability to function as both an IL-4 antagonist and an IL-13 antagonist. In one embodiment, an antibody of the invention possesses IL-4-blocking activity substantially equivalent to that of L2H10; and possesses IL-13-blocking activity substantially equivalent to that of L2H10. Such activity may be measured in any suitable conventional assay (e.g., as measured in the CD23 expression assay described in Example 2).

The DNA sequence of the variable domain of the light chain of L2H10 is presented in SEQ ID NO:5, and the encoded amino acid sequence is presented in SEQ ID NO:6. The DNA sequence for the variable domain of the heavy chain of L2H10 is presented as SEQ ID NO:33, and the encoded amino acid sequence is presented in SEQ ID NO:34. Antibodies of the present invention include, but are not limited to, antibodies that comprise, in their light chain, residues 1 to 109 of SEQ ID NO:6; and antibodies that additionally or alternatively comprise, in their heavy chain, SEQ ID NO:34.

Particular embodiments of antibodies of the present invention comprise, within the variable domain of their light chain, at least one of the complementarity determining regions

(CDRs), or hypervariable regions, found in the light chain of L2H10. CDRs of L2H10 are discussed in example 5. Thus, among the antibodies provided herein are those comprising from one to all three of the following sequences in the light chain variable domain: amino acid residues 24-35; residues 51-57; and residues 90-99 of SEQ ID NO:6. Particular antibodies provided herein comprise, within the variable domain of their heavy chain, at least one of the CDRs found in the heavy chain of L2H10. Thus, among the antibodies provided herein are those comprising from one to all three of the following sequences in the heavy chain variable domain: residues 31-35; residues 50-65; and residues 98-104 of SEQ ID NO:34.

In another embodiment, particular antibodies of the invention are selected from the group consisting of L2H11; an antibody that is cross-reactive with L2H11; an antibody that binds to the same epitope as L2H11; an antibody that competes with L2H11 for binding to a cell that expresses human IL-4R; an antibody that possesses a biological activity of L2H11; and an antigen-binding fragment of any of the foregoing antibodies. In one embodiment, the antibody has a binding affinity for human IL-4R that is substantially equivalent to the binding affinity of L2H11 for human IL-4R. Hybridoma cell lines that produce any such antibodies also are provided by the present invention.

One example of a biological activity of L2H11 is the ability to function as both an IL-4 antagonist and an IL-13 antagonist. In one embodiment, an antibody of the invention possesses IL-4-blocking activity substantially equivalent to that of L2H11; and possesses IL-13-blocking activity substantially equivalent to that of L2H11. Such activity may be measured in any suitable conventional assay (e.g., as measured in the CD23 expression assay described in Example 2).

The DNA sequence of the variable domain of the light chain of L2H11 is presented in SEQ ID NO:5, and the encoded amino acid sequence is presented in SEQ ID NO:6. The DNA sequence for the variable domain of the heavy chain of L2H11 is presented as SEQ ID NO:35, and the encoded amino acid sequence is presented in SEQ ID NO:36. Antibodies of the present invention include, but are not limited to, antibodies that comprise, in their light chain, residues 1 to 109 of SEQ ID NO:6; and antibodies that additionally or alternatively comprise, in their heavy chain, residues 1 to 115 of SEQ ID NO:36.

Particular embodiments of antibodies of the present invention comprise, within the variable domain of their light chain, at least one of the complementarity determining regions (CDRs), or hypervariable regions, found in the light chain of L2H11. CDRs of L2H11 are discussed in example 5. Thus, among the antibodies provided herein are those comprising from one to all three of the following sequences in the light chain variable domain: amino acid residues 24-35; residues 51-57; and residues 90-99 of SEQ ID NO:6. Particular antibodies provided herein comprise, within the variable domain of their heavy chain, at least one of the CDRs found in the heavy chain of L2H11. Thus, among the antibodies provided herein are those comprising from one to all three of the following sequences in the heavy chain variable domain: residues 31-35; residues 50-65; and residues 98-104 of SEQ ID NO:36.

40 Nucleic acids

In one aspect, the present invention provides isolated nucleic acid molecules. The nucleic acids comprise, for example, polynucleotides that encode an antibody of the invention, or a

fragment, derivative, mutain, or variant thereof, polynucleotides sufficient for use as hybridization probes, PCR primers or sequencing primers for identifying, analyzing, mutating or amplifying a polynucleotide encoding a polypeptide, anti-sense nucleic acids for inhibiting expression of a polynucleotide, and complementary sequences of the foregoing. The nucleic acids can be any
5 length. They can be, for example, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 75, 100, 125, 150, 175, 200, 250, 300, 350, 400, 450, 500, 750, 1,000, 1,500, 3,000, 5,000 or more nucleotides in length, and/or can comprise one or more additional sequences, for example, regulatory sequences, and/or be part of a larger nucleic acid, for example, a vector. The nucleic acids can be single-stranded or double-stranded and can comprise RNA and/or DNA nucleotides, and artificial
10 variants thereof (e.g., peptide nucleic acids).

DNA encoding antibody polypeptides (e.g., heavy or light chain, variable domain only or full length) may be isolated from B-cells of mice that have been immunized with IL-4R. The DNA may be isolated by conventional procedures such as polymerase chain reaction (PCR). Phage display is another example of a known technique whereby derivatives of antibodies may be
15 prepared. In one approach, polypeptides that are components of an antibody of interest are expressed in any suitable recombinant expression system, and the expressed polypeptides are allowed to assemble to form antibody molecules.

Figure 2 provides nucleic acid sequences encoding the variable regions of the heavy and light chain variable regions shown in Figure 3. Due to the degeneracy of the genetic code, each of
20 the polypeptide sequences in Figure 3 also is encoded by a large number of other nucleic acid sequences. The present invention provides each degenerate nucleotide sequence encoding each antibody of the invention.

The invention further provides nucleic acids that hybridize to other nucleic acids (e.g., nucleic acids comprising a nucleotide sequence of Figure 2) under particular hybridization
25 conditions. Methods for hybridizing nucleic acids are well-known in the art. See, e.g., Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley & Sons, N.Y. (1989), 6.3.1-6.3.6. As defined herein, a moderately stringent hybridization condition uses a prewashing solution containing 5X sodium chloride/sodium citrate (SSC), 0.5% SDS, 1.0 mM EDTA (pH 8.0), hybridization buffer of about 50% formamide, 6X SSC, and a hybridization temperature of 55° C (or other similar hybridization
30 solutions, such as one containing about 50% formamide, with a hybridization temperature of 42° C), and washing conditions of 60° C, in 0.5X SSC, 0.1% SDS. A stringent hybridization condition 6X SSC at 45° C, followed by one or more washes in 0.1X SSC, 0.2% SDS at 68° C. Furthermore, one of skill in the art can manipulate the hybridization and/or washing conditions to increase or decrease the stringency of hybridization such that nucleic acids comprising nucleotide
35 sequences that are at least 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 98 or 99% identical to each other typically remain hybridized to each other. The basic parameters affecting the choice of hybridization conditions and guidance for devising suitable conditions are set forth by Sambrook, Fritsch, and Maniatis (1989, Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y., chapters 9 and 11; and Current Protocols in Molecular Biology, 1995, Ausubel *et al.*, eds., John Wiley & Sons, Inc., sections 2.10 and 6.3-6.4), and can be readily
40 determined by those having ordinary skill in the art based on, for example, the length and/or base composition of the DNA.

Changes can be introduced by mutation into a nucleic acid, thereby leading to changes in the amino acid sequence of a polypeptide (e.g., an antibody) that it encodes. Mutations can be introduced by standard techniques, such as site-directed mutagenesis and PCR-mediated mutagenesis. Preferably, conservative amino acid substitutions are made at one or more predicted non-essential amino acid residues. Alternatively, mutations can be introduced randomly along all or part of the coding sequence, such as by saturation mutagenesis, and the resultant mutants can be screened for biological activity to identify mutants that retain activity (e.g., binding to IL-4 receptor). Following mutagenesis, the encoded protein can be expressed recombinantly and the activity of the protein can be determined. The mutations can be introduced into a nucleic acid without significantly altering the biological activity of a peptide that it encodes. For example, one can make nucleotide substitutions leading to amino acid substitutions at non-essential amino acid residues. In one embodiment, a nucleotide sequence provided in Figure 2, or a desired fragment, variant, or derivative thereof, is mutated such that it encodes an amino acid sequence comprising one or more deletions or substitutions of amino acid residues that are shown in Figure 3 to be residues where two or more sequences differ. In another embodiment, the mutagenesis inserts an amino acid adjacent to one or more amino acid residues shown in Figure 3 to be residues where two or more sequences differ. Alternatively, mutations can be introduced into a nucleic acid that selectively change the biological activity (e.g., binding of IL-4 receptor, inhibiting IL-4 and/or IL-13, etc.) of a polypeptide that it encodes. For example, the mutation can quantitatively or qualitatively change the biological activity. Examples of quantitative changes include increasing, reducing or eliminating the activity. Examples of qualitative changes include changing the antigen specificity of an antibody.

In another aspect, the present invention provides nucleic acid molecules that are suitable for use as primers or hybridization probes for the detection of nucleic acid sequences of the invention. A nucleic acid molecule of the invention can comprise only a portion of a nucleic acid sequence encoding a full length polypeptide of the invention, for example, a fragment that can be used as a probe or primer or a fragment encoding an active portion (e.g., an IL-4 receptor binding portion) of a polypeptide of the invention.

Probes based on the sequence of a nucleic acid of the invention can be used to detect the nucleic acid or similar nucleic acids, for example, transcripts encoding a polypeptide of the invention. The probe can comprise a label group, e.g., a radiolotope, a fluorescent compound, an enzyme, or an enzyme co-factor. Such probes can be used to identify a cell that expresses the polypeptide.

In another aspect, the present invention provides vectors comprising a nucleic acid encoding a polypeptide of the invention or a portion thereof. Examples of vectors include, but are not limited to, plasmids, viral vectors, non-retroviral mammalian vectors and expression vectors, for example, recombinant expression vectors.

The recombinant expression vectors of the invention can comprise a nucleic acid of the invention in a form suitable for expression of the nucleic acid in a host cell. The recombinant expression vectors include one or more regulatory sequences, selected on the basis of the host cells to be used for expression, which is operably linked to the nucleic acid sequence to be expressed. Regulatory sequences include those that direct constitutive expression of a nucleotide

sequence in many types of host cells (e.g., SV40 early gene enhancer, Rous sarcoma virus promoter and cytomegalovirus promoter), those that direct expression of the nucleotide sequence only in certain host cells (e.g., tissue-specific regulatory sequences, see Voss *et al.*, 1986, Trends Biochem. Sci. 11:287, Maniatis *et al.*, 1987, Science 236:1237, incorporated by reference herein in

5 their entireties), and those that direct inducible expression of a nucleotide sequence in response to particular treatment or condition (e.g., the metallothionin promoter in mammalian cells and the tet-responsive and/or streptomycin responsive promoter in both prokaryotic and eukaryotic systems (see *id.*). It will be appreciated by those skilled in the art that the design of the expression vector can depend on such factors as the choice of the host cell to be transformed, the level of

10 expression of protein desired, etc. The expression vectors of the invention can be introduced into host cells to thereby produce proteins or peptides, including fusion proteins or peptides, encoded by nucleic acids as described herein.

In another aspect, the present invention provides host cells into which a recombinant expression vector of the invention has been introduced. A host cell can be any prokaryotic cell (for

15 example, *E. coli*) or eukaryotic cell (for example, yeast, insect, or mammalian cells (e.g., CHO cells)). Vector DNA can be introduced into prokaryotic or eukaryotic cells via conventional transformation or transfection techniques. For stable transfection of mammalian cells, it is known that, depending upon the expression vector and transfection technique used, only a small fraction of cells may integrate the foreign DNA into their genome. In order to identify and select these

20 integrants, a gene that encodes a selectable marker (e.g., for resistance to antibiotics) is generally introduced into the host cells along with the gene of interest. Preferred selectable markers include those which confer resistance to drugs, such as G418, hygromycin and methotrexate. Cells stably transfected with the introduced nucleic acid can be identified by drug selection (e.g., cells that have incorporated the selectable marker gene will survive, while the other cells die), among other

25 methods.

Derivatives, fragments, and mutants of antibodies

Derivatives of antibodies directed against IL-4R may be prepared, and screened for desired properties, by any of a number of known techniques. Certain of the techniques involve

30 isolating DNA encoding a polypeptide chain (or portion thereof) of an antibody of interest, and manipulating the DNA through recombinant DNA technology. The DNA may be fused to another DNA of interest, or altered (e.g., by mutagenesis or other conventional techniques) to add, delete, or substitute one or more amino acid residues, for example.

In one aspect, the present invention provides antigen-binding fragments of the antibodies

35 of the invention. Such fragments can consist entirely of antibody-derived sequences or can comprise additional sequences. Examples of antigen-binding fragments include Fab and F(ab')₂. Other examples are provided in Lunde *et al.*, 2002, Biochem. Soc. Trans. 30:500-06.

Single chain antibodies may be formed by linking heavy and light chain variable domain (Fv region) fragments via an amino acid bridge (short peptide linker), resulting in a single

40 polypeptide chain. Such single-chain Fvs (scFvs) have been prepared by fusing DNA encoding a peptide linker between DNAs encoding the two variable domain polypeptides (V_L and V_H). The resulting polypeptides can fold back on themselves to form antigen-binding monomers, or they

can form multimers (e.g., dimers, trimers, or tetramers), depending on the length of a flexible linker between the two variable domains (Kortt *et al.*, 1997, *Prot. Eng.* 10:423; Kortt *et al.*, 2001, *Biomol. Eng.* 18:95-108). By combining different V_L and V_H-comprising polypeptides, one can form multimeric scFvs that bind to different epitopes (Kriangkum *et al.*, 2001, *Biomol. Eng.* 18:31-40). Techniques developed for the production of single chain antibodies include those described in U.S. Patent No. 4,946,776; Bird, 1988, *Science* 242:423; Huston *et al.*, 1988, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 85:5879; Ward *et al.*, 1989, *Nature* 334:544; de Graaf *et al.*, 2002, *Methods Mol Biol.* 178:379-87. Single chain antibodies derived from antibodies provided herein (including but not limited to scFvs comprising the variable domain combinations L2H1, L3H1, L4H1, L5H1, L1H2, L1H3, L1H4, L1H5, L1H6, L1H7, L1H8, L1H9, L1H10, L1H11, L2H4, L2H12, L2H13, L2H14, L6H1, L2H2, L2H3, L2H6, L2H7, L2H8, L2H9, L2H10, and L2H11) are encompassed by the present invention.

Techniques are known for deriving an antibody of a different subclass or isotype from an antibody of interest, *i.e.*, subclass switching. Thus, IgG antibodies may be derived from an IgM antibody, for example, and *vice versa*. Such techniques allow the preparation of new antibodies that possess the antigen-binding properties of a given antibody (the parent antibody), but also exhibit biological properties associated with an antibody isotype or subclass different from that of the parent antibody. Recombinant DNA techniques may be employed. Cloned DNA encoding particular antibody polypeptides may be employed in such procedures, *e.g.*, DNA encoding the constant domain of an antibody of the desired isotype. See also Lantto *et al.*, 2002, *Methods Mol Biol.* 178:303-16.

Accordingly, the antibodies of the present invention include those comprising, for example, the variable domain combinations L2H1, L3H1, L4H1, L5H1, L1H2, L1H3, L1H4, L1H5, L1H6, L1H7, L1H8, L1H9, L1H10, L1H11, L2H4, L2H12, L2H13, L2H14, L6H1, L2H2, L2H3, L2H6, L2H7, L2H8, L2H9, L2H10, and L2H11, having a desired isotype (for example, IgA, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgM, IgE, and IgD) as well as Fab or F(ab')₂ fragments thereof. Moreover, if an IgG4 is desired, it may also be desired to introduce a point mutation (CPSCP → CPPCP) in the hinge region as described in Bloom *et al.*, 1997, *Protein Science* 6:407, incorporated by reference herein) to alleviate a tendency to form intra-H chain disulfide bonds that can lead to heterogeneity in the IgG4 antibodies.

Moreover, techniques for deriving antibodies having different properties (*i.e.*, varying affinities for the antigen to which they bind) are also known. One such technique, referred to as chain shuffling, involves displaying immunoglobulin variable domain gene repertoires on the surface of filamentous bacteriophage, often referred to as phage display. Chain shuffling has been used to prepare high affinity antibodies to the hapten 2-phenyloxazol-5-one, as described by Marks *et al.*, 1992, *BioTechnology*, 10:779.

Molecular evolution of the complementarity determining regions (CDRs) in the center of the antibody binding site has also been used to isolate antibodies with increased affinity, for example, antibodies having increased affinity for c-erbB-2, as described by Schier *et al.*, 1996, *J. Mol. Biol.* 263:551. Accordingly, such techniques are useful in preparing antibodies to IL-4R.

In particular embodiments, antibodies of the present invention have a binding affinity (K_a) for IL-4R of at least 1×10^8 . In other embodiments, the antibodies exhibit a K_a of at least 1×10^9 , at least 1×10^{10} or at least 1×10^{11} .

The present invention further includes multi-specific antibodies, for example, bispecific antibodies, e.g., two different epitopes of IL-4R, or an epitope of IL-4R and an epitope of IL-13R, via two different antigen binding sites or regions. Moreover, bispecific antibodies as disclosed herein can comprise an antigen binding site from one of the herein described antibodies and a second antigen binding region from another of the herein described antibodies. Alternatively, a bispecific antibody may comprise an antigen binding site from one of the herein described antibodies and a second antigen binding site from another IL-4R antibody that is known in the art (or one that can be prepared by known methods).

Numerous methods of preparing bispecific antibodies are known in the art, and discussed in US Patent Application 09/839,632, filed April 20, 2001 (incorporated by reference herein). Such methods include the use of hybrid-hybridomas as described by Milstein *et al.*, 1983, Nature 305:537, and others (U.S. Patent 4,474,893, U.S. Patent 5,106,833), and chemical coupling of antibody fragments (Brennan *et al.*, 1985, Science 229:81; Glennie *et al.*, 1987, J. Immunol. 139:2367; U.S. Patent 5,010,902). Moreover, bispecific antibodies can be produced via recombinant means, for example by using leucine zipper moieties (i.e., from the *Fos* and *Jun* proteins, which preferentially form heterodimers; Kostelny *et al.*, 1992, J. Immunol. 148:1547) or other lock and key interactive domain structures as described in U.S. Patent 5,582,996. Additional useful techniques include those described in Kortt *et al.*, 1997, *supra*; U.S. Patent 5,959,083; and U.S. Patent 5,807,706.

In another aspect, the present invention provides a derivative of an antibody. The derivatized antibody can comprise any molecule or substance that imparts a desired property to the antibody, such as increased half-life in a particular use. The derivatized antibody can comprise, for example, a detectable (or labeling) moiety (e.g., a radioactive, colorimetric, antigenic or enzymatic molecule, a detectable bead (such as a magnetic or gold bead), or a molecule that binds to another molecule (e.g., biotin)), a therapeutic or diagnostic moiety (e.g., a radioactive, cytotoxic, or pharmaceutically active moiety), or a molecule that increases the suitability of the antibody for a particular use (e.g., administration to a subject, such as a human subject, or other *in vivo* or *in vitro* uses). Examples of molecules that can be used to derivatize an antibody are albumin (e.g., human serum albumin) and polyethylene glycol (PEG). Albumin-linked and PEGylated derivatives of antibodies can be prepared using techniques well known in the art. In one embodiment, the antibody is conjugated or otherwise linked to transthyretin (TTR) or a TTR variant. The TTR or TTR variant can be chemically modified with, for example, a chemical selected from the group consisting of dextran, poly(*n*-vinyl pyrrolidone), polyethylene glycols, propylene glycol homopolymers, polypropylene oxide/ethylene oxide co-polymers, polyoxyethylated polyols and polyvinyl alcohols. US Pat. App. No. 20030195154.

40 Therapeutic Methods and Administration of Antibodies

Methods provided herein comprise administering an anti-IL-4R antibody to a subject, thereby reducing an IL-4-induced biological response that plays a role in a particular condition. In

particular embodiments, methods of the invention involve contacting endogenous IL-4R with an anti-IL-4R antibody, e.g., in an *ex vivo* procedure.

Treatment encompasses alleviation or prevention of at least one symptom of a disorder, or reduction of disease severity, and the like. An antibody need not effect a complete "cure", or eradicate every symptom or manifestation of a disease, to constitute a viable therapeutic agent. As is recognized in the pertinent field, drugs employed as therapeutic agents may reduce the severity of a given disease state, but need not abolish every manifestation of the disease to be regarded as useful therapeutic agents. One embodiment of the invention is directed to a method comprising administering to a patient an IL-4R antagonist in an amount and for a time sufficient to induce a sustained improvement over baseline of an indicator that reflects the severity of the particular disorder.

Antibodies that inhibit the binding of both IL-4 and IL-13 to cells are discussed herein. A method for suppressing IL-4-induced and IL-13-induced activities in humans comprises administering an effective amount of such an antibody. Conditions induced by IL-4 or by IL-13, or by both cytokines, thus may be treated.

As is understood in the pertinent field, antibodies are administered to a subject in a manner appropriate to the indication. Antibodies may be administered by any suitable technique, including but not limited to parenterally, topically, or by inhalation. If injected, the antibody can be administered, for example, via intra-articular, intravenous, intramuscular, intralesional, intraperitoneal or subcutaneous routes, by bolus injection, or continuous infusion. Localized administration, e.g. at a site of disease or injury is contemplated, as are transdermal delivery and sustained release from implants. Delivery by inhalation includes, for example, nasal or oral inhalation, use of a nebulizer, inhalation of the antagonist in aerosol form, and the like. Other alternatives include eyedrops; oral preparations including pills, syrups, lozenges or chewing gum; and topical preparations such as lotions, gels, sprays, and ointments.

Use of anti-IL-4R antibodies in *ex vivo* procedures also is contemplated. For example, a patient's blood or other bodily fluid may be contacted with an antibody that binds IL-4R *ex vivo*. The antibody may be bound to a suitable insoluble matrix or solid support material.

Advantageously, antibodies are administered in the form of a composition comprising at least one anti-IL-4R antibody and one or more additional components such as a physiologically acceptable carrier, excipient or diluent. The present invention provides such compositions comprising an effective amount of an anti-IL-4R antibody, for use in the methods provided herein.

The compositions contain anti-IL-4R antibody(-ies) in, for example, any of the forms described herein. The antibody may be a whole antibody or an antigen-binding fragment or engineered derivative thereof, for example.

Compositions may, for example, comprise an antibody together with a buffer, antioxidant such as ascorbic acid, low molecular weight polypeptide (such as those having fewer than 10 amino acids), protein, amino acid, carbohydrate such as glucose, sucrose or dextrans, chelating agents such as EDTA, glutathione, and other stabilizers and excipients. Neutral buffered saline or saline mixed with conspecific serum albumin are examples of appropriate diluents. In accordance with appropriate industry standards, preservatives such as benzyl alcohol may also be added. The composition may be formulated as a lyophilizate using appropriate excipient solutions (e.g.,

sucrose) as diluents. Suitable components are nontoxic to recipients at the dosages and concentrations employed. Further examples of components that may be employed in pharmaceutical formulations are presented in *Remington's Pharmaceutical Sciences*, 16th Ed., Mack Publishing Company, Easton, PA, 1980.

5 Kits for use by medical practitioners include an anti-IL-4R antibody and a label or other instructions for use in treating any of the conditions discussed herein. The kit preferably includes a sterile preparation of one or more anti-IL-4R antibodies, which may be in the form of a composition as disclosed above, and may be in one or more vials.

10 Dosages and the frequency of administration may vary according to such factors as the route of administration, the particular antibody employed, the nature and severity of the disease to be treated, whether the condition is acute or chronic, and the size and general condition of the subject. Appropriate dosages can be determined by procedures known in the pertinent art, e.g. in clinical trials that may involve dose escalation studies.

15 An antibody may be administered, for example, once or more than once, e.g., at regular intervals over a period of time. In particular embodiments, the antibody is administered over a period of at least a month or more, e.g., for one, two, or three months or even indefinitely. For treating chronic conditions, long-term treatment is generally most effective. However, for treating acute conditions, administration for shorter periods, e.g. from one to six weeks, may be sufficient. In general, the antibody is administered until the patient manifests a medically relevant degree of
20 improvement over baseline for the chosen indicator or indicators.

 Particular embodiments of the present invention involve administering an antibody at a dosage of from about 1 ng of antibody per kg of subject's weight per day ("1ng/kg/day") to about 10 mg/kg/day, more preferably from about 500 ng/kg/day to about 5 mg/kg/day, and most preferably from about 5 µg/kg/day to about 2 mg/kg/day, to a subject. In additional embodiments,
25 an antibody is administered to adults one time per week, two times per week, or three or more times per week, to treat an IL-4 and/or IL-13 mediated disease, condition or disorder, e.g., a medical disorder disclosed herein. If injected, the effective amount of antibody per adult dose may range from 1-20 mg/m², and preferably is about 5-12 mg/m². Alternatively, a flat dose may be administered; the amount may range from 5-100 mg/dose. One range for a flat dose is about
30 20-30 mg per dose. In one embodiment of the invention, a flat dose of 25 mg/dose is repeatedly administered by injection. If a route of administration other than injection is used, the dose is appropriately adjusted in accordance with standard medical practices. One example of a therapeutic regimen involves injecting a dose of about 20-30 mg of anti-IL-4R antibody to one to three times per week over a period of at least three weeks, though treatment for longer periods
35 may be necessary to induce the desired degree of improvement. For pediatric subjects (age 4-17), one exemplary suitable regimen involves the subcutaneous injection of 0.4 mg/kg, up to a maximum dose of 25 mg of antibody administered two or three times per week.

 Particular embodiments of the methods provided herein involve subcutaneous injection of
40 from 0.5 mg to 10 mg, preferably from 3 to 5 mg, of an anti-IL-4R antibody, once or twice per week. Another embodiment is directed to pulmonary administration (e.g., by nebulizer) of 3 or more mg of antibody once a week.

Examples of therapeutic regimens provided herein comprise subcutaneous injection of an anti-IL-4R antibody once a week, at a dose of 1.5 to 3 mg, to treat asthma, pulmonary sarcoidosis, minimal change nephrosis, autoimmune uveitis, sickle cell crisis, Churg-Strauss syndrome, Sjogren's syndrome, autoimmune lymphoproliferative syndrome, pre-eclampsia, autoimmune hemolytic anemia, Barrett's esophagus, Grave's Disease, Kawasaki Disease, and cavitary tuberculosis. Weekly administration of anti-IL-4R antibody is continued until a desired result is achieved, e.g., the subject's symptoms subside. Treatment may resume as needed, or, alternatively, maintenance doses may be administered.

In another embodiment, an antibody is administered to the subject in an amount and for a time sufficient to induce an improvement, preferably a sustained improvement, in at least one indicator that reflects the severity of the disorder that is being treated. Various indicators that reflect the extent of the subject's illness, disease or condition may be assessed for determining whether the amount and time of the treatment is sufficient. Such indicators include, for example, clinically recognized indicators of disease severity, symptoms, or manifestations of the disorder in question. In most instances, an improvement is considered to be sustained if the subject exhibits the improvement on at least two occasions separated by two to four weeks. The degree of improvement generally is determined by a physician, who may make this determination based on signs or symptoms, and who may also employ questionnaires that are administered to the subject, such as quality-of-life questionnaires developed for a given disease.

As one example, in treating benign prostate hyperplasia, an anti-IL-4R antibody is administered to the subject in an amount and for a time effective in scar regression or complete healing. Maintenance doses may be given or treatment resumed as needed.

Elevated levels of IL-4 are associated with a number of disorders, as discussed above. Subjects with a given disorder may be screened, to identify those individuals who have elevated IL-4 levels, or to identify those with an elevated TH2-type immune response, thereby identifying the subjects who may benefit most from treatment with an anti-IL-4R antibody. Thus, treatment methods provided herein optionally comprise a first step of measuring a subject's IL-4 level. An anti-IL-4R antibody may be administered to a subject in whom IL-4 levels are elevated above normal. Alternatively or additionally, a subject may be pre-screened to determine whether the subject has an elevated TH2-type immune response, prior to administration of antibody(-ies) and/or antagonist(s) against one or more TH2-type cytokines.

A subject's levels of IL-4 (and, optionally, of other TH2-type cytokines) may be monitored during and/or after treatment with an anti-IL-4R antibody, to detect reduction in the levels of the cytokines. For some disorders, the incidence of elevated IL-4 levels, and the balance between TH1-type and TH2-type immune responses, may vary according to such factors as the stage of the disease or the particular form of the disease. Known techniques may be employed for measuring IL-4 levels, e.g., in a subject's serum, and for assessing TH2-type immune responses. Cytokine levels in blood samples may be measured by ELISA, or by a LUMINEX™ multi-plex cytokine assay (Luminex Corporation, Austin, TX) or DELFIA® (PerkinElmer LifeSciences, Wallac Oy., Turku, Finland), for example.

Particular embodiments of methods and compositions of the invention involve the use of an anti-IL4R antibody and one or more additional IL-4R antagonists, for example, two or more

antibodies or antibody derivatives of the invention, or an antibody or antibody derivative of the invention and one or more other IL-4R antagonists. In further embodiments, anti-IL-4R antibodies are administered alone or in combination with other agents useful for treating the condition with which the patient is afflicted. Examples of such agents include both proteinaceous and non-

5 proteinaceous drugs. When multiple therapeutics are co-administered, dosages may be adjusted accordingly, as is recognized in the pertinent art. "Co-administration" and combination therapy are not limited to simultaneous administration, but include treatment regimens in which an IL-4R antibody is administered at least once during a course of treatment that involves administering at least one other therapeutic agent to the patient.

10 Examples of other agents that may be co-administered with IL-4R antibodies are other antibodies, cytokines, or cytokine receptors, which are chosen according to the particular condition to be treated. Alternatively, non-proteinaceous drugs that are useful in treating one of the particular conditions discussed above may be co-administered with an IL-4R antagonist.

For treating IgE-mediated conditions, an anti-IL-4R antibody may be co-administered with

15 an IgE antagonist. One example is an anti-IgE antibody, e.g., XOLAIR® (Genentech, South San Francisco, CA). Humanized anti-IgE monoclonal antibodies are described in, for example, Presta *et al.*, 1993, J. Immunol. 151:2623-32 and Adelmuth *et al.*, 2000, J. Allergy Clin. Immunol. 106:253-59.

Anti-IL-4R antibodies may be co-administered with an IL-5 antagonist, which may be a

20 molecule that interferes with the binding of IL-5 to an IL-5 receptor, such as an anti-IL-5R or anti-IL-5 antibody (e.g., a human or humanized anti-IL-5 or anti-IL-5R monoclonal antibody), or a receptor such as a soluble human IL-5 receptor polypeptide. IL-5 has been implicated as playing a role in mediating allergic responses. Thus, administration of antagonist(s) of IL-4R and IL-5 is contemplated for treatment of allergic reactions, including but not limited to allergic asthma.

Further examples of agents that can be used in conjunction with IL-4R antibodies include

25 anti-IL-4 antibodies, IL-4 muteins, IL-4 binding derivatives of IL-4R (as described in, e.g., U.S. Patents 5,840,889; 5,599,905, 5,856,296, 5,767,085, 5,717,072, 6,391,581, 6,548,855, 6,472,179, and 5,844,099), IL-13 binding derivatives of IL-13, IL-4 and/or IL-13 binding chimeric derivatives of IL-4R and IL-13R, IL-13 muteins, and antagonists of CD23 (e.g., anti-CD23 antibodies such as

30 IDEC-152™ (IDEC Pharmaceuticals, San Diego, CA), Phosphodiesterase 4 (e.g., ROFLUMILAST®, Byk Gulden Pharmaceuticals, Konstanz, Germany), Integrins (e.g., R411™, Roche, Nutley, NJ), TIMs, Gb5, STAT6, and leukotrienes.

For treating asthma, an IL-4R antibody may be co-administered with other anti-asthma medications, such as inhaled corticosteroids, beta agonists, leukotriene antagonists, xanthines,

35 fluticasone, salmeterol, albuterol, non-steroidal agents such as cromolyn, and the like. IL-4R antibodies may be co-administered with other anti-allergy medications to treat allergic reactions.

One embodiment of the present invention is directed to co-administration of an antibody or antibody derivative of the invention and fluticasone and/or salmeterol to treat a disorder such as

40 asthma. Compositions comprising an antibody or antibody derivative of the invention, fluticasone, and salmeterol are provided herein. ADVAIR DISKUS® (GlaxoSmithKline, Research Triangle Park, NC) comprises fluticasone propionate and salmeterol xinafoate. ADVAIR DISKUS® and the antibody or antibody derivative can be delivered by any route of administration effective for

treating or preventing a particular disease, disorder, injury, or condition e.g., by inhalation for treating asthma.

Another example of combination therapy comprises co-administration of an antibody or antibody derivative of the invention and an IL-9 antagonist to a patient who has asthma. Any suitable IL-9 antagonist may be employed, such as an IL-9 receptor (e.g., a soluble form thereof), an antibody that interferes with binding of IL-9 to a cell surface receptor (e.g., an antibody that binds to IL-9 or to an IL-9 receptor polypeptide), or another compound that inhibits IL-9-induced biological activity. IL-9 receptors include those described in WO 93/18047 and U.S. Patents 5,789,237 and 5,962,269, which are hereby incorporated by reference herein.

In an additional embodiment of combination therapy, a method for treating ulcerative colitis comprises co-administration of an antibody or antibody derivative of the invention and at least one IL-1 antagonist. Examples of IL-1 antagonists include type I IL-1 receptor, type II IL-1 receptor, IL-1 receptor antagonist (IL-1Ra), antagonistic (blocking) antibodies directed against IL-1, and antagonistic antibodies directed against an IL-1 receptor. Various forms of the receptors may be employed, such as fragments, variants and fusions, for example, a soluble form of type II IL-1 receptor, e.g., as described in U.S. Patent 5,350,683, hereby incorporated by reference herein.

One method of the present invention comprises co-administering an antibody or antibody derivative of the present invention, alone or in combination with an IL-13 antagonist(s), to a patient who has minimal change nephrosis, e.g., to reduce severity of the disease.

Another method provided herein is a method for treating various allergic inflammatory conditions, comprising co-administering an antibody or antibody derivative of the invention and IL-13 antagonist(s). Conditions such as asthma, allergies, and chronic lung diseases such as cystic fibrosis and chronic obstructive pulmonary disease are treated by such a method.

Any suitable IL-13 antagonist may be employed, including but not limited to IL-13 receptors (preferably soluble forms thereof), IL-13 receptor antagonists, antibodies directed against IL-13 or an IL-13R, other proteins that interfere with the binding of IL-13 to an IL-13R, and compounds that inhibit IL-13-mediated signal transduction. IL-13 receptors and heterodimers comprising IL-13R polypeptides as components thereof are described above. Antibodies that are raised against IL-4R may be screened for the ability to also function as IL-13 antagonists, as discussed above.

A method for treating or preventing a condition characterized by reduced epithelial barrier function comprises co-administering an antibody or antibody derivative of the invention and one or more IL-13 antagonists. Such conditions are discussed above. In one embodiment, the condition is asthma. Particular embodiments are directed to co-administering one or more antibodies or antibody derivatives of the invention and one or more IL-13 antagonists to a patient having a condition involving reduction of lung epithelial barrier function or intestinal epithelial barrier function, wherein both IL-4 and IL-13 play a role in the reduced barrier function. The adverse effect of IL-13 on lung and intestinal epithelial barrier function can be confirmed using assay techniques such as those described in Example 3. See also Zund *et al.*, 1996, J. Biol. Chem. 271:7480-84.

Another method provided herein comprises co-administering an antibody or antibody derivative of the invention and Interferon- γ (IFN- γ) to a patient having a condition involving reduction of lung epithelial barrier function. Optionally, such a method further comprises co-administering one or more IL-13 antagonists to the patient (*i.e.*, co-administering an antibody or antibody derivative of the invention, IFN- γ , and an IL-13 antagonist). In one embodiment, the patient has asthma. The antibody or antibody derivative of the invention, IFN- γ , and/or IL-13 antagonist can be administered via any method of delivery effective for treating or preventing a particular disease, disorder, condition, or injury, *e.g.*, for treating asthma, via inhalation or injection.

One method provided herein for treating asthma comprises administering an antibody or antibody derivative of the invention and Interferon- γ to a human who has asthma. Another method for treating asthma comprises co-administering an antibody or antibody derivative of the invention, IFN- γ , and an IL-13 antagonist to a human who has asthma. In one embodiment, IFN- γ is co-administered to an asthmatic, together with an antibody that functions as an antagonist of both IL-4 and IL-13. Examples of such antibodies are described elsewhere herein.

A single antibody or antibody derivative of the invention may function as an IL-4 antagonist and an IL-13 antagonist, as discussed above. As an example of such an agent, some antibodies raised against IL-4R α may interfere with the binding of both IL-4 and IL-13 receptor complexes, due to the shared IL-4R α component in such multi-subunit receptor complexes (discussed above). Thus, a single antibody or antibody derivative of the invention may be employed in a method for inhibiting reduction of barrier function.

An antibody or antibody derivative of the invention may be co-administered with one or more leukotriene receptor antagonists to treat disorders such as allergic inflammatory diseases, *e.g.*, asthma and allergies. Examples of leukotriene receptor antagonists include but are not limited to montelukast (*e.g.*, SINGULAIR $\text{\textregistered}$, Merck & Co., Whitehouse, NJ), pranlukast (*e.g.*, ONON $\text{\textregistered}$, Ono Pharmaceuticals, Osaka, Japan), and zafirlukast (*e.g.*, ACCOLATE $\text{\textregistered}$, AstraZeneca, Wilmington, DE). Drugs that function as 5-lipoxygenase inhibitors may be co-administered with an IL-4R antagonist to treat asthma.

Methods provided herein comprise administering an antibody or antibody derivative of the invention and one or more of the following to Churg-Strauss Syndrome patients: IL-4R antagonist(s), IL-5 antagonist(s), IL-13 antagonist(s) and IgE antagonist(s). One example of such a method involves co-administering an antibody or antibody derivative of the invention and IL-5 antagonist(s) to a Churg-Strauss Syndrome patient. In another embodiment, an antibody or antibody derivative of the invention and IgE antagonist(s) are co-administered to the patient. In yet another embodiment, an antibody or antibody derivative of the invention and IL-13 antagonist(s) are co-administered to the patient.

The hormone relaxin may be co-administered with an antibody or antibody derivative of the invention to treat scleroderma (systemic sclerosis), idiopathic pulmonary fibrosis, or any other disorder characterized by pulmonary fibrosis, such as the conditions involving fibrosis of the lung that are discussed above. Recombinant human relaxin is preferred for use in treating humans.

A method for treating benign prostate hyperplasia comprises co-administering an antibody or antibody derivative of the invention and one or more additional anti-inflammatory agents.

Examples of agents that inhibit inflammation include tumor necrosis factor (TNF) antagonists and IL-17 antagonists.

5 Any suitable IL-17 antagonist may be employed, including but not limited to an IL-17 receptor (e.g., soluble forms thereof), IL-17 receptor antagonists, antibodies directed against IL-17 or an IL-17 receptor, other proteins that interfere with the binding of IL-17 to an IL-17 receptor, and compounds that inhibit IL-17-mediated signal transduction. An IL-17 receptor, including soluble forms thereof and oligomers thereof, is described in WO 96/29408, hereby incorporated by reference. An alternative method provided herein comprises administering an IL-17 antagonist to treat a patient with benign prostate hyperplasia.

10 Likewise, any suitable TNF antagonist may be employed, including but not limited to a TNF receptor (preferably soluble forms thereof), fusion proteins comprising a TNF receptor (or comprising the TNF-binding portion of a TNF receptor), TNF receptor antagonists, antibodies directed against TNF or a TNF receptor, other proteins that interfere with the binding of TNF to a TNF receptor, and compounds that inhibit TNF-mediated signal transduction. Further examples of
15 TNF inhibitors are the drugs thalidomide and pentoxifylline. The TNF receptor protein known as p75 or p80 TNF-R preferably is employed. A preferred TNF antagonist is a soluble human TNF receptor (sTNF-R) in dimeric form, such as dimers of sTNF-R/Fc fusion proteins. One such dimer is etanercept (ENBREL[®], Immunex Corporation, Seattle, WA). p75/p80 TNF-R, including soluble fragments and other forms thereof, is described in WO 91/03553, hereby incorporated by
20 reference herein.

Accordingly, in one embodiment of the present invention, an antibody or antibody derivative of the invention is co-administered with a TNF antagonist to treat any condition in which undesirable IL-4R-mediated and TNF-induced immune responses play a role, such as inflammation. One method provided herein comprises co-administering an antibody or antibody
25 derivative of the invention and a TNF antagonist to a patient with inflammatory bowel disease, Crohn's disease, or ulcerative colitis. Other embodiments are directed to a method comprising co-administering an antibody or antibody derivative of the invention and a TNF antagonist to a patient who has Kawasaki Disease, autoimmune hemolytic anemia, autoimmune uveoretinitis, autoimmune lymphoproliferative syndrome, Sjogren's syndrome, chronic fatigue syndrome, or
30 hepatotoxicity induced by a drug such as diclofenac.

Another method provided herein comprises co-administering an antibody or antibody derivative of the invention and a TNF antagonist to a pregnant woman who has developed pre-eclampsia. In one embodiment, the administration of the antibody or antibody derivative of the invention TNF-antagonist continues for the duration of the pregnancy.

35 Suitable dosages of etanercept will vary according to the nature of the disease to be treated, disease severity, the size of the patient (e.g., adult or child), and other factors, as is recognized in the pertinent field. In one embodiment of the methods provided herein, ENBREL[®] is administered twice a week by subcutaneous injection at a dose of from 1 to 25 mg. One embodiment of a pediatric dosage is 0.4 mg/kg. Particular methods provided herein comprise co-
40 administration of an antibody or antibody derivative of the invention and ENBREL[®] to a patient has autoimmune lymphoproliferative syndrome or Sjogren's syndrome, wherein ENBREL[®] is given by subcutaneous injection at a dose of from 1 to 25 mg.

For treating graft versus host disease ("GVHD"), an antibody or antibody derivative of the invention is co-administered with at least one of the following agents: a TNF antagonist, an IL-1 antagonist, steroids, or corticosteroids. In one embodiment, the TNF inhibitor is ENBREL®. In another embodiment, the IL-1 antagonist is a soluble form of type II IL-1 receptor, e.g., as described in U.S. Patent 5,350,683. In another embodiment, the GVHD is associated with (e.g., develops subsequent to) bone marrow transplantation. An antibody or antibody derivative of the invention may be employed in combination with at least one of the above-listed agents, in methods for suppressing an immune response directed against transplanted cells, tissue, and/or alloantigen.

A number of cytokine antagonists and other agents/drugs are disclosed herein as being useful for combination therapy (e.g., co-administration with an antibody or antibody derivative of the invention) in treating particular diseases. It is to be understood that such antagonists, agents, or drugs also find use as single agents in treating those diseases. It also is to be understood that disclosure of methods involving administration of an antagonist to a particular cytokine, to treat a disease, encompasses administration of one type of antagonist, and also encompasses administration of two or more different antagonists for that cytokine, unless specified otherwise.

EXAMPLE 1: Preparation of Monoclonal Antibodies

This example demonstrates a method of preparing monoclonal antibodies recognizing the human IL-4 receptor.

IL-4 receptor polypeptides may be employed as immunogens in generating monoclonal antibodies by conventional techniques, e.g., techniques described in U.S. Patent 5,599,905, hereby incorporated by reference in its entirety. It is recognized that polypeptides in various forms may be employed as immunogens, e.g., full length proteins, fragments thereof, fusion proteins thereof such as Fc fusions, cells expressing the recombinant protein on the cell surface, etc.

To summarize an example of such a procedure, an IL-4R immunogen emulsified in complete Freund's adjuvant is injected subcutaneously into Lewis rats, in amounts ranging from 10-100 µl. Three weeks later, the immunized animals are boosted with additional immunogen emulsified in incomplete Freund's adjuvant and boosted every three weeks thereafter. Serum samples are periodically taken by retro-orbital bleeding or tail-tip excision for testing by dot-blot assay, ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay), or inhibition of binding of ¹²⁵I-IL-4 to extracts of IL-4R-expressing cells. Following detection of an appropriate antibody titer, positive animals are given a final intravenous injection of antigen in saline. Three to four days later, the animals are sacrificed, splenocytes harvested, and fused to the murine myeloma cell line AG8653. The resulting hybridoma cell lines are plated in multiple microtiter plates in a HAT selective medium (hypoxanthine, aminopterin, and thymidine) to inhibit proliferation of non-fused cells, myeloma hybrids, and spleen cell hybrids.

Hybridoma clones thus generated are screened for reactivity with IL-4R. Initial screening of hybridoma supernatants utilizes an antibody capture and binding of partially purified ¹²⁵I-IL-4 receptor. Hybridomas that are positive in this screening method are tested by a modified antibody capture to detect hybridoma cell lines that are producing blocking antibody. Hybridomas that

secrete a monoclonal antibody capable of inhibiting 125 I-IL-4 binding to cells expressing IL-4R are thus detected. Such hybridomas then are injected into the peritoneal cavities of nude mice to produce ascites containing high concentrations (>1 mg/ml) of anti-IL-4R monoclonal antibody. The resulting monoclonal antibodies may be purified by ammonium sulfate precipitation followed by gel exclusion chromatography, and/or affinity chromatography based on binding of antibody to Protein G.

Methods for generating human antibodies in transgenic mice have been described and are well known in the art. See, e.g., Chen *et al.*, 1993, *Internat. Immunol.* 5: 847-58; Chen *et al.*, 1993, *EMBO J.* 12: 821-30; Choi *et al.*, 1993, *Nature Genetics* 4: 117-23; Fishwild *et al.*, 1998, *Nature Biotech.* 14: 845-51; Harding *et al.*, 1995, *Annals New York Acad. Sci.*; Lonberg *et al.*, 1994, *Nature* 368: 858-59; Lonberg, 1994, *Handbook Exper. Pharmacol.* 113: 49-101; Lonberg *et al.*, 1995, *Internat. Rev. Immunol.* 13: 65-93; Morrison, S, 1994, *Nature* 368: 812-13; Neuberger, 1998, *Nature Biotech.* 14: 828; Taylor *et al.*, 1992, *Nuc. Acids Res.* 20: 6287-95; Taylor *et al.*, 1994, *Internat. Immunol.* 6: 579-91; Tomizuka *et al.*, 1997, *Nature Genetics* 16: 133-43; Tomizuka *et al.*, 2000, *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 97: 722-27; Tuallon *et al.*, 1993, *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 90: 3720-24; Tuallon *et al.*, 1994, *J. Immunol.* 152: 2912-20; Russel *et al.*, 2000, *Infection and Immunity* April 2000: 1820-26; Gallo *et al.*, 2000, *Eur. J. Immunol.* 30: 534-40; Davis *et al.*, 1999, *Cancer Metastasis Rev.* 18:421-25; Green, 1999, *J. Immunol. Methods* 231:11-23; Jakobovits, 1998, *Advanced Drug Delivery Rev.* 31:33-42; Green *et al.*, 1998, *J. Exp. Med.* 188: 483-95; Jakobovits, 1998, *Exp. Opin. Invest. Drugs* 7: 607-14; Tsuda *et al.*, 1997, *Genomics* 42: 413-21; Mendez *et al.*, 1997, *Nature Genetics* 15: 148-58; Jakobovits, 1998, *Weir's Handbook of Experimental Immunology, The Integrated Immune System Vol. IV*, 194.1-194.7; Mendez *et al.*, 1995, *Genomics* 26: 294-307; Jakobovits, 1994, *Current Biol.* 4: 761-63; Arbones, 1994, *Immunity* 1: 247-60; Green *et al.*, 1994, *Nature Genetics* 7: 13-21; Jakobovits *et al.*, 1993, *Nature* 362: 255-58; Jakobovits *et al.*, 1993, *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 90: 2551-55.

EXAMPLE 2: Assay for Assessing Blocking Activity

This example demonstrates an assay that can be used to identify antibodies that reduce IL-4 and/or IL-13-dependent expression of CD23. The assay is based on the ability of both IL-4 and IL-13 to enhance the expression of the activation-associated surface antigen CD23 on human B cells.

Antibodies raised against human IL-4R (huIL-4R) are tested either in the form of hybridoma supernatants or purified protein. Prior to addition to cultures, the antibodies are buffer exchanged against culture medium (RPMI 1840 plus 10% heat-inactivated fetal bovine serum) by centrifugation, using Centricon filter devices (Amicon) with a 10kDa cutoff.

Human peripheral blood B cells are purified as described previously (Morris *et al.*, 1999, *J. Biol. Chem.* 274:418-23). The B cells (3×10^5 /well) in culture medium are placed in 96-well round-bottomed microtiter plates and preincubated at room temperature for 30 min with test antibodies at the final concentrations indicated. Recombinant human IL-4 or IL-13 is then added to the cultures at the concentrations indicated, and cells are cultured for 20-24 hours at 37°C in a humidified atmosphere of 5% CO₂. At the end of the culture period, cells are washed once in PBS + 0.02% NaN₃ in the 96-well culture plate and are resuspended in blocking buffer (2% normal

rabbit serum + 1% normal goat serum in PBS + NaN₃). Phycoerythrin (PE)-conjugated CD23 monoclonal antibody (mAb) or PE-conjugated isotype control mAb (both from Pharmingen) are then added to cells at a final dilution of 1:10. Cells are incubated for 30 minutes at 4° C, washed x3 in PBS + NaN₃ and analyzed on a FacScan (Becton Dickinson) for CD23 expression.

- 5 Cells cultured with hybridoma growth medium or isotype-matched non-blocking human anti-hIL-4R antibody are included as negative controls. An anti-hIL-4R murine mAb (MAB 230, R&D Systems, Minneapolis, MN), previously shown to block the binding and function of both hIL-4 and hIL-13, is used as a positive control for neutralization of CD23 induction by IL-4 and IL-13.

10 **EXAMPLE 3: Assays for Measuring Loss of Barrier Function**

This example provides methods of assessing the ability of an IL-4 antagonist to inhibit IL-4 induced damage to epithelial tissue and loss of epithelial barrier function.

- In one aspect, the present invention provides a method of using an IL-4 antagonist to inhibit IL-4-induced damage to epithelium, including but not limited to lung epithelium or intestinal epithelium. Damage to epithelium can result in loss of barrier function. The following are non-limiting examples of techniques that may be employed in assessing the ability of an IL-4
15 antagonist to inhibit IL-4-induced damage to epithelium and loss of epithelial barrier function.

- Cells that may be employed in preparing *in vitro* models of epithelium (epithelial barriers) are known. For example, Calu-3 human lung epithelial cells are suitable for use in barrier function studies (Ahdieh *et al.*, 2001, Am. J. Physiol. Cell Physiol. 281:C2029-38). Another suitable cell line is the human intestinal epithelial cell line designated T84. T84 cells are cultured under conditions that result in formation of a monolayer of epithelial cells on a permeable support, as described in Madara *et al.*, 1985, J. Cell Biol., 101:2124-33, Madara *et al.*, 1989, J. Clin. Invest. 83:724-27, and Youakim *et al.*, 1999, Am. J. Physiol. 276 (Gastrointest. Liver Physiol. 39):G1279-88. The thus-
20 generated epithelial monolayer simulates the intestinal epithelial barrier.

- The cultured monolayers are tested for a property (e.g., resistance to passive transepithelial ion flow) that can distinguish an intact epithelium from a damaged epithelium. One such assay determines whether a particular radiolabeled compound is able to cross an epithelial monolayer. Leakage of the radiolabeled compound through the monolayer indicates that the
25 barrier is permeable rather than intact. For example, mannitol flux analysis can be used to detect epithelial damage by assessing the movement of radiolabeled mannitol (e.g., ³H mannitol) across a monolayer (see Madara and Stafford, *supra*).

- Other examples of methods for assessing the condition of an epithelial include imaging methods (e.g., those discussed in Madara and Stafford, *supra*) and transepithelial electrical resistance measurements (e.g., those discussed in Youakim and Ahdieh, *supra*).
35

- U.S. Patent 6,033,888 ("the '888 patent"), incorporated herein by reference in its entirety, also describes procedures that may be employed in studies of barrier permeability; see, e.g., Examples 1 and 4 of the patent. Human tracheal epithelial cells are cultured under conditions that yield a monolayer exhibiting transepithelial electrical resistance. Transepithelial resistance
40 (indicating an intact barrier) is determined using a voltmeter. The effect of a substance or treatment on the epithelial monolayer is assessed by exposing the monolayer to the substance or treatment, and then measuring ion transport activities in Ussing chambers (column 8, lines 40-56).

Similar procedures can be conducted using monolayers that are generated from other types of cells, e.g., bronchial epithelial cells from a human cystic fibrosis patient (see the '688 patent, example 4, column 11).

Thus, the ability of a substance's or treatment's ability to inhibit IL-4-induced reduction in the barrier function of an epithelial layer can be assessed by exposing the epithelial layer to IL-4 and to the substance or treatment, assaying the condition of the epithelial layer, and comparing the condition of the epithelial layer to the condition of an epithelial layer that has been exposed to IL-4 in the absence of the substance or condition. An improvement in the condition of the epithelial layer exposed to the substance or treatment relative to an epithelial layer not exposed to the substance or treatment indicates that the substance or treatment inhibits IL-4 induced damage to epithelial tissue and loss of epithelial barrier function.

In one such assay, a monolayer of T84 cells served as an *in vitro* model of an intestinal epithelial barrier, as discussed above. IL-4 added to the basolateral side of polarized epithelial cells was found to reduce barrier function by 70% within 48-72 hours of treatment. When a soluble IL-4 receptor polypeptide consisting of the extracellular domain was added at the same time as IL-4, the reduction in barrier function was prevented, and the barrier was maintained at the same level as untreated (control) cells.

The assay procedure also was conducted on a monolayer derived from lung epithelial cells, which served as an *in vitro* model of a lung epithelial barrier. IL-4 added to the basolateral side of polarized lung epithelial cells was found to reduce barrier function by 50% within 48-72 hours of treatment. When the IL-4 receptor polypeptide was added at the same time as IL-4, the reduction in barrier function was prevented, and the barrier was maintained at the same level as untreated (control) cells.

25 **EXAMPLE 4: Assays for Measuring Binding Activity**

This example provides methods of assessing the binding activity of an anti-IL-4R antibody.

Anti-huIL-4R (or a variant, derivative, or fragment thereof), is radiolabeled with ^{125}I using a solid phase chloramine-T analogue (IODOGEN®, Pierce, St. Louis, MO) or other, suitable radiolabeling technique, to a specific activity of approximately 3×10^{16} cpm/mmol. Loss of bioactivity is assessed by comparing binding inhibition or other biological inhibition assay with the corresponding unlabeled protein. Alternatively, inhibition of radiolabeled IL-4 binding by anti-huIL-4R (or a variant or fragment thereof) can be measured. Equilibrium binding assays on cells expressing IL-4R are performed in 96-well microtiter trays substantially as described in Idzerda, et al., 1990, J. Exp. Med. 171:3 861-73. Briefly, serial dilutions of radiolabeled protein in binding medium (RPMI 1640, 2.5% BSA, 20 mM HEPES, 0.02% sodium azide, pH 7.2), supplemented with 0.5 mg/ml human IgG and 5% human serum, are incubated with cells (2.5×10^6 /well) for 2 hours at 4° C in a total volume of 150 microliters. Free and bound radiolabeled probes are separated by microfugation through a phthalate-oil separation mixture and counted in a gamma counter. Inhibition assays use radiolabeled protein at a constant concentration of 0.5 nM in the presence or absence of potential inhibitors. Nonspecific binding is determined in the presence of a 100-fold excess of unlabeled protein. Theoretical curves based on single-site competitive inhibition model are fitted to the data as described in Dower et al., 1984, J Immunol. 132:751.

Percent inhibition is calculated according to the equation $I(\%) = [100 KI(I)/[1 + Ka(L) + KI(I)]]$, where I is the molar concentration of inhibitor, L is the molar concentration of radiolabeled protein, and KI and Ka are the affinity constants of inhibitor and protein, respectively.

Equilibrium binding and competitive inhibition isotherms may also be determined in 96-well microtiter plates coated with IL-4R/Fc or a control Fc protein, captured through goat anti-human Fc polyclonal antibody (or other suitable anti-human Fc antibody). Briefly, plates are incubated with 5 micrograms/ml anti-human Fc in PBS at 4° C, washed twice with PBS, and then incubated with IL-4R/Fc or a control Fc protein in PBS/0.01 % Tween 20 for about 12 hours at 4° C and washed again twice with PBS. Equilibrium binding isotherms use serial dilutions of ^{125}I -labeled binding protein in binding medium, and inhibition assays use a constant of 0.5 nM ^{125}I -labeled anti-huIL-4R in the presence or absence of unlabeled, potential competitive inhibitors, as described above. After 2 hours at 4° C, plates are washed twice in PBS, and specifically bound protein is released with 50 mM citrate (pH 3.0), or SDS treatment, and released ^{125}I -labeled anti-huIL-4R measured on a gamma counter. Data are processed as described in Dower *et al.*, *supra*.

Binding activity may also be assessed by surface plasmon resonance using a BIACORE biosensor (Biacore International AB, Uppsala, Sweden). Briefly, goat-anti-human IgG, gamma chain-specific (or other suitable gamma chain-specific antibody; GHFC) is covalently coupled to biosensor chips using a standard amine coupling procedure and reagents according to the manufacturer's instructions. Anti-huIL-4R or a control antibody is injected over the immobilized GHFC, and varying amounts of IL-4R are independently passed over a GHFC coated chip (negative control) as well as an anti-huIL-4R-coated chip. Regeneration of the chip is accomplished with one 10-microliter pulse of 100 mM phosphoric acid at 10 microliters/minute. All binding is performed in HBS (10 mM HEPES, 0.15 M NaCl, 3.4 mM EDTA, 0.02 % NaN₃, 0.005 % surfactant P20, pH 7.4).

EXAMPLE 5: IL-4 Receptor Binding Antibodies

This example provides the amino acid sequences, and the nucleotide sequences encoding them, of the variable domains of the heavy and light chains of antibodies and antibody derivatives that bind to huIL-4R.

A fully human IgG4 antibody comprising the light chain variable region of L1 and the heavy chain variable region of H1 was isolated as described in Example 8 of WO 01/92340 (published Dec. 6, 2001), incorporated herein by reference in its entirety.

The variable region of heavy chain H1 was isolated by cDNA cloning from the hybridoma cell line that produced antibody L1H1 via the polymerase chain reaction (PCR) using the following oligonucleotides as primers:

GTCGACGCGCCACCATGGA (A/G) TT (G/T) GGGCTGAGCTGG (SEQ ID NO:70)
Sal I

Degenerate; complementary to VH3030

CTTGACCAGGCAGCCCAGGGC (SEQ ID NO:71)
Complementary to huIgG, 3' of Apa I site

7S.

The amplification product was inserted as a *SaI* /*Apa* I fragment into pGem-T easy (Promega, Madison, WI). In order to improve cleavage, the native H1 leader sequence was replaced with the VH3-30 leader sequence (Matsuda *et al.*, 1993, Nature Genetics 3:88-94).

5 Oligonucleotide-based mutagenesis of the heavy chain variable domain of H1 was used to create the heavy chain variable domain sequences H2-H14, shown in Figure 3. Each of these heavy chain variable domain sequences was shown to bind, in combination with the light chain variable domain sequence of L1, to IL-4 receptor alpha using an enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA).

10 Native human light chain variable genes were generated by PCR from human B cells and used to construct a variable region cDNA gene library. These were screened in combination with the heavy chain variable region H1 for binding to human IL-4 receptor. Light chain variable regions L2-L8 were identified using this method. Their nucleotide and amino acid sequences are shown in Figures 2 and 3, respectively, wherein the CDR regions of each chain are indicated in bold and underlined in L1. The framework (FR) regions also are indicated.

15 To clone the human kappa constant region, RNA was isolated from a murine hybridoma cell line expressing a human kappa light chain using the RNeasy Mini Kit (Qiagen, Valencia, CA). The RNA was reverse transcribed using a First-Strand cDNA Synthesis Kit (Amersham Pharmacia Biotech, Piscataway, NJ). The human kappa light chain nucleic acid was amplified by PCR from the cDNA as a *Bsw* /*Not* I cassette using primers:

20 ATCAAACGTACGGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATC (SEQ ID NO:72)
BsiW I
25 GTTTAAACGCGGCCGCGGATCCTAACACTCTCCCCTGTTGAAGCTCTTT (SEQ ID NO:73)
Not I

The light chain variable regions L1 and L2 were independently joined to the human kappa light chain constant region as follows: a *Nhe* /*Ba* /*W* DNA fragment encoding the light-chain variable region of L1 and the *Ba* /*W* /*Not* I DNA fragment encoding human kappa constant region
30 DNA fragment were simultaneously subcloned into a pDC409 mammalian expression vector (described in Giri *et al.*, 1994, EMBO J. 13:2822-30 and US Pat. No. 6,642,358, incorporated herein by reference in their entireties) using a *VkII* leader sequence. The *VkII* leader sequence was constructed as a *SaI* /*Nhe* I cassette by PCR amplification of Kozak (Kozak, 1989, J Cell Biol. 108:229-41) and *VkII* A27 (Straubinger *et al.*, 1988, J Mol Biol. 199:23-34) leader sequences
35 using the following oligonucleotides as primers:

GTCGACGCCGCCACCATGGAAACCCAGCGCAGCTTCTCTTCCTCCTGCTACTCTGGCTCCAGA
SaI I
TACCGCTAGCGAAATTGTGTTGACGCGAGTCTCCA (SEQ ID NO:74)
40 TGGAGACTGCGTCAACACAATTTGCTAGCGGTATCTGGGAGCCAGAGTAGCAGGAGGAAGAGAAG
CTGCGCTGGGGTTTCCATGGTGGCGGCGTCGAC (SEQ ID NO:75)
SaI I

The last six nucleotides in the natural VklII A27 leader were replaced with the nucleotides encoding an *Nhe* I site. This resulted in amino acid changes from threonine to glycine and alanine to serine, but did not affect the cleavage site.

Each heavy chain variable region H1, H4, and H14 was joined to a human IgG4 constant region as follows: a *Sal* I/*Apa* I DNA fragment encoding the heavy-chain variable region of H1 and an *Apa* I/*Not* I DNA fragment encoding human IgG4 constant region (SEQ ID NO:77) were simultaneously inserted into *Sal* I/*Not* I digested mammalian expression vector pDC409 (described in Giri *et al.*, 1994, EMBO J. 13:2822-30) using a VH5a leader sequence that was modified at its 3' end to encode an *Nhe* I site:

ATGGGGTCAACCGCCATCCTTGGCCTCCTCCTGGCTGTTCTCCAAGGAGTCGCTAGC
(SEQ ID NO:76) *Nhe* I

As a result of this change, the last two amino acids are alanine and serine, whereas the last two amino acids of the wild type VH5a are cysteine and alanine. Site-directed mutagenesis was used on the H4-IgG4-encoding construct to make constructs comprising the H12 and H13 heavy chain variable regions. The nucleotide and amino acid sequences of H1-H14 are shown in Figures 2 and 3, respectively, wherein the CDR regions of each chain are indicated in bold and underlined in H1. The framework (FR) regions also are indicated.

Antibodies and/or antibody derivatives comprising the variable domain combinations L1H1, L1H2, L1H3, L1H4, L1H5, L1H6, L1H7, L1H8, L1H9, L1H10, L1H11, L2H1, L2H2, L2H3, L2H4, L2H5, L2H6, L2H7, L2H8, L2H9, L2H10, L2H11, L2H12, L2H13, L2H14, L3H1, L4H1, L5H1, and L6H1 were tested using a biochemical binding assay and/or the method of Example 2 and found to bind to IL-4 receptor.

EXAMPLE 6: Species and Sequence Specificity of Antibodies

This example provides a method for determining the species and sequence specificity of an antibody that binds to the IL-4 receptor.

A fluorescence-activated cell sorter (FACS) binding assay can be used to evaluate the species and/or sequence specificity of an anti-IL-4 receptor antibody. The extracellular domain of IL-4 receptor comprises a cytokine receptor domain (domain I) and a fibronectin type III domain (domain II) (Hage *et al.*, 1999, Cell 97:271-81). Constructs comprising human IL-4 receptor domains I and/or II, murine IL-4 receptor domains I and/or II, combinations of human and murine IL-4 receptor domains I and II, or fragments of human or murine IL-4 receptor domains I and/or II are expressed as C-terminal, in-frame fusions with chicken avidin. (Murine IL-4 receptor sequences are provided in, for example, Schulte *et al.*, 1997, J. Exp. Med. 186:1419-29, Wrighton *et al.*, 1992, Growth Factors 6:103-18, Harada *et al.*, 1990, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 87:857-61, Mosley *et al.*, 1989, Cell 59:335-48.) The fusion protein expression vectors are individually transiently transfected into 293T cells. The conditioned media are used as the source of fusion protein without purification. The avidin tag of the IL-4 receptor construct is captured from solution by a biotin-coated bead. A FITC labeled anti-avidin antibody is used to detect the avidin portion of the fusion construct. An anti-IL-4 receptor antibody is incubated with the biotin-captured IL-4

receptor construct. FITC labeled mouse F(ab')₂ anti-human IgG is used as a secondary antibody for detection. The bead-antibody mixture is subjected to FACS analysis on a Becton Dickinson Bioscience FACScan (BD, Franklin Lakes, NJ).

5 Using the above method, it was found that several anti-IL-4 receptor antibodies described herein bound well to a construct comprising domains I and II of human IL-4 receptor but did not bind to a construct comprising domains I and II of murine IL-4 receptor. The antibodies bound weakly to a construct comprising domain I of human IL-4 receptor (but not comprising domain II) and not at all to a construct comprising human IL-4 receptor domain II (but not comprising domain I). It was further found that the antibodies bound well to a construct comprising domain I of human
10 IL-4 receptor and domain II of murine IL-4 receptor.

The foregoing examples, both working and prophetic, are non-limiting and are provided to illustrate particular embodiments of the instant invention. All references cited herein are incorporated by reference in their entireties.

What is claimed is:

1. An isolated antibody, comprising either

a) a light chain variable domain comprising an amino acid sequence selected from the group consisting of:

- i) a sequence at least 80% identical to a sequence selected from the group consisting of SEQ ID NO:4, 6, 8, 10, 12, and 14,
- ii) a sequence of at least 15 contiguous amino acids of a sequence selected from the group consisting of SEQ ID NO:4, 6, 8, 10, 12, and 14,
- iii) a sequence that is encoded by a nucleotide sequence that is at least 80% identical to a nucleotide sequence selected from the group consisting of SEQ ID NO:3, 5, 7, 9, 11, and 13, and
- iv) a sequence that is encoded by a nucleotide sequence that hybridizes under moderately stringent conditions to the complement of a nucleotide sequence selected from the group consisting of SEQ ID NO:3, 5, 7, 9, 11, and 13,

or

b) a heavy chain variable domain comprising an amino acid sequence selected from the group consisting of:

- i) a sequence at least 80% identical to a sequence selected from the group consisting of SEQ ID NO:16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46, 48, 50, 52, 54, 56, 58, 60, and 62,
- ii) a sequence of at least 15 contiguous amino acids of a sequence selected from the group consisting of SEQ ID NO:16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46, 48, 50, 52, 54, 56, 58, 60, and 62,
- iii) a sequence that is encoded by a nucleotide sequence that is at least 80% identical to a nucleotide sequence selected from the group consisting of SEQ ID NO:15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, 45, 47, 49, 51, 53, 55, 57, 59, and 61, and
- iv) a sequence that is encoded by a nucleotide sequence that hybridizes under moderately stringent conditions to the complement of a nucleotide sequence selected from the group consisting of SEQ ID NO:15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, 45, 47, 49, 51, 53, 55, 57, 59, and 61,

or

c) said light chain variable domain of a) and said heavy chain variable domain of b),

with the proviso that said antibody does not comprise both the light chain variable domain amino acid sequence of SEQ ID NO:4, SEQ ID NO:63, SEQ ID NO:65, SEQ ID NO:67, or SEQ ID NO:69, and the heavy chain variable domain amino acid sequence of SEQ ID NO:16, SEQ ID NO:64, SEQ ID NO:66, or SEQ ID NO:68,

and wherein said antibody binds to the human IL-4 receptor.

2. The antibody of Claim 1, comprising either

a) a light chain variable domain comprising an amino acid sequence selected from the group consisting of:

- i) a sequence at least 85% identical to a sequence selected from the group consisting of SEQ ID NO:4, 6, 8, 10, 12, and 14,
- ii) a sequence of at least 25 contiguous amino acids of a sequence selected from the group consisting of SEQ ID NO:4, 6, 8, 10, 12, and 14,
- iii) a sequence that is encoded by a nucleotide sequence that is at least 85% identical to a nucleotide sequence selected from the group consisting of SEQ ID NO:3, 5, 7, 9, 11, and 13, and
- iv) a sequence that is encoded by a nucleotide sequence that hybridizes under stringent conditions to the complement of a nucleotide sequence selected from the group consisting of SEQ ID NO:3, 5, 7, 9, 11, and 13,

or

b) a heavy chain variable domain comprising an amino acid sequence selected from the group consisting of:

- i) a sequence at least 85% identical to a sequence selected from the group consisting of SEQ ID NO:16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46, 48, 50, 52, 54, 56, 58, 60, and 62,
- ii) a sequence of at least 25 contiguous amino acids of a sequence selected from the group consisting of SEQ ID NO:16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46, 48, 50, 52, 54, 56, 58, 60, and 62,
- iii) a sequence that is encoded by a nucleotide sequence that is at least 85% identical to a nucleotide sequence selected from the group consisting of SEQ ID NO:15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, 45, 47, 49, 51, 53, 55, 57, 59, and 61, and
- iv) a sequence that is encoded by a nucleotide sequence that hybridizes under stringent conditions to the complement of a nucleotide sequence selected from the group consisting of SEQ ID NO:15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, 45, 47, 49, 51, 53, 55, 57, 59, and 61,

or

c) said light chain variable domain of a) and said heavy chain variable domain of b).

3. The antibody of Claim 2, comprising either

a) a light chain variable domain comprising an amino acid sequence selected from the group consisting of:

- i) a sequence at least 90% identical to a sequence selected from the group consisting of SEQ ID NO:4, 6, 8, 10, 12, and 14,
- ii) a sequence of at least 35 contiguous amino acids of a sequence selected from the group consisting of SEQ ID NO:4, 6, 8, 10, 12, and 14, and

iii) a sequence that is encoded by a nucleotide sequence that is at least 90% identical to a nucleotide sequence selected from the group consisting of SEQ ID NO:3, 5, 7, 9, 11, and 13,

or

b) a heavy chain variable domain comprising an amino acid sequence selected from the group consisting of:

i) a sequence at least 90% identical to a sequence selected from the group consisting of SEQ ID NO:16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46, 48, 50, 52, 54, 56, 58, 60, and 62,

ii) a sequence of at least 35 contiguous amino acids of a sequence selected from the group consisting of SEQ ID NO:16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46, 48, 50, 52, 54, 56, 58, 60, and 62, and

iii) a sequence that is encoded by a nucleotide sequence that is at least 90% identical to a nucleotide sequence selected from the group consisting of SEQ ID NO:15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, 45, 47, 49, 51, 53, 55, 57, 59, and 61,

or

c) said light chain variable domain of a) and said heavy chain variable domain of b).

4. The antibody of Claim 3, comprising either

a) a light chain variable domain comprising an amino acid sequence selected from the group consisting of:

i) a sequence at least 95% identical to a sequence selected from the group consisting of SEQ ID NO:4, 6, 8, 10, 12, and 14,

ii) a sequence of at least 50 contiguous amino acids of a sequence selected from the group consisting of SEQ ID NO:4, 6, 8, 10, 12, and 14, and

iii) a sequence that is encoded by a nucleotide sequence that is at least 95% identical to a nucleotide sequence selected from the group consisting of SEQ ID NO:3, 5, 7, 9, 11, and 13,

or

b) a heavy chain variable domain comprising an amino acid sequence selected from the group consisting of:

i) a sequence at least 95% identical to a sequence selected from the group consisting of SEQ ID NO:16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46, 48, 50, 52, 54, 56, 58, 60, and 62,

ii) a sequence of at least 50 contiguous amino acids of a sequence selected from the group consisting of SEQ ID NO:16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46, 48, 50, 52, 54, 56, 58, 60, and 62, and

iii) a sequence that is encoded by a nucleotide sequence that is at least 95% identical to a nucleotide sequence selected from the group consisting of SEQ ID NO:15, 17,

19, 21, 23, 25, 27, 29, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, 45, 47, 49, 51, 53, 55, 57, 59, and 61,

or

c) said light chain variable domain of a) and said heavy chain variable domain of b).

5. The antibody of Claim 4, comprising either

a) a light chain variable domain comprising an amino acid sequence selected from the group consisting of:

i) a sequence at least 97% identical to a sequence selected from the group consisting of SEQ ID NO:4, 6, 8, 10, 12, and 14,

ii) a sequence of at least 70 contiguous amino acids of a sequence selected from the group consisting of SEQ ID NO:4, 6, 8, 10, 12, and 14, and

iii) a sequence that is encoded by a nucleotide sequence that is at least 97% identical to a nucleotide sequence selected from the group consisting of SEQ ID NO:3, 5, 7, 9, 11, and 13,

or

b) a heavy chain variable domain comprising an amino acid sequence selected from the group consisting of:

i) a sequence at least 97% identical to a sequence selected from the group consisting of SEQ ID NO:16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46, 48, 50, 52, 54, 56, 58, 60, and 62,

ii) a sequence of at least 70 contiguous amino acids of a sequence selected from the group consisting of SEQ ID NO:16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46, 48, 50, 52, 54, 56, 58, 60, and 62, and

iii) a sequence that is encoded by a nucleotide sequence that is at least 97% identical to a nucleotide sequence selected from the group consisting of SEQ ID NO:15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, 45, 47, 49, 51, 53, 55, 57, 59, and 61,

or

c) said light chain variable domain of a) and said heavy chain variable domain of b).

6. The antibody of Claim 5, comprising either

a) a light chain variable domain comprising an amino acid sequence selected from the group consisting of:

i) a sequence at least 99% identical to a sequence selected from the group consisting of SEQ ID NO:4, 6, 8, 10, 12, and 14,

ii) a sequence of at least 90 contiguous amino acids of a sequence selected from the group consisting of SEQ ID NO:4, 6, 8, 10, 12, and 14, and

iii) a sequence that is encoded by a nucleotide sequence that is at least 99% identical to a nucleotide sequence selected from the group consisting of SEQ ID NO:3, 5, 7, 9, 11, and 13,

or

b) a heavy chain variable domain comprising an amino acid sequence selected from the group consisting of:

- i) a sequence at least 99% identical to a sequence selected from the group consisting of SEQ ID NO:16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46, 48, 50, 52, 54, 56, 58, 60, and 62,
- ii) a sequence of at least 90 contiguous amino acids of a sequence selected from the group consisting of SEQ ID NO:16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46, 48, 50, 52, 54, 56, 58, 60, and 62, and
- iii) a sequence that is encoded by a nucleotide sequence that is at least 99% identical to a nucleotide sequence selected from the group consisting of SEQ ID NO:15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, 45, 47, 49, 51, 53, 55, 57, 59, and 61,

or

c) said light chain variable domain of a) and said heavy chain variable domain of b).

7. The antibody of Claim 6, comprising either
a) a light chain variable domain comprising an amino acid sequence selected from the group consisting of SEQ ID NO:4, 6, 8, 10, 12, and 14,

or

b) a heavy chain variable domain comprising an amino acid sequence selected from the group consisting of SEQ ID NO:16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46, 48, 50, 52, 54, 56, 58, 60, and 62,

or

c) said light chain variable domain of a) and said heavy chain variable domain of b).

8. The antibody of Claim 1 comprising either

a) a light chain variable domain comprising an amino acid sequence that differs from SEQ ID NO:4 by at least one amino acid substitution selected from the group consisting of S28T, S30N, S30G, S31N, S32D, S32N, A52T, S54Y, T57P, T57S, G93D, S94H, S94R, P96A, P97G, and T99M,

or

b) a heavy chain variable domain comprising an amino acid sequence that differs from SEQ ID NO:16 by at least one amino acid substitution selected from the group consisting of N58S, Y101W, F102Y, D103T, D103N, D103P, Y104H, Y104N, Y104W, and Y104R, and T99M

or

c) said light chain variable domain of a) and said heavy chain variable domain of b).

9. The antibody of Claim 1 comprising either

a) a light chain variable domain comprising a sequence of amino acids that differs from SEQ ID NO:4 only by:

i) at least one amino acid substitution selected from the group consisting of S28T, S30N, S30G, S31N, S32D, S32N, A52T, S54Y, T57P, T57S, G93D, S94H, S94R, P96A, P97G, and T99M, and

ii) at least one amino acid substitution selected from the group consisting of E1D, L4M, S7T, G9A, K40R, F50Y, S66F, S77T, V86I, K105R, V106L, and E107D,

or

b) a heavy chain variable domain comprising a sequence of amino acids that differs from SEQ ID NO:16 only by:

i) at least one amino acid substitution selected from the group consisting of N58S, Y101W, F102Y, D103T, D103N, D103P, Y104H, Y104N, Y104W, and Y104R, and

ii) at least one amino acid substitution selected from the group consisting of Q6E, H13Q, G24A, R86S, and M90T,

or

c) the light chain variable domain of a) and the heavy chain variable domain of b).

10. The antibody of Claim 1, wherein:

a. the light chain CDR1 comprises a sequence selected from the group consisting of residues 24-35 of SEQ ID NO:6, residues 24-35 of SEQ ID NO:8, residues 24-35 of SEQ ID NO:10, residues 24-35 of SEQ ID NO:12; and residues 24-35 of SEQ ID NO:14, or

b. the light chain CDR2 comprises a sequence selected from the group consisting of residues 51-57 of SEQ ID NO:4, residues 51-57 of SEQ ID NO:6, residues 51-57 of SEQ ID NO:10, and residues 51-57 of SEQ ID NO:12, or

c. the light chain CDR3 comprises a sequence selected from the group consisting of residues 90-99 of SEQ ID NO:4, residues 90-99 of SEQ ID NO:6, residues 90-99 of SEQ ID NO:8, and residues 90-99 of SEQ ID NO:14, or

d. the heavy chain CDR1 comprises the sequence residues 31-35 of SEQ ID NO:16, or

e. the heavy chain CDR2 comprises a sequence selected from the group consisting of residues 50-65 of SEQ ID NO:16, and residues 50-65 of SEQ ID NO:18, or

f. the heavy chain CDR3 comprises a sequence selected from the group consisting of residues 90-99 of SEQ ID NO:4, residues 98-104 of SEQ ID NO:16, residues 98-104 of SEQ ID NO:20, residues 98-104 of SEQ ID NO:22, residues 98-104 of SEQ ID NO:24, residues 98-104 of SEQ ID NO:26, residues 98-104 of SEQ ID NO:30, and residues 98-104 of SEQ ID NO:34.

11. The antibody of Claim 10, wherein:

- a. the light chain CDR1 comprises a sequence selected from the group consisting of residues 24-35 of SEQ ID NO:6, residues 24-35 of SEQ ID NO:8, residues 24-35 of SEQ ID NO:10, residues 24-35 of SEQ ID NO:12; and residues 24-35 of SEQ ID NO:14, and
- b. the light chain CDR2 comprises a sequence selected from the group consisting of residues 51-57 of SEQ ID NO:4, residues 51-57 of SEQ ID NO:6, residues 51-57 of SEQ ID NO:10, and residues 51-57 of SEQ ID NO:12, and
- c. the light chain CDR3 comprises a sequence selected from the group consisting of residues 90-99 of SEQ ID NO:4, residues 90-99 of SEQ ID NO:6, residues 90-99 of SEQ ID NO:8, and residues 90-99 of SEQ ID NO:14,
- d. the heavy chain CDR1 comprises the sequence residues 31-35 of SEQ ID NO:16, and
- e. the heavy chain CDR2 comprises a sequence selected from the group consisting of residues 50-65 of SEQ ID NO:16, and residues 50-65 of SEQ ID NO:18, and
- f. the heavy chain CDR3 comprises a sequence selected from the group consisting of residues 90-99 of SEQ ID NO:4, residues 98-104 of SEQ ID NO:16, residues 98-104 of SEQ ID NO:20, residues 98-104 of SEQ ID NO:22, residues 98-104 of SEQ ID NO:24, residues 98-104 of SEQ ID NO:26, residues 98-104 of SEQ ID NO:30, and residues 98-104 of SEQ ID NO:34.

12. The antibody of Claim 1 wherein:

- a) the light chain FR1 comprises a sequence selected from the group consisting of residues 1-23 of SEQ ID NO:4, residues 1-23 of SEQ ID NO:10, residues 1-23 of SEQ ID NO:12, and residues 1-23 of SEQ ID NO:14, or
- b) the light chain FR2 comprises a sequence selected from the group consisting of residues 38-50 of SEQ ID NO:4, and residues 38-50 of SEQ ID NO:14, or
- c) the light chain FR3 comprises a sequence selected from the group consisting of residues 58-69 of SEQ ID NO:4, residues 58-69 of SEQ ID NO:10, and residues 58-69 of SEQ ID NO:12, or
- d) the light chain FR4 comprises a sequence selected from the group consisting of residues 100-109 of SEQ ID NO:4, residues 100-109 of SEQ ID NO:8, and residues 100-109 of SEQ ID NO:12, or
- e) the heavy chain FR1 comprises a sequence selected from the group consisting of residues 1-30 of SEQ ID NO:16, and residues 1-30 of SEQ ID NO:42, or
- f) the heavy chain FR2 comprises the sequence of residues 38-49 of SEQ ID NO:16, or
- g) the heavy chain FR3 comprises a sequence selected from the group consisting of residues 66-97 of SEQ ID NO:16, residues 66-97 of SEQ ID NO:18, and residues 66-97 of SEQ ID NO:42, or
- h) the heavy chain FR4 comprises the sequence of residues 105-115 of SEQ ID NO:16.

13. The antibody of Claim 12 wherein:

- a) the light chain FR1 comprises a sequence selected from the group consisting of residues 1-23 of SEQ ID NO:4, residues 1-23 of SEQ ID NO:10, residues 1-23 of SEQ ID NO:12, and residues 1-23 of SEQ ID NO:14, and
- b) the light chain FR2 comprises a sequence selected from the group consisting of residues 36-50 of SEQ ID NO:4, and residues 36-50 of SEQ ID NO:14, and
- c) the light chain FR3 comprises a sequence selected from the group consisting of residues 58-89 of SEQ ID NO:4, residues 58-89 of SEQ ID NO:10, and residues 58-89 of SEQ ID NO:12, and
- d) the light chain FR4 comprises a sequence selected from the group consisting of residues 100-109 of SEQ ID NO:4, residues 100-109 of SEQ ID NO:8, and residues 100-109 of SEQ ID NO:12, and
- e) the heavy chain FR1 comprises a sequence selected from the group consisting of residues 1-30 of SEQ ID NO:16, and residues 1-30 of SEQ ID NO:42, and
- f) the heavy chain FR2 comprises the sequence of residues 36-49 of SEQ ID NO:16, and
- g) the heavy chain FR3 comprises a sequence selected from the group consisting of residues 66-97 of SEQ ID NO:16, residues 66-97 of SEQ ID NO:18, and residues 66-97 of SEQ ID NO:42, and
- h) the heavy chain FR4 comprises the sequence of residues 105-115 of SEQ ID

NO:16.

14. The antibody of Claim 1, wherein said antibody is selected from the group consisting of L1H1, L1H2, L1H3, L1H4, L1H5, L1H6, L1H7, L1H8, L1H9, L1H10, L1H11, L2H1, L2H2, L2H3, L2H4, L2H5, L2H6, L2H7, L2H8, L2H9, L2H10, L2H11, L2H12, L2H13, L2H14, L3H1, L4H1, L5H1, and L6H1.

15. The antibody of Claim 1 wherein said antibody is a human, humanized, or chimeric antibody.

16. The antibody of Claim 1 wherein said antibody is a monoclonal antibody.

17. The antibody of Claim 1 wherein said antibody is selected from the group consisting of an IgD, IgE, IgM, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, and IgG4 having at least one mutation in a hinge region that alleviates a tendency to form intra-H chain disulfide bond antibody.

18. An isolated polypeptide comprising an IL-4 receptor binding portion of the antibody of Claim 1.

19. The isolated polypeptide of Claim 18, wherein said polypeptide comprises a Fab, F(ab')₂, scFv, diabody, triabody, or tetrabody.

20. An isolated nucleic acid comprising either
- a) a nucleotide sequence, or the complement thereof, encoding the light chain of the antibody of Claim 1(a),
 - or
 - b) a nucleotide sequence, or the complement thereof, encoding the heavy chain of the antibody of Claim 1(b),
 - or
 - c) a nucleotide sequence, or the complement thereof, encoding a polypeptide comprising an IL-4 receptor binding portion of the antibody of Claim 1,
 - or
 - d) the nucleotide sequence of a) and the nucleotide sequence of b).
21. The isolated nucleic acid of Claim 20, wherein said nucleic acid comprises at least one nucleotide sequence selected from the group consisting of SEQ ID NO:5, 7, 9, 11, 13, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, 45, 47, 49, 51, 53, 55, 57, 59, and 61.
22. A vector comprising said nucleic acid of Claim 20.
23. The vector of Claim 22 wherein said vector is an expression vector.
24. An isolated cell comprising said nucleic acid of Claim 20.
25. The isolated cell of Claim 24 wherein said cell is a hybridoma.
26. The isolated cell of Claim 24 wherein said cell is a transgenic cell.
27. A method of making said antibody of Claim 1 comprising incubating a cell comprising a nucleic acid encoding the light chain of said antibody and a nucleic acid encoding the heavy chain of said antibody under conditions that allow said cell to express said light chain and said heavy chain and that allow said light chain and said heavy chain to assemble into said antibody, and isolating said antibody from said cell.
28. The method of Claim 27, wherein said cell is a hybridoma.
29. The method of Claim 27, wherein said cell is a transgenic cell.
30. A method of inhibiting an IL-4 receptor comprising contacting a cell expressing an IL-4 receptor with the antibody of Claim 1 under conditions that allow said antibody to bind to said IL-4 receptor, wherein the binding of said antibody to said IL-4 receptor inhibits signal transduction through said IL-4 receptor.

31. The method of Claim 30 wherein said cell is a human cell.
32. The method of Claim 31 wherein said human cell is in a human.
33. A method of inhibiting an IL-4 receptor comprising contacting a cell expressing IL-4 receptor alpha with the polypeptide of Claim 18 under conditions that allow said polypeptide to bind to said IL-4 receptor alpha, wherein the binding of said polypeptide to said IL-4 receptor inhibits signal transduction through said IL-4 receptor.
34. The method of Claim 33 wherein said cell is a human cell.
35. The method of Claim 34 wherein said human cell is in a human.
36. A method of treating a condition in a subject comprising administering to said subject an amount of said antibody of Claim 1 effective for treating said condition.
37. The method of Claim 36 wherein said condition is an inflammatory or cancerous condition.
38. The method of Claim 37 wherein said inflammatory or cancerous condition is an immunological condition.
39. The method of Claim 38 wherein said condition is asthma, septic arthritis, dermatitis herpetiformis, chronic idiopathic urticaria, ulcerative colitis, scleroderma, hypertrophic scarring, Whipple's Disease, benign prostate hyperplasia, a lung disorder in which IL-4 receptor plays a role, condition in which IL-4 receptor-mediated epithelial barrier disruption plays a role, a disorder of the digestive system in which IL-4 receptor plays a role, an allergic reaction to a medication, Kawasaki disease, sickle cell disease, Churg-Strauss syndrome, Grave's disease, pre-eclampsia, Sjogren's syndrome, autoimmune lymphoproliferative syndrome, autoimmune hemolytic anemia, Barrett's esophagus, autoimmune uveitis, tuberculosis, cystic fibrosis, allergic bronchopulmonary mycosis, chronic obstructive pulmonary disease, bleomycin-induced pneumopathy and fibrosis, radiation-induced pulmonary fibrosis, pulmonary alveolar proteinosis, adult respiratory distress syndrome, sarcoidosis, hyper IgE syndrome, idiopathic hypereosinophil syndrome, an autoimmune blistering disease, pemphigus vulgaris, bullous pemphigoid, myasthenia gravis, chronic fatigue syndrome, or nephrosis.
40. A method of treating a condition in a subject comprising administering to said subject an amount of said polypeptide of Claim 18 effective for treating said condition.
41. The method of Claim 40 wherein said condition is an inflammatory or cancerous condition.

42. The method of Claim 41 wherein said inflammatory or cancerous condition is an immunological condition.

43. The method of Claim 42 wherein said condition is asthma, septic arthritis, dermatitis herpetiformis, chronic idiopathic urticaria, ulcerative colitis, scleroderma, hypertrophic scarring, Whipple's Disease, benign prostate hyperplasia, a lung disorder in which IL-4 receptor plays a role, condition in which IL-4 receptor-mediated epithelial barrier disruption plays a role, a disorder of the digestive system in which IL-4 receptor plays a role, an allergic reaction to a medication, Kawasaki disease, sickle cell disease, Churg-Strauss syndrome, Grave's disease, pre-eclampsia, Sjogren's syndrome, autoimmune lymphoproliferative syndrome, autoimmune hemolytic anemia, Barrett's esophagus, autoimmune uveitis, tuberculosis, cystic fibrosis, allergic bronchopulmonary mycosis, chronic obstructive pulmonary disease, bleomycin-induced pneumopathy and fibrosis, radiation-induced pulmonary fibrosis, pulmonary alveolar proteinosis, adult respiratory distress syndrome, sarcoidosis, hyper IgE syndrome, idiopathic hypereosinophil syndrome, an autoimmune blistering disease, pemphigus vulgaris, bullous pemphigoid, myasthenia gravis, chronic fatigue syndrome, or nephrosis.

44. A pharmaceutical composition comprising said antibody of Claim 1 and an excipient, diluent, or buffer.

45. A pharmaceutical composition comprising said polypeptide of Claim 18 and an excipient, diluent, or buffer.

46. The antibody of Claim 1 wherein said antibody does not bind to the murine IL-4 receptor.

47. The antibody of Claim 1, wherein said antibody binds to domain I of the human IL-4 receptor.

ABSTRACT OF THE DISCLOSURE

The present invention relates to antibodies that bind to the IL-4 receptor, fragments, muteins, and derivatives of such antibodies, nucleic acids encoding such antibodies, fragments, muteins and derivatives, and methods of making and using such antibodies, fragments, muteins, derivatives and nucleic acids. Methods for treating medical conditions induced by Interleukin-4 involve administering an IL-4 receptor binding antibody, or an IL-4 receptor binding fragment, mutein, or derivative of an IL-4 receptor binding antibody, to a patient afflicted with such a condition. Particular antibodies provided herein include human monoclonal antibodies. Certain of the antibodies inhibit both IL-4-induced and IL-13-induced biological activities.

filed 03/19/02 4/25/06

FIGURE 1A

ATG	GGG	TGG	CTT	TGC	TCT	GGG	CTC	CTG	TTC	CCT	GTG	AGC	TGC	CTG	-31
Met	Gly	Trp	Leu	Cys	Ser	Gly	Leu	Leu	Phe	Pro	Val	Ser	Cys	Leu	-11
GTC	CTG	CTG	CAG	GTG	GCA	AGC	TCT	GGG	AAC	ATG	AAG	GTC	TTG	CAG	15
Val	Leu	Leu	Gln	Val	Ala	Ser	Ser	Gly	Asn	<u>Met</u>	Lys	Val	Leu	Gln	5
GAG	CCC	ACC	TGC	GTC	TCC	GAC	TAC	ATG	AGC	ATC	TCT	ACT	TGC	GAG	60
Glu	Pro	Thr	Cys	Val	Ser	Asp	Tyr	Met	Ser	Ile	Ser	Thr	Cys	Glu	20
TGG	AAG	ATG	AAT	GGT	CCC	ACC	AAT	TGC	AGC	ACC	GAG	CTC	CGC	CTG	105
Trp	Lys	Met	Asn	Gly	Pro	Thr	Asn	Cys	Ser	Thr	Glu	Leu	Arg	Leu	35
TTG	TAC	CAG	CTG	GTT	TTT	CTG	CTC	TCC	GAA	GCC	CAC	ACG	TGT	ATC	150
Leu	Tyr	Gln	Leu	Val	Phe	Leu	Leu	Ser	Glu	Ala	His	Thr	Cys	Ile	50
CCT	GAG	AAC	AAC	GGA	GGC	GCG	GGG	TGC	GTG	TGC	CAC	CTG	CTC	ATG	195
Pro	Glu	Asn	Asn	Gly	Gly	Ala	Gly	Cys	Val	Cys	His	Leu	Leu	Met	65
GAT	GAC	GTG	GTC	AGT	GCG	GAT	AAC	TAT	ACA	CTG	GAC	CTG	TGG	GCT	240
Asp	Asp	Val	Val	Ser	Ala	Asp	Asn	Tyr	Thr	Leu	Asp	Leu	Trp	Ala	80
GGG	CAG	CAG	CTG	CTG	TGG	AAG	GGC	TCC	TTC	AAG	CCC	AGC	GAG	CAT	285
Gly	Gln	Gln	Leu	Leu	Trp	Lys	Gly	Ser	Phe	Lys	Pro	Ser	Glu	His	95
GTG	AAA	CCC	AGG	GCC	CCA	GGA	AAC	CTG	ACA	GTT	CAC	ACC	AAT	GTC	330
Val	Lys	Pro	Arg	Ala	Pro	Gly	Asn	Leu	Thr	Val	His	Thr	Asn	Val	110
TCC	GAC	ACT	CTG	CTG	CTG	ACC	TGG	AGC	AAC	CCG	TAT	CCC	CCT	GAC	375
Ser	Asp	Thr	Leu	Leu	Leu	Thr	Trp	Ser	Asn	Pro	Tyr	Pro	Pro	Asp	125
AAT	TAC	CTG	TAT	AAT	CAT	CTC	ACC	TAT	GCA	GTC	AAC	ATT	TGG	AGT	420
Asn	Tyr	Leu	Tyr	Asn	His	Leu	Thr	Tyr	Ala	Val	Asn	Ile	Trp	Ser	140
GAA	AAC	GAC	CCG	GCA	GAT	TTC	AGA	ATC	TAT	AAC	GTG	ACC	TAC	CTA	465
Glu	Asn	Asp	Pro	Ala	Asp	Phe	Arg	Ile	Tyr	Asn	Val	Thr	Tyr	Leu	155
GAA	CCC	TCC	CTC	CGC	ATC	GCA	GCC	AGC	ACC	CTG	AAG	TCT	GGG	ATT	510
Glu	Pro	Ser	Leu	Arg	Ile	Ala	Ala	Ser	Thr	Leu	Lys	Ser	Gly	Ile	170
TCC	TAC	AGG	GCA	CGG	GTG	AGG	GCC	TGG	GCT	CAG	TGC	TAT	AAC	ACC	555
Ser	Tyr	Arg	Ala	Arg	Val	Arg	Ala	Trp	Ala	Gln	Cys	Tyr	Asn	Thr	185
ACC	TGG	AGT	GAG	TGG	AGC	CCC	AGC	ACC	AAG	TGG	CAC	AAC	TCC	TAC	600
Thr	Trp	Ser	Glu	Trp	Ser	Pro	Ser	Thr	Lys	Trp	His	Asn	Ser	Tyr	200
AGG	GAG	CCC	TTC	GAG	CAG	CAC	CTC	CTG	CTG	GGC	GTC	AGC	GTT	TCC	645
Arg	Glu	Pro	Phe	Glu	Gln	His	<u>Leu</u>	<u>Leu</u>	<u>Leu</u>	<u>Gly</u>	<u>Val</u>	<u>Ser</u>	<u>Val</u>	<u>Ser</u>	215
TGC	ATT	GTC	ATC	CTG	GCC	GTC	TGC	CTG	TTG	TGC	TAT	GTC	AGC	ATC	690
Cys	Ile	Val	Ile	Leu	Ala	Val	Cys	Leu	Leu	Cys	Tyr	Val	Ser	Ile	230
ACC	AAG	ATT	AAG	AAA	GAA	TGG	TGG	GAT	CAG	ATT	CCC	AAC	CCA	GCC	735
<u>Thr</u>	Lys	Ile	Lys	Lys	Glu	Trp	Trp	Asp	Gln	Ile	Pro	Asn	Pro	Ala	245

FIGURE 1B

CGC	AGC	CGC	CTC	GTG	GCT	ATA	ATA	ATC	CAG	GAT	GCT	CAG	GGG	TCA	780
Arg	Ser	Arg	Leu	Val	Ala	Ile	Ile	Ile	Gln	Asp	Ala	Gln	Gly	Ser	260
CAG	TGG	GAG	AAG	CGG	TCC	CGA	GGC	CAG	GAA	CCA	GCC	AAG	TGC	CCA	825
Gln	Trp	Glu	Lys	Arg	Ser	Arg	Gly	Gln	Glu	Pro	Ala	Lys	Cys	Pro	275
CAC	TGG	AAG	AAT	TGT	CTT	ACC	AAG	CTC	TTG	CCC	TGT	TTT	CTG	GAG	870
His	Trp	Lys	Asn	Cys	Leu	Thr	Lys	Leu	Leu	Pro	Cys	Phe	Leu	Glu	290
CAC	AAC	ATG	AAA	AGG	GAT	GAA	GAT	CCT	CAC	AAG	GCT	GCC	AAA	GAG	915
His	Asn	Met	Lys	Arg	Asp	Glu	Asp	Pro	His	Lys	Ala	Ala	Lys	Glu	305
ATG	CCT	TTC	CAG	GGC	TCT	GGA	AAA	TCA	GCA	TGG	TGC	CCA	GTG	GAG	960
Met	Pro	Phe	Gln	Gly	Ser	Gly	Lys	Ser	Ala	Trp	Cys	Pro	Val	Glu	320
ATC	AGC	AAG	ACA	GTC	CTC	TGG	CCA	GAG	AGC	ATC	AGC	GTG	GTG	CGA	1005
Ile	Ser	Lys	Thr	Val	Leu	Trp	Pro	Glu	Ser	Ile	Ser	Val	Val	Arg	335
TGT	GTG	GAG	TTG	TTT	GAG	GCC	CCG	GTG	GAG	TGT	GAG	GAG	GAG	GAG	1050
Cys	Val	Glu	Leu	Phe	Glu	Ala	Pro	Val	Glu	Cys	Glu	Glu	Glu	Glu	350
GAG	GTA	GAG	GAA	GAA	AAA	GGG	AGC	TTC	TGT	GCA	TCG	CCT	GAG	AGC	1095
Glu	Val	Glu	Glu	Glu	Lys	Gly	Ser	Phe	Cys	Ala	Ser	Pro	Glu	Ser	365
AGC	AGG	GAT	GAC	TTC	CAG	GAG	GGA	AGG	GAG	GGC	ATT	GTG	GCC	CGG	1140
Ser	Arg	Asp	Asp	Phe	Gln	Glu	Gly	Arg	Glu	Gly	Ile	Val	Ala	Arg	380
CTA	ACA	GAG	AGC	CTG	TTC	CTG	GAC	CTG	CTC	GGA	GAG	GAG	AAT	GGG	1185
Leu	Thr	Glu	Ser	Leu	Phe	Leu	Asp	Leu	Leu	Gly	Glu	Glu	Asn	Gly	395
GGC	TTT	TGC	CAG	CAG	GAC	ATG	GGG	GAG	TCA	TGC	CTT	CTT	CCA	CCT	1230
Gly	Phe	Cys	Gln	Gln	Asp	Met	Gly	Glu	Ser	Cys	Leu	Leu	Pro	Pro	410
TCG	GGA	AGT	ACG	AGT	GCT	CAC	ATG	CCC	TGG	GAT	GAG	TTC	CCA	AGT	1275
Ser	Gly	Ser	Thr	Ser	Ala	His	Met	Pro	Trp	Asp	Glu	Phe	Pro	Ser	425
GCA	GGG	CCC	AAG	GAG	GCA	CCT	CCC	TGG	GGC	AAG	GAG	CAG	CCT	CTC	1320
Ala	Gly	Pro	Lys	Glu	Ala	Pro	Pro	Trp	Gly	Lys	Glu	Gln	Pro	Leu	440
CAC	CTG	GAG	CCA	AGT	CCT	CCT	GCC	AGC	CCG	ACC	CAG	AGT	CCA	GAC	1365
His	Leu	Glu	Pro	Ser	Pro	Pro	Ala	Ser	Pro	Thr	Gln	Ser	Pro	Asp	455
AAC	CTG	ACT	TGC	ACA	GAG	ACG	CCC	CTC	GTC	ATC	GCA	GGC	AAC	CCT	1410
Asn	Leu	Thr	Cys	Thr	Glu	Thr	Pro	Leu	Val	Ile	Ala	Gly	Asn	Pro	470
GCT	TAC	CGC	AGC	TTC	AGC	AAC	TCC	CTG	AGC	CAG	TCA	CCG	TGT	CCC	1455
Ala	Tyr	Arg	Ser	Phe	Ser	Asn	Ser	Leu	Ser	Gln	Ser	Pro	Cys	Pro	485
AGA	GAG	CTG	GGT	CCA	GAC	CCA	CTG	CTG	GCC	AGA	CAC	CTG	GAG	GAA	1500
Arg	Glu	Leu	Gly	Pro	Asp	Pro	Leu	Leu	Ala	Arg	His	Leu	Glu	Glu	500
GTA	GAA	CCC	GAG	ATG	CCC	TGT	GTC	CCC	CAG	CTC	TCT	GAG	CCA	ACC	1545

Val Glu Pro Glu Met Pro Cys Val Pro Gln Leu Ser Glu Pro Thr 515

FIGURE 1C

ACT	GTG	CCC	CAA	CCT	GAG	CCA	GAA	ACC	TGG	GAG	CAG	ATC	CTC	CGC	1590
Thr	Val	Pro	Gln	Pro	Glu	Pro	Glu	Thr	Trp	Glu	Gln	Ile	Leu	Arg	530
CGA	AAT	GTC	CTC	CAG	CAT	GGG	GCA	GCT	GCA	GCC	CCC	GTC	TCG	GCC	1635
Arg	Asn	Val	Leu	Gln	His	Gly	Ala	Ala	Ala	Ala	Pro	Val	Ser	Ala	545
CCC	ACC	AGT	GGC	TAT	CAG	GAG	TTT	GTA	CAT	GCG	GTG	GAG	CAG	GGT	1680
Pro	Thr	Ser	Gly	Tyr	Gln	Glu	Phe	Val	His	Ala	Val	Glu	Gln	Gly	560
GGC	ACC	CAG	GCC	AGT	GCG	GTG	GTG	GGC	TTG	GGT	CCC	CCA	GGA	GAG	1725
Gly	Thr	Gln	Ala	Ser	Ala	Val	Val	Gly	Leu	Gly	Pro	Pro	Gly	Glu	575
GCT	GGT	TAC	AAG	GCC	TTC	TCA	AGC	CTG	CTT	GCC	AGC	AGT	GCT	GTG	1770
Ala	Gly	Tyr	Lys	Ala	Phe	Ser	Ser	Leu	Leu	Ala	Ser	Ser	Ala	Val	590
TCC	CCA	GAG	AAA	TGT	GGG	TTT	GGG	GCT	AGC	AGT	GGG	GAA	GAG	GGG	1815
Ser	Pro	Glu	Lys	Cys	Gly	Phe	Gly	Ala	Ser	Ser	Gly	Glu	Glu	Gly	605
TAT	AAG	CCT	TTC	CAA	GAC	CTC	ATT	CCT	GGC	TGC	CCT	GGG	GAC	CCT	1860
Tyr	Lys	Pro	Phe	Gln	Asp	Leu	Ile	Pro	Gly	Cys	Pro	Gly	Asp	Pro	620
GCC	CCA	GTC	CCT	GTC	CCC	TTG	TTC	ACC	TTT	GGA	CTG	GAC	AGG	GAG	1905
Ala	Pro	Val	Pro	Val	Pro	Leu	Phe	Thr	Phe	Gly	Leu	Asp	Arg	Glu	635
CCA	CCT	CGC	AGT	CCG	CAG	AGC	TCA	CAT	CTC	CCA	AGC	AGC	TCC	CCA	1950
Pro	Pro	Arg	Ser	Pro	Gln	Ser	Ser	His	Leu	Pro	Ser	Ser	Ser	Pro	650
GAG	CAC	CTG	GGT	CTG	GAG	CCG	GGG	GAA	AAG	GTA	GAG	GAC	ATG	CCA	1995
Glu	His	Leu	Gly	Leu	Glu	Pro	Gly	Glu	Lys	Val	Glu	Asp	Met	Pro	665
AAG	CCC	CCA	CTT	CCC	CAG	GAG	CAG	GCC	ACA	GAC	CCC	CTT	GTG	GAC	2040
Lys	Pro	Pro	Leu	Pro	Gln	Glu	Gln	Ala	Thr	Asp	Pro	Leu	Val	Asp	680
AGC	CTG	GGC	AGT	GGC	ATT	GTC	TAC	TCA	GCC	CTT	ACC	TGC	CAC	CTG	2085
Ser	Leu	Gly	Ser	Gly	Ile	Val	Tyr	Ser	Ala	Leu	Thr	Cys	His	Leu	695
TGC	GGC	CAC	CTG	AAA	CAG	TGT	CAT	GGC	CAG	GAG	GAT	GGT	GGC	CAG	2130
Cys	Gly	His	Leu	Lys	Gln	Cys	His	Gly	Gln	Glu	Asp	Gly	Gly	Gln	710
ACC	CCT	GTC	ATG	GCC	AGT	CCT	TGC	TGT	GGC	TGC	TGC	TGT	GGA	GAC	2175
Thr	Pro	Val	Met	Ala	Ser	Pro	Cys	Cys	Gly	Cys	Cys	Cys	Gly	Asp	725
AGG	TCC	TCG	CCC	CCT	ACA	ACC	CCC	CTG	AGG	GCC	CCA	GAC	CCC	TCT	2220
Arg	Ser	Ser	Pro	Pro	Thr	Thr	Pro	Leu	Arg	Ala	Pro	Asp	Pro	Ser	740
CCA	GGT	GGG	GTT	CCA	CTG	GAG	GCC	AGT	CTG	TGT	CCG	GCC	TCC	CTG	2265
Pro	Gly	Gly	Val	Pro	Leu	Glu	Ala	Ser	Leu	Cys	Pro	Ala	Ser	Leu	755
GCA	CCC	TCG	GGC	ATC	TCA	GAG	AAG	AGT	AAA	TCC	TCA	TCA	TCC	TTC	2310
Ala	Pro	Ser	Gly	Ile	Ser	Glu	Lys	Ser	Lys	Ser	Ser	Ser	Ser	Phe	770
CAT	CCT	GCC	CCT	GGC	AAT	GCT	CAG	AGC	TCA	AGC	CAG	ACC	CCC	AAA	2355
His	Pro	Ala	Pro	Gly	Asn	Ala	Gln	Ser	Ser	Ser	Gln	Thr	Pro	Lys	785

ATC GTG AAC TTT GTC TCC GTG GGA CCC ACA TAC ATG AGG GTC TCT 2400
Ile Val Asn Phe Val Ser Val Gly Pro Thr Tyr Met Arg Val Ser 800

Figure 2A

FR1									
L1	1	GAAATTGTGT	TGACGCAGTC	TCCAGGCACC	CTGTCTTTGT	CTCCAGGGGA	AAGAGCCACC	60	
L2	1	GAAATTGTGT	TGACGCAGTC	TCCAGGCACC	CTGTCTTTGT	CTCCAGGGGA	AAGAGCCACC	60	
L3	1	GAAATTGTGT	TGACGCAGTC	TCCAGGCACC	CTGTCTTTGT	CTCCAGGGGA	AAGAGCCACC	60	
L4	1	GAAATTGTGA	TGACGCAGTC	TCCAGGCACC	CTGTCTTTGT	CTCCAGGGGA	AAGAGCCACC	60	
L5	1	GATATTGTGC	TGACCCAGTC	TCCAGCCACC	CTGTCTTTGT	CTCCAGGGGA	AAGAGCCACC	60	
L6	1	GATATTGTGC	TGACGCAGAC	TCCAGCCACC	CTGTCTTTGT	CTCCAGGGGA	AAGAGCCACC	60	
CDR1									
L1	61	CTCTCCTGCA	GGGCCAGTCA	GAGTGTTAGC	AGCAGCTACT	TAGCCTGGTA	CCAGCAGAAA	120	
L2	61	CTCTCCTGCA	GGGCCAGTCA	GAGTGTTAGC	AACAGCTACT	TAGCCTGGTA	CCAGCAGAAA	120	
L3	61	CTCTCCTGCA	GGGCCAGTCA	GACTGTTAAC	AGCGACTACT	TAGCCTGGTA	CCAGCAGAAA	120	
L4	61	CTCTCCTGCA	GGGCCAGTCA	GAGTGTTAGC	AGCGACTACT	TAGCCTGGTA	CCAGCAGAAA	120	
L5	61	CTCTCCTGCA	GGGCCAGTCA	GAGTGTTAAC	AGCAACTACT	TAGCCTGGTA	CCAGCAGAAA	120	
L6	61	CTCTCCTGCA	GGGCCAGTCA	GAGTGTTGGC	AGCAGCTACT	TAGCCTGGTA	CCAGCAGAGA	120	
FR2					CDR2				
L1	121	CCTGGCCAGG	CTCCCAGGCT	CCTCATCTTT	GGTGCAATCCA	GCAGGGCCAC	TGGCATCCCA	180	
L2	121	CCTGGCCAGG	CTCCCAGGCT	CCTCATCTAT	GGTGCAATCCA	GCAGGGCCCC	TGGCATCCCA	180	
L3	121	CCGGGCCAGG	CTCCCAGGCT	CCTCATCTAT	GGTGCAATCCA	GCAGGGCCAC	TGGCATCCCA	180	
L4	121	CCTGGCCAGG	CTCCCAGGCT	CCTCATCTAT	GGTGCAATCA	GCAGGGCCCTC	TGGCATCCCA	180	
L5	121	CCTGGCCAGG	CTCCCAGGCT	CCTCATCTAT	GGTAGATCCT	ACAGGGCCAC	TGGCATCCCA	180	
L6	121	CCTGGCCAGG	CTCCCAGGCT	CCTCATCTAT	GGTGCAATCCA	GCAGGGCCAC	TGGCATCCCG	180	
FR3									
L1	181	GACAGGTTCA	GTGGCAGTGG	GTCTGGGACA	GACTTCACTC	TCACCATCAG	CAGACTGGAG	240	
L2	181	GACAGGTTCA	GTGGCAGTGG	GTCTGGGACA	GACTTCACTC	TCACCATCAG	CAGACTGGAG	240	
L3	181	GACAGGTTCA	GTGGCAGTGG	GTCTGGGACA	GACTTCACTC	TCACCATCAG	CAGACTGGAG	240	
L4	181	GACAGGTTCA	GTGGCAGTGG	GTTTGGGACA	GACTTCACTC	TCACCATCAG	CAGACTGGAG	240	
L5	181	GACAGGTTCA	GTGGCAGTGG	GTCTGGGACA	GACTTCACTC	TCACCATCAC	CAGACTGGAG	240	
L6	181	GACAGGTTCA	GTGGCAGTGG	GTCTGGGACA	GACTTCACTC	TCACGATCAG	CAGACTGGAG	240	
CDR3									
L1	241	CCTGAAGATT	TTGCAGTGTA	TTACTGTCAG	CAGTATGGTA	GCTCACCTCC	GTGGACGTTT	300	
L2	241	CCTGAAGATT	TTGCAGTGTA	TTACTGTCAG	CAGTATGATC	ACTCAGCAGG	GTGGACGTTT	300	
L3	241	CCTGAAGATT	TTGCAGTCTA	TTACTGTCAG	CAGTATGGTA	GGTCACCTCC	GTGGACGTTT	300	
L4	241	CCTGAAGATT	TTGCAATATA	TTACTGTCAG	CAGTATGGTA	GCTCACCTCC	GTGGACGTTT	300	
L5	241	CCTGAAGATT	TTGCAGTGTA	TTACTGTCAG	CAGTATGGTA	GCTCACCTCC	GTGGACGTTT	300	
L6	241	CCTGAAGATT	TTGCAGTGTA	TTATTGTCAG	CAGTATGGAA	GTTCACCTCC	GTGGATGTTT	300	
FR4									
L1	301	GGCCAAGGGA	CCAAGGTGGA	AATCAAA	327				
L2	301	GGCCAAGGGA	CCAAGGTGGA	GATCAAA	327				
L3	301	GGCCAAGGGA	CCAAAGTGGA	TATCAAA	327				
L4	301	GGCCAAGGGA	CCAAGGTGGA	AATCAAA	327				
L5	301	GGCCAAGGGA	CACGACTGGA	GATTAAA	327				
L6	301	GGCCAAGGGA	CCAAGGTGGA	GATCAAA	327				

Figure 2D

H1	241	CAATGAACA	GCCTGAGAGC	CGAGGACATG	GCTGTGTATT	ACTGTGCAAG	AGGGAGGTAC	300
H2	241	CAATGAACA	GCCTGAGTGC	CGAGGACATG	GCTGTGTATT	ACTGTGCAAG	AGGGAGGTAC	300
H3	241	CAATGAACA	GCCTGAGAGC	CGAGGACATG	GCTGTGTATT	ACTGTGCAAG	AGGGAGGTAC	300
H4	241	CAATGAACA	GCCTGAGAGC	CGAGGACATG	GCTGTGTATT	ACTGTGCAAG	AGGGAGGTAC	300
H5	241	CAATGAACA	GCCTGAGAGC	CGAGGACATG	GCTGTGTATT	ACTGTGCAAG	AGGGAGGTAC	300
H6	241	CAATGAACA	GCCTGAGAGC	CGAGGACATG	GCTGTGTATT	ACTGTGCAAG	AGGGAGGTAC	300
H7	241	CAATGAACA	GCCTGAGAGC	CGAGGACATG	GCTGTGTATT	ACTGTGCAAG	AGGGAGGTAC	300
H8	241	CAATGAACA	GCCTGAGAGC	CGAGGACATG	GCTGTGTATT	ACTGTGCAAG	AGGGAGGTAC	300
H9	241	CAATGAACA	GCCTGAGAGC	CGAGGACATG	GCTGTGTATT	ACTGTGCAAG	AGGGAGGTAC	300
H10	241	CAATGAACA	GCCTGAGAGC	CGAGGACATG	GCTGTGTATT	ACTGTGCAAG	AGGGAGGTAC	300
H11	241	CAATGAACA	GCCTGAGAGC	CGAGGACATG	GCTGTGTATT	ACTGTGCAAG	AGGGAGGTAC	300
H12	241	CAATGAACA	GCCTGAGAGC	CGAGGACATG	GCTGTGTATT	ACTGTGCAAG	AGGGAGGTAC	300
H13	241	CAATGAACA	GCCTGAGTGC	CGAGGACATG	GCTGTGTATT	ACTGTGCAAG	AGGGAGGTAC	300
H14	241	CAATGAACA	GCCTGAGAGC	CGAGGACACG	GCTGTGTATT	ACTGTGCAAG	AGGGAGGTAC	300
H15	241	CAATGAACA	GCCTGAGAGC	CGAGGACACG	GCTGTGTATT	ACTGTGCAAG	AGGGAGGTAC	300
H16	241	CAATGAACA	GCCTGAGAGC	CGAGGACACG	GCTGTGTATT	ACTGTGCAAG	AGGGAGGTAC	300
H17	241	CAATGAACA	GCCTGAGAGC	CGAGGACACG	GCTGTGTATT	ACTGTGCAAG	AGGGAGGTAC	300
H18	241	CAATGAACA	GCCTGAGAGC	CGAGGACACG	GCTGTGTATT	ACTGTGCAAG	AGGGAGGTAC	300
H19	241	CAATGAACA	GCCTGAGAGC	CGAGGACACG	GCTGTGTATT	ACTGTGCAAG	AGGGAGGTAC	300
H20	241	CAATGAACA	GCCTGAGAGC	CGAGGACACG	GCTGTGTATT	ACTGTGCAAG	AGGGAGGTAC	300
H21	241	CAATGAACA	GCCTGAGAGC	CGAGGACACG	GCTGTGTATT	ACTGTGCAAG	AGGGAGGTAC	300
H22	241	CAATGAACA	GCCTGAGAGC	CGAGGACACG	GCTGTGTATT	ACTGTGCAAG	AGGGAGGTAC	300
H23	241	CAATGAACA	GCCTGAGAGC	CGAGGACACG	GCTGTGTATT	ACTGTGCAAG	AGGGAGGTAC	300
H24	241	CAATGAACA	GCCTGAGAGC	CGAGGACACG	GCTGTGTATT	ACTGTGCAAG	AGGGAGGTAC	300

		CDR3		FR4			
H1	301	TACTTTGACT	ACTGGGGCCA	GGGAACCCTG	GTCACCGTCT	CCTCA	345
H2	301	TACTTCACCC	ACTGGGGCCA	GGGAACCCTG	GTCACCGTCT	CCTCA	345
H3	301	TGGTACAACA	ACTGGGGCCA	GGGAACCCTG	GTCACCGTCT	CCTCA	345
H4	301	TACTTCCCCT	GGTGGGGCCA	GGGAACCCTG	GTCACCGTCT	CCTCA	345
H5	301	TACTTCACGA	GGTGGGGCCA	GGGAACCCTG	GTCACCGTCT	CCTCA	345
H6	301	TGGTACCCCT	GGTGGGGCCA	GGGAACCCTG	GTCACCGTCT	CCTCA	345
H7	301	TGGTACCCCT	GGTGGGGCCA	GGGAACCCTG	GTCACCGTCT	CCTCA	345
H8	301	TGGTACCCCT	GGTGGGGCCA	GGGAACCCTG	GTCACCGTCT	CCTCA	345
H9	301	TGGTACCCCT	GGTGGGGCCA	GGGAACCCTG	GTCACCGTCT	CCTCA	345
H10	301	TGGTACCCCT	GGTGGGGCCA	GGGAACCCTG	GTCACCGTCT	CCTCA	345
H11	301	TGGTACCCCT	GGTGGGGCCA	GGGAACCCTG	GTCACCGTCT	CCTCA	345
H12	301	TACTTCCCCT	GGTGGGGCCA	GGGAACCCTG	GTCACCGTCT	CCTCA	345
H13	301	TACTTCCCCT	GGTGGGGCCA	GGGAACCCTG	GTCACCGTCT	CCTCA	345
H14	301	TACTTCCCCT	GGTGGGGCCA	GGGAACCCTG	GTCACCGTCT	CCTCA	345
H15	301	TACTTTGACT	ACTGGGGCCA	GGGAACCCTG	GTCACCGTCT	CCTCA	345
H16	301	TACTTCACCC	ACTGGGGCCA	GGGAACCCTG	GTCACCGTCT	CCTCA	345
H17	301	TGGTACAACA	ACTGGGGCCA	GGGAACCCTG	GTCACCGTCT	CCTCA	345
H18	301	TACTTCACGA	GGTGGGGCCA	GGGAACCCTG	GTCACCGTCT	CCTCA	345
H19	301	TGGTACCCCT	GGTGGGGCCA	GGGAACCCTG	GTCACCGTCT	CCTCA	345
H20	301	TGGTACCCCT	GGTGGGGCCA	GGGAACCCTG	GTCACCGTCT	CCTCA	345
H21	301	TGGTACCCCT	GGTGGGGCCA	GGGAACCCTG	GTCACCGTCT	CCTCA	345
H22	301	TGGTACCCCT	GGTGGGGCCA	GGGAACCCTG	GTCACCGTCT	CCTCA	345
H23	301	TGGTACCCCT	GGTGGGGCCA	GGGAACCCTG	GTCACCGTCT	CCTCA	345
H24	301	TGGTACCCCT	GGTGGGGCCA	GGGAACCCTG	GTCACCGTCT	CCTCA	345

ANTICUERPOS QUE SE UNEN AL RECEPTOR DE INTERLEUQUINA-4**REFERENCIA CRUZADA A SOLICITUDES RELACIONADAS**

Esta solicitud reivindica el beneficio de la solicitud provisional de Estados

- 5 Unidos Nº 60/518.166, presentada el 7 de noviembre de 2003.

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

- La interleuquina-4 (IL-4), previamente conocida como factor de estimulación de células B, o BSF-1, se caracterizó en un principio por su capacidad de estimular la proliferación de células B en respuesta a bajas
- 10 concentraciones de anticuerpos dirigidos contra inmunoglobulina superficial. Se ha demostrado que la IL-4 posee un espectro bastante más amplio de actividades biológicas, incluyendo el desarrollo de la co-estimulación de células T, mastocitos, granulocitos, megacariocitos y eritrocitos. Además, la IL-4 estimula la proliferación de varias líneas celulares dependientes de IL-2 e IL-3,
- 15 induce la expresión de moléculas del complejo de histocompatibilidad principal de clase II en células B en reposo, y potencia la secreción de los isotipos IgE e IgG1 por células B estimuladas. La IL-4 está asociada con una respuesta inmune de tipo TH2, siendo una de las citoquinas secretadas por las células TH2.
- 20 Se han identificado y caracterizado IL-4 murinas y humanas, incluyendo la clonación de ADNc de IL-4 y la determinación de las secuencias de nucleótidos y aminoácidos codificada. Véase Yokota y col., 1986, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 83: 5894; Noma y col., 1986, Nature 319: 640; Grabstein y col., 1986, J. Exp. Med. 163: 1405; y Patente de Estados Unidos 5.017.691.
- 25 La IL-4 se une a receptores particulares de la superficie celular, que

provoca la transducción de una señal biológica a células tales como diversas células efectoras inmunes. Se describen receptores de IL-4, y se presenta información del ADN y de la secuencia de aminoácidos, en Mosley y col., 1989, Cell 59: 335-48, (murine IL-4R); Idzerda y col., 1990, J. Exp. Med. 171: 861-73, 5 (human IL-4R); y en la Patente de Estados Unidos 5.599.905. El receptor de IL-4 descrito en estas publicaciones algunas veces se menciona como IL-4R alfa.

Se ha informado de que hay otras proteínas asociadas con IL-4R alfa en algunos tipos celulares, y que son componentes de complejos receptores de IL-4 de múltiples subunidades. Una de dichas subunidades es IL-2R gamma, 10 también conocida como IL-2R gamma c. Véase la descripción de complejos de IL-4R en Sato y col., 1994, Current Opinion in Cell Biology, 6: 174-79. También se ha informado de que IL-4R alfa es un componente de ciertos complejos receptores de IL-13 de múltiples subunidades. Véase Zurawski y col., 1995, J. Biol. Chem. 270: 13869; de Vries, 1998, J. Allergy Clin. Immunol. 102: 165; y 15 Callard y col., 1996, Immunology Today, 17: 108.

La IL-4 se ha implicado en varios trastornos, ejemplos de los cuales son alergias y asma.

SUMARIO DE LA INVENCION

La presente invención proporciona procedimientos y composiciones 20 relacionadas con nuevos antagonistas de IL-4R, en particular anticuerpos y derivados de anticuerpo, que se unen a IL-4R alfa.

En un aspecto, la presente invención proporciona un anticuerpo en el que el dominio variable de cadena ligera comprende una secuencia de aminoácidos que difiere de la SEC ID N° 4 sólo por: al menos una sustitución 25 de aminoácidos seleccionada entre el grupo constituido por S28T, S30N,

S30G, S31N, S32D, S32N, A52T, S54Y, T57P, T57S, G93D, S94H, S94R, P96A, P97G, y T99M y, opcionalmente, una o más sustituciones de aminoácidos seleccionadas entre el grupo constituido por E1D, L4M, S7T, G9A, K40R, F50Y, S68F, S77T, V86I, K105R, V106L, y E107D, y/o el dominio

5 variable de cadena pesada comprende una secuencia de aminoácidos que difiere de la SEC ID N° 16 sólo por: al menos una sustitución de aminoácidos seleccionada entre el grupo constituido por N58S, Y101W, F102Y, D103T, D103N, D103P, Y104H, Y104N, Y104W, e Y104R, y, opcionalmente, una o más sustituciones de aminoácidos seleccionadas entre el grupo constituido por

10 Q6E, H13Q, G24A, R86S, y M90T, donde dicho anticuerpo se une al receptor alfa de IL-4. En una realización, la CDR1 de cadena ligera comprende una secuencia seleccionada entre el grupo constituido por los restos 24-35 de la SEC ID N° 6, los restos 24-35 de la SEC ID N° 8, los restos 24-35 de la SEC ID N° 10, los restos 24-35 de la SEC ID N° 12; y los restos 24-35 de la SEC ID N°

15 14, la CDR2 de cadena ligera comprende una secuencia seleccionada entre el grupo constituido por los restos 51-57 de la SEC ID N° 4, los restos 51-57 de la SEC ID N° 6, los restos 51-57 de la SEC ID N° 10, y los restos 51-57 de la SEC ID N° 12, la CDR3 de cadena ligera comprende una secuencia seleccionada entre el grupo constituido por los restos 90-99 de la SEC ID N° 4, los restos 90-

20 99 de la SEC ID N° 6, los restos 90-99 de la SEC ID N° 8, y los restos 90-99 de la SEC ID N° 14, la CDR1 de cadena pesada comprende la secuencia de los restos 31-35 de la SEC ID N° 16, la CDR2 de cadena pesada comprende una secuencia seleccionada entre el grupo constituido por los restos 50-65 de la SEC ID N° 16, y los restos 50-65 de la SEC ID N° 18, y/o la CDR3 de cadena

25 pesada comprende una secuencia seleccionada entre el grupo constituido por

los restos 98-104 de la SEC ID N° 16, los restos 98-104 de la SEC ID N° 18, los restos 98-104 de la SEC ID N° 20, los restos 98-104 de la SE ID N° 22, los restos 98-104 de la SEC ID N° 24, los restos 98-104 de la SEC ID N° 26, los restos 98-104 de la SEC ID N° 30, y los restos 98-104 de la SEC ID N° 34. En

5 otra realización, la FR1 de cadena ligera comprende una secuencia seleccionada entre el grupo constituido por los restos 1-23 de la SEC ID N° 4, los restos 1-23 de la SEC ID N° 10, los restos 1-23 de la SEC ID N° 12, y los restos 1-23 de la SEC ID N° 14, la FR2 de cadena ligera comprende una secuencia seleccionada entre el grupo constituido por los restos 36-50 de la

10 SEC ID N° 4, y los restos 36-50 de la SEC ID N° 14, la FR3 de cadena ligera comprende una secuencia seleccionada entre el grupo constituido por los restos 58-89 de la SEC ID N° 4, los restos 58-89 de la SEC ID N° 10, y los restos 58-89 de la SEC ID N° 12, la FR4 de cadena ligera comprende una secuencia seleccionada entre el grupo constituido por los restos 100-109 de la

15 SEC ID N° 4, los restos 100-109 de la SEC ID N° 8, y los restos 100-109 de la SEC ID N° 12, la FR1 de cadena pesada comprende una secuencia seleccionada entre el grupo constituido por los restos 1-30 de la SEC ID N° 16, y los restos 1-30 de la SEC ID N° 42, la FR2 de cadena pesada comprende la secuencia de los restos 1-30 de la SEC ID N° 16, la FR3 de cadena pesada

20 comprende una secuencia seleccionada entre el grupo constituido por los restos 66-97 de la SEC ID N° 16, los restos 66-97 de la SEC ID N° 18, y los restos 66-97 de la SEC ID N° 42, y/o la FR4 de cadena pesada comprende la secuencia de los restos 105-115 de la SEC ID N° 16.

En otro aspecto, la presente invención proporciona un anticuerpo que

25 comprende: un dominio variable de cadena ligera que comprende una

secuencia que es al menos un 80% idéntica a una secuencia seleccionada entre el grupo constituido por las SEC ID N° 4, 6, 8, 10, 12, y 14, con la condición de que dicho dominio variable de cadena ligera no comprenda la secuencia de la SEC ID N° 4, y/o un dominio variable de cadena pesada que

5 comprende una secuencia que es al menos un 80% idéntica a una secuencia seleccionada entre el grupo constituido por las SEC ID N° 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46, 48, 50, 52, 54, 56, 58, 60, y 62, con la condición de que dicho dominio variable de cadena pesada no comprenda la secuencia de la SEC ID N° 16, donde dicho anticuerpo se une al receptor alfa

10 de IL-4. En una realización, dicho dominio variable de cadena ligera comprende una secuencia que es al menos un 85% idéntica a una secuencia seleccionada entre el grupo constituido por las SEC ID N° 4, 6, 8, 10, 12, y 14, y/o dicho dominio variable de cadena pesada comprende una secuencia que es al menos un 85% idéntica a una secuencia seleccionada entre el grupo constituido por

15 las SEC ID N° 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46, 48, 50, 52, 54, 56, 58, 60, y 62. En otra realización, dicho dominio variable de cadena ligera comprende una secuencia que es al menos el 90% idéntica a una secuencia seleccionada entre el grupo constituido por las SEC ID N° 4, 6, 8, 10, 12, y 14, y/o dicho dominio variable de cadena pesada comprende una

20 secuencia que es al menos un 90% idéntica a una secuencia seleccionada entre el grupo constituido por las SEC ID N° 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46, 48, 50, 52, 54, 56, 58, 60, y 62. En otra realización, dicho dominio variable de cadena ligera comprende una secuencia que es al menos un 95% idéntica a una secuencia seleccionada entre el grupo

25 constituido por las SEC ID N° 4, 6, 8, 10, 12, y 14, y/o dicho dominio variable de

- cadena pesada comprende una secuencia que es al menos un 95% idéntica a una secuencia seleccionada entre el grupo constituido por las SEC ID N° 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46, 48, 50, 52, 54, 56, 58, 60, y 62. En otra realización, dicho dominio variable de cadena ligera
- 5 comprende una secuencia que se selecciona entre el grupo constituido por las SEC ID N° 6, 8, 10, 12, y 14, y/o dicho dominio variable de cadena pesada comprende una secuencia que se selecciona entre el grupo constituido por las SEC ID N° 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46, 48, 50, 52, 54, 56, 58, 60, y 62.
- 10 En otro aspecto, la presente invención proporciona un anticuerpo en el que el dominio variable de cadena ligera comprende una secuencia de al menos 15 aminoácidos contiguos de una secuencia seleccionada entre el grupo constituido por: las SEC ID N° 4, 6, 8, 10, 12, y 14, con la condición de que dicho dominio variable de cadena ligera no comprenda la secuencia de la
- 15 SEC ID N° 4, y/o en el que el dominio variable de cadena pesada comprende una secuencia de al menos 15 aminoácidos contiguos de una secuencia seleccionada entre el grupo constituido por las SEC ID N° 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46, 48, 50, 52, 54, 56, 58, 60, y 62, con la condición de que dicho dominio variable de cadena pesada no comprenda la
- 20 secuencia de la SEC ID N° 16, donde dicho anticuerpo se une al receptor alfa de IL-4. En una realización, el dominio variable de cadena ligera comprende una secuencia de al menos 20 aminoácidos contiguos de una secuencia seleccionada entre el grupo constituido por: las SEC ID N° 4, 6, 8, 10, 12, y 14, y/o el dominio variable de cadena pesada comprende una secuencia de al
- 25 menos 20 aminoácidos contiguos de una secuencia seleccionada entre el

grupo constituido por las SEC ID N° 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46, 48, 50, 52, 54, 56, 58, 60, y 62. En otra realización, el dominio variable de cadena ligera comprende una secuencia de al menos 25 aminoácidos contiguos de una secuencia seleccionada entre el grupo

5 constituido por: las SEC ID N° 4, 6, 8, 10, 12, y 14, y/o el dominio variable de cadena pesada comprende una secuencia de al menos 25 aminoácidos contiguos de una secuencia seleccionada entre el grupo constituido por: las SEC ID N° 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46, 48, 50, 52, 54, 56, 58, 60, y 62. En otra realización, el dominio variable de cadena

10 ligera comprende una secuencia de al menos 35 aminoácidos contiguos de una secuencia seleccionada entre el grupo constituido por: las SEC ID N° 4, 6, 8, 10, 12, y 14, y/o el dominio variable de cadena pesada comprende una secuencia de al menos 35 aminoácidos contiguos de una secuencia seleccionada entre el grupo constituido por: las SEC ID N° 16, 18, 20, 22, 24,

15 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46, 48, 50, 52, 54, 56, 58, 60, y 62. En otra realización, el dominio variable de cadena ligera comprende una secuencia de al menos 50 aminoácidos contiguos de una secuencia seleccionada entre el grupo constituido por: las SEC ID N° 4, 6, 8, 10, 12, y 14, y/o el dominio variable de cadena pesada comprende una secuencia de al menos 50

20 aminoácidos contiguos de una secuencia seleccionada entre el grupo constituido por: las SEC ID N° 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46, 48, 50, 52, 54, 56, 58, 60, y 62. En otra realización, el dominio variable de cadena ligera comprende una secuencia de al menos 75 aminoácidos contiguos de una secuencia seleccionada entre el grupo

25 constituido por: las SEC ID N° 4, 6, 8, 10, 12, y 14, y/o el dominio variable de

cadena pesada comprende una secuencia de al menos 75 aminoácidos contiguos de una secuencia seleccionada entre el grupo constituido por: las SEC ID N° 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46, 48, 50, 52, 54, 56, 58, 60, y 62. En otra realización, el dominio variable de cadena

5 ligera comprende una secuencia de al menos 100 aminoácidos contiguos de una secuencia seleccionada entre el grupo constituido por: las SEC ID N° 4, 6, 8, 10, 12, y 14, y/o el dominio variable de cadena pesada comprende una secuencia de al menos 100 aminoácidos contiguos de una secuencia seleccionada entre el grupo constituido por: las SEC ID N° 16, 18, 20, 22, 24,

10 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46, 48, 50, 52, 54, 56, 58, 60, y 62.

En otro aspecto, la presente invención proporciona un anticuerpo que comprende: un dominio variable de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos que está codificada por una secuencia de nucleótidos que es al menos un 80% idéntica a una secuencia de nucleótidos

15 seleccionada entre el grupo constituido por las SEC ID N° 3, 5, 7, 9, 11, y 13, y/o un dominio variable de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos que está codificada por una secuencia de nucleótidos que es al menos un 80% idéntica a una secuencia de nucleótidos seleccionada entre el grupo constituido por las SEC ID N° 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29, 31, 33, 35,

20 37, 39, 41, 43, 45, 47, 49, 51, 53, 55, 57, 59, y 61, con la condición de que dicho anticuerpo no comprenda tanto la secuencia del dominio variable de cadena ligera de la SEC ID N° 4 como la secuencia del dominio variable de cadena pesada de la SEC ID N° 16, y donde dicho anticuerpo se une al receptor alfa de IL-4. En otra realización, dicho dominio variable de cadena

25 ligera comprende una secuencia de aminoácidos que está codificada por una

secuencia de nucleótidos que es al menos un 85% idéntica a una secuencia de nucleótidos seleccionada entre el grupo constituido por las SEC ID N° 3, 5, 7, 9, 11, y 13, y/o dicho dominio variable de cadena pesada comprende una secuencia de aminoácidos que está codificada por una secuencia de

5 nucleótidos que es al menos un 85% idéntica a una secuencia de nucleótidos seleccionada entre el grupo constituido por las SEC ID N° 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, 45, 47, 49, 51, 53, 55, 57, 59, y 61. En otra realización, dicho dominio variable de cadena ligera comprende una secuencia de aminoácidos que está codificada por una secuencia de

10 nucleótidos que es al menos un 90% idéntica a una secuencia de nucleótidos seleccionada entre el grupo constituido por las SEC ID N° 3, 5, 7, 9, 11, y 13, y/o dicho dominio variable de cadena pesada comprende una secuencia de aminoácidos que está codificada por una secuencia de nucleótidos que es al menos un 90% idéntica a una secuencia de nucleótidos seleccionada entre el

15 grupo constituido por las SEC ID N° 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, 45, 47, 49, 51, 53, 55, 57, 59, y 61. En otra realización, dicho dominio variable de cadena ligera comprende una secuencia de aminoácidos que está codificada por una secuencia de nucleótidos que es al menos un 95% idéntica a una secuencia de nucleótidos seleccionada entre el grupo constituido

20 por las SEC ID N° 3, 5, 7, 9, 11, y 13, y/o dicho dominio variable de cadena pesada comprende una secuencia de aminoácidos que está codificada por una secuencia de nucleótidos que es al menos un 95% idéntica a una secuencia de nucleótidos seleccionada entre el grupo constituido por las SEC ID N° 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, 45, 47, 49, 51, 53, 55, 57, 59,

25 y 61. En otra realización, dicho dominio variable de cadena ligera comprende

una secuencia de aminoácidos que está codificada por una secuencia de nucleótidos que es al menos un 98% idéntica a una secuencia de nucleótidos seleccionada entre el grupo constituido por las SEC ID N° 3, 5, 7, 9, 11, y 13, y/o dicho dominio variable de cadena pesada comprende una secuencia de aminoácidos que está codificada por una secuencia de nucleótidos que es al menos un 98% idéntica a una secuencia de nucleótidos seleccionada entre el grupo constituido por las SEC ID N° 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, 45, 47, 49, 51, 53, 55, 57, 59, y 61. En otra realización, dicho dominio variable de cadena ligera comprende una secuencia de aminoácidos que está codificada por una secuencia de nucleótidos seleccionada entre el grupo constituido por las SEC ID N° 5, 7, 9, 11, y 13, y/o dicho dominio variable de cadena pesada comprende una secuencia de aminoácidos que está codificada por una secuencia de nucleótidos seleccionada entre el grupo constituido por las SEC ID N° 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46, 48, 50, 52, 54, 56, 58, 60, y 62.

En otro aspecto, la presente invención proporciona un anticuerpo que comprende: un dominio variable de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos que está codificada por una secuencia de nucleótidos que hibrida en condiciones moderadamente rigurosas con el complemento de una secuencia de nucleótidos seleccionada entre el grupo constituido por las SEC ID N° 3, 5, 7, 9, 11, y 13, y/o un dominio variable de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos que está codificada por una secuencia de nucleótidos que hibrida en condiciones moderadamente rigurosas con el complemento de una secuencia de nucleótidos seleccionada entre el grupo constituido por las SEC ID N° 15, 17,

- 19, 21, 23, 25, 27, 29, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, 45, 47, 49, 51, 53, 55, 57, 59, y 61, con la condición de que dicho anticuerpo no comprenda tanto la secuencia del dominio variable de cadena ligera de la SEC ID N° 4 como la secuencia del dominio variable de cadena pesada de la SEC ID N° 16, y donde
- 5 dicho anticuerpo se une al receptor alfa de IL-4. En una realización, dicho dominio variable de cadena ligera comprende una secuencia de aminoácidos que está codificada por una secuencia de nucleótidos que hibrida en condiciones rigurosas con el complemento de una secuencia de nucleótidos seleccionada entre el grupo constituido por las SEC ID N° 3, 5, 7, 9, 11, y 13,
- 10 y/o dicho dominio variable de cadena pesada comprende una secuencia de aminoácidos que está codificada por una secuencia de nucleótidos que hibrida en condiciones rigurosas con el complemento de una secuencia de nucleótidos seleccionada entre el grupo constituido por las SEC ID N° 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, 45, 47, 49, 51, 53, 55, 57, 59, y 61.
- 15 En otro aspecto, la presente invención proporciona un anticuerpo aislado, donde la región variable de cadena ligera de dicho anticuerpo comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada entre el grupo constituido por las SEC ID N° 6, 8, 10, 12, y 14, y dicho anticuerpo se une al receptor alfa de IL-4.
- 20 En otro aspecto, la presente invención proporciona un anticuerpo aislado, donde la región variable de cadena pesada de dicho anticuerpo comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada entre el grupo constituido por las SEC ID N° 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46, 48, 50, 52, 54, 56, 58, 60, y 62, y dicho anticuerpo se une al
- 25 receptor alfa de IL-4.

En otro aspecto, la presente invención proporciona un anticuerpo seleccionado entre el grupo constituido por L2H1, L3H1, L4H1, L5H1, L1H2, L1H3, L1H4, L1H5, L1H6, L1H7, L1H8, L1H9, L1H10, L1H11, L2H4, L2H12, L2H13, L2H14, L6H1, L2H2, L2H3, L2H6, L2H7, L2H8, L2H9, L2H10, y L2H11.

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

En otro aspecto, la presente invención proporciona un anticuerpo monoclonal.

En otro aspecto, la presente invención proporciona un anticuerpo
10 seleccionado entre el grupo constituido por una IgD, IgE, IgM, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, e IgG4 que tiene al menos una mutación en una región bisagra que alivia una tendencia a formar anticuerpos con enlaces disulfuro dentro de la cadena H.

En otro aspecto, la presente invención proporciona un polipéptido
15 aislado que comprende una parte de unión al receptor de IL-4 de un anticuerpo de la invención. En una realización, dicho polipéptido comprende un Fab, F(ab')₂, scFv, díacuerpo, triacuerpo, o tetracuerpo.

En otro aspecto, la presente invención proporciona un ácido nucleico aislado que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica la cadena
20 ligera de un anticuerpo de la invención, la cadena pesada de un anticuerpo de la invención o un polipéptido de la invención.

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

25 En otro aspecto, la presente invención proporciona una célula aislada

que comprende un ácido nucleico de la invención. En una realización, dicha célula es un hibridoma. En otra realización, dicha célula es una célula transgénica.

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

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

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

En otro aspecto, la presente invención proporciona un procedimiento
20 para inhibir un receptor de IL-4 que comprende poner un contacto una célula que expresa al receptor alfa de IL-4 con un anticuerpo de la invención o un polipéptido de la invención en condiciones que permiten que dicho anticuerpo o dicho polipéptido se una a dicho receptor alfa de IL-4. En una realización, dicha célula es una célula humana. En otra realización, dicha célula humana está en
25 un ser humano.

En otro aspecto, la presente invención proporciona un procedimiento para tratar una afección en un sujeto que comprende administrar a dicho sujeto una cantidad de un anticuerpo de la invención o de un polipéptido de la invención eficaz para tratar dicha afección. En una realización, dicha afección es una enfermedad inflamatoria o cancerosa. En otra realización, dicha afección inflamatoria o cancerosa es una afección inmunológica. En otra realización, dicha afección es asma, artritis séptica, dermatitis herpetiforme, urticaria idiopática crónica, colitis ulcerosa, esclerodermia, cicatrización hipertrófica, enfermedad de Whipple, hiperplasia de próstata benigna, un trastorno pulmonar en el que el receptor de IL-4 juega un papel, una afección en la que la alteración de la barrera epitelial mediada por el receptor IL-4 juega un papel, un trastorno del sistema digestivo en el que el receptor de IL-4 juega un papel, una reacción alérgica a una medicación, enfermedad Kawasaki, enfermedad de células falciformes, síndrome de Churg-Strauss, enfermedad de Grave, preeclampsia, síndrome de Sjogren, síndrome linfoproliferativo autoinmune, anemia hemolítica autoinmune, esófago de Barrett, uveítis autoinmune, tuberculosis, fibrosis quística, micosis broncopulmonar alérgica, enfermedad pulmonar obstructiva crónica, neumopatía o fibrosis inducida por bleomicina, fibrosis pulmonar inducida por radiación, protenosis alveolar pulmonar, síndrome de distrés respiratorio en el adulto, sarcoidosis, síndrome de hiper IgE, síndrome de hipereosinofilia idiopática, una enfermedad ampollar autoinmune, pénfigo vulgar, penfigoide ampollar, miastenia grave, síndrome de fatiga crónica o nefrosis.

En otro aspecto, la presente invención proporciona una composición farmacéutica que comprende un anticuerpo de la invención o un polipéptido de

la invención y un excipiente, diluyente, o tampón.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

Las Figuras 1A-C presentan la secuencia de nucleótidos de la región codificante de un ADNc del receptor alfa de IL-4 humano. La secuencia de aminoácidos codificada por el ADNc también se presenta. El clon de ADNc se aisló de una biblioteca de ADNc obtenida de la línea T22 de células T humanas. La proteína codificada comprende (desde el extremo N-terminal al C-terminal) un péptido señal N-terminal, seguido por dominio extracelular, una región transmembrana (subrayado), y un dominio citoplásmico, como se analiza adicionalmente en la publicación PCT WO 01/92340 A3. La secuencia de nucleótidos y las secuencias de aminoácidos de las Figuras 1A a 1C también se presentan en la SEC ID N° 1 y 2, respectivamente.

Las Figuras 2A-2D presentan secuencias polinucleotídicas que codifican la regiones variables de cadena ligera de L1 (SEC ID N° 3), L2 (SEC ID N° 5), L3, (SEC ID N° 7), L4 (SEC ID N° 9), L5 (SEC ID N° 11), y L6 (SEC ID N° 13), y secuencias polinucleotídicas que codifican las regiones variables de cadena pesada de H1 (SEC ID N° 15), H2 (SEC ID N° 17), H3 (SEC ID N° 19), H4 (SEC ID N° 21), H5 (SEC ID N° 23), H6 (SEC ID N° 25), H7 (SEC ID N° 27), H8 (SEC ID N° 29), H9 (SEC ID N° 31), H10 (SEC ID N° 33), H11 (SEC ID N° 35), H12 (SEC ID N° 37), H13 (SEC ID N° 39), H14 (SEC ID N° 41), H15 (SEC ID N° 43), H16 (SEC ID N° 45), H17 (SEC ID N° 47), H18 (SEC ID N° 49), H19 (SEC ID N° 51), H20 (SEC ID N° 53), H21 (SEC ID N° 55), H22 (SEC ID N° 57), H23 (SEC ID N° 59), y H24 (SEC ID N° 61). Las secuencias se muestran usando abreviaturas de nucleótidos de una letra. Las secuencias que corresponden a las regiones CDR1, CDR2, y CDR3 se muestran en negrita para cada

secuencia y subrayadas en L1 y H1. Las secuencias que corresponden a FR1, FR2, FR3, y FR4 se muestran de modo simple.

La Figura 3 presenta las secuencias de aminoácidos de las regiones variables de cadena ligera de L1 (SEC ID N° 4), L2 (SEC ID N° 6), L3, (SEC ID N° 8), L4 (SEC ID N° 10), L5 (SEC ID N° 12), y L6 (SEC ID N° 14), y las secuencias de aminoácidos de las regiones variables de cadena pesada de H1 (SEC ID N° 16), H2 (SEC ID N° 18), H3 (SEC ID N° 20), H4 (SEC ID N° 22), H5 (SEC ID N° 24), H6 (SEC ID N° 26), H7 (SEC ID N° 28), H8 (SEC ID N° 30), H9 (SEC ID N° 32), H10 (SEC ID N° 34), H11 (SEC ID N° 36), H12 (SEC ID N° 38), H13 (SEC ID N° 40), H14 (SEC ID N° 42), H15 (SEC ID N° 44), H16 (SEC ID N° 46), H17 (SEC ID N° 48), H18 (SEC ID N° 50), H19 (SEC ID N° 52), H20 (SEC ID N° 54), H21 (SEC ID N° 56), H22 (SEC ID N° 58), H23 (SEC ID N° 60), y H24 (SEC ID N° 62). Las secuencias de las regiones variables de L1 y H1 se muestran usando abreviaturas de aminoácidos de una letra. Se indican otras secuencias variables de cadena ligera y cadena pesada por rayas en los restos donde son idénticos a L1 y H1 y con la abreviatura de aminoácidos de una letra apropiada donde difieren de L1 o H1. Las secuencias que corresponden a las regiones CDR1, CDR2 y CDR3 se muestran en negrita para cada secuencia y subrayadas en L1 y H1. Las secuencias que corresponden a FR1, FR2, FR3, y FR4 se muestran de modo simple.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA PRESENTE INVENCION

La presente invención proporciona composiciones y procedimientos en relación con anticuerpos anti-receptor de IL-4 (IL-4R), incluyendo procedimientos para tratar ciertas afecciones mediadas por IL-4R, y para inhibir actividades biológicas de la Interleuquina-4 (IL-4) y la interleuquina-13 (IL-13) in

vivo. Las composiciones de la invención incluyen, por ejemplo, anticuerpos anti-IL-4R, polipéptidos, polinucleótidos, células que comprenden o expresan anticuerpos, polipéptidos o polinucleótidos de la invención, y composiciones farmacéuticas, ejemplos de los cuales se proporcionan a continuación.

5 Las secuencias polinucleotídicas y polipeptídicas se indican usando abreviaturas convencionales de una o tres letras. A menos que se indique otra cosa, las secuencias polipeptídicas tienen sus extremos amino terminales a la izquierda y sus extremos carboxi terminales a la derecha y las secuencias de ácido nucleico monocatenarias, y la cadena superior de secuencias de ácido
10 nucleico bicatenarias, tienen sus extremos 5' a la izquierda y sus extremos 3' a la derecha. Una secuencia polipeptídica o polinucleotídica particular también puede describirse explicando cómo difiere de una secuencia de referencia. Por ejemplo, la expresión "una secuencia polipeptídica que difiere de la SEC ID N° 4 en S28T" describe una secuencia polipeptídica que es idéntica a la SEC ID
15 N° 4 con la excepción de que el resto de serina en la posición 28 de la SEC ID N° 4 se reemplaza por un resto de treonina.

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

"Dominio (o región) variable de cadena ligera", "dominio (o región) variable de cadena pesada", "CDR1, 2, y 3" y "FR1, 2, 3, y 4" se definen de acuerdo con el esquema de Kabat y col. en *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, 5ª Ed., US Dept. of Health and Human Services, PHS, NIH, Publicación NIH N° 91-3242, 1991.

El "porcentaje de identidad" de dos secuencias polinucleotídicas o dos secuencias polipeptídicas se determina comparando la secuencias usando el programa informático GAP (una parte del Paquete GCG Wisconsin, versión 10.3 (Accelrys, San Diego, CA)) usando sus parámetros por defecto.

Una molécula biológica (por ejemplo, un polipéptido, anticuerpo, o ácido nucleico) se "aisla" o "purifica sustancialmente" si está suficientemente libre de otras moléculas biológicas, desechos celulares, y otras sustancias a usar en protocolos de laboratorio convencionales (por ejemplo, un ensayo de unión o hibridación). En la técnica son bien conocidos procedimientos para purificar sustancialmente polipéptidos, anticuerpos y ácidos nucleicos.

Los términos "péptido", "polipéptido" y "proteína" se usan indistintamente a lo largo de todo el documento y se refieren a una molécula que comprende dos o más restos de aminoácidos unidos entre sí por enlaces peptídicos.

Los términos "polinucleótido", "oligonucleótido" y "ácido nucleico" se usan indistintamente a lo largo de este documento e incluyen moléculas de ADN (por ejemplo, ADNc o ADN genómico), moléculas de ARN (por ejemplo ARNm), análogos del ADN o ARN generados usando análogos de nucleótidos (por ejemplo, ácidos peptidonucleicos y análogos de nucleótidos no naturales), e híbridos de los mismos. La molécula de ácido nucleico puede ser monocatenaria o bicatenaria. En una realización, las moléculas de ácido

nucleico de la invención comprenden una fase de lectura abierta contigua que codifica un anticuerpo, o un fragmento, derivado, muténa, o variante del mismo, de la invención.

Dos moléculas de ácido nucleico monocatenarias son "el complemento" entre sí si sus secuencias pueden alinearse en una orientación anti-paralela de tal forma que cada nucleótido en una secuencia sea opuesto a su nucleótido complementario en la otra secuencia, sin la introducción de huecos, y sin nucleótidos no emparejados en el extremo 5' o 3' de ninguna de las secuencias. Una molécula de ácido nucleico que es "complementaria" a una secuencia de nucleótidos dada es una que es suficientemente complementaria a la secuencia de nucleótidos dada para que pueda hibridar en condiciones moderadamente rigurosas con la secuencia de nucleótidos dada. Por tanto, un ácido nucleico puede ser complementario a otro ácido nucleico sin ser su complemento.

Un "vector" es un ácido nucleico que puede usarse para introducir otro ácido nucleico unido al mismo en una célula. Un tipo de vector es un "plásmido", que se refiere a una molécula de ADN bicatenaria lineal o circular dentro de la cual pueden ligarse segmentos de ácido nucleico adicionales. Otro tipo de vector es un vector viral (por ejemplo, retrovirus, adenovirus y virus adenoasociados con defectos en la replicación), donde pueden introducirse segmentos de ADN adicionales en el genoma viral. Ciertos vectores son capaces de realizar una replicación autónoma en una célula huésped en la que se introducen (por ejemplo, vectores bacterianos que comprenden un origen de replicación bacteriano y vectores episomales de mamífero). Otros vectores (por ejemplo, vectores no episomales de mamífero) se integran en el genoma de

una célula huésped tras la introducción en la célula huésped, y de esta manera se replican junto con el genoma del huésped. Un "vector de expresión" es un tipo de vector que puede dirigir la expresión de un polinucleótido elegido.

Una secuencia de nucleótidos está "unida de manera operativa" a una
5 secuencia reguladora si la secuencia reguladora afecta a la expresión (por ejemplo, el nivel, ritmo o localización de la expresión) de la secuencia de nucleótidos. Una "secuencia reguladora" es un ácido nucleico que afecta a la expresión (por ejemplo, el nivel, ritmo o localización de expresión) de un ácido nucleico. La secuencia reguladora, por ejemplo, puede ejercer sus efectos
10 directamente sobre el ácido nucleico regulado, o por medio de la acción de uno o más polipéptidos (por ejemplo, polipéptidos que se unen a la secuencia reguladora y/o el ácido nucleico). Los ejemplos de secuencias reguladoras incluyen promotores, potenciadores y otros elementos de control de la expresión (por ejemplo, señales de poliadenilación). Se describen ejemplos
15 adicionales de secuencias reguladoras, por ejemplo, en Goeddel, 1990, Gene Expression Technology: Methods In Enzymology 185, Academic Press, San Diego, CA y Baron y col., 1995, Nucleic Acids Res. 23: 3605-06.

Una "célula huésped" es una célula que puede usarse para expresar un ácido nucleico, por ejemplo, un ácido nucleico de la invención. Una célula
20 huésped puede ser procariota, por ejemplo, *E. coli*, o puede ser un eucariota, por ejemplo, un eucariota unicelular (por ejemplo, una levadura u otro hongo), una célula vegetal (por ejemplo, una célula vegetal de tabaco o tomate), una célula animal (por ejemplo una célula humana, una célula de mono, una célula de hámster, una célula de rata, una célula de ratón, o una célula de insecto) o
25 un hibridoma. Los ejemplos de células huésped incluyen la línea COS-7 de

célula de riñón de mono (ATCC CRL 1651) (véase Gluzman y col., 1981, Cell 23: 175), células L, células C127, células 3T3 (ATCC CCL 163), células de ovario de hámster chino (CHO) o sus derivados tales como Veggie CHO y líneas celulares relacionadas que crecen en medios libres de suero (véase

5 Rasmussen y col., 1998, Cytotechnology 28: 31) o la cepa DX-B11 de CHO, que es deficiente en DHFR (véase Urlaub y col., 1980, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 77: 4216-20), células HeLa, líneas celulares BHK (ATCC CRL 10), la línea celular CV1/EBNA derivada de la línea celular de riñón de mono verde africano CV1 (ATCC CCL 70) (véase McMahan y col., 1991, EMBO J. 10: 2821), células

10 de riñón embrionario humano tales como 293, 293 EBNA o MSR 293, células A431 epidérmicas humanas, células Colo205 humanas, otras líneas celulares de primate transformadas, células diploides normales, cepas celulares obtenidas por cultivo in vitro de tejidos primarios, explantes primarios, células HL-60, U937, HaK o Jurkat. Típicamente, una célula huésped es una célula

15 cultivada que puede transformarse o transfectarse con un ácido nucleico que codifica un polipéptido, que después puede expresarse en la célula huésped. La expresión "célula huésped recombinante" puede usarse para indicar una célula huésped que se ha transformado o transfectado con un ácido nucleico a expresar. Una célula huésped también puede ser una célula que comprende el

20 ácido nucleico pero no lo expresa a un nivel deseado a menos que se introduzca una secuencia reguladora en la célula huésped de tal forma que llegue a estar unida de manera operativa con el ácido nucleico. Se entiende que la expresión célula huésped se refiere no sólo a la célula objeto particular, sino a la descendencia o descendencia potencial de dicha célula. Como

25 pueden producirse ciertas modificaciones en las generaciones posteriores

debido a una mutación o a influencias ambientales, dicha descendencia, efectivamente, puede no ser idéntica a la célula parental, pero también se incluye dentro del alcance del término como se usa en este documento.

Un "anticuerpo quimérico" es un anticuerpo en el que una parte de la
5 cadena pesada y/o ligera es idéntica, homóloga o procede de un anticuerpo de una especie particular o perteneciente a una clase o subclase de anticuerpo particular, mientras que el resto de la cadena o cadenas es idéntico, homólogo o procede de un anticuerpo (anticuerpos) de otra especie o perteneciente a otra clase o subclase de anticuerpo particular. También se incluyen fragmentos de
10 dichos anticuerpos que muestran la actividad biológica deseada (es decir, la capacidad de unirse específicamente al receptor de IL-4). Véase, la Patente de Estados Unidos N° 4.816.567 y Morrison, 1985, Science 229: 1202-07.

Un "anticuerpo con CDR injertada" es un anticuerpo que comprende una o más CDR derivadas de un anticuerpo de una especie o isotipo particular y la
15 estructura de otro anticuerpo de la misma o de diferente especie o isotipo.

Un "anticuerpo multiespecífico" es un anticuerpo que reconoce más de un epítipo en uno o más antígenos. Una subclase de este tipo de anticuerpo es un "anticuerpo biespecífico" que reconoce dos epítopos distintos en el mismo o en diferentes antígenos.

20 Una "variante" de un polipéptido (por ejemplo un anticuerpo) comprende una secuencia de aminoácidos donde uno o más restos de aminoácido se insertan, se deletionan y/o se sustituyen en la secuencia de aminoácidos con respecto a otra secuencia polipeptídica. Las variantes de la invención incluyen proteínas de fusión.

25 Un "derivado" de un polipéptido es un polipéptido (por ejemplo, un

anticuerpo) que se ha modificado químicamente de alguna manera distinta de variantes de inserción, deleción o sustitución, por ejemplo, por conjugación con otro resto químico. A menos que se indique otra cosa, el término "anticuerpo" incluye, además de anticuerpos que comprenden dos cadenas pesadas de longitud completa y dos cadenas ligeras de longitud completa, derivados, variantes, fragmentos y mutelas de los mismos, ejemplos de los cuales se describen a continuación.

Una molécula (por ejemplo, un anticuerpo) "se une específicamente al receptor de IL-4" si se une al receptor de IL-4, o a un fragmento del mismo, con al menos una afinidad 10 veces más alta con la que se une la molécula a un polipéptido no relacionado con el receptor de IL-4.

Un "dominio de unión a antígeno" o "región de unión a antígeno" es la parte de una molécula de anticuerpo que contiene los restos de aminoácido (u otros restos) que interaccionan con un antígeno y dan al anticuerpo su especificidad y afinidad por el antígeno.

Un "epítipo" es la parte de una molécula que se une por un anticuerpo. Un epítipo puede comprender partes no contiguas de la molécula (por ejemplo, en un polipéptido, los restos de aminoácido que no son contiguos a otro en la secuencia polipeptídica pero que, juntos en el contexto de la molécula, se unen por un anticuerpo).

Indicaciones

En un aspecto, la presente invención proporciona procedimientos para tratar, prevenir, curar, aliviar, o mejorar una enfermedad, trastorno, afección, o dolencia. Entre las afecciones a tratar de acuerdo con la presente invención está asma, artritis séptica/reactiva, dermatitis herpetiforme, urticaria idiopática

crónica, esclerodermia, cicatrización hipertrófica, enfermedad de Whipple, hiperplasia de próstata benigna, trastornos pulmonares en los que IL-4 juega un papel, afecciones en las que la alteración de la barrera epitelial inducida por IL-4 juega un papel, trastornos del sistema digestivo en los que IL-4 juega un papel, incluyendo enfermedad inflamatoria del intestino y otras afecciones inflamatorias en el tracto gastrointestinal, reacciones alérgicas a la medicación, enfermedad de Kawasaki, enfermedad de células falciformes (incluyendo crisis de células falciformes), síndrome de Churg-Strauss, enfermedad de Grave, preeclampsia, síndrome de Sjogren, síndrome linfoproliferativo autoinmune, anemia hemolítica autoinmune, esófago de Barrett, uveítis autoinmune, tuberculosis, y nefrosis, como se describe con más detalle a continuación. Los antagonistas de IL-4R también encuentran uso como adyuvantes para inmunoterapia de alergia y como adyuvantes de vacuna.

Los ejemplos de anticuerpos adecuados para tratar estas afecciones se describen a continuación, e incluyen, por ejemplo, anticuerpos que se unen a IL-4R e inhiben la unión de IL-4 al mismo. Los anticuerpos particularmente útiles también inhiben la unión de IL-13 al receptor de IL-13 (IL-13R). Las realizaciones particulares de la invención incluyen nuevos anticuerpos y derivados de anticuerpo, fragmentos, mutelas y variantes, polipéptidos, moléculas de ácido nucleico, células, procedimientos para preparar lo anterior, procedimientos que inhiben IL-4R α , y procedimientos para tratar un sujeto, ejemplos de los cuales se describen a continuación.

En un aspecto, la presente invención proporciona procedimientos que comprenden administrar un anticuerpo anti-IL-4R α a un sujeto. En una realización, el sujeto está afectado por, o en riesgo de desarrollar, una afección

(incluyendo, por ejemplo, una dolencia, infección, lesión, enfermedad, o trastorno) que está causada, inducida, mediada, potenciada, exacerbada, o afectada de otro modo, directa o indirectamente, por la actividad de IL-4R α . Dichas afecciones incluyen, por ejemplo, afecciones causadas, inducidas, 5 mediadas, potenciadas, exacerbadas, o afectadas de otro modo, directa o indirectamente, por IL-4 y/o IL-13. Otros factores o citoquinas también pueden jugar un papel en dichas afecciones.

Las actividades biológicas de IL-4 están mediadas a través de la unión a receptores de superficie celular específicos, mencionados como receptores de 10 interleuquina-4 (IL-4R). Las afecciones inducidas por IL-4 incluyen aquellas que surgen de respuestas biológicas que son el resultado de la unión de IL-4 a un receptor IL-4 nativo en una célula, o que pueden inhibirse o suprimirse evitando que IL-4 se una a un receptor de IL-4. Las afecciones que pueden tratarse incluyen, aunque sin limitación, trastornos médicos caracterizados por la 15 expresión anormal de IL-4 o de uno o más componentes de un IL-4R o IL-13R (incluyendo, por ejemplo, sobre-expresión, mala expresión en un tejido o tipo celular particular, o mala expresión en una fase de desarrollo particular), o por una respuesta del huésped anormal a la producción de IL-4. Los ejemplos adicionales son afecciones en las que la producción de anticuerpos inducida 20 por IL-4, o proliferación o flujo de un tipo celular particular, juega un papel. Los trastornos inducidos por IL-4 incluyen aquellos en los que IL-4 induce la regulación positiva de receptores de IL4 o producción potenciada de otra proteína que juega un papel en una enfermedad (por ejemplo, otra citoquina).

Un procedimiento para tratar un mamífero, que incluye un sujeto 25 humano, que tiene dicho trastorno médico comprende administrar un

anticuerpo anti-IL-4R, o derivado del mismo, al mamífero o poner en contacto de otro modo un IL-4R del mamífero con el anticuerpo o derivado, por ejemplo, en un procedimiento *ex vivo*. Las afecciones que pueden tratarse de acuerdo con la presente invención se describen, por ejemplo, en el documento USSN 5 09/847.816, presentado el 1 de mayo de 2001, la descripción relevante del cual se incorpora como referencia en este documento. Dichas afecciones incluyen, aunque sin limitación, asma, artritis séptica/reactiva, dermatitis herpetiforme, urticaria (especialmente urticaria idiopática crónica), úlceras, inflamación gástrica, inflamación de la mucosa, colitis ulcerosa, enfermedad de Crohn, 10 enfermedad inflamatoria del intestino, otros trastornos del sistema digestivo en los que IL-4 juega un papel (por ejemplo, inflamación inducida por IL-4 de parte del tracto gastrointestinal), afecciones en las que la alteración de la barrera inducida por IL-4 juega un papel (por ejemplo, afecciones caracterizadas por la función de la barrera epitelial disminuida en el pulmón o tracto gastrointestinal), 15 esclerodermia, cicatrización hipertrófica, enfermedad de Whipple, hiperplasia de próstata benigna, afecciones pulmonares inducidas por IL-4, (incluyendo las enumeradas a continuación), reacciones alérgicas a la medicación, enfermedad de Kawasaki, enfermedad o crisis de células falciformes, síndrome de Churg-Strauss, enfermedad de Grave, preeclampsia, síndrome de Sjogren, síndrome 20 linfoproliferativo autoinmune, anemia hemolítica autoinmune, esófago de Barrett, uveítis autoinmune, tuberculosis, nefrosis, pénfigo vulgar o pénfigoide ampollar (enfermedades ampollares autoinmunes), y miastenia grave (una enfermedad muscular autoinmune).

Los anticuerpos Anti-IL-4R, y derivados de los mismo, también 25 encuentran uso como adyuvantes para inmunoterapia de alergia y como

adyuvantes de vacuna. Por consiguiente, puede emplearse un anticuerpo anti-IL-4R como adyuvante para tratamiento por inmunoterapia de la alergia. Los anticuerpos anti-IL-4R encuentran uso adicional como adyuvantes de vacuna, tales como adyuvantes para vacunas contra el cáncer y vacunas contra enfermedades infecciosas. El uso de adyuvantes de IL-4, especialmente cuando dirigen la respuesta inmune hacia una respuesta TH1 serían beneficiosas para tratar o prevenir la enfermedad en cuestión.

Artritis séptica/reactiva

Puede emplearse un anticuerpo anti-IL-4R para tratar artritis séptica, que también se conoce como artritis reactiva o artritis bacteriana. La artritis séptica puede desencadenarse por (provocarse por, o desarrollarse después de) infección con microbios tales como *Staphylococcus aureus*, *Chlamydia trachomatis*, *Yersinia* por ejemplo, *Y. enterocolitica*, *Salmonella*, por ejemplo, *S. enteritidis*, *Shigella* y *Campylobacter*. Se ha informado de que *S. aureus* es el patógeno humano principal en artritis séptica, responsable de la mayoría de los casos.

IL-4 y las respuestas Th2 dependientes de IL-4 juegan papeles en la promoción de la artritis séptica. Puede emplearse un anticuerpo anti-IL-4R de acuerdo con la invención para inhibir IL-4 y también para suprimir la respuesta Th2 en pacientes que tienen artritis séptica o están en riesgo de desarrollar artritis séptica.

IL-4 aumenta la carga bacteriana y la persistencia de bacteria en las articulaciones, inhibiendo la eliminación de las bacterias. Puede emplearse un anticuerpo anti-IL-4R para ayudar a la eliminación de las bacterias asociado con artritis reactiva, reduciendo de este modo las manifestaciones clínicas tales

como hinchazón en las articulaciones. Puede administrarse un anticuerpo anti-IL-4R a un sujeto humano que padece de artritis séptica, para reducir la inflamación articular mediada por IL-4. En un enfoque, se inyecta un antagonista en una articulación, por ejemplo, en el fluido sinovial de la rodilla.

5 El uso de un anticuerpo anti-IL-4R puede beneficiar a sujetos que tienen (o están en riesgo de) artritis séptica suprimiendo una respuesta TH2 y promoviendo una respuesta TH1 contra la infección. Las citoquinas TH2 pueden contribuir a la persistencia bacteriana en la articulación, mientras que una respuesta TH1 juega un papel en la eliminación de las bacterias.

10 El anticuerpo puede administrarse a sujetos infectados con bacterias u otro microbios tales como los enumerados anteriormente, para evitar el desarrollo de artritis séptica. Puede administrarse un anticuerpo, por ejemplo, después del diagnóstico con dicha infección, pero antes del desarrollo de los síntomas clínicos de artritis séptica.

15 Enfermedad de Whipple

Tropheryma whippelii es la bacteria causante de la enfermedad de Whipple, también conocida como lipodistrofia intestinal y granulomatosis lipofágica. La enfermedad está caracterizada por esteatorrea, linfadenopatía frecuentemente generalizada, artritis, fiebre, y toses. También se presenta en
20 paciente con enfermedad de Whipple una abundancia de macrófagos "espumosos" en la lámina propia del yeyuno, y ganglios linfáticos que contienen partículas positivas a ácido peryódico-schiff que parecen baciliformes por microscopía electrónica (*Steadman's Medical Dictionary*, 26ª Edición, Williams & Wilkins, Baltimore, MD, 1995).

25 El uso de un anticuerpo anti-IL-4R puede beneficiar a sujetos que tienen

(o están en riesgo de desarrollar) enfermedad de Whipple, restaurando un equilibrio normal entre los componentes TH1 y TH2 de la respuesta inmune del paciente. La producción aumentada de IL-4 (una citoquina de tipo TH2) y niveles disminuidos de ciertas citoquinas de tipo TH1 se han asociado con la enfermedad de Whipple. Las citoquinas TH2 pueden contribuir a la persistencia bacteriana, mientras que una respuesta TH1 juega un papel en la eliminación de las bacterias causantes. Los antagonistas de IL-4R pueden administrarse a sujetos infectados con *T. whippelii*, muestre o no el sujeto síntomas clínicos de la enfermedad de Whipple.

10 Dermatitis herpetiforme

La dermatitis herpetiforme, también conocida como enfermedad de Duhring, es una afección cutánea crónica caracterizada por lesiones cutáneas ampollares, depósitos de IgA cutáneos, y picor. Los pacientes tienen un trastorno cutáneo inmunoampollar con una enteropatía sensible a gluten asociada, que está mediada por una respuesta inmune Th2. Se administra un anticuerpo anti-IL-4R de acuerdo con la presente invención, para inhibir IL-4 y la respuesta Th2, promoviendo de este modo la curación de las lesiones presentes y reduciendo o evitando la formación de ampollas en las superficies corporales más extensas.

20 Cicatrización hipertrófica

De acuerdo con la presente invención, se administra anticuerpo anti-IL-4R a sujetos que tienen, o son susceptibles de desarrollar, cicatrización hipertrófica. En un procedimiento proporcionado en este documento, se administra un anticuerpo anti-IL-4R a un sujeto con una lesión por quemadura.

25 Se cree que una respuesta inmune a quemaduras u otras lesiones juega un

papel en la patogénesis de cicatrización hipertrófica. La producción aumentada de citoquinas de tipo TH2, incluyendo IL-4, y niveles reducidos de ciertas citoquinas de tipo TH1 se ha presentado en pacientes quemados que tienen cicatrización hipertrófica. El uso de anticuerpo anti-IL-4R puede beneficiar a
5 sujetos que tienen (o en riesgo de desarrollar) cicatrización hipertrófica, suprimiendo la respuesta inmune de tipo TH2.

Urticaria

La urticaria, especialmente las formas crónicas de la misma tales como urticaria Idlopática crónica (CIU), puede tratarse con un anticuerpo anti-IL-4R
10 de acuerdo con la presente invención. Los pacientes de CIU tienen niveles en suero más altos de IL-4 que los controles, y pueden tener un perfil de citoquinas predominantemente de tipo TH2. Los mastocitos y las células T de tipo Th2 están implicados como células efectoras primarias en urticaria crónica. IL-4 estimula la proliferación de mastocitos. La desgranulación de los
15 mastocitos conduce a la liberación de histamina, posterior eritema, eosinofilia, rojez de la piel, y picor. Los anticuerpos anti-IL-4R se administran para inhibir IL-4 y reducir la respuesta de tipo TH2, ayudando de este modo a controlar la urticaria en un sujeto.

Colitis ulcerosa; otros trastornos del tracto gastrointestinal

20 IL-4 está implicada en la patogénesis de colitis ulcerosa. Las citoquinas de tipo Th2 incluyendo IL-4 pueden predominar en la mucosa del colon de pacientes con este trastorno. El uso de anticuerpos anti-IL-4R para suprimir la respuesta TH2 puede aliviar esta afección.

Además de la colitis ulcerosa, otros trastornos del tracto gastrointestinal
25 o sistema digestivo pueden tratarse con anticuerpos anti-IL-4R. Los ejemplos

de dichos trastornos incluyen, aunque sin limitación, enfermedad inflamatoria del intestino (IBD), siendo colitis ulcerosa y enfermedad de Crohn formas de IBD, gastritis, úlceras, e inflamación de la mucosa.

Cualquier afección gastrointestinal en la que IL-4 juegue un papel puede
5 tratarse con un anticuerpo anti-IL-4R de acuerdo con la presente invención. Por ejemplo, las afecciones que implican inflamación inducida por IL-4 de parte del tracto gastrointestinal pueden tratarse con un anticuerpo anti-IL-4R. Las realizaciones particulares se refieren al tratamiento de afecciones inflamatorias crónicas en el tracto gastrointestinal.

10 Otras realizaciones se refieren a afecciones en las que la alteración de la barrera inducida por IL-4 juega un papel, por ejemplo, afecciones caracterizadas por función de la barrera epitelial disminuida en al menos una parte del tracto gastrointestinal. Dichas afecciones pueden, por ejemplo, implicar el daño al epitelio que se induce por IL-4, directa o indirectamente.

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

Trastornos pulmonares

Se proporcionan en este documento procedimientos para tratar trastornos pulmonares inducidos por IL-4. Dichos trastornos incluyen, aunque sin limitación, fibrosis pulmonar, incluyendo enfermedad pulmonar fibrótica crónica, otras afecciones caracterizadas por la proliferación de fibroblastos inducida por IL-4 o acumulación de colágeno en los pulmones, afecciones pulmonares en las que la respuesta inmune de tipo TH2 juega un papel, afecciones caracterizadas por función de la barrera disminuida en el pulmón (por ejemplo, provocado por el daño inducido por IL-4 al epitelio), o afecciones en las que IL-4 juega un papel en una respuesta inflamatoria (por ejemplo, asma).

La fibrosis quística está caracterizada por la sobreproducción de mucus y desarrollo de infecciones crónicas. La inhibición de IL-4 y la respuesta Th2 reducirá la producción de mucus y ayudará a controlar las infecciones tales como aspergilosis broncopulmonar alérgica (ABPA).

La micosis broncopulmonar alérgica sucede principalmente en pacientes con fibrosis quística o asma, donde es dominante una respuesta inmune Th2. La inhibición de IL4 y la respuesta TH2 ayudará a eliminar y controlar estas infecciones.

La enfermedad pulmonar obstructiva crónica está asociada con hipersecreción de mucus y fibrosis. La inhibición de IL-4 y la respuesta Th2 reducirá la producción de mucus y el desarrollo de fibras mejorando de este modo la función respiratoria y retardando la progresión de la enfermedad.

La neumopatía y fibrosis inducida por bleomicina, y fibrosis pulmonar inducida por radiación son trastornos caracterizados por fibrosis del pulmón

que se manifiesta por el flujo de células CD4⁺ Th2 y macrófagos, que producen IL-4 que a su vez media el desarrollo de fibrosis. La inhibición de IL-4 y la respuesta Th2 reducirá o evitará el desarrollo de estos trastornos.

La proteinosis alveolar pulmonar está caracterizada por la alteración de la eliminación de tensioactivo. IL-4 aumenta el producto tensioactivo. El uso de un anticuerpo anti-IL-4R disminuirá la producción de tensioactivo y disminuirá la necesidad de un lavado pulmonar completo.

El síndrome de distrés respiratorio en el adulto (ARDS) puede atribuirse a varios factores, uno de los cuales es la exposición a compuestos químicos tóxicos. Una población de pacientes susceptible a ARDS es pacientes críticamente enfermos que tienen que usar respiradores. ARDS es una complicación frecuente en dichos pacientes. Un tratamiento con anticuerpo anti-IL-4R puede aliviar ARDS reduciendo la inflamación y moléculas de adhesión, aunque los procedimientos para tratar dichos sujetos de acuerdo con la presente invención no se limitan por un mecanismo particular de acción. Puede usarse un anticuerpo anti-IL-4R para prevenir o tratar ARDS.

La sarcoidosis está caracterizada por lesiones granulomatosas. El uso de un anticuerpo anti-IL-4R para tratar sarcoidosis, particularmente sarcoidosis pulmonar, se contempla en este documento.

Las afecciones en las que la alteración de la barrera inducida por IL-4 juega un papel (por ejemplo, afecciones caracterizadas por la función de la barrera epitelial disminuida en el pulmón) pueden tratarse con anticuerpo anti-IL-4R. El daño a la barrera epitelial en los pulmones puede inducirse por IL-4 directa o indirectamente. El epitelio en el pulmón funciona como barrera selectiva que evita que los contenidos del lumen del pulmón entren a la

submucosa. Una barrera dañada o "filtrante" permite que los antígenos crucen la barrera, que a su vez provoca una respuesta inmune que puede causar daño adicional al tejido pulmonar. Dicha respuesta inmune puede incluir el reclutamiento de eosinófilos o mastocitos, por ejemplo. Puede administrarse un anticuerpo anti-IL-4R para inhibir dicha estimulación no deseable de una respuesta inmune.

Pueden emplearse anticuerpos anti-IL-4R para promover la curación del epitelio pulmonar, restaurando de este modo la función de la barrera. Puede emplearse un anticuerpo anti-IL-4R para promover la curación del epitelio pulmonar en asmáticos, por ejemplo. Como alternativa, se administra el antagonista para propósitos profilácticos, para evitar el daño inducido por IL-4 al epitelio pulmonar.

Tuberculosis

Una respuesta inmune de tipo TH2 está implicada en el papel que se juega en la causa del daño tisular (por ejemplo, necrosis del tejido pulmonar) en pacientes con tuberculosis (TB). Los niveles elevados de IL-4 están asociados con TB. La producción de IL-4 puede estar particularmente elevada en tuberculosis cavitaria (es decir, en pacientes TB que han desarrollado cavidades pulmonares, que pueden detectarse/visualizarse por técnicas tales como radiografías del pecho).

Los anticuerpos anti-IL-4R pueden beneficiar a pacientes TB (especialmente a aquellos con TB cavitaria) suprimiendo una respuesta inmune de tipo TH2. Sin embargo, los procedimientos para tratar a dichos sujetos de acuerdo con la presente invención no se limitan por un mecanismo particular de acción. Los anticuerpos anti-IL-4R se administran de manera ventajosa en una

cantidad que restaura el equilibrio deseado entre los componentes TH1 y TH2 de la respuesta inmune, y reducen el daño tisular inducido por IL-4 en un paciente.

Síndrome de Churg-Strauss

5 El síndrome de Churg-Strauss, una enfermedad también conocida como angitis granulomatosa alérgica, está caracterizado por la inflamación de los vasos sanguíneos en personas con una historia de asma o alergia, y por eosinofilia. Pueden administrarse anticuerpos anti-IL-4R para aliviar la inflamación en sujetos con este síndrome. El uso de anticuerpos anti-IL-4R
10 para suprimir una respuesta inmune de tipo TH2, y para combatir la eosinofilia, beneficiaría a los sujetos.

Preeclampsia

La preeclampsia es una toxemia del embarazo tardío. La afección está caracterizada por un aumento fuerte en la presión sanguínea, generalmente
15 acompañado por edema y albuminuria, durante el tercer trimestre del embarazo.

Las respuestas inmunes de tipo TH1 y tipo TH2 elevadas pueden jugar un papel en la afección. Un procedimiento proporcionado en este documento comprende administrar un anticuerpo anti-IL-4R a una mujer embarazada que
20 ha desarrollado preeclampsia. El anticuerpo anti-IL-4R se administra en una cantidad, y durante un período de tiempo, suficiente para reducir el nivel de IL-4 (o de citoquinas de tipo TH2 colectivamente) a un nivel que se considera normal durante el embarazo. En general, el anticuerpo anti-IL-4R se administra de manera repetida mientras dura el embarazo.

25 Esclerodermia

Se administran anticuerpos anti-IL-4R a sujetos con esclerodermia de acuerdo con la invención. Los anticuerpos reducen la síntesis de colágeno inducida por IL-4 por fibroblastos en los pacientes. Los anticuerpos pueden emplearse para prevenir o reducir la fibrosis en la piel y tejidos pulmonares, así como otros tejidos en los que sucede fibrosis en pacientes con esclerodermia, suprimiendo la síntesis de colágeno en dichos tejidos, y para tratar enfermedad pulmonar relacionada con esclerodermia.

Hiperplasia de Próstata Benigna

La hiperplasia de próstata benigna (BPH), también conocida como hipertrofia de próstata benigna, puede tratarse con anticuerpos anti-IL-4R. Sin el deseo de estar limitados por un mecanismo particular de acción, la administración de un anticuerpo anti-IL-4R puede beneficiar a un sujeto con BPH suprimiendo la inflamación inducida por IL-4, o suprimiendo una respuesta inmune de tipo TH2.

15 Enfermedad de Grave

Los anticuerpos dirigidos contra el receptor de tirotrópina juegan un papel importante en la enfermedad de Grave, un trastorno caracterizado por hipertiroidismo. Los estudios de la producción de citoquinas en pacientes con enfermedad de Grave muestran un cambio hacia una respuesta de citoquinas de tipo TH-2. El uso de un anticuerpo anti-IL-4R para suprimir la respuesta inmune de tipo TH2, y suprimir la producción de anticuerpos, beneficiaría a pacientes con enfermedad de Grave.

Enfermedad de Células Falciformes

Los pacientes con enfermedad de células falciformes típicamente experimentan períodos intermitentes de crisis llamadas exacerbación aguda,

estando las crisis clasificadas como anémicas o vaso-oclusivas. Los anticuerpos anti-IL-4R encuentran uso para tratar o prevenir las crisis de células falciformes, especialmente en sujetos con niveles de IL-4 elevados o en los que la respuesta inmune ha cambiado hacia una respuesta de tipo TH-2. La enfermedad de células falciformes (especialmente crisis de células falciformes) se ha asociado a susceptibilidad aumentada a enfermedades infecciosas, incluyendo infecciones bacterianas. La administración de anticuerpos anti-IL-4R a pacientes con enfermedad de células falciformes puede ayudar a que el paciente elabore una respuesta inmune contra enfermedades infecciosas.

10 Síndrome de Sjogren

La enfermedad autoinmune conocida como síndrome de Sjogren o síndrome sicca típicamente combina ojos secos y boca seca con un trastorno de los tejidos conectivos, tal como artritis reumatoide, lupus, esclerodermia, o polimiositis. La inmensa mayoría de los pacientes son mujeres de edad media (o mayores). El síndrome de Sjogren es una enfermedad inflamatoria de las glándulas (por ejemplo, glándulas lagrimal y salival) y otros tejidos del cuerpo. El síndrome típicamente está asociado con la producción de autoanticuerpos.

Pueden administrarse anticuerpos anti-IL-4R para reducir la respuesta inflamatoria (tal como inflamación de las glándulas, incluyendo glándulas lagrimales) en dichos sujetos. Los anticuerpos anti-IL-4R pueden beneficiar a pacientes con síndrome de Sjogren suprimiendo una respuesta inmune de tipo TH-2. Sin embargo, los procedimientos para tratar sujetos de acuerdo con la presente invención no se limitan por un mecanismo particular de acción,

20 Síndrome linfoproliferativo autoinmune

25 Las manifestaciones del síndrome linfoproliferativo autoinmune incluyen

linfoproliferación y producción de autoanticuerpos. Los pacientes con el síndrome según se dice tienen una deficiencia heredada en la apoptosis. Los anticuerpos anti-IL-4R pueden beneficiar a sujetos con este síndrome suprimiendo una respuesta inmune de tipo TH2. Sin embargo, los
5 procedimientos para tratar a dichos sujetos de acuerdo con la presente invención no se limitan por un mecanismo particular de acción.

Anemia hemolítica autoinmune

La secreción de IL-4 excesiva, y una diferencia en citoquinas de tipo TH1, están implicadas en la contribución a la patogénesis de anemia hemolítica
10 autoinmune. Los anticuerpos anti-IL-4R se administran de acuerdo con la presente invención, para beneficiar pacientes reduciendo la producción de autoanticuerpos, y restaurando un equilibrio más normal entre los componentes TH1 y TH2 de la respuesta inmune.

Uveítis autoinmune

15 La uveítis implica inflamación de la úvea (generalmente considerada que incluye el iris, cuerpo ciliar, y coroides, considerados juntos). La secreción de IL-4 en exceso está implicada como que juega un papel en la patogénesis de esta enfermedad ocular inflamatoria que amenaza la vista. De acuerdo con la presente invención, se administran anticuerpos anti-IL-4R a un sujeto con, o en
20 riesgo de desarrollar uveítis. En una realización, se administran anticuerpos anti-IL-4R a un individuo que tiene uveorretinitis autoinmune.

Enfermedad de Kawasaki

También conocida como el síndrome del ganglio linfático mucocutáneo, la enfermedad de Kawasaki (KD) afecta principalmente a niños pequeños. La
25 enfermedad está caracterizada por cambios particulares en las membranas

mucosas que recubren los labios y la boca, y por glándulas linfáticas alargadas, delicadas. Los síntomas típicamente incluyen, fiebre, conjuntivitis, inflamación de los labios y membranas mucosas de la boca, glándulas hinchadas en el cuello, y una rojez que cubre las manos y los pies, conduciendo a piel
5 endurecida, hinchada y descamada en las manos y los pies. En niños con enfermedad de Kawasaki (KD), puede desarrollarse inflamación de las arterias (vasculitis). Debido al efecto de la enfermedad en el sistema vascular, se ha informado de que KD es la causa principal de enfermedad cardíaca adquirida en niños.

- 10 Pueden administrarse anticuerpos anti-IL-4R a sujetos con enfermedad de Kawasaki. La secreción excesiva de IL-4 y una deficiencia en citoquinas de tipo TH1 contribuye a la patogénesis de la enfermedad.

Esófago de Barrett

- El esófago de Barrett es una afección caracterizada por alteración
15 (después de irritación) en las células en el tejido epitelial que recubre la parte inferior del esófago. El reflujo frecuente de los contenidos del estómago en el esófago, en el tiempo, puede conducir a esófago de Barrett. Los pacientes con esófago de Barrett están en riesgo de desarrollar cáncer de esófago (por ejemplo, adenocarcinoma). Aunque no se desea limitarse por un mecanismo
20 particular de acción, la administración de un anticuerpo anti-IL-4R puede beneficiar a un sujeto con esófago de Barrett suprimiendo una respuesta inmune de tipo TH2. En una realización, se administra un anticuerpo anti-IL-4R a un sujeto con esofagitis, para inhibir la progresión a esófago de Barrett.

Nefrosis

- 25 La nefrosis, también conocida como síndrome nefrótico, es una

enfermedad renal que es no inflamatoria y no maligna. En la afección conocida como nefrosis de cambio mínimo, el daño glomerular (que se cree que surge de cambios estructurales en las células del epitelio visceral glomerular) provoca anomalías que incluyen proteinuria. Una respuesta inmune de tipo TH2
5 (especialmente secreción de las citoquinas de tipo TH2 IL-4 e IL-13) está implicada como que juega un papel en la patogénesis de nefrosis de cambio mínimo.

Otras indicaciones

Los ejemplos adicionales de afecciones que pueden tratarse de acuerdo
10 con la presente invención incluyen, aunque sin limitación, las siguientes. Pueden emplearse anticuerpos anti-IL-4R para tratar o prevenir el síndrome de hiper IgE, síndrome de hipereosinofilia idiopática, reacciones alérgicas a medicación, enfermedades ampollares autoinmunes (por ejemplo, pénfigo vulgar o penfigoide ampollar), miastenia grave (una enfermedad muscular
15 autoinmune), y síndrome de fatiga crónica. Pueden emplearse anticuerpos anti-IL-4R para tratar GVHD; a continuación se describen procedimientos particulares para tratar GVHD en combinación con otros agentes terapéuticos. Los anticuerpos anti-IL-4R también encuentran uso en el tratamiento o prevención de hepatotoxicidad inducida por fármacos tales como diclofenaco
20 (un fármaco anti-inflamatorio no esteroideo).

Puede emplearse un anticuerpo anti-IL-4R como adyuvante para el tratamiento por inmunoterapia de alergia. Los anticuerpos anti-IL-4R encuentran uso adicional como adyuvantes de vacuna, tales como adyuvantes para vacunas contra el cáncer y vacunas contra enfermedades infecciosas. El
25 uso de anticuerpos anti-IL-4R es especialmente ventajoso cuando favorecer

una respuesta inmune de tipo TH1 sería beneficioso para prevenir o tratar la afección para la que la vacuna se está administrando. Pueden emplearse anticuerpo anti-IL-4R cuando se desea reducir una respuesta inmune mediada por anticuerpos y/o promover una respuesta inmune mediada por células T.

5 **Anticuerpos anti-IL-4R**

En un aspecto, la presente invención proporciona anticuerpos, y fragmentos, derivados, mutélnas, y variantes de los mismos, que se unen al receptor alfa de IL-4, por ejemplo, el receptor alfa de IL-4 humano.

Los anticuerpos anti-IL-4R que pueden emplearse de acuerdo con la
10 presente invención incluyen anticuerpos que inhiben una actividad biológica de IL-4. Ejemplos de dichas actividades biológicas incluyen asociarse con otro componente receptor (por ejemplo, IL-2R gamma o IL-13R alfa), unir (solo o como parte de un complejo receptor multimérico) una molécula de señalización (por ejemplo, IL-4 o IL-13), y transducir una señal en respuesta a la unión a una
15 molécula de señalización.

Pueden unirse diferentes anticuerpos anti-IL-4R a diferentes dominios o epítopes de IL-4R o funcionar por diferentes mecanismos de acción. Los ejemplos incluyen, aunque sin limitación, anticuerpos que impiden la unión de IL-4 a IL-4R o que inhiben la transducción de señales. El sitio de acción puede
20 ser, por ejemplo, intracelular (por ejemplo, impidiendo una cascada de señalización intracelular) o extracelular. Un anticuerpo no tiene que inhibir completamente una actividad inducida por IL-4 para encontrar uso en la presente invención; en su lugar, también se contemplan anticuerpos que reducen una actividad particular de IL-4 para su uso.

25 Los análisis presentados anteriormente de mecanismos particulares de

acción para anticuerpos anti-IL-4R en el tratamiento de enfermedades particulares son sólo ilustrativos, y los procedimientos presentados en este documento no están limitados por las mismas. Los mecanismos de acción por los que los anticuerpos anti-IL-4R mejoran enfermedades no se limitan a los
5 analizados anteriormente.

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

Como se ha analizado anteriormente, algunas afecciones se pueden tratar suprimiendo una respuesta inmune de tipo TH2. IL-4R está asociado con
15 una respuesta TH2, y es una de las citoquinas secretadas por células T auxiliares de tipo 2 (células TH2). Puede administrarse un anticuerpo anti-IL-4R para reducir una respuesta inmune de tipo TH2. El anticuerpo contra IL-4R puede decirse que reduce la proliferación de células TH2, suprime una respuesta TH2, cambia la respuesta inmune hacia una respuesta TH1, o
20 favorece una respuesta de tipo TH1. Los antagonistas de otra citoquina o citoquinas de tipo TH2, tales como IL-5, IL-10, o IL-13, pueden administrarse adicionalmente a sujetos que tienen un trastorno que implica niveles elevados de dichas citoquinas. Las técnicas para medir la cantidad de dichas citoquinas en un sujeto, por ejemplo, en el suero del sujeto, son bien conocidas.

25 Una realización de la invención se refiere a un procedimiento para inhibir

el daño inducido por IL-4 al epitelio, que comprende administrar un anticuerpo anti-IL-4R a un sujeto que tiene, o está en riesgo de desarrollar, una afección en la que la alteración de la barrera epitelial mediada por IL-4 juega un papel.

Realizaciones particulares de procedimientos proporcionados en este documento comprenden administrar un anticuerpo anti-IL-4R para inhibir el daño inducido por IL-4 al epitelio en el tracto gastrointestinal o pulmón. Dichos procedimientos pueden emplearse para evitar el daño epitelial, o restaurar la función de la barrera epitelial (es decir, promover la reparación o curación del epitelio). La capacidad de un anticuerpo anti-IL-4R de inhibir el daño inducido por IL-4 al epitelio puede confirmarse en cualquiera de varios ensayos adecuados, tales como los descritos en este documento.

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

Las combinaciones de dos o más anticuerpos o derivados de anticuerpo, o de un anticuerpo o derivado de anticuerpo y uno o más antagonistas de IL-4, IL-13, IL-4R y/o IL-13R diferentes (como se describe, por ejemplo, en las Patentes de Estados Unidos 5.599.905, 5.840.869, 5.856.296, 5.767.065, 5.717.072, 6.391.581, 5.710.023, Idzerda y col., 1990, J. Exp. Med. 171: 861-73, y Mosley y col., 1989, Cell 59: 335-48, incorporados en este documento como referencia en su totalidad) pueden emplearse en procedimientos y composiciones de la presente invención.

Los procedimientos de mutagénesis específica de sitio dirigida por

oligonucleótidos pueden emplearse para proporcionar un gen alterado que tiene codones particulares alterados de acuerdo con la sustitución, delección, o inserción necesaria. Los ejemplos de técnicas para hacer dichas alteraciones se describen en Walder y col., 1986, *Gene* 42: 133; Bauer y col. 1985, *Gene* 37: 73; Craik, *BioTechniques*, enero 1985, 12-19; Smith y col., 1981, *Genetic Engineering: Principles and Methods*, Plenum Press; y Patentes de Estados Unidos N° 4.518.584 y 4.737.462. Estos y otros procedimientos pueden usarse para preparar, por ejemplo, derivados de anticuerpos anti-IL-4R que tienen, por ejemplo, afinidad, avidez, o especificidad aumentada para IL-4R en comparación con el anticuerpo no derivatizado.

Otros derivados de anticuerpos anti-IL-4R dentro del alcance de esta invención incluyen conjugados covalentes o agregantes de anticuerpos anti-IL-4R, o fragmentos de los mismos, con otras proteínas o polipéptidos, tales como por expresión de proteínas de fusión recombinantes que comprenden polipéptidos heterólogos fusionados al extremo N-terminal o C-terminal de un polipéptido de anticuerpo anti-IL-4R. Por ejemplo, el péptido conjugado puede ser un polipéptido señal heterólogo (o líder), por ejemplo, el líder del factor alfa de levaduras, o un péptido tal como una señal de epítopo. Las proteínas de fusión que contienen anticuerpos anti-IL-4R pueden comprender péptidos añadidos para facilitar la purificación o identificación del anticuerpo anti-IL-4R (por ejemplo, poli-His). Un polipéptido de anticuerpo anti-IL-4R también puede unirse a un péptido FLAG Asp-Tyr-Lys-Asp-Asp-Asp-Asp-Lys (DYKDDDDK) (SEC ID N° 69) como se describe en Hopp y col., *Bio/Technology* 6: 1204, 1988, y Patente de Estados Unidos 5.011.912. El péptido FLAG es altamente antigénico y proporciona un epítopo unido de manera reversible por un

anticuerpo monoclonal específico (mAb), que posibilita el ensayo rápido y facilita la purificación de la proteína recombinante expresada. Los reactivos útiles para preparar proteínas de fusión en las que el péptido FLAG se fusiona a un polipéptido dado están disponibles en el mercado (Sigma, St. Louis, MO).

5 Pueden emplearse oligómeros que contienen uno o más polipéptidos de anticuerpo anti-IL-4R como antagonistas de IL-4R. Los oligómeros pueden estar en forma de dímeros, trímeros, u oligómeros superiores unidos de manera covalente o unidos de manera no covalente. Los oligómeros que comprenden dos o más polipéptidos de anticuerpo anti-IL-4R se contemplan
10 para su uso, siendo un ejemplo un homodímero. Otros oligómeros incluyen heterodímeros, heterotrímeros, etc.

Una realización se refiere a oligómeros que comprenden múltiples polipéptidos de anticuerpo anti-IL-4R unidos mediante interacciones covalentes o no covalentes entre restos peptídicos fusionados a los polipéptidos de
15 anticuerpo anti-IL-4R. Dichos péptidos pueden ser engarces peptídicos (espaciadores), o péptidos que tienen la propiedad de promover la oligomerización. Las cremalleras de leucina y ciertos polipéptidos derivados de anticuerpos están entre los péptidos que pueden promover la oligomerización de polipéptidos IL-4R unidos a los mismos, como se describe con más detalle a
20 continuación.

En realizaciones particulares, los oligómeros comprenden de dos o cuatro polipéptidos de anticuerpo anti-IL-4R. Los restos de anticuerpo anti-IL-4R del oligómero pueden estar en cualquiera de las formas descritas anteriormente, por ejemplo, variantes o fragmentos. Preferiblemente, los
25 oligómeros comprenden polipéptidos de anticuerpo anti-IL-4R que tienen

actividad de unión a IL-4R.

En una realización, un oligómero se prepara usando polipéptidos derivados de inmunoglobulinas. La preparación de proteínas de fusión que comprenden ciertos polipéptidos heterólogos fusionados a diversas partes de polipéptidos derivados de anticuerpo (incluyendo el dominio Fc) se han descrito, por ejemplo, por Ashkenazi y col., 1991, PNAS USA 88: 10535; Byrn y col., 1990, Nature 344: 677; y Hollenbaugh y col., 1992 "Construction of Immunoglobulin Fusion Proteins", en *Current Protocols in Immunology*, Supl. 4, páginas 10.19.1 - 10.19.11.

Una realización de la presente invención se refiere a un dímero que comprende dos proteínas de fusión creadas fusionando un fragmento de unión a IL-4R de un anticuerpo anti-IL-4R a la región Fc de un anticuerpo. El dímero puede prepararse, por ejemplo, insertando una fusión génica que codifica la proteína de fusión en un vector de expresión apropiado, que expresa la fusión génica en células huésped transformadas con el vector de expresión recombinante, y permitiendo que la proteína de fusión expresada se ensamble de manera mucho más parecida a moléculas de anticuerpo, mediante lo que se forman enlaces disulfuro entre las cadenas entre los restos Fc para producir el dímero.

La expresión "polipéptido Fc" como se usa en este documento incluye formas nativas y de mutéina de polipéptidos derivados de la región Fc de un anticuerpo. Las formas truncadas de dichos polipéptidos que contienen la región bisagra que promueve la dimerización también se incluyen. Las proteínas de fusión que comprenden restos Fc (y oligómeros formados a partir de las mismas) ofrecen la ventaja de facilitar la purificación por cromatografía

de afinidad sobre columnas de proteína A o proteína G.

Un polipéptido Fc adecuado, descrito en la solicitud PCT WO 93/10151 (incorporada por la presente como referencia), es un polipéptido de cadena única que ocupa desde la región bisagra N-terminal hasta el extremo C-terminal nativo de la región Fc de un anticuerpo IgG1 humano. Otro polipéptido Fc útil es la mutéina Fc descrita en la Patente de Estados Unidos 5.457.035 y en Baum y col., 1994, EMBO J. 13:3992-4001. La secuencia de aminoácidos de esta mutéina es idéntica a la de la secuencia de Fc nativa presentada en el documento WO 93/10151, excepto en que el aminoácido 19 se ha cambiado de Leu a Ala, el aminoácido 20 se ha cambiado de Leu a Glu, y el aminoácido 22 se ha cambiado de Gly a Ala. La mutéina muestra afinidad reducida por receptores de Fc.

En otras realizaciones, la parte variable de las cadenas pesada y/o ligera de un anticuerpo anti-IL-4R pueden sustituirse por la parte variable de una cadena pesada y/o ligera de anticuerpo.

Como alternativa, el oligómero es una proteína de fusión que comprenden múltiples polipéptidos de anticuerpo anti-IL-4R, con o sin engarces peptídicos (péptidos espaciadores). Entre los engarces peptídicos adecuados están los descritos en las Patentes de Estados Unidos 4.751.180 y 4.935.233.

Otro procedimiento para preparar derivados de anticuerpo anti-IL-4R oligoméricos implica el uso de una cremallera de leucina. Los dominios de cremallera de leucina son péptidos que promueven la oligomerización de las proteínas en las que se encuentran. Las cremalleras de leucina se identificaron en un principio en varias proteínas de unión a ADN (Landschulz y col., 1988, Science 240: 1759), y desde entonces se han descubierto en una diversidad de

diferentes proteínas. Entre las cremalleras de leucina conocidas están los péptidos de origen natural y derivados de los mismos que dimerizan o trimerizan. Ejemplos de dominios de cremalleras de leucina adecuados para producir proteínas oligoméricas solubles se describen en la solicitud PCT WO 94/10308, y la cremallera de leucina derivada de la proteína D tensioactiva pulmonar (SPD) descrita en Hoppe y col., 1994, FEBS Letters 344: 191, incorporada por la presente como referencia. El uso de una cremallera de leucina modificada que permite la trimerización estable de una proteína heteróloga fusionada a la misma se describe en Fanslow y col., 1994, Semin. Immunol. 6: 267-78. En un enfoque, se expresan proteínas de fusión recombinantes que comprenden un fragmento de anticuerpo anti-IL-4R o derivado fusionado a un péptido de cremallera de leucina en células huésped adecuadas, y los fragmentos de anticuerpo anti-IL-4R oligoméricos solubles o derivados que forman se recuperan del sobrenadante del cultivo.

Los polipéptidos de anticuerpo anti-IL-4R y proteínas de fusión descritos en este documento pueden prepararse por cualquiera de varias técnicas convencionales. Por ejemplo, pueden purificarse polipéptidos de anticuerpo anti-IL-4R de células que los expresan de manera natural, o pueden producirse en sistemas de expresión recombinantes, usando cualquier técnica conocida en la técnica.

Cualquier sistema de expresión conocido en la técnica puede usarse para preparar los polipéptidos recombinantes de la invención. En general, las células huésped se transforman con un vector de expresión recombinante que comprenden ADN que codifica un polipéptido de anticuerpo anti-IL-4R deseado. Entre las células huésped que pueden emplearse están células

procariotas, de levaduras o eucariotas superiores. Los procariotas incluyen organismos gram negativos o gram positivos, por ejemplo *E. coli* o bacilos. Las células eucariotas superiores incluyen células de insecto y líneas celulares establecidas de origen de mamífero. Los ejemplos de líneas celulares

5 hospedadoras de mamífero adecuadas incluyen la línea COS-7 de células de riñón de mono (ATCC CRL 1651) (Gluzman y col., 1981, Cell 23: 175), células L, células 293, células C127, células 3T3 (ATCC CCL 163), células de ovario de hámster chino (CHO), células HeLa, líneas celulares BHK (ATCC CRL 10), y la línea celular CVI/EBNA derivada de la línea celular de riñón de mono verde

10 africano CVI (ATCC CCL 70) como se describe por McMahan y col., 1991, EMBO J. 10: 2821. Los vectores de clonación y expresión apropiados para su uso con huéspedes celulares de bacterias, hongos, levaduras, y mamíferos se describen por Pouwels y col. (*Cloning Vectors: A Laboratory Manual*, Elsevier, Nueva York, 1985).

15 Las células transformadas se cultivan en condiciones que promueven la expresión del polipéptido de anticuerpo anti-IL-4R, y el polipéptido se recupera por procedimientos de purificación de proteínas convencionales. Uno de dichos procedimientos de purificación incluye el uso de cromatografía de afinidad, por ejemplo, en una matriz que tiene todo o una parte (por ejemplo, el dominio

20 extracelular) de IL-4R unido a la misma. Los polipéptidos contemplados para su uso en este documento incluyen polipéptidos de anticuerpo anti-IL-4R de mamífero recombinantes sustancialmente homogéneos, sustancialmente libres de materiales endógenos contaminantes.

En un aspecto, la presente invención proporciona anticuerpos que

25 impiden la unión de IL-4 a un receptor de IL-4. Dichos anticuerpos,

mencionados en este documento como anticuerpos de bloqueo, pueden surgir contra IL-4R, o un fragmento, variante o derivado del mismo, y se exploran en ensayos convencionales para la capacidad de impedir la unión de IL-4 a receptores de IL-4. Los ejemplos de ensayos adecuados son ensayos que
5 ensayan los anticuerpos para la capacidad de inhibir la unión de IL-4 a células que expresan IL-4R, o que ensayan anticuerpos para la capacidad de reducir una respuesta biológica o celular que está provocada por la unión de IL-4 a receptores de IL-4 de superficie celular.

Se ha informado de que IL-4R alfa es un componente de ciertos
10 complejos receptores de IL-13 múltiples subunidades (Zurawski y col., 1995, J. Biol. Chem. 270: 13869; de Vries, 1998, J. Allergy Clin. Immunol. 102: 165; y Callard y col., 1996, Immunology Today, 17: 108, cada uno incorporado como referencia en este documento). Por consiguiente, en una realización, se proporciona un anticuerpo que bloquea la unión de IL-4 y también de IL-13 a
15 células. Los anticuerpos inhiben la actividad biológica inducida por IL-4 y también inhiben la actividad inducida por IL-13, y por tanto pueden emplearse en el tratamiento de afecciones inducidas por una o ambas citoquinas. Los ejemplos de dichas afecciones incluyen, aunque sin limitación, afecciones mediadas por IgE, asma, afecciones alérgicas, rinitis alérgica, y dermatitis,
20 incluyendo dermatitis atópica.

Los anticuerpos que se unen a IL-4R alfa pueden explorarse en diversos ensayos convencionales para determinar si impiden la unión de IL-13 a complejos receptores de IL-13 que contienen IL-4R alfa. Los anticuerpos pueden explorarse, por ejemplo, en ensayos de unión o ensayarse para la
25 capacidad de inhibir una actividad biológica inducida por IL-13. Un ejemplo de

un ensayo adecuado se ilustra en el Ejemplo 2 a continuación.

Los anticuerpos específicos para IL-4R alfa pueden prepararse usando cualquier técnica conocida en la técnica. Véase, por ejemplo, *Monoclonal Antibodies, Hybridomas: A New Dimension in Biological Analyses*, Kennet y col. (eds.), Plenum Press, Nueva York (1980); y *Antibodies: A Laboratory Manual*, Harlow y Land (eds.), Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY, (1988).

Los fragmentos de unión a antígeno de anticuerpos de la invención pueden producirse por técnicas convencionales. Los ejemplos de dichos fragmentos incluyen, aunque sin limitación, fragmentos Fab y F(ab')₂. Los fragmentos y derivados de anticuerpos producidos por técnicas de ingeniería genética también se contemplan. Salvo que se especifique otra cosa, las expresiones "anticuerpo" y "anticuerpo monoclonal" como se usan en este documento incluyen tanto anticuerpos completos como fragmentos de unión a antígeno y/o derivados de los mismos.

Realizaciones adicionales incluyen anticuerpos quiméricos, por ejemplo, versiones humanizadas de anticuerpos monoclonales murinos. Dichos anticuerpos humanizados pueden prepararse por técnicas conocidas, y ofrecen la ventaja de inmunogenicidad reducida cuando los anticuerpos se administran a seres humanos. En una realización, un anticuerpo monoclonal humanizado comprende el dominio variable de un anticuerpo murino (o todo o parte del sitio de unión a antígeno del mismo) y un dominio constante derivado de un anticuerpo humano. Como alternativa, un fragmento de anticuerpo humanizado puede comprender el sitio de unión a antígeno de un anticuerpo monoclonal murino y un fragmento del dominio variable (que carece del sitio de unión a

antígeno) derivado de un anticuerpo humano. Los procedimientos para la producción de anticuerpos quiméricos y monoclonales adicionalmente modificados incluyen los descritos en Riechmann y col., 1988, Nature 332: 323, Liu y col., 1987, Proc. Nat. Acad. Sci. USA 84: 3439, Larrick y col., 1989, 5 Bio/Technology 7: 934, y Winter y col., 1993, TIPS 14: 139. En una realización el anticuerpo quimérico es un anticuerpo con una CDR injertada.

Se han desarrollado procedimientos para generar anticuerpos humanos o parcialmente humanos en animales no humanos. Por ejemplo, se han preparado ratones en los que se han inactivado uno o más genes de 10 inmunoglobulina endógenos por diversos medios. Los genes de inmunoglobulina humana se han introducido en los ratones para remplazar los genes de ratón inactivados. Los anticuerpos producidos en el animal incorporan cadenas polipeptídicas de inmunoglobulina humana codificadas por el material genético humano introducido en el animal. En una realización, se inmuniza un 15 animal no humano, tal como un ratón transgénico, con un polipéptido de IL-4R, de modo que se generan anticuerpos dirigidos contra el polipéptido de IL-4R en dicho animal. Un ejemplo de un inmunógeno adecuado es un IL-4R humano soluble, tal como un polipéptido que comprende el dominio extracelular de la proteína de la SEC ID N° 2, u otro fragmento inmunogénico de la proteína de la 20 SEC ID N° 2.

Los ejemplos de técnicas para la producción y uso de animales transgénicos para la producción de anticuerpos humanos o parcialmente humanos se describen en las Patentes de Estados Unidos 5.814.318, 5.569.825, y 5.545.806, que se incorporan como referencia en este documento. 25 En otro aspecto, la presente invención proporciona anticuerpos

monoclonales que se unen al receptor de IL-4. Los anticuerpos monoclonales pueden producirse usando cualquier técnica conocida en la técnica, por ejemplo, inmortalizando células esplénicas recolectadas del animal transgénico después de completar el programa de inmunización. Las células esplénicas
5 pueden inmortalizarse usando cualquier técnica conocida en la técnica, por ejemplo, fusionándolas con células de mieloma para producir hibridomas. Las células de mieloma para su uso en los procedimientos de fusión de producción de hibridomas preferiblemente son no productoras de anticuerpos, tienen una alta eficacia de fusión, y deficiencias enzimáticas que las vuelven incapaces de
10 crecer en ciertos medios selectivos que mantienen el crecimiento sólo de las células fusionadas deseadas (hibridomas). Los ejemplos de líneas celulares adecuadas para su uso en fusiones de ratón incluyen Sp-20, P3-X63/Ag8, P3-X63-Ag8.653, NS1/1.Ag 4 1, Sp210-Ag14, FO, NSO/U, MPC-11, MPC11-X45-GTG 1.7 y S194/5XX0 Bul; los ejemplos de líneas celulares usadas en fusiones
15 de rata incluyen R210.RCY3, Y3-Ag 1.2.3, IR983F y 4B210. Otras líneas celulares útiles para fusiones celulares son U-266, GM1500-GRG2, LICR-LON-HMy2 y UC729-6.

En una realización, se produce una línea celular de hibridoma inmunizando un animal (por ejemplo, un animal transgénico que tiene
20 secuencias de inmunoglobulina humana) con un inmunógeno de IL-4R; recolectando las células esplénicas del animal inmunizado; fusionando las células esplénicas recolectadas con una línea celular de mieloma, generando de este modo células de hibridoma; estableciendo líneas celulares de hibridoma a partir de las células de hibridoma, e identificando una línea celular
25 de hibridoma que produce un anticuerpo que se une a un polipéptido de IL-4R.

Dichas líneas celulares de hibridoma, y anticuerpos monoclonales anti-IL-4R producidos a partir de las mismas, se incluyen por la presente invención.

Los anticuerpos monoclonales secretados en una línea celular de hibridoma pueden purificarse usando cualquier técnica conocida en la técnica.

- 5 Los hibridomas o mAb pueden explorarse adicionalmente para identificar mAb con propiedades particulares, tales como la capacidad de bloquear una actividad inducida por IL-4 y/o IL-13. Se proporcionan ejemplos de dichas exploraciones en los Ejemplos 2, 3, y 4.

- Ejemplos adicionales de procedimientos para preparar anticuerpos dirigidos contra IL-4 humana (incluyendo anticuerpos monoclonales), ensayos por los que se identifican anticuerpos de bloqueo, y técnicas para generar derivados humanizados y modificados genéticamente de anticuerpos anti-IL-4, se describen en las Patentes de Estados Unidos 5.041.381, 5.863.537, 5.928.904, y 5.676.940, que se incorporan por la presente como referencia.
- 10 Ejemplos adicionales de anticuerpos que pueden emplearse como antagonistas de IL-4 se describen en el documento WO 91/09059, también incorporado como referencia en este documento.

- En otro aspecto, la presente invención proporciona anticuerpos humanos que se unen a IL-4R. En una realización de la invención, anticuerpos humanos surgidos contra IL-4R alfa y producidos por técnicas que implican el uso de ratones transgénicos, bloquean la unión de IL-4 y también IL-13 a células. Dichos anticuerpos son antagonistas de IL-4 y adicionalmente funcionan como antagonistas de IL-13.
- 20

- Los anticuerpos de la invención pueden comprender cualquier región constante conocida en la técnica. La región constante de cadena ligera puede
- 25

ser, por ejemplo, una región constante de cadena ligera tipo kappa o lambda, por ejemplo, una región constante de cadena ligera de tipo kappa o lambda humana. La región constante de cadena pesada puede ser, por ejemplo, una región constante de cadena pesada de tipo alfa, delta, épsilon, gamma, o mu, 5 por ejemplo, una región constante de cadena pesada de tipo alfa, delta, épsilon, gamma, o mu humana. En una realización, la región constante de cadena ligera o pesada es un fragmento, derivado, variante, o muténa de una región constante de origen natural.

Los anticuerpos dirigidos contra un IL-4R pueden usarse, por ejemplo, 10 en ensayos para detectar la presencia de polipéptidos de IL-4R, *in vitro* o *in vivo*. Los anticuerpos también pueden emplearse para purificar proteínas de IL-4R por cromatografía de inmutuafinidad. Los anticuerpos que pueden bloquear adicionalmente la unión de IL-4 a IL-4R pueden usarse para inhibir una actividad biológica provocada por dicha unión. Los anticuerpos de bloqueo 15 encuentran uso en los procedimientos de la presente invención. Dichos anticuerpos que funcionan como antagonistas de IL-4 pueden emplearse para tratar cualquier afección inducida por IL-4, incluyendo, aunque sin limitación, asma y alergias, por ejemplo, rinitis alérgica, dermatitis por contacto, y dermatitis atópica. En una realización, se emplea un anticuerpo monoclonal 20 anti-IL-4R humano generado por procedimientos que implican la inmunización de ratones transgénicos para tratar dichas afecciones.

Los anticuerpos pueden emplearse en un procedimiento *in vitro*, o administrarse *in vivo* para inhibir una actividad biológica inducida por IL-4. Los trastornos causados o exacerbados (directa o indirectamente) por la interacción 25 de IL-4 con los receptores de IL-4 de superficie celular, ejemplos de los cuales

se han proporcionado anteriormente, pueden tratarse de esta manera. En una realización, la presente invención proporciona un procedimiento terapéutico que comprende la administración *in vivo* de un anticuerpo de bloqueo de IL-4 y/o IL-13 a un mamífero en necesidad del mismo en una cantidad eficaz para
5 reducir una actividad biológica inducida por IL-4 y/o IL-13.

Los anticuerpos de la invención incluyen, aunque sin limitación, anticuerpos monoclonales parcialmente humanos y completamente humanos que inhiben una actividad biológica de IL-4 y también inhiben una actividad biológica de IL-13. Una realización se refiere a un anticuerpo monoclonal
10 humano que bloquea al menos parcialmente la unión de IL-4 a una célula, y bloquea al menos parcialmente la unión de IL-13 a una célula. En una realización, los anticuerpos se generan inmunizando un ratón transgénico con un inmunógeno de receptor de IL-4. En otra realización, el inmunógeno es un polipéptido del receptor de IL-4 humano. Las líneas celulares de hibridoma
15 derivadas de los ratones inmunizados de esta manera, donde el hibridoma secreta un anticuerpo monoclonal que se une a IL-4R, también se proporcionan en este documento.

Aunque los anticuerpos humanos, parcialmente humanos, o inmunizados serán adecuados para muchas aplicaciones, particularmente las
20 que implican la administración del anticuerpo a un sujeto humano, otros tipos de anticuerpos serán adecuados para otras aplicaciones. Los anticuerpos no humanos de la invención pueden, por ejemplo, obtenerse de cualquier animal productor de anticuerpos, tal como ratón, rata, conejo, cabra, burro, o primate no humano (tal como mono (por ejemplo, mono cynomologus o rhesus) o simio
25 (por ejemplo, chimpancé)). Los anticuerpos no humanos de la invención

pueden usarse, por ejemplo, en aplicaciones *in vitro* y basadas en cultivo celular, o cualquier otra aplicación en la que una respuesta inmune al anticuerpo de la invención no suceda o sea insignificante, pueda evitarse, no sea un problema, o se desee. En una realización, se administra un anticuerpo no humano de la invención a un sujeto no humano. En otra realización, el anticuerpo no humano no provoca una respuesta inmune en un sujeto no humano. En otra realización, el anticuerpo no humano es de la misma especie que el sujeto no humano, por ejemplo, un anticuerpo de ratón de la invención se administra a un ratón. Un anticuerpo de una especie particular puede prepararse, por ejemplo, inmunizando un animal de esa especie con el inmunógeno deseado (por ejemplo, un polipéptido del receptor de IL-4 soluble) o usando un sistema artificial para generar anticuerpos de esa especie (por ejemplo, un sistema basado en la presentación de bacterias o fagos para generar anticuerpos de una especie particular), o convirtiendo un anticuerpo de una especie en un anticuerpo de otra especie remplazando, por ejemplo, la región constante del anticuerpo con una región constante de la otra especie, o remplazando uno o más restos de aminoácido del anticuerpo de modo que se parezca mucho más a la secuencia de un anticuerpo de la otra especie. En una realización, el anticuerpo es un anticuerpo quimérico que comprende secuencias de aminoácidos derivadas de anticuerpos de dos o más especies diferentes.

En otro aspecto, la presente invención proporciona anticuerpos que comprenden una región variable de cadena ligera seleccionada entre el grupo constituido por L1-L6 y/o la región variable de cadena pesada seleccionada entre el grupo constituido por H1-H24, y fragmentos, derivados, mutélnas, y

variantes del mismo (véanse Figuras 2 y 3). Dicho anticuerpo puede indicarse usando la nomenclatura "LxHy", donde x corresponde al número de la región variable de cadena ligera e y corresponde al número de la región variable de cadena pesada como se marcan en la Figura 3. Por ejemplo, L4H17 se refiere a un anticuerpo con una región variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de L4 y una región variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de H17, como se muestra en la Figura 3. Las Figuras 2 y 3 también indican la ubicación de las regiones CDR y flanqueantes de cada una de estas secuencias de dominio variable. Los anticuerpos de la invención incluyen, por ejemplo, L2H1, L3H1, L4H1, L5H1, L1H2, L1H3, L1H4, L1H5, L1H6, L1H7, L1H8, L1H9, L1H10, L1H11, L2H4, L2H12, L2H13, L2H14, L6H1, L2H2, L2H3, L2H6, L2H7, L2H8, L2H9, L2H10, y L2H11. También pueden usarse secuencias variables de anticuerpo adicionales, por ejemplo, secuencias variables de anticuerpo humano. Véase, por ejemplo, Sblattero y col., 1998, *Immunotechnology* 3: 271-78, de Haard y col., 1999, *J. Biol. Chem.* 274: 18218-30.

En una realización, la presente invención proporciona un anticuerpo que comprende un dominio variable de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos que difiere de la secuencia de L1 sólo en uno o más restos en los que una cualquiera de las secuencias de L2-L6 difiere de la secuencia de L1 (por ejemplo, dicha secuencia de dicho anticuerpo difiere de la secuencia de L1 el resto o restos 1, 4, 7, etc.). En otra realización, dicha secuencia de dicho dominio variable de cadena ligera comprende al menos un resto de aminoácido de cualquiera de la secuencia de uno cualquiera de L2-L6 en la posición en la que difiere de la secuencia de L1 (por ejemplo, dicha

secuencia comprende el resto o restos E1D, L4M, S7T, etc.). En otra realización, dicha secuencia difiere de la secuencia de L1 en al menos una CDR (por ejemplo, CDR1, CDR2, o CDR3). En otra realización, dicha secuencia difiere de la secuencia de L1 en al menos una FR (por ejemplo, FR1, 5 FR2, FR3, o FR4). En otra realización, la presente invención proporciona un anticuerpo que comprende un dominio variable de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos que difiere de la secuencia de H1 sólo en uno o más restos en los que uno cualquiera de las secuencias de H2-H24 difiere de la secuencia de H1 (por ejemplo, dicha secuencia de dicho 10 anticuerpo difiere de la secuencia de H1 en el resto o restos 6, 13, 24 etc.). En otra realización, dicha secuencia de dicho dominio variable de cadena pesada comprende al menos un resto de aminoácido de cualquiera de la secuencia de uno cualquiera de H2-H24 en una posición en la que difiere de la secuencia de H1 (por ejemplo, dicha secuencia comprende el resto o restos Q6E, H13Q, 15 G24A, etc.). En otra realización, dicha secuencia difiere de la secuencia de H1 en al menos una CDR (por ejemplo, CDR2 o CDR3). En otra realización, dicha secuencia difiere de la secuencia de H1 en al menos una FR (por ejemplo, FR1 o FR3).

En otra realización, la presente invención proporciona un anticuerpo que 20 comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada entre el grupo constituido por: una región determinante de complementariedad (CDR) 1 de cadena ligera que difiere por la inserción, delección, o sustitución de no más de 3, 2, 1, ó 0 restos de aminoácido de una secuencia seleccionada entre el grupo constituido por: los restos 24-35 de la SEC ID N° 6, donde N en el resto 8 no se 25 sustituye por S; los restos 24-35 de la SEC ID N° 8, donde T en el resto 5 no se

sustituye por S y/o N en el resto 7 no se sustituye por S y/o D en el resto 9 no
 se sustituye por S; los restos 24-35 de la SEC ID N° 10, donde D en el resto 9
 no se sustituye por S; los restos 24-35 de la SEC ID N° 12, donde N en el resto
 7 no se sustituye por S y/o N en el resto 9 no se sustituye por S; y los restos
 5 24-35 de la SEC ID N° 14, donde G en el resto 7 no se sustituye por S; una
 CDR2 de cadena ligera que difiere por la inserción, delección o sustitución de no
 más de 3, 2, 1, ó 0 restos de aminoácido de una secuencia seleccionada entre
 el grupo constituido por: los restos 51-57 de la SEC ID N° 6, donde P en el
 resto 7 no se sustituye por T; los restos 51-57 de la SEC ID N° 10, donde S en
 10 el resto 7 no se sustituye por T; y los restos 51-57 de la SEC ID N° 12, donde T
 en el resto 2 no se sustituye por A y/o Y en el resto 4 no se sustituye por S; una
 CDR 3 de cadena ligera que difiere por la inserción, delección, o sustitución de
 no más de 3, 2, 1, ó 0 restos de aminoácido de una secuencia seleccionada
 entre el grupo constituido por: los restos 90-99 de la SEC ID N° 6, donde D en
 15 el resto 4 no se sustituye por G, H en el resto 5 no se sustituye por S, la A en el
 resto 7 no se sustituye por P, y/o G en el resto 8 no se sustituye por P; los
 restos 90-99 de la SEC ID N° 8, donde R en el resto 5 no se sustituye por S; y
 los restos 90-99 de la SEC ID N° 14, donde M en el resto 10 no se sustituye por
 T; una CDR2 de cadena pesada que difiere por la inserción, delección, o
 20 sustitución de no más de 3 restos de aminoácido de la secuencia de los restos
 50-65 de la SEC ID N° 18, donde S en el resto 9 no se sustituye por N; y una
 CDR3 de cadena pesada que difiere por la inserción, delección, o sustitución de
 no más de 3, 2, 1, ó 0 restos de aminoácido de una secuencia seleccionada
 entre el grupo constituido por: los restos 98-104 de la SEC ID N° 18, donde T
 25 en el resto 6 no se sustituye por B y/o la H en el resto 7 no se sustituye por Y;

los restos 98-104 de la SEC ID N° 20, donde W en el resto 4 no se sustituye por Y, la Y en el resto 5 no se sustituye por F, N en el resto 6 no se sustituye por D, y/o N en el resto 7 no se sustituye por Y; los restos 98-104 de la SEC ID N° 22, donde P en el resto 6 no se sustituye por D y/o W en el resto 7 no se sustituye por Y; restos 98-104 de la SEC ID N° 24, donde T en el resto 6 no se sustituye por D y/o R en la posición 7 no sustituye por Y; los restos 98-104 de la SEC ID N° 26, donde Y en el resto 5 no se sustituye por F; restos 98-104 de la SEC ID N° 30, donde W en el resto 3 no se sustituye por Y; y los restos 98-104 de la SEC ID N° 34, donde W en el resto 4 no se sustituye por Y y/o la Y en el resto 5 no se sustituye por F; donde dicho anticuerpo se une al receptor alfa de IL-4.

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

En otra realización el anticuerpo comprende dos o tres de dichas regiones determinantes de complementariedad (CDR) de cadena ligera.

En otra realización, el anticuerpo comprende dos o tres de dichas regiones determinantes de complementariedad de cadena pesada.

En otra realización, el anticuerpo comprende adicionalmente un segmento flanqueante (FR) que comprende una secuencia seleccionada entre el grupo constituido por: el segmento flanqueante (FR) 1 de cadena ligera que difiere por la inserción, delección, o sustitución de no más de 3, 2, 1 ó 0 restos de aminoácido de una secuencia seleccionada entre el grupo constituido por:

los restos 1-23 de la SEC ID N° 4; los restos 1-23 de la SEC ID N° 10; los restos 1-23 de la SEC ID N° 12; y los restos 1-23 de la SEC ID N° 14; una FR2 de cadena ligera que difiere por la inserción, delección, o sustitución de no más de 3, 2, 1, ó 0 restos de aminoácido de una secuencia seleccionada entre el grupo constituido por: los restos 36-50 de la SEC ID N° 4; los restos 36-50 de la SEC ID N° 6; y los restos 36-50 de la SEC ID N° 14; una FR3 de cadena ligera que difiere por la inserción, delección, o sustitución de no más de 3, 2, 1, ó 0 restos de aminoácido de una secuencia seleccionada entre el grupo constituido por: los restos 58-89 de la SEC ID N° 4; los restos 58-89 de la SEC ID N° 10; y los restos 58-89 de la SEC ID N° 12; una FR4 de cadena ligera que difiere por la inserción, delección, o sustitución de no más de 3, 2, 1, 0 restos de aminoácido de una secuencia seleccionada entre el grupo constituido por: los restos 100-109 de la SEC ID N° 4; los restos 100-109 de la SEC ID N° 8; y los restos 100-109 de la SEC ID N° 12; una FR1 de cadena pesada que difiere por la inserción, delección, o sustitución de no más de 3, 2, 1, ó 0 restos de aminoácido de una secuencia seleccionada entre el grupo constituido por: los restos 1-30 de la SEC ID N° 16; y los restos 1-30 de la SEC ID N° 42; una FR2 de cadena pesada que difiere por la inserción, delección, o sustitución de no más de 3, 2, 1, ó 0 restos de aminoácido de la secuencia de los restos 36-49 de la SEC ID N° 16, una FR3 de cadena pesada que difiere por la inserción, delección, o sustitución de no más de 3, 2, 1, ó 0 restos de aminoácido de una secuencia seleccionada entre el grupo constituido por: los restos 66-97 de la SEC ID N° 16; los restos 66-97 de la SEC ID N° 18; y los restos 66-97 de la SEC ID N° 42; y una FR4 de cadena pesada que difiere por la inserción, delección, o sustitución de no más de 3 restos de aminoácido de la secuencia de

los restos 105-115 de la SEC ID N° 16.

En otra realización, el anticuerpo comprende un dominio variable de cadena ligera que es al menos un 80, 85, 90, 95, o 100% idéntica a una secuencia seleccionada entre el grupo constituido por: las SEC ID N° 6, 8, 10, 12, y 14, con la condición de que dicho dominio variable de cadena ligera no comprenda la secuencia de la SEC ID N° 4.

En otra realización, el anticuerpo comprende un dominio variable de cadena pesada que es al menos un 80, 85, 90, 95, o 100% idéntica a una secuencia seleccionada entre el grupo constituido por: las SEC ID N° 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 46, 48, 50, 52, 54, 56, 58, 60, y 62 con la condición de que dicho dominio variable de cadena pesada no comprenda la secuencia de la SEC ID N° 16.

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

En una realización, los anticuerpos particulares de la invención se seleccionan entre el grupo constituido por L2H1; un anticuerpo que tiene reactividad cruzada con L2H1; un anticuerpo que se une al mismo epítipo que L2H1; un anticuerpo que compite con L2H1 por la unión a una célula que expresa IL-4R humano; un anticuerpo que tiene actividad biológica de L2H1 y un fragmento de unión a antígeno (incluyendo uno obtenido por un medio recombinante) de L2H1. En una realización, el anticuerpo tiene una afinidad de unión por IL-4R humano que es sustancialmente equivalente a la afinidad de unión de L2H1 por IL-4R humano. Las líneas celulares de hibridoma que producen cualquiera de dichos anticuerpos también se proporcionan por la presente invención.

Un ejemplo de una actividad biológica de L2H1 es la capacidad de funcionar tanto como antagonista de IL-4 como antagonista de IL-13. En una realización, un anticuerpo de la invención tiene actividad de bloqueo de IL-4 sustancialmente equivalente a la de L2H1; y tiene actividad de bloqueo de IL-13 sustancialmente equivalente a la de L2H1. Dicha actividad puede medirse en cualquier ensayo convencional adecuado (por ejemplo, medido en el ensayo de expresión de CD23 descrito en el Ejemplo 2).

Las regiones determinantes de complementariedad (CDR) de un anticuerpo dado se pueden identificar usando el sistema descrito por Kabat y col. en *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, 5ª Ed., US Dep. of Health and Human Services, PHS, NIH, Publicación NIH N° 91-3242, 1991. Realizaciones particulares de anticuerpos de la presente invención comprenden, en el dominio variable de su cadena ligera, al menos una de las regiones determinantes de complementariedad (CDR), o regiones hipervariables, encontradas en la cadena ligera de L2H1. Las CDR de L2H1 se analizan en el Ejemplo 5. Por tanto, entre los anticuerpos proporcionados en este documento están los que contienen de una a las tres siguientes secuencias en el dominio variable de cadena ligera de L2H1: los restos de aminoácidos 24-35; los restos 51-57; y los restos 90-99 de la SEC ID N° 6. Los anticuerpos particulares proporcionados en este documento comprenden, en el dominio variable de su cadena pesada, al menos una de las CDR encontradas en la cadena pesada de L2H1. Por tanto, entre los anticuerpos proporcionados en este documento son los que comprenden de una a las tres secuencias en el dominio variable de cadena pesada: los restos 31-35; los restos 50-65; y los restos 98-104 de la SEC ID N° 16.

La secuencia de ADN del dominio variable de la cadena ligera de L2H1 se presenta en la SEC ID N° 5, y la secuencia de aminoácidos codificada se presenta en la SEC ID N° 6. La secuencia de ADN para el dominio variable de la cadena pesada de L2H1 se presenta como la SEC ID N° 15, y la secuencia de aminoácidos codificada se presenta en la SEC ID N° 16. Los anticuerpos de la presente invención incluyen, aunque sin limitación, anticuerpos que comprenden, en su cadena ligera, la SEC ID N° 6; y anticuerpos que comprenden adicional o alternativamente, en su cadena pesada, la SEC ID N° 16.

10 En otra realización, los anticuerpos particulares de la invención se seleccionan entre el grupo constituido por L3H1; un anticuerpo que tiene reactividad cruzada con L3H1; un anticuerpo que se une al mismo epítipo que L3H1; un anticuerpo que compite con L3H1 por la unión a una célula que expresa IL-4R humano; un anticuerpo que tiene actividad biológica de L3H1; y
15 un fragmento de unión a antígeno de cualquiera de los anticuerpos anteriores. En una realización, el anticuerpo tiene una afinidad de unión por IL-4R humano que es sustancialmente equivalente a la afinidad de unión de L3H1 por IL-4R humano. Las líneas celulares de hibridoma que producen cualquiera de dichos anticuerpos también se proporcionan por la presente invención.

20 Un ejemplo de una actividad biológica de L3H1 es la capacidad de funcionar tanto como antagonista de IL-4 como antagonista de IL-13. En una realización, un anticuerpo de la invención tiene actividad de bloqueo de IL-4 sustancialmente equivalente a la de L3H1, y tiene actividad de bloqueo de IL-13 sustancialmente equivalente a la de L3H1. Dicha actividad puede medirse
25 en cualquier ensayo convencional adecuado (por ejemplo, medido en el ensayo

de expresión de CD23 descrito en el Ejemplo 2).

Los anticuerpos IgG4 derivados de L3H1 se proporcionan en este documento. Otra realización se refiere a anticuerpos IgM derivados de L3H1. Los procedimientos para cambiar (alterar) la subclase o isotipo de un anticuerpo son conocidos en el campo pertinente. Dichos procedimientos pueden implicar, por ejemplo, tecnología de ADN recombinante, mediante lo cual el ADN que codifica las cadena polipeptídicas de anticuerpo que dan la subclase deseada se sustituye por ADN que codifica la cadena polipeptídica correspondiente del anticuerpo parental.

La secuencia de ADN del dominio variable de la cadena ligera de L3H1 se presenta en la SEC ID N° 7, y la secuencia de aminoácidos codificada se presenta en la SEC ID N° 8. La secuencia de ADN para el dominio variable de la cadena pesada de L3H1 se presenta como la SEC ID N° 15, y la secuencia de aminoácidos codificada se presenta en la SEC ID N° 16. Los anticuerpos de la presente invención incluyen, aunque sin limitación, anticuerpos que comprenden, en su cadena ligera, los restos 1 a 109 de la SEC ID N° 8; y anticuerpos que comprenden adicional o alternativamente, en su cadena pesada, los restos 1 a 115 de la SEC ID N° 16.

Las realizaciones particulares de anticuerpos de la presente invención comprenden, en el dominio variable de su cadena ligera, al menos una de las regiones determinantes de complementariedad (CDR), o regiones hipervariables, que se encuentran en la cadena ligera de L3H1. Las CDR de L2H13 se analizan en el Ejemplo 5. Por tanto, entre los anticuerpos proporcionados en este documento están los que comprenden de una a las tres siguientes secuencias en el dominio variable de cadena ligera: los restos de

aminoácido 24-35; los restos 51-57; y los restos 90-99 de la SEC ID N° 8. Los anticuerpos particulares proporcionados en este documento comprenden, en el dominio variable de su cadena pesada, al menos una de las CDR encontradas en la cadena pesada de L3H1. Por tanto, entre los anticuerpos proporcionados en este documento están los que comprenden de una a las tres siguientes secuencias en el dominio variable de cadena pesada: los restos 31-35; los restos 50-65; y los restos 98-104 de la SEC ID N° 16.

En otra realización, los anticuerpos particulares de la invención se seleccionan entre el grupo constituido por L4H1; un anticuerpo que tiene reactividad cruzada con L4H1; un anticuerpo que se une al mismo epítipo que L4H1; un anticuerpo que compite con L4H1 por la unión a una célula que expresa IL-4R humano; un anticuerpo que tiene actividad biológica de L4H1; y un fragmento de unión a antígeno de cualquiera de los anticuerpos anteriores. En una realización, el anticuerpo tiene una afinidad de unión por IL-4R humano que es sustancialmente equivalente a la afinidad de unión de L4H1 por IL-4R humano. Las líneas celulares de hibridoma que producen cualquiera de dichos anticuerpos también se proporcionan por la presente invención.

Un ejemplo de una actividad biológica de L4H1 es la capacidad de funcionar tanto como antagonista de IL-4 como antagonista de IL-13. En una realización, un anticuerpo de la invención tiene actividad de bloqueo de IL-4 sustancialmente equivalente a la de L4H1; y tiene actividad de bloqueo de IL-13 sustancialmente equivalente a la de L4H1. Dicha actividad puede medirse en cualquier ensayo convencional adecuado (por ejemplo, medido en el ensayo de expresión de CD23 descrito en el Ejemplo 2).

La secuencia de ADN del dominio variable de la cadena ligera de L4H1

se presenta en la SEC ID N° 9, y la secuencia de aminoácidos codificada se presenta en la SEC ID N° 10. La secuencia de ADN para el dominio variable de la cadena pesada de L4H1 se presenta como la SEC ID N° 15, y la secuencia de aminoácidos codificada se presenta en la SEC ID N° 16. Los anticuerpos de la presente invención incluyen, aunque sin limitación, anticuerpos que comprenden, en su cadena ligera, los restos 1 a 109 de la SEC ID N° 10; y anticuerpos que comprenden adicional o alternativamente, en su cadena pesada, los restos 1 a 115 de la SEC ID N° 16.

Las realizaciones particulares de anticuerpos de la presente invención comprenden, en el dominio variable de su cadena ligera, al menos una de las regiones determinantes de complementariedad (CDR), o regiones hipervariables, que se encuentran en la cadena ligera de L4H1. Las CDR de L4H1 se analizan en el Ejemplo 5. Por tanto, entre los anticuerpos proporcionados en este documento están los que comprenden de una a las tres siguientes secuencias en el dominio variable de cadena ligera: los restos de aminoácido 24-35; los restos 51-57; y los restos 90-99 de la SEC ID N° 10. Los anticuerpos particulares proporcionados en este documento comprenden, en el dominio variable de su cadena pesada, al menos una de las CDR encontradas en la cadena pesada de L4H1. Por tanto, entre los anticuerpos proporcionados en este documento están los que comprenden de una a las tres siguientes secuencias en el dominio variable de cadena pesada: los restos 31-35; los restos 50-65; y los restos 98-104 de la SEC ID N° 16.

En otra realización, los anticuerpos particulares de la invención se seleccionan entre el grupo constituido por L5H1; un anticuerpo que tiene reactividad cruzada con L5H1; un anticuerpo que se une al mismo epítipo que

L5H1; un anticuerpo que compite con L5H1 por la unión a una célula que expresa IL-4R humano; un anticuerpo que tiene actividad biológica de L5H1; y un fragmento de unión a antígeno de cualquiera de los anticuerpos anteriores. En una realización, el anticuerpo tiene una afinidad de unión por IL-4R humano
5 que es sustancialmente equivalente a la afinidad de unión de L5H1 por IL-4R humano. Las líneas celulares de hibridoma que producen cualquiera de dichos anticuerpos también se proporcionan por la presente invención.

Un ejemplo de una actividad biológica de L5H1 es la capacidad de funcionar tanto como antagonista de IL-4 como antagonista de IL-13. En una
10 realización, un anticuerpo de la invención tiene actividad de bloqueo de IL-4 sustancialmente equivalente a la de L5H1; y tiene actividad de bloqueo de IL-13 sustancialmente equivalente a la de L5H1. Dicha actividad puede medirse en cualquier ensayo convencional adecuado (por ejemplo, medido en el ensayo de expresión de CD23 descrito en el Ejemplo 2).

15 La secuencia de ADN del dominio variable de la cadena ligera de L5H1 se presenta en la SEC ID N° 11, y la secuencia de aminoácidos codificada se presenta en la SEC ID N° 12. La secuencia de ADN para el dominio variable de la cadena pesada de L5H1 se presenta como la SEC ID N° 15, y la secuencia de aminoácidos codificada se presenta en la SEC ID N° 16. Los anticuerpos de
20 la presente invención incluyen, aunque sin limitación, anticuerpos que comprenden, en su cadena ligera, los restos 1 a 109 de la SEC ID N° 12; y anticuerpos que comprenden adicional o alternativamente, en su cadena pesada, los restos 1 a 115 de la SEC ID N° 16.

Las realizaciones particulares de anticuerpos de la presente invención
25 comprenden, en el dominio variable de su cadena ligera, al menos una de las

regiones determinantes de complementariedad (CDR), o regiones hipervariables, que se encuentran en la cadena ligera de L5H1. Las CDR de L5H1 se analizan en el Ejemplo 5. Por tanto, entre los anticuerpos proporcionados en este documento están los que comprenden de una a las tres siguientes secuencias en el dominio variable de cadena ligera: los restos de aminoácido 24-35; los restos 51-57; y los restos 90-99 de la SEC ID N° 12. Los anticuerpos particulares proporcionados en este documento comprenden, en el dominio variable de su cadena pesada, al menos una de las CDR encontradas en la cadena pesada de L5H1. Por tanto, entre los anticuerpos proporcionados en este documento están los que comprenden de una a las tres siguientes secuencias en el dominio variable de cadena pesada: los restos 31-35; los restos 50-65; y los restos 98-104 de la SEC ID N° 16.

En otra realización, los anticuerpos particulares de la invención se seleccionan entre el grupo constituido por L1H2; un anticuerpo que tiene reactividad cruzada con L1H2; un anticuerpo que se une al mismo epítoto que L1H2; un anticuerpo que compete con L1H2 por la unión a una célula que expresa IL-4R humano; un anticuerpo que tiene actividad biológica de L1H2; y un fragmento de unión a antígeno de cualquiera de los anticuerpos anteriores. En una realización, el anticuerpo tiene una afinidad de unión por IL-4R humano que es sustancialmente equivalente a la afinidad de unión de L1H2 por IL-4R humano. Las líneas celulares de hibridoma que producen cualquiera de dichos anticuerpos también se proporcionan por la presente invención.

Un ejemplo de una actividad biológica de L1H2 es la capacidad de funcionar tanto como antagonista de IL-4 como antagonista de IL-13. En una realización, un anticuerpo de la invención tiene actividad de bloqueo de IL-4

sustancialmente equivalente a la de L1H2; y tiene actividad de bloqueo de IL-13 sustancialmente equivalente a la de L1H2. Dicha actividad puede medirse en cualquier ensayo convencional adecuado (por ejemplo, medido en el ensayo de expresión de CD23 descrito en el Ejemplo 2).

5 La secuencia de ADN del dominio variable de la cadena ligera de L1H2 se presenta en la SEC ID N° 3, y la secuencia de aminoácidos codificada se presenta en la SEC ID N° 4. La secuencia de ADN para el dominio variable de la cadena pesada de L1H2 se presenta como la SEC ID N° 17, y la secuencia de aminoácidos codificada se presenta en la SEC ID N° 18. Los anticuerpos de
10 la presente invención incluyen, aunque sin limitación, anticuerpos que comprenden, en su cadena ligera, los restos 1 a 109 de la SEC ID N° 4; y anticuerpos que comprenden adicional o alternativamente, en su cadena pesada, los restos 1 a 115 de la SEC ID N° 18.

Las realizaciones particulares de anticuerpos de la presente invención
15 comprenden, en el dominio variable de su cadena ligera, al menos una de las regiones determinantes de complementariedad (CDR), o regiones hipervariables, que se encuentran en la cadena ligera de L1H2. Las CDR de L1H2 se analizan en el Ejemplo 5. Por tanto, entre los anticuerpos proporcionados en este documento están los que comprenden de una a las tres
20 siguientes secuencias en el dominio variable de cadena ligera: los restos de aminoácido 24-35; los restos 51-57; y los restos 90-99 de la SEC ID N° 4. Los anticuerpos particulares proporcionados en este documento comprenden, en el dominio variable de su cadena pesada, al menos una de las CDR encontradas en la cadena pesada de L1H2. Por tanto, entre los anticuerpos proporcionados
25 en este documento están los que comprenden de una a las tres siguientes

secuencias en el dominio variable de cadena pesada: los restos 31-35; los restos 50-65; y los restos 98-104 de la SEC ID N° 18.

En otra realización, los anticuerpos particulares de la invención se seleccionan entre el grupo constituido por L1H3; un anticuerpo que tiene reactividad cruzada con L1H3; un anticuerpo que se une al mismo epítotope que L1H3; un anticuerpo que compite con L1H3 por la unión a una célula que expresa IL-4R humano; un anticuerpo que tiene actividad biológica de L1H3; y un fragmento de unión a antígeno de cualquiera de los anticuerpos anteriores. En una realización, el anticuerpo tiene una afinidad de unión por IL-4R humano que es sustancialmente equivalente a la afinidad de unión de L1H3 por IL-4R humano. Las líneas celulares de hibridoma que producen cualquiera de dichos anticuerpos también se proporcionan por la presente invención.

Un ejemplo de una actividad biológica de L1H3 es la capacidad de funcionar tanto como antagonista de IL-4 como antagonista de IL-13. En una realización, un anticuerpo de la invención tiene actividad de bloqueo de IL-4 sustancialmente equivalente a la de L1H3; y tiene actividad de bloqueo de IL-13 sustancialmente equivalente a la de L1H3. Dicha actividad puede medirse en cualquier ensayo convencional adecuado (por ejemplo, medido en el ensayo de expresión de CD23 descrito en el Ejemplo 2).

La secuencia de ADN del dominio variable de la cadena ligera de L1H3 se presenta en la SEC ID N° 3, y la secuencia de aminoácidos codificada se presenta en la SEC ID N° 4. La secuencia de ADN para el dominio variable de la cadena pesada de L1H3 se presenta como la SEC ID N° 19, y la secuencia de aminoácidos codificada se presenta en la SEC ID N° 20. Los anticuerpos de la presente invención incluyen, aunque sin limitación, anticuerpos que

comprenden, en su cadena ligera, los restos 1 a 109 de la SEC ID N° 4; y anticuerpos que comprenden adicional o alternativamente, en su cadena pesada, los restos 1 a 115 de la SEC ID N° 20.

Las realizaciones particulares de anticuerpos de la presente invención
5 comprenden, en el dominio variable de su cadena ligera, al menos una de las regiones determinantes de complementariedad (CDR), o regiones hipervariables, que se encuentran en la cadena ligera de L1H3. Las CDR de L1H3 se analizan en el Ejemplo 5. Por tanto, entre los anticuerpos proporcionados en este documento están los que comprenden de una a las tres
10 siguientes secuencias en el dominio variable de cadena ligera: los restos de aminoácido 24-35; los restos 51-57; y los restos 90-99 de la SEC ID N° 4. Los anticuerpos particulares proporcionados en este documento comprenden, en el dominio variable de su cadena pesada, al menos una de las CDR encontradas en la cadena pesada de L1H3. Por tanto, entre los anticuerpos proporcionados
15 en este documento están los que comprenden de una a las tres siguientes secuencias en el dominio variable de cadena pesada: los restos 31-35; los restos 50-65; y los restos 98-104 de la SEC ID N° 20.

En otra realización, los anticuerpos particulares de la invención se seleccionan entre el grupo constituido por L1H4; un anticuerpo que tiene
20 reactividad cruzada con L1H4; un anticuerpo que se une al mismo epítipo que L1H4; un anticuerpo que compite con L1H4 por la unión a una célula que expresa IL-4R humano; un anticuerpo que tiene actividad biológica de L1H4; y un fragmento de unión a antígeno de cualquiera de los anticuerpos anteriores. En una realización, el anticuerpo tiene una afinidad de unión por IL-4R humano
25 que es sustancialmente equivalente a la afinidad de unión de L1H4 por IL-4R

humano. Las líneas celulares de hibridoma que producen cualquiera de dichos anticuerpos también se proporcionan por la presente invención.

Un ejemplo de una actividad biológica de L1H4 es la capacidad de funcionar tanto como antagonista de IL-4 como antagonista de IL-13. En una
5 realización, un anticuerpo de la invención tiene actividad de bloqueo de IL-4 sustancialmente equivalente a la de L1H4; y tiene actividad de bloqueo de IL-13 sustancialmente equivalente a la de L1H4. Dicha actividad puede medirse en cualquier ensayo convencional adecuado (por ejemplo, medido en el ensayo de expresión de CD23 descrito en el Ejemplo 2).

10 La secuencia de ADN del dominio variable de la cadena ligera de L1H4 se presenta en la SEC ID N° 3, y la secuencia de aminoácidos codificada se presenta en la SEC ID N° 4. La secuencia de ADN para el dominio variable de la cadena pesada de L1H4 se presenta como la SEC ID N° 21, y la secuencia de aminoácidos codificada se presenta en la SEC ID N° 22. Los anticuerpos de
15 la presente invención incluyen, aunque sin limitación, anticuerpos que comprenden, en su cadena ligera, los restos 1 a 109 de la SEC ID N° 4; y anticuerpos que comprenden adicional o alternativamente, en su cadena pesada, los restos 1 a 115 de la SEC ID N° 22.

Las realizaciones particulares de anticuerpos de la presente invención
20 comprenden, en el dominio variable de su cadena ligera, al menos una de las regiones determinantes de complementariedad (CDR), o regiones hipervariables, que se encuentran en la cadena ligera de L1H4. Las CDR de L1H4 se analizan en el Ejemplo 5. Por tanto, entre los anticuerpos proporcionados en este documento están los que comprenden de una a las tres
25 siguientes secuencias en el dominio variable de cadena ligera: los restos de

aminoácido 24-35; los restos 51-57; y los restos 90-99 de la SEC ID N° 4. Los anticuerpos particulares proporcionados en este documento comprenden, en el dominio variable de su cadena pesada, al menos una de las CDR encontradas en la cadena pesada de L1H4. Por tanto, entre los anticuerpos proporcionados en este documento están los que comprenden de una a las tres siguientes secuencias en el dominio variable de cadena pesada: los restos 31-35; los restos 50-65; y los restos 98-104 de la SEC ID N° 22.

En otra realización, los anticuerpos particulares de la invención se seleccionan entre el grupo constituido por L1H5; un anticuerpo que tiene reactividad cruzada con L1H5; un anticuerpo que se une al mismo epítopo que L1H5; un anticuerpo que compite con L1H5 por la unión a una célula que expresa IL-4R humano; un anticuerpo que tiene actividad biológica de L1H5; y un fragmento de unión a antígeno de cualquiera de los anticuerpos anteriores. En una realización, el anticuerpo tiene una afinidad de unión por IL-4R humano que es sustancialmente equivalente a la afinidad de unión de L1H5 por IL-4R humano. Las líneas celulares de hibridoma que producen cualquiera de dichos anticuerpos también se proporcionan por la presente invención.

Un ejemplo de una actividad biológica de L1H5 es la capacidad de funcionar tanto como antagonista de IL-4 como antagonista de IL-13. En una realización, un anticuerpo de la invención tiene actividad de bloqueo de IL-4 sustancialmente equivalente a la de L1H5; y tiene actividad de bloqueo de IL-13 sustancialmente equivalente a la de L1H5. Dicha actividad puede medirse en cualquier ensayo convencional adecuado (por ejemplo, medido en el ensayo de expresión de CD23 descrito en el Ejemplo 2).

La secuencia de ADN del dominio variable de la cadena ligera de L1H5

se presenta en la SEC ID N° 3, y la secuencia de aminoácidos codificada se presenta en la SEC ID N° 4. La secuencia de ADN para el dominio variable de la cadena pesada de L1H5 se presenta como la SEC ID N° 23, y la secuencia de aminoácidos codificada se presenta en la SEC ID N° 24. Los anticuerpos de la presente invención incluyen, aunque sin limitación, anticuerpos que comprenden, en su cadena ligera, los restos 1 a 109 de la SEC ID N° 4; y anticuerpos que comprenden adicional o alternativamente, en su cadena pesada, los restos 1 a 115 de la SEC ID N° 24.

Las realizaciones particulares de anticuerpos de la presente invención comprenden, en el dominio variable de su cadena ligera, al menos una de las regiones determinantes de complementariedad (CDR), o regiones hipervariables, que se encuentran en la cadena ligera de L1H5. Las CDR de L1H5 se analizan en el Ejemplo 5. Por tanto, entre los anticuerpos proporcionados en este documento están los que comprenden de una a las tres siguientes secuencias en el dominio variable de cadena ligera: los restos de aminoácido 24-35; los restos 51-57; y los restos 90-99 de la SEC ID N° 4. Los anticuerpos particulares proporcionados en este documento comprenden, en el dominio variable de su cadena pesada, al menos una de las CDR encontradas en la cadena pesada de L1H5. Por tanto, entre los anticuerpos proporcionados en este documento están los que comprenden de una a las tres siguientes secuencias en el dominio variable de cadena pesada: los restos 31-35; los restos 50-65; y los restos 98-104 de la SEC ID N° 24.

En otra realización, los anticuerpos particulares de la invención se seleccionan entre el grupo constituido por L1H6; un anticuerpo que tiene reactividad cruzada con L1H6; un anticuerpo que se une al mismo epítipo que

L1H6; un anticuerpo que compite con L1H6 por la unión a una célula que expresa IL-4R humano; un anticuerpo que tiene actividad biológica de L1H6; y un fragmento de unión a antígeno de cualquiera de los anticuerpos anteriores. En una realización, el anticuerpo tiene una afinidad de unión por IL-4R humano
5 que es sustancialmente equivalente a la afinidad de unión de L1H6 por IL-4R humano. Las líneas celulares de hibridoma que produzcan cualquiera de dichos anticuerpos también se proporcionan por la presente invención.

Un ejemplo de una actividad biológica de L1H6 es la capacidad de funcionar tanto como antagonista de IL-4 como antagonista de IL-13. En una
10 realización, un anticuerpo de la invención tiene actividad de bloqueo de IL-4 sustancialmente equivalente a la de L1H6; y tiene actividad de bloqueo de IL-13 sustancialmente equivalente a la de L1H6. Dicha actividad puede medirse en cualquier ensayo convencional adecuado (por ejemplo, medido en el ensayo de expresión de CD23 descrito en el Ejemplo 2).

15 La secuencia de ADN del dominio variable de la cadena ligera de L1H6 se presenta en la SEC ID N° 3, y la secuencia de aminoácidos codificada se presenta en la SEC ID N° 4. La secuencia de ADN para el dominio variable de la cadena pesada de L1H6 se presenta como la SEC ID N° 25, y la secuencia de aminoácidos codificada se presenta en la SEC ID N° 26. Los anticuerpos de
20 la presente invención incluyen, aunque sin limitación, anticuerpos que comprenden, en su cadena ligera, los restos 1 a 109 de la SEC ID N° 4; y anticuerpos que comprenden adicional o alternativamente, en su cadena pesada, los restos 1 a 115 de la SEC ID N° 26.

Las realizaciones particulares de anticuerpos de la presente invención
25 comprenden, en el dominio variable de su cadena ligera, al menos una de las

regiones determinantes de complementariedad (CDR), o regiones hipervariables, que se encuentran en la cadena ligera de L1H6. Las CDR de L1H6 se analizan en el Ejemplo 5. Por tanto, entre los anticuerpos proporcionados en este documento están los que comprenden de una a las tres
5 siguientes secuencias en el dominio variable de cadena ligera: los restos de aminoácido 24-35; los restos 51-57; y los restos 90-99 de la SEC ID N° 4. Los anticuerpos particulares proporcionados en este documento comprenden, en el dominio variable de su cadena pesada, al menos una de las CDR encontradas en la cadena pesada de L1H6. Por tanto, entre los anticuerpos proporcionados
10 en este documento están los que comprenden de una a las tres siguientes secuencias en el dominio variable de cadena pesada: los restos 31-35; los restos 50-65; y los restos 98-104 de la SEC ID N° 26.

En otra realización, los anticuerpos particulares de la invención se seleccionan entre el grupo constituido por L1H7; un anticuerpo que tiene
15 reactividad cruzada con L1H7; un anticuerpo que se une al mismo epítipo que L1H7; un anticuerpo que compite con L1H7 por la unión a una célula que expresa IL-4R humano; un anticuerpo que tiene actividad biológica de L1H7; y un fragmento de unión a antígeno de cualquiera de los anticuerpos anteriores. En una realización, el anticuerpo tiene una afinidad de unión por IL-4R humano
20 que es sustancialmente equivalente a la afinidad de unión de L1H7 por IL-4R humano. Las líneas celulares de hibridoma que producen cualquiera de dichos anticuerpos también se proporcionan por la presente invención.

Un ejemplo de una actividad biológica de L1H7 es la capacidad de funcionar tanto como antagonista de IL-4 como antagonista de IL-13. En una
25 realización, un anticuerpo de la invención tiene actividad de bloqueo de IL-4

sustancialmente equivalente a la de L1H7; y tiene actividad de bloqueo de IL-13 sustancialmente equivalente a la de L1H7. Dicha actividad puede medirse en cualquier ensayo convencional adecuado (por ejemplo, medido en el ensayo de expresión de CD23 descrito en el Ejemplo 2).

5 La secuencia de ADN del dominio variable de la cadena ligera de L1H7 se presenta en la SEC ID N° 3, y la secuencia de aminoácidos codificada se presenta en la SEC ID N° 4. La secuencia de ADN para el dominio variable de la cadena pesada de L1H7 se presenta como la SEC ID N° 27, y la secuencia de aminoácidos codificada se presenta en la SEC ID N° 28. Los anticuerpos de
10 la presente invención incluyen, aunque sin limitación, anticuerpos que comprenden, en su cadena ligera, los restos 1 a 109 de la SEC ID N° 4; y anticuerpos que comprenden adicional o alternativamente, en su cadena pesada, los restos 1 a 115 de la SEC ID N° 28.

Las realizaciones particulares de anticuerpos de la presente invención
15 comprenden, en el dominio variable de su cadena ligera, al menos una de las regiones determinantes de complementariedad (CDR), o regiones hipervariables, que se encuentran en la cadena ligera de L1H7. Las CDR de L1H7 se analizan en el Ejemplo 5. Por tanto, entre los anticuerpos proporcionados en este documento están los que comprenden de una a las tres
20 siguientes secuencias en el dominio variable de cadena ligera: los restos de aminoácido 24-35; los restos 51-57; y los restos 90-99 de la SEC ID N° 4. Los anticuerpos particulares proporcionados en este documento comprenden, en el dominio variable de su cadena pesada, al menos una de las CDR encontradas en la cadena pesada de L1H7. Por tanto, entre los anticuerpos proporcionados
25 en este documento están los que comprenden de una a las tres siguientes

secuencias en el dominio variable de cadena pesada: los restos 31-35; los restos 50-65; y los restos 98-104 de la SEC ID N° 28.

En otra realización, los anticuerpos particulares de la invención se seleccionan entre el grupo constituido por L1H8; un anticuerpo que tiene reactividad cruzada con L1H8; un anticuerpo que se une al mismo epítoto que L1H8; un anticuerpo que compete con L1H8 por la unión a una célula que expresa IL-4R humano; un anticuerpo que tiene actividad biológica de L1H8; y un fragmento de unión a antígeno de cualquiera de los anticuerpos anteriores. En una realización, el anticuerpo tiene una afinidad de unión por IL-4R humano que es sustancialmente equivalente a la afinidad de unión de L1H8 por IL-4R humano. Las líneas celulares de hibridoma que producen cualquiera de dichos anticuerpos también se proporcionan por la presente invención.

Un ejemplo de una actividad biológica de L1H8 es la capacidad de funcionar tanto como antagonista de IL-4 como antagonista de IL-13. En una realización, un anticuerpo de la invención tiene actividad de bloqueo de IL-4 sustancialmente equivalente a la de L1H8; y tiene actividad de bloqueo de IL-13 sustancialmente equivalente a la de L1H8. Dicha actividad puede medirse en cualquier ensayo convencional adecuado (por ejemplo, medido en el ensayo de expresión de CD23 descrito en el Ejemplo 2).

La secuencia de ADN del dominio variable de la cadena ligera de L1H8 se presenta en la SEC ID N° 3, y la secuencia de aminoácidos codificada se presenta en la SEC ID N° 4. La secuencia de ADN para el dominio variable de la cadena pesada de L1H8 se presenta como la SEC ID N° 29, y la secuencia de aminoácidos codificada se presenta en la SEC ID N° 30. Los anticuerpos de la presente invención incluyen, aunque sin limitación, anticuerpos que

comprenden, en su cadena ligera, los restos 1 a 109 de la SEC ID N° 4; y anticuerpos que comprenden adicional o alternativamente, en su cadena pesada, los restos 1 a 115 de la SEC ID N° 30.

Las realizaciones particulares de anticuerpos de la presente invención
5 comprenden, en el dominio variable de su cadena ligera, al menos una de las regiones determinantes de complementariedad (CDR), o regiones hipervariables, que se encuentran en la cadena ligera de L1H8. Las CDR de L1H8 se analizan en el Ejemplo 5. Por tanto, entre los anticuerpos proporcionados en este documento están los que comprenden de una a las tres
10 siguientes secuencias en el dominio variable de cadena ligera: los restos de aminoácido 24-35; los restos 51-57; y los restos 90-99 de la SEC ID N° 4. Los anticuerpos particulares proporcionados en este documento comprenden, en el dominio variable de su cadena pesada, al menos una de las CDR encontradas en la cadena pesada de L1H8. Por tanto, entre los anticuerpos proporcionados
15 en este documento están los que comprenden de una a las tres siguientes secuencias en el dominio variable de cadena pesada: los restos 31-35; los restos 50-65; y los restos 98-104 de la SEC ID N° 30.

En otra realización, los anticuerpos particulares de la invención se seleccionan entre el grupo constituido por L1H9; un anticuerpo que tiene
20 reactividad cruzada con L1H9; un anticuerpo que se une al mismo epítope que L1H9; un anticuerpo que cumple con L1H9 por la unión a una célula que expresa IL-4R humano; un anticuerpo que tiene actividad biológica de L1H9; y un fragmento de unión a antígeno de cualquiera de los anticuerpos anteriores. En una realización, el anticuerpo tiene una afinidad de unión por IL-4R humano
25 que es sustancialmente equivalente a la afinidad de unión de L1H9 por IL-4R

humano. Las líneas celulares de hibridoma que producen cualquiera de dichos anticuerpos también se proporcionan por la presente invención.

Un ejemplo de una actividad biológica de L1H9 es la capacidad de funcionar tanto como antagonista de IL-4 como antagonista de IL-13. En una
5 realización, un anticuerpo de la invención tiene actividad de bloqueo de IL-4 sustancialmente equivalente a la de L1H9; y tiene actividad de bloqueo de IL-13 sustancialmente equivalente a la de L1H9. Dicha actividad puede medirse en cualquier ensayo convencional adecuado (por ejemplo, medido en el ensayo de expresión de CD23 descrito en el Ejemplo 2).

10 La secuencia de ADN del dominio variable de la cadena ligera de L1H9 se presenta en la SEC ID N° 3, y la secuencia de aminoácidos codificada se presenta en la SEC ID N° 4. La secuencia de ADN para el dominio variable de la cadena pesada de L1H9 se presenta como la SEC ID N° 31, y la secuencia de aminoácidos codificada se presenta en la SEC ID N° 32. Los anticuerpos de
15 la presente invención incluyen, aunque sin limitación, anticuerpos que comprenden, en su cadena ligera, los restos 1 a 109 de la SEC ID N° 4; y anticuerpos que comprenden adicional o alternativamente, en su cadena pesada, los restos 1 a 115 de la SEC ID N° 32.

Las realizaciones particulares de anticuerpos de la presente invención
20 comprenden, en el dominio variable de su cadena ligera, al menos una de las regiones determinantes de complementariedad (CDR), o regiones hipervariables, que se encuentran en la cadena ligera de L1H9. Las CDR de L1H9 se analizan en el Ejemplo 5. Por tanto, entre los anticuerpos proporcionados en este documento están los que comprenden de una a las tres
25 siguientes secuencias en el dominio variable de cadena ligera: los restos de

aminoácido 24-35; los restos 51-57; y los restos 90-99 de la SEC ID N° 4. Los anticuerpos particulares proporcionados en este documento comprenden, en el dominio variable de su cadena pesada, al menos una de las CDR encontradas en la cadena pesada de L1H9. Por tanto, entre los anticuerpos proporcionados en este documento están los que comprenden de una a las tres siguientes secuencias en el dominio variable de cadena pesada: los restos 31-35; los restos 50-65; y los restos 98-104 de la SEC ID N° 32.

En otra realización, los anticuerpos particulares de la invención se seleccionan entre el grupo constituido por L1H10; un anticuerpo que tiene reactividad cruzada con L1H10; un anticuerpo que se une al mismo epítotope que L1H10; un anticuerpo que compite con L1H10 por la unión a una célula que expresa IL-4R humano; un anticuerpo que tiene actividad biológica de L1H10; y un fragmento de unión a antígeno de cualquiera de los anticuerpos anteriores. En una realización, el anticuerpo tiene una afinidad de unión por IL-4R humano que es sustancialmente equivalente a la afinidad de unión de L1H10 por IL-4R humano. Las líneas celulares de hibridoma que producen cualquiera de dichos anticuerpos también se proporcionan por la presente invención.

Un ejemplo de una actividad biológica de L1H10 es la capacidad de funcionar tanto como antagonista de IL-4 como antagonista de IL-13. En una realización, un anticuerpo de la invención tiene actividad de bloqueo de IL-4 sustancialmente equivalente a la de L1H10; y tiene actividad de bloqueo de IL-13 sustancialmente equivalente a la de L1H10. Dicha actividad puede medirse en cualquier ensayo convencional adecuado (por ejemplo, medido en el ensayo de expresión de CD23 descrito en el Ejemplo 2).

La secuencia de ADN del dominio variable de la cadena ligera de L1H10 se presenta en la SEC ID N° 3, y la secuencia de aminoácidos codificada se presenta en la SEC ID N° 4. La secuencia de ADN para el dominio variable de la cadena pesada de L1H10 se presenta como la SEC ID N° 33, y la secuencia de aminoácidos codificada se presenta en la SEC ID N° 34. Los anticuerpos de la presente invención incluyen, aunque sin limitación, anticuerpos que comprenden, en su cadena ligera, los restos 1 a 109 de la SEC ID N° 4; y anticuerpos que comprenden adicional o alternativamente, en su cadena pesada, los restos 1 a 115 de la SEC ID N° 34.

Las realizaciones particulares de anticuerpos de la presente invención comprenden, en el dominio variable de su cadena ligera, al menos una de las regiones determinantes de complementariedad (CDR), o regiones hipervariables, que se encuentran en la cadena ligera de L1H10. Las CDR de L1H10 se analizan en el Ejemplo 5. Por tanto, entre los anticuerpos proporcionados en este documento están los que comprenden de una a las tres siguientes secuencias en el dominio variable de cadena ligera: los restos de aminoácido 24-35; los restos 51-57; y los restos 90-99 de la SEC ID N° 4. Los anticuerpos particulares proporcionados en este documento comprenden, en el dominio variable de su cadena pesada, al menos una de las CDR encontradas en la cadena pesada de L1H10. Por tanto, entre los anticuerpos proporcionados en este documento están los que comprenden de una a las tres siguientes secuencias en el dominio variable de cadena pesada: los restos 31-35; los restos 50-65; y los restos 98-104 de la SEC ID N° 34.

En otra realización, los anticuerpos particulares de la invención se seleccionan entre el grupo constituido por L1H11; un anticuerpo que tiene

reactividad cruzada con L1H11; un anticuerpo que se une al mismo epítopo que L1H11; un anticuerpo que compete con L1H11 por la unión a una célula que expresa IL-4R humano; un anticuerpo que tiene actividad biológica de L1H11; y un fragmento de unión a antígeno de cualquiera de los anticuerpos
5 anteriores. En una realización, el anticuerpo tiene una afinidad de unión por IL-4R humano que es sustancialmente equivalente a la afinidad de unión de L1H11 por IL-4R humano. Las líneas celulares de hibridoma que producen cualquiera de dichos anticuerpos también se proporcionan por la presente invención.

10 Un ejemplo de una actividad biológica de L1H11 es la capacidad de funcionar tanto como antagonista de IL-4 como antagonista de IL-13. En una realización, un anticuerpo de la invención tiene actividad de bloqueo de IL-4 sustancialmente equivalente a la de L1H11; y tiene actividad de bloqueo de IL-13 sustancialmente equivalente a la de L1H11. Dicha actividad puede medirse
15 en cualquier ensayo convencional adecuado (por ejemplo, medido en el ensayo de expresión de CD23 descrito en el Ejemplo 2).

La secuencia de ADN del dominio variable de la cadena ligera de L1H11 se presenta en la SEC ID N° 3, y la secuencia de aminoácidos codificada se presenta en la SEC ID N° 4. La secuencia de ADN para el dominio variable de
20 la cadena pesada de L1H11 se presenta como la SEC ID N° 35, y la secuencia de aminoácidos codificada se presenta en la SEC ID N° 36. Los anticuerpos de la presente invención incluyen, aunque sin limitación, anticuerpos que comprenden, en su cadena ligera, los restos 1 a 109 de la SEC ID N° 4; y anticuerpos que comprenden adicional o alternativamente, en su cadena
25 pesada, los restos 1 a 115 de la SEC ID N° 36.

Las realizaciones particulares de anticuerpos de la presente invención comprenden, en el dominio variable de su cadena ligera, al menos una de las regiones determinantes de complementariedad (CDR), o regiones hipervariables, que se encuentran en la cadena ligera de L1H11. Las CDR de L1H11 se analizan en el Ejemplo 5. Por tanto, entre los anticuerpos proporcionados en este documento están los que comprenden de una a las tres siguientes secuencias en el dominio variable de cadena ligera: los restos de aminoácido 24-35; los restos 51-57; y los restos 90-99 de la SEC ID N° 4. Los anticuerpos particulares proporcionados en este documento comprenden, en el dominio variable de su cadena pesada, al menos una de las CDR encontradas en la cadena pesada de L1H11. Por tanto, entre los anticuerpos proporcionados en este documento están los que comprenden de una a las tres siguientes secuencias en el dominio variable de cadena pesada: los restos 31-35; los restos 50-65; y los restos 98-104 de la SEC ID N° 36.

En otra realización, los anticuerpos particulares de la invención se seleccionan entre el grupo constituido por L2H4; un anticuerpo que tiene reactividad cruzada con L2H4; un anticuerpo que se une al mismo epítope que L2H4; un anticuerpo que compite con L2H4 por la unión a una célula que expresa IL-4R humano; un anticuerpo que tiene actividad biológica de L2H4; y un fragmento de unión a antígeno de cualquiera de los anticuerpos anteriores. En una realización, el anticuerpo tiene una afinidad de unión por IL-4R humano que es sustancialmente equivalente a la afinidad de unión de L2H4 por IL-4R humano. Las líneas celulares de hibridoma que producen cualquiera de dichos anticuerpos también se proporcionan por la presente invención.

Un ejemplo de una actividad biológica de L2H4 es la capacidad de

funcionar tanto como antagonista de IL-4 como antagonista de IL-13. En una realización, un anticuerpo de la invención tiene actividad de bloqueo de IL-4 sustancialmente equivalente a la de L2H4; y tiene actividad de bloqueo de IL-13 sustancialmente equivalente a la de L2H4. Dicha actividad puede medirse en cualquier ensayo convencional adecuado (por ejemplo, medido en el ensayo de expresión de CD23 descrito en el Ejemplo 2).

La secuencia de ADN del dominio variable de la cadena ligera de L2H4 se presenta en la SEC ID N° 5, y la secuencia de aminoácidos codificada se presenta en la SEC ID N° 6. La secuencia de ADN para el dominio variable de la cadena pesada de L2H4 se presenta como la SEC ID N° 21, y la secuencia de aminoácidos codificada se presenta en la SEC ID N° 22. Los anticuerpos de la presente invención incluyen, aunque sin limitación, anticuerpos que comprenden, en su cadena ligera, los restos 1 a 109 de la SEC ID N° 6; y anticuerpos que comprenden adicional o alternativamente, en su cadena pesada, los restos 1 a 115 de la SEC ID N° 22.

Las realizaciones particulares de anticuerpos de la presente invención comprenden, en el dominio variable de su cadena ligera, al menos una de las regiones determinantes de complementariedad (CDR), o regiones hipervariables, que se encuentran en la cadena ligera de L2H4. Las CDR de L2H4 se analizan en el Ejemplo 5. Por tanto, entre los anticuerpos proporcionados en este documento están los que comprenden de una a las tres siguientes secuencias en el dominio variable de cadena ligera: los restos de aminoácido 24-35; los restos 51-57; y los restos 90-99 de la SEC ID N° 6. Los anticuerpos particulares proporcionados en este documento comprenden, en el dominio variable de su cadena pesada, al menos una de las CDR encontradas

en la cadena pesada de L2H4. Por tanto, entre los anticuerpos proporcionados en este documento están los que comprenden de una a las tres siguientes secuencias en el dominio variable de cadena pesada: los restos 31-35; los restos 50-65; y los restos 98-104 de la SEC ID N° 22.

5 En otra realización, los anticuerpos particulares de la invención se seleccionan entre el grupo constituido por L2H12; un anticuerpo que tiene reactividad cruzada con L2H12; un anticuerpo que se une al mismo epítipo que L2H12; un anticuerpo que compite con L2H12 por la unión a una célula
10 que expresa IL-4R humano; un anticuerpo que tiene actividad biológica de L2H12; y un fragmento de unión a antígeno de cualquiera de los anticuerpos anteriores. En una realización, el anticuerpo tiene una afinidad de unión por IL-4R humano que es sustancialmente equivalente a la afinidad de unión de L2H12 por IL-4R humano. Las líneas celulares de hibridoma que producen cualquiera de dichos anticuerpos también se proporcionan por la presente
15 invención.

Un ejemplo de una actividad biológica de L2H12 es la capacidad de funcionar tanto como antagonista de IL-4 como antagonista de IL-13. En una realización, un anticuerpo de la invención tiene actividad de bloqueo de IL-4 sustancialmente equivalente a la de L2H12; y tiene actividad de bloqueo de IL-
20 13 sustancialmente equivalente a la de L2H12. Dicha actividad puede medirse en cualquier ensayo convencional adecuado (por ejemplo, medido en el ensayo de expresión de CD23 descrito en el Ejemplo 2).

La secuencia de ADN del dominio variable de la cadena ligera de L2H12 se presenta en la SEC ID N° 5, y la secuencia de aminoácidos codificada se
25 presenta en la SEC ID N° 6. La secuencia de ADN para el dominio variable de

la cadena pesada de L2H12 se presenta como la SEC ID N° 37, y la secuencia de aminoácidos codificada se presenta en la SEC ID N° 38. Los anticuerpos de la presente invención incluyen, aunque sin limitación, anticuerpos que comprenden, en su cadena ligera, los restos 1 a 109 de la SEC ID N° 6; y
5 anticuerpos que comprenden adicional o alternativamente, en su cadena pesada, los restos 1 a 115 de la SEC ID N° 38.

Las realizaciones particulares de anticuerpos de la presente invención comprenden, en el dominio variable de su cadena ligera, al menos una de las regiones determinantes de complementariedad (CDR), o regiones
10 hipervariables, que se encuentran en la cadena ligera de L2H12. Las CDR de L2H12 se analizan en el Ejemplo 5. Por tanto, entre los anticuerpos proporcionados en este documento están los que comprenden de una a las tres siguientes secuencias en el dominio variable de cadena ligera: los restos de aminoácido 24-35; los restos 51-57; y los restos 90-99 de la SEC ID N° 6. Los
15 anticuerpos particulares proporcionados en este documento comprenden, en el dominio variable de su cadena pesada, al menos una de las CDR encontradas en la cadena pesada de L2H12. Por tanto, entre los anticuerpos proporcionados en este documento están los que comprenden de una a las tres siguientes secuencias en el dominio variable de cadena pesada: los restos 31-
20 35; los restos 50-65; y los restos 98-104 de la SEC ID N° 38.

En otra realización, los anticuerpos particulares de la invención se seleccionan entre el grupo constituido por L2H13; un anticuerpo que tiene reactividad cruzada con L2H13; un anticuerpo que se une al mismo epítoto que L2H13; un anticuerpo que compite con L2H13 por la unión a una célula
25 que expresa IL-4R humano; un anticuerpo que tiene actividad biológica de

L2H13; y un fragmento de unión a antígeno de cualquiera de los anticuerpos anteriores. En una realización, el anticuerpo tiene una afinidad de unión por IL-4R humano que es sustancialmente equivalente a la afinidad de unión de L2H13 por IL-4R humano. Las líneas celulares de hibridoma que producen
5 cualquiera de dichos anticuerpos también se proporcionan por la presente invención.

Un ejemplo de una actividad biológica de L2H13 es la capacidad de funcionar tanto como antagonista de IL-4 como antagonista de IL-13. En una realización, un anticuerpo de la invención tiene actividad de bloqueo de IL-4
10 sustancialmente equivalente a la de L2H13; y tiene actividad de bloqueo de IL-13 sustancialmente equivalente a la de L2H13. Dicha actividad puede medirse en cualquier ensayo convencional adecuado (por ejemplo, medido en el ensayo de expresión de CD23 descrito en el Ejemplo 2).

La secuencia de ADN del dominio variable de la cadena ligera de L2H13
15 se presenta en la SEC ID N° 5, y la secuencia de aminoácidos codificada se presenta en la SEC ID N° 6. La secuencia de ADN para el dominio variable de la cadena pesada de L2H13 se presenta como la SEC ID N° 39, y la secuencia de aminoácidos codificada se presenta en la SEC ID N° 40. Los anticuerpos de la presente invención incluyen, aunque sin limitación, anticuerpos que
20 comprenden, en su cadena ligera, los restos 1 a 109 de la SEC ID N° 6; y anticuerpos que comprenden adicional o alternativamente, en su cadena pesada, los restos 1 a 115 de la SEC ID N° 40.

Las realizaciones particulares de anticuerpos de la presente invención comprenden, en el dominio variable de su cadena ligera, al menos una de las
25 regiones determinantes de complementariedad (CDR), o regiones

hipervariables, que se encuentran en la cadena ligera de L2H13. Las CDR de L2H13 se analizan en el Ejemplo 5. Por tanto, entre los anticuerpos proporcionados en este documento están los que comprenden de una a las tres siguientes secuencias en el dominio variable de cadena ligera: los restos de aminoácido 24-35; los restos 51-57; y los restos 90-99 de la SEC ID N° 6. Los anticuerpos particulares proporcionados en este documento comprenden, en el dominio variable de su cadena pesada, al menos una de las CDR encontradas en la cadena pesada de L2H13. Por tanto, entre los anticuerpos proporcionados en este documento están los que comprenden de una a las tres siguientes secuencias en el dominio variable de cadena pesada: los restos 31-35; los restos 50-65; y los restos 98-104 de la SEC ID N° 40.

En otra realización, los anticuerpos particulares de la invención se seleccionan entre el grupo constituido por L2H14; un anticuerpo que tiene reactividad cruzada con L2H14; un anticuerpo que se une al mismo epítoto que L2H14; un anticuerpo que compite con L2H14 por la unión a una célula que expresa IL-4R humano; un anticuerpo que tiene actividad biológica de L2H14; y un fragmento de unión a antígeno de cualquiera de los anticuerpos anteriores. En una realización, el anticuerpo tiene una afinidad de unión por IL-4R humano que es sustancialmente equivalente a la afinidad de unión de L2H14 por IL-4R humano. Las líneas celulares de hibridoma que producen cualquiera de dichos anticuerpos también se proporcionan por la presente invención.

Un ejemplo de una actividad biológica de L2H14 es la capacidad de funcionar tanto como antagonista de IL-4 como antagonista de IL-13. En una realización, un anticuerpo de la invención tiene actividad de bloqueo de IL-4

sustancialmente equivalente a la de L2H14; y tiene actividad de bloqueo de IL-13 sustancialmente equivalente a la de L2H14. Dicha actividad puede medirse en cualquier ensayo convencional adecuado (por ejemplo, medido en el ensayo de expresión de CD23 descrito en el Ejemplo 2).

5 La secuencia de ADN del dominio variable de la cadena ligera de L2H14 se presenta en la SEC ID N° 5, y la secuencia de aminoácidos codificada se presenta en la SEC ID N° 6. La secuencia de ADN para el dominio variable de la cadena pesada de L2H14 se presenta como la SEC ID N° 41, y la secuencia de aminoácidos codificada se presenta en la SEC ID N° 42. Los anticuerpos de
10 la presente invención incluyen, aunque sin limitación, anticuerpos que comprenden, en su cadena ligera, los restos 1 a 109 de la SEC ID N° 6; y anticuerpos que comprenden adicional o alternativamente, en su cadena pesada, los restos 1 a 115 de la SEC ID N° 42.

 Las realizaciones particulares de anticuerpos de la presente invención
15 comprenden, en el dominio variable de su cadena ligera, al menos una de las regiones determinantes de complementariedad (CDR), o regiones hipervariables, que se encuentran en la cadena ligera de L2H14. Las CDR de L2H14 se analizan en el Ejemplo 5. Por tanto, entre los anticuerpos proporcionados en este documento están los que comprenden de una a las tres
20 siguientes secuencias en el dominio variable de cadena ligera: los restos de aminoácido 24-35; los restos 51-57; y los restos 90-99 de la SEC ID N° 6. Los anticuerpos particulares proporcionados en este documento comprenden, en el dominio variable de su cadena pesada, al menos una de las CDR encontradas en la cadena pesada de L2H14. Por tanto, entre los anticuerpos
25 proporcionados en este documento están los que comprenden de una a las tres

siguientes secuencias en el dominio variable de cadena pesada: los restos 31-35; los restos 50-65; y los restos 98-104 de la SEC ID N° 42.

En otra realización, los anticuerpos particulares de la invención se seleccionan entre el grupo constituido por L6H1; un anticuerpo que tiene reactividad cruzada con L6H1; un anticuerpo que se une al mismo epítoto que L6H1; un anticuerpo que compete con L6H1 por la unión a una célula que expresa IL-4R humano; un anticuerpo que tiene actividad biológica de L6H1; y un fragmento de unión a antígeno de cualquiera de los anticuerpos anteriores. En una realización, el anticuerpo tiene una afinidad de unión por IL-4R humano que es sustancialmente equivalente a la afinidad de unión de L6H1 por IL-4R humano. Las líneas celulares de hibridoma que producen cualquiera de dichos anticuerpos también se proporcionan por la presente invención.

Un ejemplo de una actividad biológica de L6H1 es la capacidad de funcionar tanto como antagonista de IL-4 como antagonista de IL-13. En una realización, un anticuerpo de la invención tiene actividad de bloqueo de IL-4 sustancialmente equivalente a la de L6H1; y tiene actividad de bloqueo de IL-13 sustancialmente equivalente a la de L6H1. Dicha actividad puede medirse en cualquier ensayo convencional adecuado (por ejemplo, medido en el ensayo de expresión de CD23 descrito en el Ejemplo 2).

La secuencia de ADN del dominio variable de la cadena ligera de L6H1 se presenta en la SEC ID N° 13, y la secuencia de aminoácidos codificada se presenta en la SEC ID N° 14. La secuencia de ADN para el dominio variable de la cadena pesada de L6H1 se presenta como la SEC ID N° 15, y la secuencia de aminoácidos codificada se presenta en la SEC ID N° 16. Los anticuerpos de la presente invención incluyen, aunque sin limitación, anticuerpos que

comprenden, en su cadena ligera, los restos 1 a 109 de la SEC ID N° 14; y anticuerpos que comprenden adicional o alternativamente, en su cadena pesada, los restos 1 a 115 de la SEC ID N° 16.

Las realizaciones particulares de anticuerpos de la presente invención
5 comprenden, en el dominio variable de su cadena ligera, al menos una de las regiones determinantes de complementariedad (CDR), o regiones hipervariables, que se encuentran en la cadena ligera de L6H1. Las CDR de L6H1 se analizan en el Ejemplo 5. Por tanto, entre los anticuerpos proporcionados en este documento están los que comprenden de una a las tres
10 siguientes secuencias en el dominio variable de cadena ligera: los restos de aminoácido 24-35; los restos 51-57; y los restos 90-99 de la SEC ID N° 14. Los anticuerpos particulares proporcionados en este documento comprenden, en el dominio variable de su cadena pesada, al menos una de las CDR encontradas en la cadena pesada de L6H1. Por tanto, entre los anticuerpos proporcionados
15 en este documento están los que comprenden de una a las tres siguientes secuencias en el dominio variable de cadena pesada: los restos 31-35; los restos 50-65; y los restos 98-104 de la SEC ID N° 16.

En otra realización, los anticuerpos particulares de la invención se seleccionan entre el grupo constituido por L2H2; un anticuerpo que tiene
20 reactividad cruzada con L2H2; un anticuerpo que se une al mismo epítipo que L2H2; un anticuerpo que compite con L2H2 por la unión a una célula que expresa IL-4R humano; un anticuerpo que tiene actividad biológica de L2H2; y un fragmento de unión a antígeno de cualquiera de los anticuerpos anteriores. En una realización, el anticuerpo tiene una afinidad de unión por IL-4R humano
25 que es sustancialmente equivalente a la afinidad de unión de L2H2 por IL-4R

humano. Las líneas celulares de hibridoma que producen cualquiera de dichos anticuerpos también se proporcionan por la presente invención.

Un ejemplo de una actividad biológica de L2H2 es la capacidad de funcionar tanto como antagonista de IL-4 como antagonista de IL-13. En una
5 realización, un anticuerpo de la invención tiene actividad de bloqueo de IL-4 sustancialmente equivalente a la de L2H2; y tiene actividad de bloqueo de IL-13 sustancialmente equivalente a la de L2H2. Dicha actividad puede medirse en cualquier ensayo convencional adecuado (por ejemplo, medido en el ensayo de expresión de CD23 descrito en el Ejemplo 2).

10 La secuencia de ADN del dominio variable de la cadena ligera de L2H2 se presenta en la SEC ID N° 5, y la secuencia de aminoácidos codificada se presenta en la SEC ID N° 6. La secuencia de ADN para el dominio variable de la cadena pesada de L2H2 se presenta como la SEC ID N° 17, y la secuencia de aminoácidos codificada se presenta en la SEC ID N° 18. Los anticuerpos de
15 la presente invención incluyen, aunque sin limitación, anticuerpos que comprenden, en su cadena ligera, los restos 1 a 109 de la SEC ID N° 6; y anticuerpos que comprenden adicional o alternativamente, en su cadena pesada, los restos 1 a 115 de la SEC ID N° 18.

Las realizaciones particulares de anticuerpos de la presente invención
20 comprenden, en el dominio variable de su cadena ligera, al menos una de las regiones determinantes de complementariedad (CDR), o regiones hipervariables, que se encuentran en la cadena ligera de L2H2. Las CDR de L2H2 se analizan en el Ejemplo 5. Por tanto, entre los anticuerpos proporcionados en este documento están los que comprenden de una a las tres
25 siguientes secuencias en el dominio variable de cadena ligera: los restos de

aminoácido 24-35; los restos 51-57; y los restos 90-99 de la SEC ID N° 6. Los anticuerpos particulares proporcionados en este documento comprenden, en el dominio variable de su cadena pesada, al menos una de las CDR encontradas en la cadena pesada de L2H2. Por tanto, entre los anticuerpos proporcionados

5 en este documento están los que comprenden de una a las tres siguientes secuencias en el dominio variable de cadena pesada: los restos 31-35; los restos 50-65; y los restos 98-104 de la SEC ID N° 18.

En otra realización, los anticuerpos particulares de la invención se seleccionan entre el grupo constituido por L2H3; un anticuerpo que tiene

10 reactividad cruzada con L2H3; un anticuerpo que se une al mismo epítopo que L2H3; un anticuerpo que cumple con L2H3 por la unión a una célula que expresa IL-4R humano; un anticuerpo que tiene actividad biológica de L2H3; y un fragmento de unión a antígeno de cualquiera de los anticuerpos anteriores. En una realización, el anticuerpo tiene una afinidad de unión por IL-4R humano

15 que es sustancialmente equivalente a la afinidad de unión de L2H3 por IL-4R humano. Las líneas celulares de hibridoma que producen cualquiera de dichos anticuerpos también se proporcionan por la presente invención.

Un ejemplo de una actividad biológica de L2H3 es la capacidad de funcionar tanto como antagonista de IL-4 como antagonista de IL-13. En una

20 realización, un anticuerpo de la invención tiene actividad de bloqueo de IL-4 sustancialmente equivalente a la de L2H3; y tiene actividad de bloqueo de IL-13 sustancialmente equivalente a la de L2H3. Dicha actividad puede medirse en cualquier ensayo convencional adecuado (por ejemplo, medido en el ensayo de expresión de CD23 descrito en el Ejemplo 2).

25 La secuencia de ADN del dominio variable de la cadena ligera de L2H3

se presenta en la SEC ID N° 5, y la secuencia de aminoácidos codificada se presenta en la SEC ID N° 6. La secuencia de ADN para el dominio variable de la cadena pesada de L2H3 se presenta como la SEC ID N° 19, y la secuencia de aminoácidos codificada se presenta en la SEC ID N° 20. Los anticuerpos de la presente invención incluyen, aunque sin limitación, anticuerpos que comprenden, en su cadena ligera, los restos 1 a 109 de la SEC ID N° 6; y anticuerpos que comprenden adicional o alternativamente, en su cadena pesada, los restos 1 a 115 de la SEC ID N° 20.

Las realizaciones particulares de anticuerpos de la presente invención comprenden, en el dominio variable de su cadena ligera, al menos una de las regiones determinantes de complementariedad (CDR), o regiones hipervariables, que se encuentran en la cadena ligera de L2H3. Las CDR de L2H3 se analizan en el Ejemplo 5. Por tanto, entre los anticuerpos proporcionados en este documento están los que comprenden de una a las tres siguientes secuencias en el dominio variable de cadena ligera: los restos de aminoácido 24-35; los restos 51-57; y los restos 90-99 de la SEC ID N° 6. Los anticuerpos particulares proporcionados en este documento comprenden, en el dominio variable de su cadena pesada, al menos una de las CDR encontradas en la cadena pesada de L2H3. Por tanto, entre los anticuerpos proporcionados en este documento están los que comprenden de una a las tres siguientes secuencias en el dominio variable de cadena pesada: los restos 31-35; los restos 50-65; y los restos 98-104 de la SEC ID N° 20.

En otra realización, los anticuerpos particulares de la invención se seleccionan entre el grupo constituido por L2H6; un anticuerpo que tiene reactividad cruzada con L2H6; un anticuerpo que se une al mismo epítipo que

L2H6; un anticuerpo que compite con L2H6 por la unión a una célula que expresa IL-4R humano; un anticuerpo que tiene actividad biológica de L2H6; y un fragmento de unión a antígeno de cualquiera de los anticuerpos anteriores. En una realización, el anticuerpo tiene una afinidad de unión por IL-4R humano
5 que es sustancialmente equivalente a la afinidad de unión de L2H6 por IL-4R humano. Las líneas celulares de hibridoma que producen cualquiera de dichos anticuerpos también se proporcionan por la presente invención.

Un ejemplo de una actividad biológica de L2H6 es la capacidad de funcionar tanto como antagonista de IL-4 como antagonista de IL-13. En una
10 realización, un anticuerpo de la invención tiene actividad de bloqueo de IL-4 sustancialmente equivalente a la de L2H6; y tiene actividad de bloqueo de IL-13 sustancialmente equivalente a la de L2H6. Dicha actividad puede medirse en cualquier ensayo convencional adecuado (por ejemplo, medido en el ensayo de expresión de CD23 descrito en el Ejemplo 2).

15 La secuencia de ADN del dominio variable de la cadena ligera de L2H6 se presenta en la SEC ID N° 5, y la secuencia de aminoácidos codificada se presenta en la SEC ID N° 6. La secuencia de ADN para el dominio variable de la cadena pesada de L2H6 se presenta como la SEC ID N° 25, y la secuencia de aminoácidos codificada se presenta en la SEC ID N° 26. Los anticuerpos de
20 la presente invención incluyen, aunque sin limitación, anticuerpos que comprenden, en su cadena ligera, los restos 1 a 109 de la SEC ID N° 6; y anticuerpos que comprenden adicional o alternativamente, en su cadena pesada, los restos 1 a 115 de la SEC ID N° 26.

Las realizaciones particulares de anticuerpos de la presente invención
25 comprenden, en el dominio variable de su cadena ligera, al menos una de las

regiones determinantes de complementariedad (CDR), o regiones hipervariables, que se encuentran en la cadena ligera de L2H6. Las CDR de L2H6 se analizan en el Ejemplo 5. Por tanto, entre los anticuerpos proporcionados en este documento están los que comprenden de una a las tres
5 siguientes secuencias en el dominio variable de cadena ligera: los restos de aminoácido 24-35; los restos 51-57; y los restos 90-99 de la SEC ID N° 6. Los anticuerpos particulares proporcionados en este documento comprenden, en el dominio variable de su cadena pesada, al menos una de las CDR encontradas en la cadena pesada de L2H6. Por tanto, entre los anticuerpos proporcionados
10 en este documento están los que comprenden de una a las tres siguientes secuencias en el dominio variable de cadena pesada: los restos 31-35; los restos 50-65; y los restos 98-104 de la SEC ID N° 26.

En otra realización, los anticuerpos particulares de la invención se seleccionan entre el grupo constituido por L2H7; un anticuerpo que tiene
15 reactividad cruzada con L2H7; un anticuerpo que se une al mismo epítipo que L2H7; un anticuerpo que compite con L2H7 por la unión a una célula que expresa IL-4R humano; un anticuerpo que tiene actividad biológica de L2H7; y un fragmento de unión a antígeno de cualquiera de los anticuerpos anteriores. En una realización, el anticuerpo tiene una afinidad de unión por IL-4R humano
20 que es sustancialmente equivalente a la afinidad de unión de L2H7 por IL-4R humano. Las líneas celulares de hibridoma que producen cualquiera de dichos anticuerpos también se proporcionan por la presente invención.

Un ejemplo de una actividad biológica de L2H7 es la capacidad de funcionar tanto como antagonista de IL-4 como antagonista de IL-13. En una
25 realización, un anticuerpo de la invención tiene actividad de bloqueo de IL-4

sustancialmente equivalente a la de L2H7; y tiene actividad de bloqueo de IL-13 sustancialmente equivalente a la de L2H7. Dicha actividad puede medirse en cualquier ensayo convencional adecuado (por ejemplo, medido en el ensayo de expresión de CD23 descrito en el Ejemplo 2).

5 La secuencia de ADN del dominio variable de la cadena ligera de L2H7 se presenta en la SEC ID N° 5, y la secuencia de aminoácidos codificada se presenta en la SEC ID N° 6. La secuencia de ADN para el dominio variable de la cadena pesada de L2H7 se presenta como la SEC ID N° 27, y la secuencia de aminoácidos codificada se presenta en la SEC ID N° 28. Los anticuerpos de
10 la presente invención incluyen, aunque sin limitación, anticuerpos que comprenden, en su cadena ligera, los restos 1 a 109 de la SEC ID N° 6; y anticuerpos que comprenden adicional o alternativamente, en su cadena pesada, los restos 1 a 115 de la SEC ID N° 28.

 Las realizaciones particulares de anticuerpos de la presente invención
15 comprenden, en el dominio variable de su cadena ligera, al menos una de las regiones determinantes de complementariedad (CDR), o regiones hipervariables, que se encuentran en la cadena ligera de L2H7. Las CDR de L2H7 se analizan en el Ejemplo 5. Por tanto, entre los anticuerpos proporcionados en este documento están los que comprenden de una a las tres
20 siguientes secuencias en el dominio variable de cadena ligera: los restos de aminoácido 24-35; los restos 51-57; y los restos 90-99 de la SEC ID N° 6. Los anticuerpos particulares proporcionados en este documento comprenden, en el dominio variable de su cadena pesada, al menos una de las CDR encontradas en la cadena pesada de L2H7. Por tanto, entre los anticuerpos proporcionados
25 en este documento están los que comprenden de una a las tres siguientes

secuencias en el dominio variable de cadena pesada: los restos 31-35; los restos 50-65; y los restos 98-104 de la SEC ID N° 28.

En otra realización, los anticuerpos particulares de la invención se seleccionan entre el grupo constituido por L2H8; un anticuerpo que tiene
5 reactividad cruzada con L2H8; un anticuerpo que se une al mismo epítoto que L2H8; un anticuerpo que compite con L2H8 por la unión a una célula que expresa IL-4R humano; un anticuerpo que tiene actividad biológica de L2H8; y un fragmento de unión a antígeno de cualquiera de los anticuerpos anteriores. En una realización, el anticuerpo tiene una afinidad de unión por IL-4R humano
10 que es sustancialmente equivalente a la afinidad de unión de L2H8 por IL-4R humano. Las líneas celulares de hibridoma que producen cualquiera de dichos anticuerpos también se proporcionan por la presente invención.

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

20 La secuencia de ADN del dominio variable de la cadena ligera de L2H8 se presenta en la SEC ID N° 5, y la secuencia de aminoácidos codificada se presenta en la SEC ID N° 6. La secuencia de ADN para el dominio variable de la cadena pesada de L2H8 se presenta como la SEC ID N° 29, y la secuencia de aminoácidos codificada se presenta en la SEC ID N° 30. Los anticuerpos de
25 la presente invención incluyen, aunque sin limitación, anticuerpos que

comprenden, en su cadena ligera, los restos 1 a 109 de la SEC ID N° 6; y anticuerpos que comprenden adicional o alternativamente, en su cadena pesada, los restos 1 a 115 de la SEC ID N° 30.

Las realizaciones particulares de anticuerpos de la presente invención comprenden, en el dominio variable de su cadena ligera, al menos una de las regiones determinantes de complementariedad (CDR), o regiones hipervariables, que se encuentran en la cadena ligera de L2H8. Las CDR de L2H8 se analizan en el Ejemplo 5. Por tanto, entre los anticuerpos proporcionados en este documento están los que comprenden de una a las tres siguientes secuencias en el dominio variable de cadena ligera: los restos de aminoácido 24-35; los restos 51-57; y los restos 90-99 de la SEC ID N° 6. Los anticuerpos particulares proporcionados en este documento comprenden, en el dominio variable de su cadena pesada, al menos una de las CDR encontradas en la cadena pesada de L2H8. Por tanto, entre los anticuerpos proporcionados en este documento están los que comprenden de una a las tres siguientes secuencias en el dominio variable de cadena pesada: los restos 31-35; los restos 50-65; y los restos 98-104 de la SEC ID N° 30.

En otra realización, los anticuerpos particulares de la invención se seleccionan entre el grupo constituido por L2H9; un anticuerpo que tiene reactividad cruzada con L2H9; un anticuerpo que se une al mismo epítipo que L2H9; un anticuerpo que compite con L2H9 por la unión a una célula que expresa IL-4R humano; un anticuerpo que tiene actividad biológica de L2H9; y un fragmento de unión a antígeno de cualquiera de los anticuerpos anteriores. En una realización, el anticuerpo tiene una afinidad de unión por IL-4R humano que es sustancialmente equivalente a la afinidad de unión de L2H9 por IL-4R

261
201

humano. Las líneas celulares de hibridoma que producen cualquiera de dichos anticuerpos también se proporcionan por la presente invención.

Un ejemplo de una actividad biológica de L2H9 es la capacidad de funcionar tanto como antagonista de IL-4 como antagonista de IL-13. En una
5 realización, un anticuerpo de la invención tiene actividad de bloqueo de IL-4 sustancialmente equivalente a la de L2H9; y tiene actividad de bloqueo de IL-13 sustancialmente equivalente a la de L2H9. Dicha actividad puede medirse en cualquier ensayo convencional adecuado (por ejemplo, medido en el ensayo de expresión de CD23 descrito en el Ejemplo 2).

10 La secuencia de ADN del dominio variable de la cadena ligera de L2H9 se presenta en la SEC ID N° 5, y la secuencia de aminoácidos codificada se presenta en la SEC ID N° 6. La secuencia de ADN para el dominio variable de la cadena pesada de L2H9 se presenta como la SEC ID N° 31, y la secuencia de aminoácidos codificada se presenta en la SEC ID N° 32. Los anticuerpos de
15 la presente invención incluyen, aunque sin limitación, anticuerpos que comprenden, en su cadena ligera, los restos 1 a 109 de la SEC ID N° 6; y anticuerpos que comprenden adicional o alternativamente, en su cadena pesada, los restos 1 a 115 de la SEC ID N° 32.

Las realizaciones particulares de anticuerpos de la presente invención
20 comprenden, en el dominio variable de su cadena ligera, al menos una de las regiones determinantes de complementariedad (CDR), o regiones hipervariables, que se encuentran en la cadena ligera de L2H9. Las CDR de L2H9 se analizan en el Ejemplo 5. Por tanto, entre los anticuerpos proporcionados en este documento están los que comprenden de una a las tres
25 siguientes secuencias en el dominio variable de cadena ligera: los restos de

aminoácido 24-35; los restos 51-57; y los restos 90-99 de la SEC ID N° 6. Los anticuerpos particulares proporcionados en este documento comprenden, en el dominio variable de su cadena pesada, al menos una de las CDR encontradas en la cadena pesada de L2H9. Por tanto, entre los anticuerpos proporcionados en este documento están los que comprenden de una a las tres siguientes secuencias en el dominio variable de cadena pesada: los restos 31-35; los restos 50-65; y los restos 98-104 de la SEC ID N° 32.

En otra realización, los anticuerpos particulares de la invención se seleccionan entre el grupo constituido por L2H10; un anticuerpo que tiene reactividad cruzada con L2H10; un anticuerpo que se une al mismo epítoto que L2H10; un anticuerpo que compete con L2H10 por la unión a una célula que expresa IL-4R humano; un anticuerpo que tiene actividad biológica de L2H10; y un fragmento de unión a antígeno de cualquiera de los anticuerpos anteriores. En una realización, el anticuerpo tiene una afinidad de unión por IL-4R humano que es sustancialmente equivalente a la afinidad de unión de L2H10 por IL-4R humano. Las líneas celulares de hibridoma que producen cualquiera de dichos anticuerpos también se proporcionan por la presente invención.

Un ejemplo de una actividad biológica de L2H10 es la capacidad de funcionar tanto como antagonista de IL-4 como antagonista de IL-13. En una realización, un anticuerpo de la invención tiene actividad de bloqueo de IL-4 sustancialmente equivalente a la de L2H10; y tiene actividad de bloqueo de IL-13 sustancialmente equivalente a la de L2H10. Dicha actividad puede medirse en cualquier ensayo convencional adecuado (por ejemplo, medido en el ensayo de expresión de CD23 descrito en el Ejemplo 2).

La secuencia de ADN del dominio variable de la cadena ligera de L2H10 se presenta en la SEC ID N° 5, y la secuencia de aminoácidos codificada se presenta en la SEC ID N° 6. La secuencia de ADN para el dominio variable de la cadena pesada de L2H10 se presenta como la SEC ID N° 33, y la secuencia de aminoácidos codificada se presenta en la SEC ID N° 34. Los anticuerpos de la presente invención incluyen, aunque sin limitación, anticuerpos que comprenden, en su cadena ligera, los restos 1 a 109 de la SEC ID N° 6; y anticuerpos que comprenden adicional o alternativamente, en su cadena pesada, los restos 1 a 115 de la SEC ID N° 34.

Las realizaciones particulares de anticuerpos de la presente invención comprenden, en el dominio variable de su cadena ligera, al menos una de las regiones determinantes de complementariedad (CDR), o regiones hipervariables, que se encuentran en la cadena ligera de L2H10. Las CDR de L2H10 se analizan en el Ejemplo 5. Por tanto, entre los anticuerpos proporcionados en este documento están los que comprenden de una a las tres siguientes secuencias en el dominio variable de cadena ligera: los restos de aminoácido 24-35; los restos 51-57; y los restos 90-99 de la SEC ID N° 6. Los anticuerpos particulares proporcionados en este documento comprenden, en el dominio variable de su cadena pesada, al menos una de las CDR encontradas en la cadena pesada de L2H10. Por tanto, entre los anticuerpos proporcionados en este documento están los que comprenden de una a las tres siguientes secuencias en el dominio variable de cadena pesada: los restos 31-35; los restos 50-65; y los restos 98-104 de la SEC ID N° 34.

En otra realización, los anticuerpos particulares de la invención se seleccionan entre el grupo constituido por L2H11; un anticuerpo que tiene

264
204

reactividad cruzada con L2H11; un anticuerpo que se une al mismo epítoto
que L2H11; un anticuerpo que compite con L2H11 por la unión a una célula
que expresa IL-4R humano; un anticuerpo que tiene actividad biológica de
L2H11; y un fragmento de unión a antígeno de cualquiera de los anticuerpos
5 anteriores. En una realización, el anticuerpo tiene una afinidad de unión por IL-
4R humano que es sustancialmente equivalente a la afinidad de unión de
L2H11 por IL-4R humano. Las líneas celulares de hibridoma que producen
cualquiera de dichos anticuerpos también se proporcionan por la presente
invención.

10 Un ejemplo de una actividad biológica de L2H11 es la capacidad de
funcionar tanto como antagonista de IL-4 como antagonista de IL-13. En una
realización, un anticuerpo de la invención tiene actividad de bloqueo de IL-4
sustancialmente equivalente a la de L2H11; y tiene actividad de bloqueo de IL-
13 sustancialmente equivalente a la de L2H11. Dicha actividad puede medirse
15 en cualquier ensayo convencional adecuado (por ejemplo, medido en el ensayo
de expresión de CD23 descrito en el Ejemplo 2).

La secuencia de ADN del dominio variable de la cadena ligera de L2H11
se presenta en la SEC ID N° 5, y la secuencia de aminoácidos codificada se
presenta en la SEC ID N° 6. La secuencia de ADN para el dominio variable de
20 la cadena pesada de L2H11 se presenta como la SEC ID N° 35, y la secuencia
de aminoácidos codificada se presenta en la SEC ID N° 36. Los anticuerpos de
la presente invención incluyen, aunque sin limitación, anticuerpos que
comprenden, en su cadena ligera, los restos 1 a 109 de la SEC ID N° 6; y
anticuerpos que comprenden adicional o alternativamente, en su cadena
25 pesada, los restos 1 a 115 de la SEC ID N° 36.

265
209

Las realizaciones particulares de anticuerpos de la presente invención comprenden, en el dominio variable de su cadena ligera, al menos una de las regiones determinantes de complementariedad (CDR), o regiones hipervariables, que se encuentran en la cadena ligera de L2H11. Las CDR de L2H11 se analizan en el Ejemplo 5. Por tanto, entre los anticuerpos proporcionados en este documento están los que comprenden de una a las tres siguientes secuencias en el dominio variable de cadena ligera: los restos de aminoácido 24-35; los restos 51-57; y los restos 90-99 de la SEC ID N° 6. Los anticuerpos particulares proporcionados en este documento comprenden, en el dominio variable de su cadena pesada, al menos una de las CDR encontradas en la cadena pesada de L2H11. Por tanto, entre los anticuerpos proporcionados en este documento están los que comprenden de una a las tres siguientes secuencias en el dominio variable de cadena pesada: los restos 31-35; los restos 50-65; y los restos 98-104 de la SEC ID N° 36.

15 Ácidos nucleicos

En un aspecto, la presente invención proporciona moléculas de ácido nucleico aisladas. Los ácidos nucleicos comprenden, por ejemplo, polinucleótidos que codifican un anticuerpo de la invención, o un fragmento, derivado, muténa, o variante del mismo, polinucleótidos suficientes para su uso como sondas de hibridación, cebadores de PCR o cebadores de secuenciación para identificar, analizar, mutar o amplificar un polinucleótido que codifica un polipéptido, ácidos nucleicos antisentido para inhibir la expresión de un polinucleótido, y secuencias complementarias de los anteriores. Los ácidos nucleicos pueden ser de cualquier longitud. Pueden ser, por ejemplo, de 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 75, 100, 125, 150, 175,

200, 250, 300, 350, 400, 450, 500, 750, 1.000, 1.500, 3.000, 5.000 o más nucleótidos de longitud, y/o pueden comprender una o más secuencias adicionales, por ejemplo, secuencias reguladoras, y/o ser parte de un ácido nucleico más grande, por ejemplo, un vector. Los ácidos nucleicos pueden ser
5 monocatenarios o bicatenarios y pueden comprender nucleótidos de ARN y/o ADN, y variantes artificiales de los mismos (por ejemplo, ácidos peptidonucleicos).

El ADN que codifica polipéptidos de anticuerpos (por ejemplo, sólo el dominio variable de cadena pesada o ligera o de longitud completa) puede
10 aislarse de células B de ratones que se han inmunizado con IL-4R. El ADN puede aislarse por procedimientos convencionales tales como reacción en cadena de la polimerasa (PCR). La presentación de fagos es otro ejemplo de una técnica conocida por la que pueden prepararse derivados de anticuerpos. En un enfoque, los polipéptidos que son componentes de un anticuerpo de
15 interés se expresan en cualquier sistema de expresión recombinante adecuado, y los polipéptidos expresados se dejan ensamblar para que formen moléculas de anticuerpo.

La Figura 2 proporciona secuencias de ácido nucleico que codifican las regiones variables de las regiones variables de cadena pesada y ligera
20 mostradas en la Figura 3. Debido a la degeneración del código genético, cada una de las secuencias polipeptídicas de la Figura 3 también está codificada por una gran cantidad de otras secuencias de ácido nucleico. La presente invención proporciona cada secuencia de nucleótidos degenerada que codifica cada anticuerpo de la invención.

25 La invención proporciona adicionalmente ácidos nucleicos que hibridan

con otros ácidos nucleicos (por ejemplo, ácidos nucleicos que comprenden una secuencia de nucleótidos de la Figura 2) en condiciones de hibridación particulares. Los procedimientos para hibridar ácidos nucleicos son bien conocidos en la técnica. Véase, por ejemplo, Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley & Sons, N.Y. (1989), 6.3.1-6.3.6. Como se define en este documento, una condición de hibridación moderadamente rigurosa usa una solución de prelavado que contiene cloruro sódico/citrato sódico 5X (SSC), SDS al 0.5%, EDTA 1,0 mM (pH 8,0) tampón de hibridación de aproximadamente formamida al 50%, 6X SSC, y una temperatura de hibridación de 55°C (u otras soluciones de hibridación similares, tales como una que contiene aproximadamente formamida al 50%, con una temperatura de hibridación de 42°C), y condiciones de lavado de 60°C, en 0,5X SSC, SDS al 0,1%. Una condición de hibridación rigurosa de 6X SSC a 45°C, seguida por uno o más lavados en 0,1X SSC, SDS al 0,2% a 68° C. Además, un especialista en la técnica puede manipular las condiciones de hibridación y/o lavado para aumentar o disminuir la rigurosidad de la hibridación de modo que los ácidos nucleicos que comprenden secuencias de nucleótidos que son al menos un 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 98 ó 99% idénticos entre sí típicamente permanecen hibridados entre sí. Los parámetros básicos que afectan a la elección de las condiciones de hibridación y directriz para idear las condiciones adecuadas se exponen por Sambrook, Fritsch, y Maniatis (1989, Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y., capítulos 9 y 11; y Current Protocols in Molecular Biology, 1995, Ausubel y col., eds., John Wiley & Sons, Inc., secciones 2.10 y 6.3-6.4), y pueden determinarse fácilmente por los especialistas en la técnica en base a,

por ejemplo, la longitud y/o composición de bases del ADN.

Los cambios pueden introducirse por mutación en un ácido nucleico, conduciendo de este modo a cambios en la secuencia de aminoácidos de un polipéptido (por ejemplo, un anticuerpo) que lo codifica. Las mutaciones

5 pueden introducirse por técnicas convencionales, tales como mutagénesis dirigida de sitio y mutagénesis mediada por PCR. Preferiblemente, se hacen sustituciones de aminoácidos conservativas en uno o más restos de aminoácido no esenciales previstos. Como alternativa, las mutaciones pueden introducirse aleatoriamente en toda o parte de la secuencia codificante, tal

10 como por mutagénesis por saturación, y los mutantes resultantes pueden explorarse para la actividad biológica para identificar mutantes que mantienen la actividad (por ejemplo, unión al receptor de IL-4). Después de la mutagénesis, la proteína codificada puede expresarse de manera recombinante y puede determinarse la actividad de la proteína. Las mutaciones pueden

15 introducirse en un aminoácido sin alterar de manera significativa la actividad biológica de un péptido que lo codifica. Por ejemplo, pueden hacerse sustituciones de nucleótidos que conducen a sustituciones de aminoácidos en restos de aminoácido no esenciales. En una realización, se muta una secuencia de nucleótidos proporcionada en la Figura 2, o un fragmento

20 deseado, variante, o derivado del mismo, de modo que codifique una secuencia de aminoácidos que comprende una o más deleciones o sustituciones de restos de aminoácido que se muestran en la Figura 3 para que sean restos donde difieren dos o más secuencias. En otra realización, la mutagénesis inserta un aminoácido adyacente a uno o más restos de aminoácido mostrados

25 en la Figura 3 para que sean restos donde difieren dos o más secuencias.

Como alternativa, las mutaciones pueden introducirse en un ácido nucleico que cambia selectivamente la actividad biológica (por ejemplo, unión del receptor de IL-4, inhibición de IL-4 y/o IL-13, etc.) de un polipéptido que lo codifica. Por ejemplo, la mutación puede cambiar cuantitativa o cualitativamente la actividad
5 biológica. Los ejemplos de cambios cuantitativos incluyen aumento, reducción o eliminación de la actividad. Los ejemplos de cambios cualitativos incluyen cambio de la especificidad antigénica de un anticuerpo.

En otro aspecto, la presente invención proporciona moléculas de ácido nucleico que son adecuadas para su uso como cebadores o sondas de
10 hibridación para la detección de secuencias de ácido nucleico de la invención. La molécula de ácido nucleico de la invención puede comprender sólo una parte de una secuencia de ácido nucleico que codifica un polipéptido de longitud completa de la invención, por ejemplo, un fragmento que puede usarse como sonda o cebador o un fragmento que codifica una parte activa (por
15 ejemplo, una parte de unión al receptor de IL-4) de un polipéptido de la invención.

Las sondas que se basan en la secuencia de un ácido nucleico de la invención pueden usarse para detectar el ácido nucleico o ácidos nucleicos similares, por ejemplo, transcritos que codifican un polipéptido de la invención.
20 La sonda puede comprender un grupo marcador, por ejemplo, un radioisótopo, un compuesto fluorescente, una enzima, o un cofactor enzimático. Dichas sondas pueden usarse para identificar una célula que exprese el polipéptido.

En otro aspecto, la presente invención proporciona vectores que comprenden un ácido nucleico que codifica un polipéptido de la invención o una
25 parte del mismo. Los ejemplos de vectores incluyen, aunque sin limitación,

plásmidos, vectores virales, vectores de mamíferos no episomales y vectores de expresión, por ejemplo, vectores de expresión recombinantes.

Los vectores de expresión recombinantes de la invención pueden comprender un ácido nucleico de la invención en una forma adecuada para la expresión del ácido nucleico en una célula huésped. Los vectores de expresión recombinantes incluyen una o más secuencias reguladoras, seleccionadas en base a las células huésped a usar para la expresión, que están unidas de manera operativa a la secuencia de ácido nucleico a expresar. Las secuencias reguladoras incluyen las que dirigen la expresión constitutiva de una secuencia de nucleótidos en muchos tipos de células huésped (por ejemplo, el potenciador del gen temprano de SV40, promotor del virus del sarcoma de Rous y promotor de citomegalovirus), las que dirigen la expresión de la secuencia de nucleótidos sólo en ciertas células huésped (por ejemplo, secuencias reguladoras específicas de tejido, véase Voss y col., 1986, Trends Biochem. Sci. 11: 287, Maniatis y col., 1987, Science 236: 1237, incorporado como referencia en este documento en su totalidad), y las que dirigen la expresión inducible de una secuencia de nucleótidos en respuesta a tratamiento o condición particular (por ejemplo, el promotor de metalotionina en células de mamífero y el promotor sensible a tet y/o sensible a estreptomicina en sistemas tanto procariotas como eucariotas (véase *id.*)). Se apreciará por los especialistas en la técnica que el diseño del vector de expresión puede depender de factores tales como la elección de la célula huésped a transformar, el nivel de expresión de la proteína deseada, etc. Los vectores de expresión de la invención pueden introducirse en células huésped para producir de este modo proteínas o péptidos, incluyendo proteínas o péptidos de fusión,

codificados por ácidos nucleicos como se describe en este documento.

En otro aspecto, la presente invención proporciona células huésped en la que se ha introducido un vector de expresión recombinante de la invención. Una célula huésped puede ser cualquier célula procariota (por ejemplo, *E. coli*) o célula eucariota (por ejemplo, células de levadura, insecto, o mamífero (por ejemplo, células CHO)). El ADN del vector se puede introducir en células procariotas o eucariotas mediante técnicas de transformación o transfección convencionales. Para la transfección estable de células de mamífero, se sabe que, dependiendo del vector de expresión y la técnica de transfección usados, sólo una pequeña fracción de las células puede integrar el ADN extraño en su genoma. Para identificar y seleccionar estos integrantes, generalmente se introduce un gen que codifica un marcador de selección (por ejemplo, para resistencia a antibióticos) en las células huésped junto con el gen de interés. Los marcadores de selección preferidos incluyen los que confieren resistencia a fármacos, tales como G418, higromicina y metotrexato. Las células transfectadas de manera estable con el ácido nucleico introducido pueden identificarse por selección de fármacos (por ejemplo, las células que han incorporado el gen marcador de selección sobrevivirá, mientras que las otras células morirán), entre otros procedimientos.

20 Derivados, fragmentos y muteínas de anticuerpos

Los derivados de anticuerpos dirigidos contra IL-4R pueden prepararse, y explorarse para propiedades deseadas, por cualquiera de varias técnicas conocidas. Ciertas técnicas implican aislar el ADN que codifica una cadena polipeptídica (o parte de la misma) de un anticuerpo de interés, y manipular el ADN a través de tecnología de ADN recombinante. El ADN puede fusionarse a

272
212

otro ADN de interés, o alterarse (por ejemplo, por mutagénesis u otras técnicas convencionales) para añadir, deleccionar, o sustituir uno o más restos de aminoácido, por ejemplo.

- En un aspecto, la presente invención proporciona fragmentos de unión a antígeno de los anticuerpos de la invención. Dichos fragmentos pueden constar en su totalidad de secuencias derivadas de anticuerpos o pueden comprender secuencias adicionales. Los ejemplos de fragmentos de unión a antígenos incluyen Fab y F(ab')₂. Otros ejemplos se proporcionan en Lunde y col., 2002, Biochem. Soc. Trans. 30: 500-06.
- Los anticuerpos de cadena única pueden formarse uniendo fragmentos del dominio variable de cadena pesada y ligera (región Fv) mediante un puente de aminoácido (engarce peptídico corto), produciendo una única cadena polipeptídica. Dichos Fv de cadena única (scFv) se han preparado fusionando ADN que codifica un engarce peptídico entre ADN que codifican los dos polipéptidos del dominio variable (V_L y V_H). Los polipéptidos resultante pueden volver a plegarse por sí mismos para formar monómeros de unión a antígenos, o pueden formar multímeros (por ejemplo, dímeros, trímeros, o tetrámeros), dependiendo de la longitud de un engarce flexible entre los dos dominios variables (Kortt y col., 1997, Prot. Eng. 10: 423; Kortt y col., 2001, Biomol. Eng. 18: 95-108). Combinando polipéptidos que comprenden V_L y V_H diferentes, se pueden formar scFv multiméricos que se unen a diferentes epítopos (Kriangkum y col., 2001, Biomol. Eng. 18: 31-40). Las técnicas desarrolladas para la producción de anticuerpos de cadena única incluyen las descritas en la Patente de Estados Unidos N° 4.946.778; Bird, 1988, Science 242: 423; Huston y col., 1988, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85: 5879; Ward y col., 1989, Nature

273

213

334: 544, de Graaf y col., 2002, Methods Mol Biol. 178: 379-87. Los anticuerpos de cadena única derivados de anticuerpos proporcionados en este documento (incluyendo, aunque sin limitación, scFv que comprenden las combinaciones de dominios variables L2H1, L3H1, L4H1, L5H1, L1H2, L1H3, L1H4, L1H5, L1H6, L1H7, L1H8, L1H9, L1H10, L1H11, L2H4, L2H12, L2H13, L2H14, L6H1, L2H2, L2H3, L2H6, L2H7, L2H8, L2H9, L2H10, y L2H11) se incluyen por la presente invención.

Las técnicas para obtener un anticuerpo de una subclase o isotipo diferente a partir de un anticuerpo de interés, es decir, cambio de subclase, son conocidas. Por tanto, pueden obtenerse anticuerpos IgG a partir de un anticuerpo IgM, por ejemplo, y viceversa. Dichas técnicas permiten la preparación de nuevos anticuerpos que tienen las propiedades de unión a antígeno de un anticuerpo dado (el anticuerpo parental), pero que también muestran propiedades biológicas asociadas con un isotipo de anticuerpo o subclase diferentes de la del anticuerpo parental. Pueden emplearse técnicas de ADN recombinante. El ADN clonado que codifica polipéptidos de anticuerpo particulares puede emplearse en dichos procedimientos, por ejemplo, en ADN que codifica el dominio constante de un anticuerpo del isotipo deseado. Véase, también Lantto y col., 2002, Methods Mol. Biol. 178: 303-16.

Por consiguiente, los anticuerpos de la presente invención incluyen aquellos que comprenden, por ejemplo, las combinaciones de dominios variables L2H1, L3H1, L4H1, L5H1, L1H2, L1H3, L1H4, L1H5, L1H6, L1H7, L1H8, L1H9, L1H10, L1H11, L2H4, L2H12, L2H13, L2H14, L6H1, L2H2, L2H3, L2H6, L2H7, L2H8, L2H9, L2H10, y L2H11, que tienen un isotipo deseado (por ejemplo, IgA, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgM, IgE, y IgD) así como fragmentos

Fab o F(ab')₂ de los mismos. Además, si se desea una IgG4 también puede desearse introducir una mutación puntual (CPSCP → CPPCP) en la región bisagra como se describe en Bloom y col., 1997, Protein Science 6:407, incorporado como referencia en este documento) para aliviar una tendencia a
5 formar enlaces disulfuro dentro de las cadenas H que puede conducir a heterogenicidad en los anticuerpos IgG4.

Además, las técnicas para obtener anticuerpos que tienen diferentes propiedades (es decir, afinidades variadas para el antígeno al que se unen) también son conocidas. En dicha técnica, mencionada como arrastre de
10 cadena, implica presentar repertorios de genes del dominio variable de inmunoglobulina en la superficie de bacteriófagos filamentosos, a menudo mencionado como presentación de fagos. El arrastre de cadena se ha usado para preparar anticuerpos de alta afinidad por el hapteno 2-feniloxazol-5-ona, como se describe por Marks y col., 1992, BioTechnology, 10: 779.

15 La evolución molecular de las regiones determinantes de complementariedad (CDR) en el centro del sitio de unión del anticuerpo también se ha usado para aislar anticuerpos con afinidad aumentada, por ejemplo, anticuerpos que tienen afinidad aumentada por c-erbB-2, como se describe por Schier y col., 1996, J. Mol. Biol. 263: 551. Por consiguiente, dichas
20 técnicas son útiles para preparar anticuerpos contra IL-4R.

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

25 La presente invención incluye adicionalmente anticuerpos

multiespecíficos, por ejemplo, anticuerpos biespecíficos, por ejemplo, dos diferentes epítopes de IL-4R, o un epítope de IL-4R y un epítope de IL-13R, mediante dos sitios o regiones de unión a antígeno diferentes. Además, los anticuerpos biespecíficos que se describen en este documento pueden

5 comprender un sitio de unión a antígeno de uno de los anticuerpos descritos en este documento y una segunda región de unión a antígeno de otro de los anticuerpos descritos en este documento. Como alternativa, un anticuerpo biespecífico puede comprender un sitio de unión a antígeno de uno de los anticuerpos descritos en este documento y un segundo sitio de unión a

10 antígeno de otro anticuerpo contra IL-4R que se conoce en la técnica (o uno que puede prepararse por procedimientos conocidos).

Se conocen numerosos procedimientos para preparar anticuerpos biespecíficos en la técnica, y se analizan en la Solcitud de Patente de Estados Unidos 09/839.632, presentada el 20 de abril de 2001 (incorporada como

15 referencia en este documento). Dichos procedimientos incluyen el uso de híbridos-hibridomas como se describe por Milstein y col., 1983, Nature 305: 537, y otros (Patente de Estados Unidos 4.474.893, Patente de Estados Unidos 6.106.833), y el acoplamiento químico de fragmentos de anticuerpos (Brennan y col., 1985, Science 229: 81; Glennie y col., 1987, J. Immunol. 139: 2367;

20 Patente de Estados Unidos 6.010.902). Además, los anticuerpos biespecíficos pueden producirse por un medio recombinante, por ejemplo usando restos de cremalleras de leucina (es decir, de las proteínas *Fos* y *Jun*, que forman de manera preferente heterodímeros; Kostelny y col., 1992, J. Immunol. 148: 1547) u otras estructuras de dominios interactivos de bloqueo y clave como se

25 describe en la Patente de Estados Unidos 5.582.996. Las técnicas útiles

246
216

adicionales incluyen las descritas en Kortt y col., 1997, *supra*; Patente de Estados Unidos 5.959.083; y la Patente de Estados Unidos 5.807.706.

En otro aspecto, la presente invención proporciona un derivado de un anticuerpo. El anticuerpo derivatizado puede comprender cualquier molécula o
5 sustancia que otorgue una propiedad deseada al anticuerpo, tal como semivida aumentada en un uso particular. El anticuerpo derivatizado puede comprender, por ejemplo, un resto detectable (o marcador) (por ejemplo, una molécula radiactiva, colorimétrica, antigénica o enzimática, una perla detectable (tal como una perla magnética o de oro), o una molécula que se una a otra
10 molécula (por ejemplo, biotina)), un resto terapéutico o de diagnóstico (por ejemplo, un resto radiactivo, citotóxico, o farmacéuticamente activo), o una molécula que aumenta la idoneidad del anticuerpo para un uso particular (por ejemplo, administración a un sujeto, tal como un sujeto humano, u otros usos *in vivo* o *in vitro*). Los ejemplos de moléculas que pueden usarse para derivatizar
15 un anticuerpo son albúmina (por ejemplo, albúmina de suero humano) y polietilenglicol (PEG). Los derivados unidos a albúmina y PEGilados de anticuerpos pueden prepararse usando técnicas bien conocidas en la técnica. En una realización, el anticuerpo está conjugado o unido de otro modo a transtretina (TTR) o una variante de TTR. La TTR o variante de TTR puede
20 modificarse químicamente con, por ejemplo, un compuesto químico seleccionado entre el grupo constituido por dextrano, pol(n-vinil pirrolidona), polietilenglicoles, homopolímeros de propilenglicol, copolímeros de óxido de polipropileno/óxido de etileno, polioles polioxetilados y alcoholes polivinílicos. Solicitud de Patente de Estados Unidos N° 20030195154.

25 Procedimientos Terapéuticos y Administración de Anticuerpos

279
217

Los procedimientos proporcionados en este documento comprenden administrar un anticuerpo anti-IL-4R a un sujeto, reduciendo de este modo una respuesta biológica inducida por IL-4 que juega un papel en una afección particular. En realizaciones particulares, los procedimientos de la invención
5 implican poner en contacto IL-4R endógeno con un anticuerpo anti-IL-4R, por ejemplo, en un procedimiento *ex vivo*.

El tratamiento incluye el alivio o prevención de al menos un síntoma de un trastorno, o reducción de la gravedad de la enfermedad, y similares. Un anticuerpo no tiene que producir una "cura" completa, o erradicar cada síntoma
10 o manifestación de una enfermedad, para constituir un agente terapéutico viable. Como se reconoce en el campo pertinente, los fármacos empleados como agentes terapéuticos pueden reducir la gravedad de una patología dada, pero no tienen que eliminar cada manifestación de la enfermedad para considerarse agentes terapéuticos útiles. Una realización de la invención se
15 refiere a un procedimiento que comprende administrar a un paciente un antagonista de IL-4R en una cantidad y durante un tiempo suficiente para inducir una mejora sostenida sobre la medida inicial de un indicador que refleja la gravedad del trastorno particular.

Los anticuerpos que inhiben la unión tanto de IL-4 como IL-13 a las
20 células se analizan en este documento. Un procedimiento para suprimir las actividades inducidas por IL-4 e inducidas por IL-13 en seres humanos comprende administrar una cantidad eficaz de dicho anticuerpo. Las afecciones inducidas por IL-4 o por IL-13, o por ambas citoquinas, pueden tratarse de este modo.

25 Como se entiende en el campo pertinente, los anticuerpos se

administran a un sujeto de un modo apropiado para la indicación. Los anticuerpos pueden administrarse por cualquiera técnica adecuada, incluyendo, aunque sin limitación, vía parenteral, tópica, o por inhalación. Si se inyecta, el anticuerpo puede administrarse, por ejemplo, por vía intraarticular, intravenosa, 5 intramuscular, intralesional, intraperitoneal o subcutánea, por inyección en embolada, o infusión continua. Se contempla la administración localizada, por ejemplo, en un sitio de enfermedad o lesión, como es el suministro transdérmico y liberación sostenida desde implantes. El suministro por inhalación incluye, por ejemplo, inhalación nasal u oral, uso de un nebulizador, 10 inhalación del antagonista en forma de aerosol, y similares. Otras alternativas incluyen gotas oculares; preparaciones orales que incluyen píldoras, jarabes, grageas o chicle; y preparaciones tópicas tales como lociones, geles, pulverizaciones, y pomadas.

El uso de anticuerpos anti-IL-4R en procedimientos *ex vivo* también se 15 contempla. Por ejemplo, puede ponerse en contacto la sangre de un paciente u otro fluido corporal con un anticuerpo que se une a IL-4R *ex vivo*. El anticuerpo puede unirse a una matriz insoluble adecuada o material de soporte sólido.

De manera ventajosa, los anticuerpos se administran en forma de una composición que comprende al menos un anticuerpo anti-IL-4R y uno o más 20 componentes adicionales tales como un vehículo, excipiente o diluyente fisiológicamente aceptable. La presente invención proporciona dichas composiciones que comprenden una cantidad eficaz de un anticuerpo anti-IL-4R, para su uso en los procedimientos proporcionados en este documento.

Las composiciones contienen anticuerpo o anticuerpos anti-IL-4R en, por 25 ejemplo, cualquiera de las formas descritas en este documento. El anticuerpo

279
219

puede ser un anticuerpo completo o un fragmento de unión a antígeno o un derivado modificado del mismo, por ejemplo.

Las composiciones pueden, por ejemplo, comprender un anticuerpo junto con un tampón, antioxidante tal como ácido ascórbico, polipéptido de bajo peso molecular (tal como los que tienen menos de 10 aminoácidos), proteína, aminoácido, carbohidrato tal como glucosa, sacarosa o dextrinas, agentes quelantes tales como EDTA, glutatión, y otros estabilizadores y excipientes. En la solución salina tamponada neutra o solución salina mezclada con albúmina de suero no específico son ejemplos de diluyentes apropiados. De acuerdo con las normas industriales apropiadas, pueden añadirse conservantes tales como alcohol bencílico. La composición puede formularse en forma de un liofilizado usando soluciones excipientes apropiadas (por ejemplo, sacarosa) como diluyentes. Los componentes adecuados son no tóxicos para los receptores a las dosificaciones y concentraciones empleados. Ejemplos adicionales de componentes que pueden emplearse en formulaciones farmacéuticas se presentan en *Remington's Pharmaceutical Sciences*, 16ª Ed., Mack Publishing Company, Easton, PA, 1980.

Los kits para su uso por médicos incluyen un anticuerpo anti-IL-4R y una etiqueta u otra instrucción para su uso en el tratamiento de cualquiera de las afecciones analizadas en este documento. El kit incluye preferiblemente una preparación estéril de uno o más anticuerpos anti-IL-4R, que puede estar en forma de una composición como se ha descrito en este documento, y puede estar en uno o más viales.

Las dosificaciones y la frecuencia de administración pueden variar de acuerdo con factores tales como la vía de administración, el anticuerpo

280
220

particular empleado, la naturaleza y gravedad de la enfermedad a tratar, si la afección es aguda o crónica, y el tamaño y condición general de sujeto. Las dosificaciones apropiadas pueden determinarse por procedimientos conocidos en la técnica pertinente, por ejemplo, en ensayos clínicos que pueden implicar

5 estudios de aumento de dosis.

Puede administrarse un anticuerpo, por ejemplo, una vez o más de una vez, por ejemplo, a intervalos regulares durante un período de tiempo. En realizaciones particulares, el anticuerpo se administra durante un período de al menos un mes o más, por ejemplo, durante uno, dos, o tres meses o incluso

10 indefinidamente. Para tratar afecciones crónicas, generalmente es más eficaz un tratamiento de larga duración. Sin embargo, para tratar afecciones agudas, la administración durante períodos más cortos, por ejemplo, de una a seis semanas, puede ser suficiente. En general, el anticuerpo se administra hasta que el paciente manifiesta un grado médicamente relevante de mejora sobre la

15 medida inicial para el indicador o indicadores elegidos.

Las realizaciones particulares de la presente invención implican administrar un anticuerpo a una dosificación de aproximadamente 1 ng de anticuerpo por kg de peso del sujeto por día ("1 ng/kg/día") a aproximadamente 10 mg/kg/día, más preferiblemente de aproximadamente 500 ng/kg/día a

20 aproximadamente 5 mg/kg/día, y mucho más preferiblemente de aproximadamente 5 µg/kg/día a aproximadamente 2 mg/kg/día, a un sujeto. En realizaciones adicionales, se administra un anticuerpo a adultos una vez por semana, dos veces por semana, o tres o más veces por semana, para tratar una enfermedad, afección o trastorno mediado por IL-4 y/o IL-13, por ejemplo,

25 un trastorno médico descrito en este documento. Si se inyecta, la cantidad

281
221

eficaz de anticuerpo por dosis para adultos puede variar de 1-20 mg/m², y preferiblemente es de aproximadamente 5-12 mg/m². Como alternativa, puede administrarse una dosis fija; la cantidad puede variar de 5-100 mg/dosis. El intervalo para una dosis fija es de aproximadamente 20-30 mg por dosis. En
5 una realización de la invención, una dosis fija de 25 mg/dosis se administra de manera repetida por inyección. Si se usa una vía de administración distinta a inyección, la dosis se ajusta de manera apropiada de acuerdo con las prácticas médicas convencionales. Un ejemplo de un régimen terapéutico implica inyectar una dosis de aproximadamente 20-30 mg de anticuerpo anti-IL-4R de
10 una a tres veces por semana durante un período de al menos tres semanas, aunque puede ser necesario un tratamiento durante períodos más largos para inducir el grado deseado de mejora. Para sujetos pediátricos (edad de 4-17), un régimen adecuado ejemplar implica la inyección subcutánea de 0,4 mg/kg, hasta una dosis máxima de 25 mg de anticuerpo administrado dos o tres veces
15 por semana.

Las realizaciones particulares de los procedimientos proporcionados en este documento implican inyección subcutánea de 0,5 mg a 10 mg, preferiblemente de 3 a 5 mg, de un anticuerpo anti-IL-4R, una vez o dos veces por semana. Otra realización se refiere a la administración pulmonar (por
20 ejemplo, por nebulizador) de 3 o más mg de anticuerpo una vez a la semana.

Los ejemplos de regímenes terapéuticos proporcionados en este documento comprenden inyección subcutánea de un anticuerpo anti-IL-4R una vez a la semana, a una dosis de 1,5 a 3 mg, para tratar asma, sarcoidosis pulmonar, nefrosis de cambio mínimo, uveítis autoinmune, crisis de células
25 falciformes, síndrome de Churg-Strauss, síndrome de Sjogren, síndrome

282.
m

linfoproliferativo autoinmune, preeclampsia, anemia hemolítica autoinmune, esófago de Barrett, enfermedad de Grave, enfermedad de Kawasaki, y tuberculosis cavitaria. La administración semanal de anticuerpo anti-IL-4R se continúa hasta que se consigue un resultado deseado, por ejemplo, la cura de
5 los síntomas del sujeto. El tratamiento puede reanudarse según sea necesario o, como alternativa, pueden administrarse dosis de mantenimiento.

En otra realización, se administra un anticuerpo al sujeto en una cantidad y durante un tiempo suficiente para inducir una mejora, preferiblemente una mejora sostenida, en al menos un indicador que refleja la
10 gravedad del trastorno que se está tratando. Pueden evaluarse diversos indicadores que reflejan el grado de la dolencia, enfermedad o afección del sujeto para determinar si la cantidad y tiempo de tratamiento son suficientes. Dichos indicadores incluyen, por ejemplo, indicadores reconocidos clínicamente de gravedad de la enfermedad, síntomas, o manifestaciones del trastorno en
15 cuestión. En la mayoría de los casos, se considera que una mejora está sostenida si el sujeto muestra la mejora en al menos dos ocasiones separadas por dos a cuatro semanas. El grado de mejora generalmente se determina por un médico, que hace esta determinación en base a los signos y síntomas, y que también puede emplear cuestionarios que se administran al sujeto, tales
20 como cuestionarios de calidad de vida desarrollados para una enfermedad dada.

Como ejemplo, en el tratamiento de hiperplasia de próstata benigna, se administra un anticuerpo anti-IL-4R al sujeto en una cantidad y durante un tiempo eficaz para la regresión de la cicatriz o curación completa. Pueden
25 darse dosis de mantenimiento o reanudarse el tratamiento según sea

283.
223

necesario.

Los niveles elevados de IL-4 se asocian con varios trastornos, como se ha analizado anteriormente. Los sujetos con un trastorno dado pueden explorarse, para identificar aquellos individuos que tienen niveles de IL-4 elevados, o para identificar aquellos con una respuesta inmune de tipo TH2 elevada, identificando de este modo a los sujetos que pueden beneficiarse más del tratamiento con un anticuerpo anti-IL-4R. Por tanto, los procedimientos de tratamiento proporcionados en este documento comprenden opcionalmente una primera etapa para medir el nivel de IL-4 de un sujeto. Puede administrarse un anticuerpo anti-IL-4R a un sujeto en el que los niveles de IL-4 están elevados por encima de lo normal. Alternativa o adicionalmente, puede pre-explorarse un sujeto para determinar si el sujeto tiene una respuesta inmune de tipo TH2 elevada, antes de la administración del anticuerpo o anticuerpos y/o antagonista o antagonistas contra una o más citoquinas de tipo TH2.

Los niveles de IL-4 de un sujeto (y, opcionalmente, de otras citoquinas de tipo TH2) pueden controlarse durante y/o después del tratamiento con un anticuerpo anti-IL-4R, para detectar la reducción en los niveles de las citoquinas. Para algunos trastornos, la incidencia de niveles elevados de IL-4, y el equilibrio entre las respuestas inmunes de tipo TH1 y de tipo TH2, puede variar de acuerdo con factores tales como la fase de la enfermedad o la forma particular de la enfermedad. Pueden emplearse técnicas conocidas para medir los niveles de IL-4, por ejemplo, en el suero de un sujeto, y para evaluar las respuestas inmunes de tipo TH2. Los niveles de citoquinas en muestras de sangre pueden medirse por ELISA, o por una ensayo de citoquinas combinado LUMINEXA™ (Luminex Corporation, Austin, TX) o DELFIA® (PerkinElmer

284
224

LifeSciences, Wallac Oy., Turku, Finlandia), por ejemplo.

Las realizaciones particulares de procedimientos y composiciones de la invención implican el uso de un anticuerpo anti-IL-4R y uno o más antagonistas de IL-4R adicionales, por ejemplo, dos o más anticuerpos o derivados de anticuerpo de la invención, o un anticuerpo o derivado de anticuerpo de la invención y uno o más antagonistas de IL-4R diferentes. En realizaciones adicionales, se administran anticuerpos anti-IL-4R solos o en combinación con otros agentes útiles para el tratamiento de la afección que padece el paciente. Los ejemplos de dichos agentes incluyen fármacos tanto proteicos como no proteicos. Cuando se coadministran múltiples agentes terapéuticos, las dosificaciones se pueden ajustar de acuerdo a ello, como se reconoce en la técnica pertinente. La "coadministración" y terapia de combinación no se limitan a la administración simultánea, sino que incluyen regímenes de tratamiento en los que se administra un anticuerpo contra IL-4R al menos una vez durante un transcurso de tratamiento que implica administrar al menos un agente terapéutico diferente al paciente.

Los ejemplos de otros agentes que pueden coadministrarse con anticuerpos contra IL-4R son anticuerpos, citoquinas, o receptores de citoquinas diferentes, que se eligen de acuerdo con la afección particular a tratar. Como alternativa, los fármacos no proteicos que son útiles en el tratamiento de una de las afecciones particulares analizadas anteriormente se pueden coadministrar con un antagonista de IL-4R.

Para tratar afecciones mediadas por IgE, se puede coadministrar un anticuerpo anti-IL-4R con un antagonista de IgE. Un ejemplo es un anticuerpo anti-IgE, por ejemplo, XOLAIR® (Genentech, South San Francisco, CA). Los

anticuerpos monoclonales anti-IgE humanizados se describen en, por ejemplo, Presta y col., 1993, J. Immunol. 151: 2623-32 y Adelroth y col., 2000, J. Allergy Clin. Immunol. 106: 253-59.

Los anticuerpos anti-IL-4R se pueden coadministrar con una antagonista de IL-5, que puede ser una molécula que impide la unión de IL-5 a un receptor de IL-5, tal como un anticuerpo anti-IL-5R o anti-IL-5 (por ejemplo, un anticuerpo monoclonal anti-IL-5 o anti-IL-5R humano o humanizado), o un receptor tal como un polipéptido del receptor de IL-5 humano soluble. Se ha implicado IL-5 como que juega un papel en la mediación de las respuestas alérgicas. Por tanto, la administración de un antagonista o antagonista de IL-4R e IL-5 se contempla para el tratamiento de reacciones alérgicas, incluyendo, aunque sin limitación, asma alérgica.

Los ejemplos adicionales de agentes que pueden usarse junto con anticuerpos contra IL-4R incluyen anticuerpos anti-IL-4, muteínas de IL-4, derivados de unión a IL-4 de IL-4R (como se describe en, por ejemplo, las Patentes de Estados Unidos 5.840.869; 5.599.905, 5.856.296, 5.767.065, 5.717.072, 6.391.581, 6.548.655, 6.472.179, y 5.844.099), derivados de unión a IL-13 de IL-13, derivados quiméricos de unión a IL-4 y/o IL-13 de IL-4R e IL-13R, muteínas de IL-13, y antagonistas de CD23 (por ejemplo, anticuerpos anti-CD23 tales como IDEC-152™ (IDEC Pharmaceuticals, San Diego, CA), Fosfodiesterasa 4 (por ejemplo, ROFLUMILAST®, Byk Gulden Pharmaceuticals, Konstanz, Alemania), integrinas (por ejemplo, R411™, Roche, Nutley, NJ), TIM, G α s, STAT6, y leucotrienos.

Para tratar el asma, puede coadministrarse un anticuerpo contra IL-4R con otras medicaciones anti-asmáticas, tales como corticoesteroides inhalados,

288
226

agonistas beta, antagonistas de leucotrienos, xantinas, fluticasona, salmeterol, albuterol, agentes no esteroideos tales como cromolina, y similares. Los anticuerpos contra IL-4R se pueden coadministrar con otras medicaciones anti-alérgicas para tratar reacciones alérgicas.

- 5 Una realización de la presente invención se refiere a la coadministración de un anticuerpo o derivado de anticuerpo de la invención y fluticasona y/o salmeterol para tratar un trastorno tal como asma. Las composiciones que comprenden un anticuerpo o derivado de anticuerpo de la invención, fluticasona, y salmeterol se proporcionan en este documento. ADVAIR
- 10 DISKUS® (GlaxoSmithKline, Research Triangle Park, NC) comprende propionato de fluticasona y xinafoato de salmeterol. ADVAIR DISKUS® y el anticuerpo o derivado de anticuerpo pueden suministrarse por cualquier vía de administración eficaz para el tratamiento o prevención de una enfermedad, trastorno, lesión, o afección particular por ejemplo, por inhalación para el
- 15 tratamiento de asma.

- Otro ejemplo de terapia de combinación comprende la coadministración de un anticuerpo o derivado de anticuerpo de la invención y un antagonista de IL-9 a un paciente que tiene asma. Puede emplearse cualquier antagonista de IL-9 adecuado, tal como un receptor de IL-9 (por ejemplo, una forma soluble del
- 20 mismo), un anticuerpo que impide la unión de IL-9 a un receptor de superficie celular (por ejemplo, un anticuerpo que se une a IL-9 o a un polipéptido del receptor de IL-9), u otro compuesto que inhibe la actividad biológica inducida por IL-9. Los receptores de IL-9 incluyen los descritos en el documento WO 93/18047 y las Patentes de Estados Unidos 5.789.237 y 5.962.289, que se
- 25 incorporan por la presente como referencia en este documento.

287
227

En una realización adicional de terapia de combinación, un procedimiento para el tratamiento de colitis ulcerosa comprende la coadministración de un anticuerpo o derivado de anticuerpo de la invención y al menos un antagonista de IL-1. Los ejemplos de antagonistas de IL-1 incluyen el receptor de IL-1 de tipo I, el receptor de IL-1 de tipo II, antagonista del receptor de IL-1 (IL-1Ra), anticuerpos antagonistas (de bloqueo) dirigidos contra IL-1, y anticuerpos antagonistas dirigidos contra un receptor de IL-1. Pueden emplearse diversas formas de los receptores, tales como fragmentos, variantes y fusiones, por ejemplo, una forma soluble del receptor de IL-1 de tipo II, por ejemplo, como se describe en la Patente de Estados Unidos 5.350.683, incorporada por la presente como referencia en este documento.

Un procedimiento de la presente invención comprende coadministrar un anticuerpo o derivado de anticuerpo de la presente invención, solo o en combinación con un antagonista o antagonistas de IL-13, a un paciente que tiene nefrosis de cambio mínimo, por ejemplo, para reducir la gravedad de la enfermedad.

Otro procedimiento proporcionado en este documento es un procedimiento para tratar diversas afecciones inflamatorias alérgicas, que comprende coadministrar un anticuerpo o derivado de anticuerpo de la invención y un antagonista o antagonistas del IL-13. Las afecciones tales como asma, alergias, y enfermedades pulmonares crónicas tales como fibrosis quística y enfermedad pulmonar obstructiva crónica se tratan por dicho procedimiento.

Cualquier antagonista de IL-13 adecuado puede emplearse, incluyendo aunque sin limitación receptores de IL-13 (preferiblemente formas solubles del

mismo), antagonistas del receptor de IL-13, anticuerpos dirigidos contra IL-13 o un IL-13R, otras proteínas que impiden la unión de IL-13 a un IL-13R, y compuestos que inhiben la transducción de señales mediada por IL-13. Los receptores de IL-13 y heterodímeros que comprenden polipéptidos de IL-13R
5 como componentes del mismo se han descrito anteriormente. Los anticuerpos que surgen contra IL-4R pueden explorarse para la capacidad de funcionar también como antagonistas de IL-13, como se ha analizado anteriormente.

Un procedimiento para tratar o prevenir una afección caracterizada por la función de la barrera epitelial reducida comprende coadministrar un
10 anticuerpo o derivado de anticuerpo de la invención y uno o más antagonistas de IL-13. Dichas afecciones se han analizado anteriormente. En una realización, la afección es asma. Realizaciones particulares se refieren a la coadministración de uno o más anticuerpos o derivados de anticuerpo de la invención y uno o más antagonistas de IL-13 a un paciente que tiene una
15 afección que implica la reducción de la función de la barrera epitelial pulmonar o función de la barrera epitelial intestinal, donde tanto IL-4 como IL-13 juegan un papel en la función de la barrera reducida. El efecto adverso de IL-13 en la función de la barrera epitelial pulmonar e intestinal puede confirmarse usando técnicas de ensayo tales como las descritas en el Ejemplo 3. Véase también,
20 Zund y col., 1996, J. Biol. Chem. 271: 7460-64.

Otro procedimiento proporcionado en este documento comprende coadministrar un anticuerpo o derivado de anticuerpo de la invención e interferón- γ (IFN- γ) a un paciente que tiene una afección que implica la reducción de la función de la barrera epitelial pulmonar. Opcionalmente, dicho
25 procedimiento comprende adicionalmente coadministrar uno o más

antagonistas de IL-13 al paciente (es decir, coadministrar un anticuerpo derivado de anticuerpo de la invención, IFN- γ , y un antagonista de IL-13). En una realización, el paciente tiene asma. El anticuerpo o derivado de anticuerpo de la invención, IFN γ , y/o antagonistas de IL-13 pueden administrarse por
5 cualquier procedimiento de suministro eficaz para tratar o prevenir una enfermedad, trastorno, afección, o lesión particular, por ejemplo, para tratar asma, por Inhalación o inyección.

Un procedimiento proporcionado en este documento para tratar asma comprende administrar un anticuerpo o derivado de anticuerpo de la invención
10 e Interferón- γ a un ser humano que tiene asma. Otro procedimiento para tratar asma comprende coadministrar un anticuerpo o derivado de anticuerpo de la invención, IFN- γ , y un antagonista de IL-13 a un ser humano que tiene asma. En una realización, se coadministra IFN- γ a un asmático, junto con un anticuerpo que funciona como antagonista tanto de IL-4 como de IL-13. Los
15 ejemplos de dichos anticuerpos se describen en otra parte en este documento.

Un anticuerpo único o derivado de anticuerpo de la invención puede funcionar como antagonista de IL-4 y antagonista de IL-13, como se ha analizado anteriormente. Como ejemplo de dicho agente, algunos anticuerpos surgidos contra IL-4R α pueden impedir la unión de complejos receptores tanto
20 de IL-4 como de IL-13, debido al componente compartido IL-4R α en dichos complejos receptores de múltiples subunidades (analizada anteriormente). Por tanto, un anticuerpo único o derivado de anticuerpo de la invención puede emplearse en un procedimiento para inhibir la reducción de la función de la barrera.

25 Un anticuerpo o derivado de anticuerpo de la invención puede

coadministrarse con uno o más antagonistas del receptor de leucotrienos para tratar trastornos tales como enfermedades inflamatorias alérgicas, por ejemplo, asma y alergias. Los ejemplos de antagonistas del receptor de leucotrienos incluyen, aunque sin limitación, montelukast (por ejemplo, SINGULAIR®, Merck & Co., Whitehouse, NJ), pranlukast (por ejemplo, ONON®, Ono Pharmaceuticals, Osaka, Japón), y zafirlukast (por ejemplo, ACCOLATE®, AstraZeneca, Wilmington, DE). Los fármacos que funcionan como inhibidores de 5-lipoxigenasa pueden coadministrarse con un antagonista de IL-4R para tratar el asma.

10 Los procedimientos proporcionados en este documento comprenden administrar un anticuerpo o derivado de anticuerpo de la invención y uno o más de lo siguiente a pacientes con síndrome de Churg-Strauss: antagonista o antagonistas de IL-4R, antagonista o antagonistas del IL-5, antagonista o antagonistas de IL-13 y antagonista o antagonistas de IgE. Un ejemplo de
15 dicho procedimiento implica coadministrar un anticuerpo o derivado de anticuerpo de la invención y un antagonista o antagonistas de IL-5 a un paciente con síndrome de Churg-Strauss. En otra realización, un anticuerpo o derivado de anticuerpo de la invención y un antagonistas o antagonistas de IgE se coadministran al paciente. En otra realización más, se coadministra al
20 paciente un anticuerpo o derivado de anticuerpo de la invención y un antagonista o antagonistas de IL-13.

La hormona relaxina se puede coadministrar con un anticuerpo o derivado de anticuerpo de la invención para tratar esclerodermia (esclerosis sistémica), fibrosis pulmonar idiopática, y cualquier otro trastorno caracterizado
25 por fibrosis pulmonar, tal como las afecciones que implican fibrosis del pulmón

que se han analizado anteriormente. La relaxina humana recombinante se prefiere para su uso en el tratamiento de seres humanos.

Un procedimiento para tratar hiperplasia de próstata benigna comprende coadministrar un anticuerpo o derivado de anticuerpo de la Invención y uno o
5 más agentes anti-inflamatorios adicionales. Los ejemplos de agentes que inhiben la inflamación incluyen antagonistas del factor de necrosis tumoral (TNF) y antagonistas de IL-17.

Puede emplearse cualquier antagonista de IL-17 adecuado, incluyendo, aunque sin limitación, un receptor de IL-17 (por ejemplo, formas solubles del
10 mismo), antagonistas del receptor de IL-17, anticuerpos dirigidos contra IL-17 o un receptor de IL-17, otras proteínas que impiden la unión de IL-17 a un receptor de IL-17, y compuestos que inhiben la transducción de señales mediada por IL-17. Un receptor de IL-17, incluyendo formas solubles del mismo y oligómeros del mismo, se describe en el documento WO 96/29408,
15 incorporado por la presente como referencia. Un procedimiento alternativo proporcionado en este documento comprende administrar un antagonista de IL-17 para tratar un paciente con hiperplasia de próstata benigna.

Del mismo modo, puede emplearse cualquier antagonista de TNF adecuado, incluyendo, aunque sin limitación, un receptor de TNF
20 (preferiblemente formas solubles del mismo), proteínas de fusión que comprenden un receptor de TNF (o que comprenden la parte de unión a TNF de un receptor de TNF), antagonistas del receptor de TNF, anticuerpos dirigidos contra TNF o un receptor de TNF, otras proteínas que impiden la unión de TNF a un receptor de TNF, y compuestos que inhiben la transducción
25 de señales mediada por TNF. Los ejemplos adicionales de inhibidores de TNF

son los fármacos talidomida y pentoxifilina. Preferiblemente se emplea la proteína receptora de TNF conocida como p75 o p80 de TNF-R. El antagonista de TNF preferido es un receptor de TNF humano soluble (sTNF-R) en forma dimerica, tal como dímeros de proteínas de fusión de TNF-R/Fc. Uno de dichos
5 dímeros es etanercept (ENBREL®, Immunex Corporation, Seattle, WA). El p75/p80 TNF-R, que incluye fragmentos solubles y otras formas del mismo, se describe en el documento WO 91/03553, incorporado por la presente como referencia en este documento.

Por consiguiente, en una realización de la presente invención, un
10 anticuerpo o derivado de anticuerpo de la invención se coadministra con un antagonista de TNF para tratar cualquier afección en la que las respuestas inmunes mediadas por IL-4R e inducidas por TNF no deseables juegan un papel, tal como inflamación. Un procedimiento proporcionado en este documento comprende coadministrar un anticuerpo o derivado de anticuerpo
15 de la invención y un antagonista de TNF a un paciente con enfermedad inflamatoria del intestino, enfermedad de Crohn, o colitis ulcerosa. Otras realizaciones se refieren a un procedimiento que comprende coadministrar un anticuerpo o derivado de anticuerpo de la invención y un antagonista de TNF a un paciente que tiene enfermedad de Kawasaki, anemia hemolítica
20 autoinmune, uveorretinitis autoinmune, síndrome linfoproliferativo autoinmune, síndrome de Sjogren, síndrome de fatiga crónica, o hepatotoxicidad inducida por un fármaco tal como diclofenaco.

Otro procedimiento proporcionado en este documento comprende coadministrar un anticuerpo derivado de anticuerpo de la invención y un
25 antagonista de TNF a una mujer embarazada que ha desarrollado

preeclampsia. En una realización, la administración del anticuerpo o derivado de anticuerpo de la invención y el antagonista de TNF continúa mientras dure el embarazo.

Las dosificaciones adecuadas de etanercept variarán de acuerdo con la naturaleza de la enfermedad a tratar, gravedad de la enfermedad, el tamaño del paciente, (por ejemplo, adulto o niño), y otros factores, como se reconoce en el campo pertinente. En una realización de los procedimientos proporcionados en este documento, se administra ENBREL[®] dos veces a la semana por inyección subcutánea a una dosis de 1 a 25 mg. Una realización de una dosificación pediátrica es 0,4 mg/kg. Los procedimientos particulares proporcionados en este documento comprenden la coadministración de un anticuerpo o derivado de anticuerpo de la invención y ENBREL[®] a un paciente que tiene síndrome linfoproliferativo autoinmune o síndrome de Sjogren, donde se da ENBREL[®] por inyección subcutánea a una dosis de 1 a 25 mg.

Para tratar la enfermedad de injerto contra huésped ("GVHD"), se coadministra un anticuerpo o derivado de anticuerpo de la invención con al menos uno de los siguientes agentes: un antagonista de TNF, un antagonista de IL-1, esteroides, o corticoesteroides. En una realización, el inhibidor de TNF es ENBREL[®]. En otra realización, el antagonista de IL-1 es una forma soluble del receptor de IL-1 de tipo II, por ejemplo, como se describe en la Patente de Estados Unidos 5.350.683. En otra realización, la GVHD está asociada con (por ejemplo, se desarrolla después de) trasplante de médula ósea. Puede emplearse un anticuerpo o derivado de anticuerpo de la invención en combinación con al menos uno de los agentes enumerados anteriormente, en procedimientos para suprimir una respuesta inmune dirigida contra células,

294
234

tejidos, y/o aloantígenos transplantados.

- Se describen varios antagonistas de citoquinas y otros agentes/fármacos en este documento como útiles para terapia de combinación (por ejemplo, coadministración con un anticuerpo o derivado de anticuerpo de la invención) para tratar enfermedades particulares. Se entiende que dichos antagonistas, agentes o fármacos también encuentran uso como agentes únicos en el tratamiento de esas enfermedades. También se entiende que la descripción de los procedimientos que implican la administración de un antagonista para una citoquina particular, para tratar una enfermedad, incluye la administración de un tipo de antagonista, y también incluye la administración de dos o más antagonistas diferentes para esa citoquina, salvo que se especifique otra cosa.

EJEMPLO 1: Preparación de Anticuerpos Monoclonales

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

- Los polipéptidos del receptor de IL-4 pueden emplearse como inmunógenos para generar anticuerpos monoclonales por técnicas convencionales, por ejemplo, técnicas descritas en la Patente de Estados Unidos 5.599.905, incorporada por la presente como referencia en su totalidad. Se reconoce que los polipéptidos en diversas formas pueden emplearse como inmunógenos, por ejemplo, proteínas de longitud completa, fragmentos de las mismas, proteínas de fusión de las mismas tales como funciones Fc, células que expresan la proteína recombinante en la superficie celular, etc.

- Para resumir un ejemplo de dicho procedimiento, se inyecta un inmunógeno IL-4R emulsionado en adyuvante completo de Freund por vía subcutánea en ratas Lewis, en cantidades que varían de 10-100 μ l. Tres

semanas después, los animales inmunizados se refuerzan con Inmunógeno adicional emulsionado en adyuvante incompleto de Freund y se refuerzan cada tres semanas después de ello. Se toman periódicamente muestras de suero por extracción de sangre retro-orbital o escisión de la punta de la cola para

5 ensayar por ensayo dot-blot, ELISA (ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas), o inhibición de la unión de ^{125}I -IL-4 a extractos de células que expresan IL-4R. Después de la detección de un título de anticuerpo apropiado, a los animales positivos se les da una inyección intravenosa final de antígeno en solución salina. De tres a cuatro días después, se sacrifican los animales, se

10 recolectan los esplenocitos, y se fusionan a la línea celular de mieloma murino AG8653. Las líneas celulares de hibridoma resultantes se siembran en placas de microtitulación múltiples en un medio selectivo HAT (hipoxantina, aminopterina, y timidina) para inhibir la proliferación de células no fusionadas, híbridos de mieloma, e híbridos de células esplénicas.

15 Los clones de hibridoma generados de este modo se exploran para la reactividad con IL-4R. La exploración inicial de los sobrenadante de hibridoma utiliza captura de anticuerpo y unión al receptor de ^{125}I -IL-4 parcialmente purificado. Los hibridomas que son positivos en este procedimiento de exploración se ensayan por una captura de anticuerpo modificado para detectar

20 líneas celulares de hibridoma que producen anticuerpo de bloqueo. Los hibridomas que secretan anticuerpo monoclonal capaz de inhibir la unión de ^{125}I -IL-4 a células que expresan IL-4R se detectan de este modo. Dichos hibridomas después se inyectan en las cavidades peritoneales de ratones desnudos para producir fluido ascítico que contiene altas concentraciones (>1

25 mg/ml) de anticuerpo monoclonal anti-IL-4R. Los anticuerpos monoclonales

resultante se pueden purificar por precipitación con sulfato amónico seguido por cromatografía de exclusión en gel, y/o cromatografía de afinidad en base a la unión del anticuerpo a la proteína G.

- Los procedimientos para generar anticuerpos humanos en ratones transgénicos se han descrito y son bien conocidos en la técnica. Véase, por ejemplo, Chen y col., 1993, *Internat. Immunol.* 5: 647-56; Chen y col., 1993, *EMBO J.* 12: 821-30; Choi y col., 1993, *Nature Genetics* 4: 117-23; Fishwild y col., 1996, *Nature Biotech.* 14: 845-51; Harding y col., 1995, *Annals New York Acad. Sci.*; Lonberg y col., 1994, *Nature* 368: 856-59; Lonberg, 1994, *Handbook*
- 5 *Exper. Pharmacol.* 113: 49-101; Lonberg y col., 1995, *Internat. Rev. Immunol.* 13: 65-93; Morrison, S, 1994, *Nature* 368: 812-13; Neuberger, 1996, *Nature Biotech.* 14: 826; Taylor y col., 1992, *Nuc. Acids Res.* 20: 6287-95; Taylor y col., 1994, *Internat. Immunol.* 6: 579-91; Tomizuka y col., 1997, *Nature Genetics* 16: 133-43; Tomizuka y col., 2000, *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 97: 722-
- 10 27; Tuallion y col., 1993, *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 90: 3720-24; Tuallion y col., 1994, *J. Immunol.* 152: 2912-20; Russel y col., 2000, *Infection and Immunity* Abril 2000: 1820-26; Gallo y col., 2000, *Eur. J. Immunol.* 30: 534-40; Davis y col., 1999, *Cancer Metastasis Rev.* 18: 421-25; Green, 1999, *J. Immunol. Methods* 231: 11-23; Jakobovits, 1998, *Advanced Drug Delivery Rev.* 31: 33-42;
- 15 Green y col., 1998, *J. Exp. Med.* 188: 483-95; Jakobovits, 1998, *Exp. Opin. Invest. Drugs* 7: 607-14; Tsuda y col., 1997, *Genomics* 42: 413-21; Mendez y col., 1997, *Nature Genetics* 15: 146-56; Jakobovits, 1996, *Weir's Handbook of Experimental Immunology, The Integrated Immune System Vol. IV*, 194.1-194.7; Mendez y col., 1995, *Genomics* 26: 294-307; Jakobovits, 1994, *Current*
- 20 *Biol.* 4: 761-63; Arbones, 1994, *Immunity* 1: 247-60; Green et. al., 1994, *Nature*

297
23X

Genetics 7: 13-21; Jakobovits y col., 1993, Nature 362: 255-58; Jakobovits y col., 1993, Proc. Nat. Acad. Sci. USA 90: 2551-55.

EJEMPLO 2: Ensayo para Evaluar la Actividad de Bloqueo

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

Los anticuerpos surgidos contra IL-4R humano (huIL-4R) se ensayan en forma de sobrenadantes de hibridoma o proteína purificada. Antes de la adición a los cultivos, se intercambia el tampón de los anticuerpos frente a medio de cultivo (RPMI 1640 más suero bovino fetal inactivado por calor al 10%) por centrifugación, usando dispositivos de filtración Centricon (Amicon) con un límite de 10kDa.

Las células B de sangre periférica humana se purifican como se ha descrito previamente (Morris y col., 1999, J. Biol. Chem. 274: 418-23). Las células B (3×10^5 /pocillo) en medio de cultivo se colocan en placas de microtitulación de fondo redondo de 96 pocillos y se preincuban a temperatura ambiente durante 30 minutos con anticuerpos de ensayo a las concentraciones finales indicadas. IL-4 o IL-13 humana recombinante después se añade a los cultivos a las concentraciones indicadas, y las células se cultivan durante 20-24 horas a 37°C en una atmósfera humidificada de CO₂ al 5%. Al final del período de cultivo, las células se lavan una vez en PBS + NaN₃ al 0,02% en una placa de cultivo de 96 pocillos y se resuspenden en tampón de bloqueo (suero de conejo normal al 2% + suero de cabra normal al 1% en PBS + NaN₃). Después

se añade anticuerpo monoclonal (mAb) contra CD23 conjugado con ficoeritrina (PE) o mAb control de isotipo conjugado con PE (ambos de Pharmingen) a las células a una dilución final de 1:10. Las células se incuban durante 30 minutos a 4°C, se lavan 3 veces en PBS + NaN₃ y se analizan en un FacScan (Becton Dickinson) para la expresión de CD23.

Las células cultivadas con medio de crecimiento de hibridoma o anticuerpo anti-hIL-4R humano no bloqueante de isotipo coincidente se incluyen como controles negativos. Se usa un mAb murino anti-huIL-4R (MAB 230, R&D Systems, Minneapolis, MN), que ha demostrado previamente bloquear la unión y función tanto de hIL-4 como hIL-13, como control positivo para la neutralización de la inducción de CD23 por IL-4 e IL-13.

EJEMPLO 3: Ensayos para Medir la Pérdida de la Función de la Barrera

Este ejemplo proporciona procedimientos para evaluar la capacidad de un antagonista de IL-4 de inhibir el daño inducido por IL-4 al tejido epitelial y pérdida de la función de la barrera epitelial.

En un aspecto, la presente invención proporciona un procedimiento para usar un antagonista de IL-4 para inhibir el daño inducido por IL-4 al epitelio, incluyendo, aunque sin limitación, el epitelio pulmonar o el epitelio intestinal. El daño al epitelio puede provocar la pérdida de la función de la barrera. A continuación se proporcionan ejemplos no limitantes de técnica que pueden emplearse para evaluar la capacidad de un antagonista de IL-4 para inhibir el daño inducido por IL-4 al epitelio y la pérdida de la función de la barrera epitelial.

Las células que pueden emplearse para preparar modelos *in vitro* de epitelio (barreras epiteliales) son conocidas. Por ejemplo, las células epiteliales

de pulmón humano Calu-3 son adecuadas para su uso en estudios de la función de la barrera (Ahdieh y col., 2001, Am. J. Physiol. Cell Physiol. 281: C2029-38). Otra línea celular adecuada es la línea celular de epitelio del intestino humano denominada T84. Las células T84 se cultivan en condiciones
5 que provocan la formación de una monocapa de células epiteliales en un soporte permeable, como se describe en Madara y col., 1985, J. Cell Biol., 101: 2124-33, Madara y col., 1989, J. Clin. Invest. 83: 724-27, y Youakim y col., 1999, Am. J. Physiol. 276 (Gastrointest. Liver Physiol. 39): G1279-88. La monocapa epitelial generada de este modo simula la barrera epitelial intestinal.

10 Las monocapas cultivadas se ensayan para una propiedad (por ejemplo, resistencia al flujo de iones transepitelial pasivo) que puede distinguir un epitelio intacto de un epitelio dañado. Uno de dichos ensayos determina si un compuesto radiomarcado particular es capaz de cruzar una monocapa epitelial. La filtración del compuesto radiomarcado a través de la monocapa indica que la
15 barrera es permeable en lugar de intacta. Por ejemplo, puede usarse el análisis de flujo de manitol para detectar el daño epitelial evaluando el movimiento de manitol radiomarcado (por ejemplo, ^3H manitol) a través de una monocapa (Véase, Madara y Stafford, *supra*).

Otros ejemplos de procedimientos para evaluar la condición de un
20 epitelio incluye procedimientos de formación de imágenes (por ejemplo, los analizados en Madara y Stafford, *supra*) y medidas de resistencia eléctrica transepitelial (por ejemplo, las analizadas en Youakim y Ahdieh, *supra*).

La Patente de Estados Unidos 6.033.688 ("la patente '688"), incorporada en este documento como referencia en su totalidad, también describe
25 procedimientos que pueden emplearse en estudios de la permeabilidad de la

barrera; véase, por ejemplo, los Ejemplos 1 y 4 de la patente. Las células epiteliales de traquea humana se cultivan en condiciones que producen una monocapa que muestra resistencia eléctrica transepitelial. La resistencia transepitelial (que indica una barrera intacta) se determina usando un
5 voltímetro. El efecto de una sustancia o tratamiento sobre la monocapa epitelial se evalúa exponiendo la monocapa a la sustancia o tratamiento, y después midiendo las actividades de transporte de iones en cámaras Ussing (columna 8, líneas 40-56). Pueden realizarse procedimientos similares que usan monocapas que se generan a partir de otros tipos de células, por ejemplo,
10 células epiteliales bronquiales de un paciente con fibrosis quística humano (véase, la patente '688, ejemplo 4, columna 11).

Por tanto, la capacidad de una sustancia o tratamiento de inhibir la reducción inducida por IL-4 en la función de la barrera de una capa epitelial puede evaluarse exponiendo la capa epitelial a IL-4 y a la sustancia o
15 tratamiento, ensayando la condición de la capa epitelial, y comparando la condición de la capa epitelial con la condición de una capa epitelial que se ha expuesto a IL-4 en ausencia de la sustancia o condición. Una mejora en la condición de la capa epitelial expuesta a la sustancia o tratamiento con relación a una capa epitelial no expuesta a la sustancia o tratamiento indica que la
20 sustancia o tratamiento inhibe el daño inducido por IL-4 al tejido epitelial y la pérdida de la función de la barrera epitelial.

En uno de dichos ensayos, una monocapa de células T84 sirvió como modelo *in vitro* de una barrera epitelial intestinal, como se ha analizado anteriormente. Se descubrió que IL-4 añadido al lado basolateral de células
25 epiteliales polarizadas reducía la función de la barrera en un 70% en 48-72

horas de tratamiento. Cuando se añadía un polipéptido del receptor de IL-4 soluble que consta del dominio extracelular al mismo tiempo que IL-4, la reducción de la función de la barrera se evitó, y la barrera se mantuvo al mismo nivel que las células no tratadas (control).

- 5 El procedimiento de ensayo también se realizó en una monocapa obtenida de células epiteliales pulmonares, que sirvió como modelo *in vitro* de una barrera epitelial pulmonar. Se descubrió que IL-4 añadido al lado basolateral de células epiteliales pulmonares polarizadas reducía la función de la barrera en un 50% en 48-72 horas de tratamiento. Cuando se añadió el
- 10 polipéptido del receptor del IL-4 al mismo tiempo que IL-4, la reducción en la función de la barrera se evitó, y la barrera se mantuvo al mismo nivel que las células no tratadas (control).

EJEMPLO 4: Ensayos para Medir la Actividad de Unión

- Este ejemplo proporciona procedimientos para evaluar la actividad de
- 15 unión de un anticuerpo anti-IL-4R.

- Se radiomarca un anticuerpo anti-huIL-4R (o una variante, derivado, o fragmento del mismo), con ^{125}I usando un análogo de cloramina-T en fase sólida (IODOGEN®, Pierce, St. Louis, MO) u otra técnica de radiomarcado adecuada, para una actividad específica de aproximadamente 3×10^{16}
- 20 cpm/mmol. La pérdida de bioactividad se evalúa comparando la inhibición de la unión u otro ensayo de inhibición biológica con la proteína no marcada correspondiente. Como alternativa, puede medirse la inhibición de la unión de IL-4 radiomarcada por el anticuerpo anti-huIL-4R (o una variante o fragmento del mismo). Los ensayos de unión en equilibrio sobre células que expresan IL-
- 25 4R se realizan en bandejas de microtitulación de 96 pocillos sustancialmente

como se describe en Idzerda, y col., 1990, J. Exp. Med. 171: 3 861-73. Brevemente, se incuban diluciones en serie de proteína radiomarcada en medio de unión (RPMI 1640, BSA al 2,5%, HEPES 20 mM, azida sódica al 0,02%, pH 7,2), suplementado con 0,5 mg/ml de IgG humana y suero humano al 5%, con células ($2,5 \times 10^6$ /pocillo) durante 2 horas a 4°C en un volumen total de 150 µl. Las sondas radiomarcadas libres y unidas se separan por microfugación a través de una mezcla de separación de ftalato-aceite y se cuentan en un contador gamma. Los ensayos de inhibición usan proteína radiomarcada a una concentración contraste de 0,5 nM en presencia o ausencia de inhibidores potenciales. La inhibición no específica se determina en presencia de un exceso de 100 veces de proteína no marcada. Las curvas teóricas basadas en el modelo de inhibición competitiva de un único sitio se ajustan a los datos como se describe en Dower y col., 1984, J Immunol. 132: 751. El porcentaje de inhibición se calcula de acuerdo con la ecuación $I(\%) = [100 K_i(I) / (1 + K_a(L) + K_i(I))]$, en la que I es la concentración molar de inhibidor, L es la concentración molar de proteína radiomarcada, y K_i y K_a son las constantes de afinidad del inhibidor y la proteína, respectivamente.

Las isotermas de unión e inhibición competitiva en equilibrio también pueden determinarse en placas de microtitulación de 96 pocillos revestidas con IL-4R/Fc o una proteína Fc de control, capturada a través del anticuerpo monoclonal de cabra anti-Fc humano (u otro anticuerpo anti-Fc humano adecuado). Brevemente, las placas se incuban con 5 microgramos/ml de anticuerpo anti-Fc humano en PBS a 4°C, se lavan dos veces con PBS, y después se incuban con IL-4R/Fc o una proteína Fc de control en PBS/Tween 20 al 0,01% durante aproximadamente 12 horas a 4°C y se lavan otra vez dos

veces con PBS. Las isotermas de unión en equilibrio usan diluciones en serie de proteína de unión marcada con ^{125}I en medio de unión, y los ensayos de inhibición usan una constante de anticuerpo anti-huIL-4R marcado con ^{125}I 0,5 nM en presencia o ausencia de Inhibidores competitivos potenciales no marcados, como se ha descrito anteriormente. Después de 2 horas a 4°C, las placas se lavan dos veces en PBS, y se libera la proteína unida específicamente con citrato 50 mM (pH 3,0), o tratamiento con SDS, y se mide el anticuerpo anti-huIL-4R marcado con ^{125}I liberado en un contador gamma. Los datos se procesan como se describe en Dower y col., *supra*.

La actividad de unión también se puede evaluar por resonancia de plasmón superficial usando un biosensor BIACORE® (BIAcore International AB, Uppsala, Suecia). Brevemente, se acopla de manera covalente anticuerpo de cabra anti-IgG humana, específico de la cadena gamma (u otro anticuerpo específico de la cadena gamma adecuado; GHFC) a chips biosensores usando un procedimiento y reactivos de acoplamiento de amina convencionales de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Se inyecta un anticuerpo anti-huIL-4R o un anticuerpo de control sobre el GHFC, Inmovilizado, y se pasan independientemente cantidades variadas de IL-4R sobre un chip revestido con GHFC (control negativo) así como un chip revestido con anticuerpo anti-huIL-4R. La regeneración del chip se consigue con un pulso de 10 microlitros de ácido fosfórico 100 mM a 10 microlitros/minuto. Toda la unión se realiza en HBS (HEPES 10 mM, NaCl 0,15 M, EDTA 3,4 mM, NaN_3 al 0,02 %, tensioactivo P20 al 0,005 %, pH 7,4).

EJEMPLO 5: Anticuerpos de Unión al Receptor de IL-4

Este ejemplo proporciona las secuencias de aminoácidos, y las

304
244

secuencias de nucleótidos que las codifican, de los dominios variables de las cadenas pesada y ligera de anticuerpos y derivados de anticuerpo que se unen a huL-4R.

Se aisló un anticuerpo IgG4 completamente humano que comprende la
5 región variable de cadena ligera de L1 y la región variable de cadena pesada de H1 como se describe en el Ejemplo 8 del documento WO 01/92340 (publicado el 6 de diciembre de 2001), incorporado en este documento como referencia en su totalidad.

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

GTCGACGCCGCCACCATGGA (A/G) TT (G/T) GGGCTGAGCTGG (SEC ID N° 70)

Sal I

15 *Degenerado; complementario a VH3030*

CTTGACCAGGCAGCCAGGGC

(SEC ID N° 71)

Complementario a huIgG, 3' del sitio Apa I

20 El producto de amplificación se insertó como un fragmento *Sal I/Apa I* en pGem-T easy (Promega, Madison, WI). Para mejorar la escisión, se reemplazó la secuencia líder de H1 nativa con la secuencia líder de VH3-30 (Matsuda y col., 1993, Nature Genetics 3: 88-94).

Se usó mutagénesis basada en oligonucleótidos del dominio variable de
25 cadena pesada de H1 para crear las secuencias del dominio variable de cadena pesada H2H14, mostrada en la Figura 3. Cada una de estas secuencias del dominio variable de cadena pesada demostró unirse, en

305.
245

combinación con la secuencia del dominio variable de cadena ligera de L1, al receptor alfa de IL-4 usando un ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas (ELISA).

Se generaron genes variables de la cadena ligera humana vírgenes por PCR a partir de células B humanas y se usaron para construir una biblioteca génica de ADNc de la región variable. Estos se exploraron en combinación con la región variable de cadena pesada H1 para la unión al receptor de IL-4 humano. Las regiones variables de cadena ligera L2-L6 se identificaron usando este procedimiento. Sus secuencias de nucleótidos y aminoácidos se muestran en las Figuras 2 y 3, respectivamente, donde las regiones CDR de cada cadena se indican en **negrita y subrayadas** en L1. Las regiones flanqueantes (FR) también se indican.

Para clonar la región constante kappa humana, se aisló el ARN a partir de una línea celular de hibridoma murina que expresa una cadena ligera kappa humana usando el RNeasy Mini Kit (Qiagen, Valencia, CA). El ARN se transcribió de manera inversa usando un Kit de Síntesis de ADNc de Primera Cadena (Amersham Pharmacia Biotech, Piscataway, NJ). El ácido nucleico de la cadena ligera kappa humana se amplificó por PCR a partir del ADNc en forma de un casete *Bsw* I/*Not* I usando los cebadores:

20 **ATCAAACGTACGGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATC** (SEC ID N° 72)
 Bsi I

GTTTAAACGGGCGGGATCCTAACACTCTCCCTGTTGAAGCTCTTT (SEC ID N° 73)
 Not I

25

Las regiones variables de cadena ligera L1 y L2 se unieron independientemente a la región constante de cadena ligera kappa humana del

306.
246

siguiente modo: se subclonaron simultáneamente un fragmento de ADN *Nhe* I/*Bsi* WI que codifica la región variable de cadena ligera de L1 y el fragmento de ADN *Bsi* WI/*Not* I que codifica la región constante kappa humana en un vector de expresión de mamíferos pDC409 (descrito en Giri y col., 1994, EMBO J. 13: 2822-30 y Patente de Estados Unidos N° 6.642.358, incorporados en este documento como referencia en su totalidad) usando una secuencia líder VklII. La secuencia líder VklII se construyó en forma de un casete *Sal* I/*Nhe* I por amplificación por PCR de Kozak (Kozak, 1989, J Cell Biol. 108: 229-41) y secuencias líder VklII A27 (Straubinger y col., 1988, J Mol Biol. 199: 23-34) usando los siguientes oligonucleótidos como cebadores:

GTGGAGCGCGCCACCATGGAAACCCAGCGCAGCTTCTCTCTCTCTGCTACTCTGGCTCCCAGA

Sal I

TACCGCTAGCGAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCA (SEC ID N° 74)

15 TGGAGACTGCGTCAACACAATTTCTGCTAGCGGTATCTGGGAGCCAGAGTAGCAGGAGGAAGAGAAGCTGGCGTGGGTTTCCATGGTGGCGCGCTCGAC (SEC ID N° 75)

Sal I

Se remplazaron los últimos seis nucleótidos en el líder VklII A27 natural con los nucleótidos que codifican un sitio *Nhe* I. Esto provocó cambios de aminoácidos de treonina a glicina y alanina a serina, pero no afectó al sitio de escisión.

Cada región variable de cadena pesada H1, H4, y H14 se unió a una región constante de IgG4 humana del siguiente modo: se insertaron de manera simultánea un fragmento de ADN *Sal* I/*Apa* I que codifica la región variable de cadena pesada de H1 y un fragmento de ADN *Apa* I/*Not* I que codifica la región constante de IgG4 humana (SEC ID N° 77) en el vector de expresión de

5

(SEC ID N° 76)

Who I

15

20

1

25

Se puede usar un ensayo de separación de células activadas por

fluorescencia (FACS) para evaluar la especificidad de especie y/o secuencia de un anticuerpo anti-receptor de IL-4. El dominio extracelular del receptor de IL-4 comprende un dominio receptor de citoquinas (dominio I) y un dominio de fibronectina de tipo III (dominio II) (Hage y col., 1999, Cell 97: 271-81). Las

5 construcciones que comprenden los dominios I y/o II del receptor de IL-4, los dominios I y/o II del receptor de IL-4 murino, combinaciones de los dominios I y II del receptor de IL-4 humano y murino, o fragmentos de los dominios I y/o II del receptor de IL-4 humano o murino se expresan como fusiones en fase de lectura C terminales con avidina de pollo. (Las secuencias del receptor de IL-4

10 murino se proporcionan en, por ejemplo, Schulte y col., 1997, J. Exp. Med. 186: 1419-29, Wrighton y col., 1992, Growth Factors 6: 103-18, Harada y col., 1990, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 87: 857-61, Mosley y col., 1989, Cell 59: 335-48.) Los vectores de expresión de proteínas de fusión se transfectan de manera transitoria individualmente en células 293T. Los medios condicionados se usan

15 como fuente de proteínas de fusión sin purificación. La marca de avidina de la construcción del receptor de IL-4 se captura de la solución por perlas revestidas con biotina. Se usa un anticuerpo anti-avidina marcado con FITC para detectar la parte de avidina de la construcción de fusión. Se incuba un anticuerpo anti-receptor de IL-4 con la construcción de receptor de IL-4

20 capturado por biotina. Se usa F(ab')₂ de ratón anti-IgG humana marcado con FITC como anticuerpo secundario para la detección. La mezcla de perlas-anticuerpo se somete a análisis FACS en un Becton Dickinson Bioscience FACScan (BD, Franklin Lakes, NJ).

Usando el procedimiento anterior, se descubrió que varios anticuerpos

25 anti-receptor de IL-4 descritos en este documento se unen bien a una

309
249

construcción que comprende los dominios I y II del receptor de IL-4 humano pero no se unen a una construcción que comprende los dominios I y II del receptor de IL-4 murino. Los anticuerpos unidos débilmente a una construcción que comprende el dominio I del receptor de IL-4 humano (pero que no
5 comprende el dominio II) y no del todo a una construcción que comprende el dominio II del receptor de IL-4 humano (pero que no comprende el dominio I). Se descubrió adicionalmente que los anticuerpos se unían bien a una construcción que comprende el dominio I del receptor de IL-4 humano y el dominio II del receptor de IL-4 murino.

10 Los ejemplos anteriores, tanto de trabajo como proféticos, son no limitantes y se proporcionan para ilustrar las realizaciones particulares de la presente invención. Todas las referencias citadas en este documento se incorporan como referencia en su totalidad.

310
250

Habiendo descrito la invención como antecede, se declara como propiedad lo contenido en las siguientes.

REIVINDICACIONES

1. Un anticuerpo aislado, que comprende
 - 5 a) un dominio variable de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada entre el grupo constituido por:
 - i) una secuencia al menos un 80% idéntica a una secuencia seleccionada entre el grupo constituido por las SEC ID N° 4, 6, 8, 10, 12, y 14,
 - ii) una secuencia de al menos 15 aminoácidos contiguos de una secuencia
10 seleccionada entre un grupo constituido por las SEC ID N° 4, 6, 8, 10, 12, y 14,
 - iii) una secuencia que está codificada por una secuencia de nucleótidos que es al menos un 80% idéntica a una secuencia de nucleótidos seleccionada entre el grupo constituido por las SEC ID N° 3, 5, 7, 9, 11, y 13, y
 - iv) una secuencia que está codificada por una secuencia de nucleótidos que
15 hibrida en condiciones de rigurosidad moderada con la complementaria de una secuencia de nucleótidos seleccionada entre el grupo constituido por las SEC ID N° 3, 5, 7, 9, 11, y 13,
 - o
 - b) un dominio variable de cadena pesada que comprende una secuencia de
20 aminoácidos seleccionada entre un grupo constituido por:
 - i) una secuencia de al menos un 80% idéntica a una secuencia seleccionada entre el grupo constituido por las SEC ID N° 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46, 48, 50, 52, 54, 56, 58, 60, y 62,
 - ii) una secuencia de al menos 15 aminoácidos contiguos de una secuencia
25 seleccionada entre el grupo constituido por las SEC ID N° 16, 18, 20, 22, 24,

3H
251

26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46, 48, 50, 52, 54, 56, 58, 60, y 62,

iii) una secuencia que está codificada por una secuencia de nucleótidos que es al menos un 80% idéntica a una secuencia de nucleótidos seleccionada entre el grupo constituido por las SEC ID N° 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29, 31, 33, 35,

5 37, 39, 41, 43, 45, 47, 49, 51, 53, 55, 57, 59, y 61, y

iv) una secuencia que está codificada por una secuencia de nucleótidos que hibrida en condiciones moderadamente rigurosas a la complementaria de una secuencia de nucleótidos seleccionada entre el grupo constituido por las SEC ID N° 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, 45, 47, 49, 51,

10 53, 55, 57, 59, y 61,

o

c) dicho dominio variable de cadena ligera de a) y dicho dominio variable de cadena pesada de b), con la condición de que dicho anticuerpo no comprenda la secuencia de aminoácidos del dominio variable de cadena ligera de la SEC ID N° 4, SEC ID N° 63, SEC ID N° 65, SEC ID N° 67, o SEC ID N° 69, y la secuencia de aminoácidos del dominio variable de cadena pesada de la SEC ID N° 16, SEC ID N° 64, SEC ID N° 66, o SEC ID N° 68,

y donde dicho anticuerpo se une al receptor de IL-4 humano.

20 2. El anticuerpo de la reivindicación 1, que comprende

a) un dominio variable de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada entre el grupo constituido por:

i) una secuencia al menos un 85% idéntica a una secuencia seleccionada entre el grupo constituido por las SEC ID N° 4, 6, 8, 10, 12, y 14,

25 ii) una secuencia de al menos 15 aminoácidos contiguos de una secuencia

seleccionada entre un grupo constituido por las SEC ID N° 4, 6, 8, 10, 12, y 14,
iii) una secuencia que está codificada por una secuencia de nucleótidos que es
al menos un 85% idéntica a una secuencia de nucleótidos seleccionada entre
el grupo constituido por las SEC ID N° 3, 5, 7, 9, 11, y 13, y

- 5 iv) una secuencia que está codificada por una secuencia de nucleótidos que
hibrida en condiciones de rigurosidad moderada con la complementaria de una
secuencia de nucleótidos seleccionada entre el grupo constituido por las SEC
ID N° 3, 5, 7, 9, 11, y 13,

o

- 10 b) un dominio variable de cadena pesada que comprende una secuencia de
aminoácidos seleccionada entre un grupo constituido por:

i) una secuencia de al menos un 85% idéntica a una secuencia seleccionada
entre el grupo constituido por las SEC ID N° 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32,
34, 36, 38, 40, 42, 44, 46, 48, 50, 52, 54, 56, 58, 60, y 62,

- 15 ii) una secuencia de al menos 15 aminoácidos contiguos de una secuencia
seleccionada entre el grupo constituido por las SEC ID N° 16, 18, 20, 22, 24,
26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46, 48, 50, 52, 54, 56, 58, 60, y 62,

iii) una secuencia que está codificada por una secuencia de nucleótidos que es
al menos un 85% idéntica a una secuencia de nucleótidos seleccionada entre
20 el grupo constituido por las SEC ID N° 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29, 31, 33, 35,
37, 39, 41, 43, 45, 47, 49, 51, 53, 55, 57, 59, y 61, y

iv) una secuencia que está codificada por una secuencia de nucleótidos que
hibrida en condiciones moderadamente rigurosas a la complementaria de una
secuencia de nucleótidos seleccionada entre el grupo constituido por las SEC

- 25 ID N° 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, 45, 47, 49, 51,

3/13
293

53, 55, 57, 59, y 61,

o

c) dicho dominio variable de cadena ligera de a) y dicho dominio variable de cadena pesada de b).

5

3. El anticuerpo de la reivindicación 2, que comprende

a) un dominio variable de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada entre el grupo constituido por:

10 i) una secuencia al menos un 90% idéntica a una secuencia seleccionada entre el grupo constituido por las SEC ID N° 4, 6, 8, 10, 12, y 14,

ii) una secuencia de al menos 35 aminoácidos contiguos de una secuencia seleccionada entre un grupo constituido por las SEC ID N° 4, 6, 8, 10, 12, y 14,

15 iii) una secuencia que está codificada por una secuencia de nucleótidos que es al menos un 90% idéntica a una secuencia de nucleótidos seleccionada entre el grupo constituido por las SEC ID N° 3, 5, 7, 9, 11, y 13, y

o

b) un dominio variable de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada entre un grupo constituido por:

20 i) una secuencia al menos un 90% idéntica a una secuencia seleccionada entre el grupo constituido por las SEC ID N° 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46, 48, 50, 52, 54, 56, 58, 60, y 62,

ii) una secuencia de al menos 35 aminoácidos contiguos de una secuencia seleccionada entre el grupo constituido por las SEC ID N° 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46, 48, 50, 52, 54, 56, 58, 60, y 62,

25 iii) una secuencia que está codificada por una secuencia de nucleótidos que es

314
254

al menos un 90% idéntica a una secuencia de nucleótidos seleccionada entre el grupo constituido por las SEC ID N° 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, 45, 47, 49, 51, 53, 55, 57, 59, y 61, y

o

- 5 c) dicho dominio variable de cadena ligera de a) y dicho dominio variable de cadena pesada de b).

4. El anticuerpo de la reivindicación 3, que comprende

- a) un dominio variable de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada entre el grupo constituido por:

i) una secuencia al menos un 95% idéntica a una secuencia seleccionada entre el grupo constituido por las SEC ID N° 4, 6, 8, 10, 12, y 14,

ii) una secuencia de al menos 50 aminoácidos contiguos de una secuencia seleccionada entre el grupo constituido por las SEC ID N° 4, 6, 8, 10, 12, y 14,

15 y

iii) una secuencia que está codificada por una secuencia de nucleótidos que es al menos un 95% idéntica a una secuencia de nucleótidos seleccionada entre el grupo constituido por las SEC ID N° 3, 5, 7, 9, 11, y 13,

o

- 20 b) un dominio variable de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada entre un grupo constituido por:

i) una secuencia al menos un 95% idéntica a una secuencia seleccionada entre el grupo constituido por las SEC ID N° 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46, 48, 50, 52, 54, 56, 58, 60, y 62,

- 25 ii) una secuencia de al menos 50 aminoácidos contiguos de una secuencia

315
255

- seleccionada entre el grupo constituido por las SEC ID N° 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46, 48, 50, 52, 54, 56, 58, 60, y 62, y
- iii) una secuencia que está codificada por una secuencia de nucleótidos que es al menos un 95% idéntica a una secuencia de nucleótidos seleccionada entre
- 5 el grupo constituido por las SEC ID N° 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, 45, 47, 49, 51, 53, 55, 57, 59, y 61,
- o
- c) dicho dominio variable de cadena ligera de a) y dicho dominio variable de cadena pesada de b).

10

5. El anticuerpo de la reivindicación 4, que comprende
- a) un dominio variable de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada entre el grupo constituido por:
- i) una secuencia al menos un 97% idéntica a una secuencia seleccionada entre
- 15 el grupo constituido por las SEC ID N° 4, 6, 8, 10, 12, y 14,
- ii) una secuencia de al menos 70 aminoácidos contiguos de una secuencia seleccionada entre el grupo constituido por las SEC ID N° 4, 6, 8, 10, 12, y 14,
- y
- iii) una secuencia que está codificada por una secuencia de nucleótidos que es
- 20 al menos un 97% idéntica a una secuencia de nucleótidos seleccionada entre el grupo constituido por las SEC ID N° 3, 5, 7, 9, 11, y 13,
- o
- b) un dominio variable de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada entre un grupo constituido por:
- 25 i) una secuencia al menos un 97% idéntica a una secuencia seleccionada entre

- el grupo constituido por las SEC ID N° 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46, 48, 50, 52, 54, 56, 58, 60, y 62,
- ii) una secuencia de al menos 70 aminoácidos contiguos de una secuencia seleccionada entre el grupo constituido por las SEC ID N° 16, 18, 20, 22, 24, 5 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46, 48, 50, 52, 54, 56, 58, 60, y 62, y
- iii) una secuencia que está codificada por una secuencia de nucleótidos que es al menos un 97% idéntica a una secuencia de nucleótidos seleccionada entre el grupo constituido por las SEC ID N° 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, 45, 47, 49, 51, 53, 55, 57, 59, y 61,
- 10 o
- c) dicho dominio variable de cadena ligera de a) y dicho dominio variable de cadena pesada de b).

6. El anticuerpo de la reivindicación 5, que comprende
- 15 a) un dominio variable de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada entre el grupo constituido por:
- i) una secuencia al menos un 99% idéntica a una secuencia seleccionada entre el grupo constituido por las SEC ID N° 4, 6, 8, 10, 12, y 14,
- ii) una secuencia de al menos 90 aminoácidos contiguos de una secuencia 20 seleccionada entre el grupo constituido por las SEC ID N° 4, 6, 8, 10, 12, y 14, y
- iii) una secuencia que está codificada por una secuencia de nucleótidos que es al menos un 99% idéntica a una secuencia de nucleótidos seleccionada entre el grupo constituido por las SEC ID N° 3, 5, 7, 9, 11, y 13,
- 25 o

317
257

b) un dominio variable de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada entre un grupo constituido por:

i) una secuencia al menos un 99% idéntica a una secuencia seleccionada entre el grupo constituido por las SEC ID N° 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36,
5 38, 40, 42, 44, 46, 48, 50, 52, 54, 56, 58, 60, y 62,

ii) una secuencia de al menos 90 aminoácidos contiguos de una secuencia seleccionada entre el grupo constituido por las SEC ID N° 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46, 48, 50, 52, 54, 56, 58, 60, y 62, y

iii) una secuencia que está codificada por una secuencia de nucleótidos que es
10 al menos un 99% idéntica a una secuencia de nucleótidos seleccionada entre el grupo constituido por las SEC ID N° 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, 45, 47, 49, 51, 53, 55, 57, 59, y 61,

o

c) dicho dominio variable de cadena ligera de a) y dicho dominio variable de
15 cadena pesada de b).

7. El anticuerpo de la reivindicación 6, que comprende

a) un dominio variable de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada entre el grupo constituido por las SEC ID N° 4, 6, 8,
20 10, 12, y 14,

o

b) un dominio variable de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada entre el grupo constituido por las SEC ID N° 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46, 48, 50, 52, 54, 56, 58, 60,
25 y 62,

318
258

o

c) dicho dominio variable de cadena ligera de a) y dicho dominio variable de cadena pesada de b)

5 8. El anticuerpo de la reivindicación 1 que comprende.

a) un dominio variable de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos que difiere de la SEC ID N° 4 en al menos una sustitución de aminoácidos seleccionada entre el grupo constituido por S28T, S30N, S30G, S31N, S32D, S32N, A52T, S54Y, T57P, T57S, G93D, S94H, S94R, P96A, 10 P97G, y T99M,

o

b) un dominio variable de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos que difiere de la SEC ID N° 16 en al menos una sustitución de aminoácidos seleccionada entre el grupo constituido por N58S, Y101W, F102Y, 15 D103T, D103N, D103P, Y104H, Y104N, Y104W, y Y104R, y T99M

o

c) dicho dominio variable de cadena ligera de a) y dicho dominio variable de cadena pesada de b).

20 9. El anticuerpo de la reivindicación 1, que comprende

a) un dominio variable de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos que difiere de la SEC ID N° 4 solo por:

i) al menos una sustitución de aminoácidos seleccionado entre el grupo constituido por S28T, S30N, S30G, S31N, S32D, S32N, A52T, S54Y, T57P, 25 T57S, G93D, S94H, S94R, P96A, P97G, y T99M, y

319
259

ii) al menos una sustitución de aminoácidos seleccionada entre el grupo constituido por E1D, L4M, S7T, G9A, K40R, F50Y, S68F, S77T, V86I, K105R, V106L, y E107D,

o

5 b) un dominio variable de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos que difiere de la SEC ID N° 16 solo por:

i) al menos una sustitución de aminoácidos seleccionado entre el grupo constituido por N58S, Y101W, F102Y, D103T, D103N, D103P, Y104H, Y104N, Y104W, y Y104R, y

10 ii) al menos una sustitución de aminoácidos seleccionado entre el grupo constituido por Q6E, H13Q, G24A, R86S, y M90T,

o

c) el dominio variable de cadena ligera de a) y el dominio variable de cadena pesada de b)

15

10. El anticuerpo de la reivindicación 1, en el que:

a. la CDR1 de cadena ligera comprende una secuencia seleccionada entre el grupo constituido por los restos 24-35 de la SEC ID N° 6, los restos 24-35 de la SEC ID N° 8, los restos 24-35 de la SEC ID N° 10, los restos 24-35 de la
20 SEC ID N° 12; y los restos 24-35 de la SEC ID N° 14, o

b. la CDR2 de cadena ligera comprende una secuencia seleccionada entre el grupo constituido por los restos 51-57 de la SEC ID N° 4, los restos 51-57 de la SEC ID N° 6, los restos 51-57 de la SEC ID N° 10, y los restos 51-57 de la SEC ID N° 12, o

25 c. la CDR3 de cadena ligera comprende una secuencia seleccionada entre

320.
260

el grupo constituido por los restos 90-99 de la SEC ID N° 4, los restos 90-99 de la SEC ID N° 6, los restos 90-99 de la SEC ID N° 8, y los restos 90-99 de la SEC ID N° 14, o

5 d. la CDR1 de cadena pesada comprende los restos de la secuencia 31-35 de la SEC ID N° 16, o

e. la CDR2 de cadena pesada comprende una secuencia seleccionada entre el grupo constituido por los restos 50-65 de la SEC ID N° 16, y los restos 50-65 de la SEC ID N° 18, o

10 f. la CDR3 de cadena pesada comprende una secuencia seleccionada entre el grupo constituido por los restos 90-99 de la SEC ID N° 4, los restos 98-104 de la SEC ID N° 18, los restos 98-104 de la SEC ID N° 20, los restos 98-104 de la SEC ID N° 22, los restos 98-104 de la SEC ID N° 24, los restos 98-104 de la SEC ID N° 26, los restos 98-104 de la SEC ID N° 30, y los restos 98-104 de la SEC ID N° 34.

15

11. El anticuerpo de la reivindicación 10, en el que:

a. la CDR1 de cadena ligera comprende una secuencia seleccionada entre el grupo constituido por los restos 24-35 de la SEC ID N° 6, los restos 24-35 de la SEC ID N° 8, los restos 24-35 de la SEC ID N° 10, los restos 24-35 de la
20 SEC ID N° 12; y los restos 24-35 de la SEC ID N° 14, y

b. la CDR2 de cadena ligera comprende una secuencia seleccionada entre el grupo constituido por los restos 51-57 de la SEC ID N° 4, los restos 51-57 de la SEC ID N° 6, los restos 51-57 de la SEC ID N° 10, y los restos 51-57 de la SEC ID N° 12, y

25 c. la CDR3 de cadena ligera comprende una secuencia seleccionada entre

el grupo constituido por los restos 90-99 de la SEC ID N° 4, los restos 90-99 de la SEC ID N° 6, los restos 90-99 de la SEC ID N° 8, y los restos 90-99 de la SEC ID N° 14,

5 d. la CDR1 de cadena pesada comprende los restos de la secuencia 31-35 de la SEC ID N° 16, y

e. la CDR2 de cadena pesada comprende una secuencia seleccionada entre el grupo constituido por los restos 50-65 de la SEC ID N° 16, y los restos 50-65 de la SEC ID N° 18, y

10 f. la CDR3 de cadena pesada comprende una secuencia seleccionada entre el grupo constituido por los restos 90-99 de la SEC ID N° 4, los restos 98-104 de la SEC ID N° 18, los restos 98-104 de la SEC ID N° 20, los restos 98-104 de la SEC ID N° 22, los restos 98-104 de la SEC ID N° 24, los restos 98-104 de la SEC ID N° 26, los restos 98-104 de la SEC ID N° 30, y los restos 98-104 de la SEC ID N° 34.

15

12. El anticuerpo de la reivindicación 1 en el que:

a) la FR1 de cadena ligera comprende una secuencia seleccionada entre el grupo constituido por los restos 1-23 de la SEC ID N° 4, los restos 1-23 de la SEC ID N° 10, los restos 1-23 de la SEC ID N° 12, y los restos 1-23 de la SEC
20 ID N° 14, o

b) la cadena ligera FR2 comprende una secuencia seleccionada entre el grupo constituido por los restos 36-50 de la SEC ID N° 4, y los restos 36-50 de la SEC ID N° 14, o

c) la FR3 de cadena ligera comprende una secuencia seleccionada entre el
25 grupo constituido por los restos 58-89 de la SEC ID N° 4, los restos 58-89 de la

SEC ID N° 10, y los restos 58-89 de la SEC ID N° 12, o

d) la FR4 de cadena ligera comprende una secuencia seleccionada entre el grupo constituido por los restos 100-109 de la SEC ID N° 4, los restos 100-109 de la SEC ID N° 8, y los restos 100-109 de la SEC ID N° 12, o

5 e) la FR1 de cadena pesada comprende una secuencia seleccionada entre el grupo constituido por los restos 1-30 de la SEC ID N° 16, y los restos 1-30 de la SEC ID N° 42, o

f) la FR2 de cadena pesada comprende la secuencia de restos 36-49 de la SEC ID N° 16, o

10 g) la FR3 de cadena pesada comprende una secuencia seleccionada entre el grupo constituido por los restos 66-97 de la SEC ID N° 16, los restos 66-97 de la SEC ID N° 18, y los restos 66-97 de la SEC ID N° 42, o

h) la cadena pesada FR4 comprende la secuencia de restos 105-115 de la SEC ID N° 16.

15

13. El anticuerpo de la reivindicación 12 en el que:

a) la FR1 de cadena ligera comprende una secuencia seleccionada entre el grupo constituido por los restos 1-23 de la SEC ID N° 4, los restos 1-23 de la SEC ID N° 10, los restos 1-23 de la SEC ID N° 12, y los restos 1-23 de la SEC

20 ID N° 14, y

b) la FR2 de cadena ligera comprende una secuencia seleccionada entre el grupo constituido por los restos 36-50 de la SEC ID N° 4, y los restos 36-50 de la SEC ID N° 14, y

c) la FR3 de cadena ligera comprende una secuencia seleccionada entre el

25 grupo constituido por los restos 58-89 de la SEC ID N° 4, los restos 58-89 de la

SEC ID N° 10, y los restos 58-89 de la SEC ID N° 12, y

d) la cadena ligera FR4 comprende una secuencia seleccionada entre el grupo constituido por los restos 100-109 de la SEC ID N° 4, los restos 100-109 de la SEC ID N° 8, y los restos 100-109 de la SEC ID N° 12, y

5 e) la FR1 de cadena pesada comprende una secuencia seleccionada entre el grupo constituido por los restos 1-30 de la SEC ID N° 16, y los restos 1-30 de la SEC ID N° 42, y

f) la FR2 de cadena pesada comprende la secuencia de restos 36-49 de la SEC ID N° 16, y

10 g) la FR3 de cadena pesada comprende una secuencia seleccionada entre el grupo constituido por los restos 66-97 de la SEC ID N° 16, los restos 66-97 de la SEC ID N° 18, y los restos 66-97 de la SEC ID N° 42, y

h) la FR4 de cadena pesada comprende la secuencia de restos 105-115 de la SEC ID N° 16.

15

14. El anticuerpo de la reivindicación 1, en el que dicho anticuerpo se selecciona entre el grupo constituido por L1H1, L1H2, L1H3, L1H4, L1H5, L1H6, L1H7, L1H8, L1H9, L1H10, L1H11, L2H1, L2H2, L2H3, L2H4, L2H5, L2H6, L2H7, L2H8, L2H9, L2H10, L2H11, L2H12, L2H13, L2H14, L3H1, L4H1,
20 L5H1, y L8H1.

15. El anticuerpo de la reivindicación 1 en el que dicho anticuerpo es un anticuerpo humano, humanizado, o quimérico.

25 16. El anticuerpo de la reivindicación 1 en el que dicho anticuerpo es un

324
204

anticuerpo monoclonal.

17. El anticuerpo de la reivindicación 1, en el que dicho anticuerpo se selecciona entre el grupo constituido por una IgD, IgE, IgM, IgG1, IgG2, IgG3, 5 IgG4, y IgG4 que tiene al menos una mutación en una región bisagra que alivia una tendencia a formar un enlace disulfuro dentro de la cadena H del anticuerpo.

18. Un polipéptido aislado que comprende una parte de unión al receptor de 10 IL-4 del anticuerpo de la reivindicación 1.

19. El polipéptido aislado de la reivindicación 18, en el que dicho polipéptido comprende un Fab, F(ab')₂, scFv, diacuerpo, triacuerpo, o tetracuerpo.

15 20. Un ácido nucleico aislado que comprende

a) una secuencia de nucleótidos, o la complementaria de la misma, que codifica la cadena ligera del anticuerpo de la reivindicación 1(a), o

b) una secuencia de nucleótidos, o la complementaria de la misma, que codifica la cadena pesada del anticuerpo de la reivindicación 1(b),

20 o

c) una secuencia de nucleótidos, o la complementaria de la misma, que codifica un polipéptido que comprende una parte de unión al receptor de IL-4 del anticuerpo de la reivindicación 1, o

d) la secuencia de nucleótidos de a) y la secuencia de nucleótidos de b).

25

318
265

21. El ácido nucleico aislado de la reivindicación 20, en el que dicho ácido nucleico comprende al menos una secuencia de nucleótidos seleccionada entre el grupo constituido por las SEC ID N° 5, 7, 9, 11, 13, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, 45, 47, 49, 51, 53, 55, 57, 59, y 61.

5

22. Un vector que comprende dicho ácido nucleico de la reivindicación 20.

23. El vector de la reivindicación 22, en el que dicho vector es un vector de expresión.

10

24. Una célula aislada que comprende dicho ácido nucleico de la reivindicación 20.

25. La célula aislada de la reivindicación 24, en el que dicha célula es un
15 hibridoma.

26. La célula aislada de la reivindicación 24, en la que dicha célula es una célula transgénica.

20 27. Un procedimiento para hacer dicho anticuerpo de la reivindicación 1 que comprende incubar una célula que comprende un ácido nucleico que codifica la cadena ligera de dicho anticuerpo y un ácido nucleico que codifica la cadena pesada de dicho anticuerpo condiciones que permiten que dicha célula exprese dicha cadena ligera y dicha cadena pesada y que permite que dicha cadena
25 ligera y dicha cadena pesada se ensamblen en dicho anticuerpo, y aislar dicho

anticuerpo de dicha célula.

28. El procedimiento de la reivindicación 27, en el que dicha célula es un híbrido.

5

29. El procedimiento de la reivindicación 27, en el que dicha célula es una célula transgénica.

30. Un procedimiento para inhibir un receptor de IL-4 que comprende poner
10 en contacto una célula que expresa un receptor de IL-4 con el anticuerpo de la reivindicación 1, en condiciones que permiten que dicho anticuerpo se una a dicho receptor de IL-4, donde la unión de dicho anticuerpo a dicho receptor inhibe la transducción de señales a través del receptor de IL-4.

15 31. El procedimiento de la reivindicación 30, en el que dicha célula es una célula humana.

32. El procedimiento de la reivindicación 31, en el que dicha célula humana está en un ser humano.

20

33. Un procedimiento para inhibir un receptor de IL-4 que comprende poner
en contacto una célula que expresa el receptor alfa de IL-4 con el polipéptido
de la reivindicación 18 en condiciones que permiten que dicho polipéptido se
una a dicho receptor alfa de IL-4, donde la unión de dicho polipéptido a dicho
25 receptor de IL-4 inhibe la transducción de señales a través de dicho receptor de

327.
26X

IL-4.

34. El procedimiento de la reivindicación 33, en el que dicha célula es una célula humana.

5

35. El procedimiento de la reivindicación 34, en el que dicha célula humana está en un ser humano.

36. Un procedimiento para tratar una afección en un sujeto que comprende
10 administrar a dicho sujeto una cantidad de dicho anticuerpo de la reivindicación 1 eficaz para tratar dicha afección.

37. El procedimiento de la reivindicación 36, en el que dicha afección es una afección inflamatoria o cancerosa.

15

38. El procedimiento de la reivindicación 37, en el que dicha afección inflamatoria o cancerosa es una afección inmunológica.

39. El procedimiento de la reivindicación 38, en el que dicha afección es
20 asma, artritis séptica, dermatitis herpetiforme, urticaria idiopática crónica, colitis ulcerosa, esclerodermia, cicatrización hipertrófica, enfermedad de Whipple, hiperplasia de próstata benigna, un trastorno pulmonar en el que el receptor de IL-4 juega un papel, una afección en la que la alteración de la barrera epitelial mediada por el receptor de IL-4 juega un papel, un trastorno del sistema
25 digestivo en el que el receptor de IL-4 juega un papel, una reacción alérgica a

328
268

una medicación, enfermedad de Kawasaki, enfermedad de células falciformes, síndrome de Churg-Strauss, enfermedad de Grave, preeclampsia, síndrome de Sjogren, síndrome linfoproliferativo autoinmune, anemia hemolítica autoinmune, esófago de Barrett, uveítis autoinmune, tuberculosis, fibrosis quística, micosis

5 broncopulmonar alérgica, enfermedad pulmonar obstructiva crónica, neumopatía y fibrosis inducida por bleomicina, fibrosis pulmonar inducida por radiación, protelnosis alveolar pulmonar, síndrome de distrés respiratorio en el adulto, sarcoidosis, síndrome de hiper IgE, síndrome de hipereosinofilia idiopática, una enfermedad ampollar autoinmune, pénfigo vulgar, penfigoide

10 ampollar, miastenia grave, síndrome de fatiga crónica, o nefrosis.

40. Un procedimiento para tratar una afección en un sujeto que comprende administrar a dicho sujeto una cantidad de dicho polipéptido de la reivindicación

15 18 eficaz para tratar dicha afección.

41. El procedimiento de la reivindicación 40, en el que dicha afección es una afección inflamatoria o cancerosa.

42. El procedimiento de la reivindicación 41, en el que dicha afección

20 inflamatoria o cancerosa es una afección inmunológica.

43. El procedimiento de la reivindicación 42 en el que dicha afección es asma, artritis séptica, dermatitis herpetiforme, urticaria idiopática crónica, colitis ulcerosa, esclerodermia, cicatrización hipertrófica, enfermedad de Whipple,

25 hiperplasia de próstata benigna, un trastorno pulmonar en el que el receptor de

329
209

- IL-4 juega un papel, una afección en la que la alteración de la barrera epitelial mediada por el receptor de IL-4 juega un papel, un trastorno del sistema digestivo en el que el receptor de IL-4 juega un papel, una reacción alérgica a una medicación, enfermedad de Kawasaki, enfermedad de células falciformes,
- 5 síndrome de Churg-Strauss, enfermedad de Grave, preeclampsia, síndrome de Sjogren, síndrome linfoproliferativo autoinmune, anemia hemolítica autoinmune, esófago de Barrett, uveítis autoinmune, tuberculosis, fibrosis quística, micosis broncopulmonar alérgica, enfermedad pulmonar obstructiva crónica, neumopatía y fibrosis inducida por bleomicina, fibrosis pulmonar inducida por
- 10 radiación, proteinosis alveolar pulmonar, síndrome de distrés respiratorio en el adulto, sarcoidosis, síndrome de hiper IgE, síndrome de hipereosinofilia idiopática, una enfermedad ampollar autoinmune, pénfigo vulgar, pénfigo de ampollar, miastenia grave, síndrome de fatiga crónica, o nefrosis.
- 15 44. Una composición farmacéutica que comprende dicho anticuerpo de la reivindicación 1 y un excipiente, diluyente, o tampón.
45. Una composición farmacéutica que comprende dicho polipéptido de la reivindicación 18 y un excipiente, diluyente, o tampón.
- 20 46. El anticuerpo de la reivindicación 1, en el que dicho anticuerpo no se une al receptor de IL-4 murino.
47. El anticuerpo de la reivindicación 1, en el que dicho anticuerpo se une al
- 25 dominio I del receptor de IL-4 humano.

RESUMEN

La presente invención se refiere a anticuerpos que se unen al receptor de IL-4, fragmentos, mutélnas, y derivados de dichos anticuerpos, ácidos nucleicos que codifican dichos anticuerpos, fragmentos, mutélnas y derivados, y procedimientos para hacer y usar dichos anticuerpos, fragmentos, mutélnas, derivados y ácidos nucleicos. Los procedimientos para tratar afecciones médicas inducidas por interleuquina-4 implican administrar un anticuerpo de unión al receptor de IL-4, o un fragmento de unión al receptor de IL-4, mutélna, o derivado de un anticuerpo de unión al receptor de IL-4, a un paciente que padece dicha afección. Los anticuerpos particulares proporcionados en este documento incluyen anticuerpos monoclonales humanos. Ciertos anticuerpos inhiben actividades biológicas tanto inducidas por IL-4 como inducidas por IL-13.

321
211

FIGURE 1A

ATG	GGG	TGG	CTT	TGC	TCT	GGG	CTC	CTG	TTC	CCT	GTG	AGC	TGC	CTG	-31
Met	Gly	Trp	Leu	Cys	Ser	Gly	Leu	Leu	Phe	Pro	Val	Ser	Cys	Leu	-11
GTC	CTG	CTG	CAG	GTG	GCA	AGC	TCT	GGG	AAC	ATG	AAG	GTC	TTG	CAG	15
Val	Leu	Leu	Gln	Val	Ala	Ser	Ser	Gly	Asn	<u>Met</u>	Lys	Val	Leu	Gln	5
GAG	CCC	ACC	TGC	GTC	TCC	GAC	TAC	ATG	AGC	ATC	TCT	ACT	TGC	GAG	60
Glu	Pro	Thr	Cys	Val	Ser	Asp	Tyr	Met	Ser	Ile	Ser	Thr	Cys	Glu	20
TGG	AAG	ATG	AAT	GGT	CCC	ACC	AAT	TGC	AGC	ACC	GAG	CTC	CGC	CTG	105
Trp	Lys	Met	Asn	Gly	Pro	Thr	Asn	Cys	Ser	Thr	Glu	Leu	Arg	Leu	35
TTG	TAC	CAG	CTG	GTT	TTT	CTG	CTC	TCC	GAA	GCC	CAC	ACG	TGT	ATC	150
Leu	Tyr	Gln	Leu	Val	Phe	Leu	Leu	Ser	Glu	Ala	His	Thr	Cys	Ile	50
CCT	GAG	AAC	AAC	GGA	GGC	GCG	GGG	TGC	GTG	TGC	CAC	CTG	CTC	ATG	195
Pro	Glu	Asn	Asn	Gly	Gly	Ala	Gly	Cys	Val	Cys	His	Leu	Leu	Met	65
GAT	GAC	GTG	GTC	AGT	GCG	GAT	AAC	TAT	ACA	CTG	GAC	CTG	TGG	GCT	240
Asp	Asp	Val	Val	Ser	Ala	Asp	Asn	Tyr	Thr	Leu	Asp	Leu	Trp	Ala	80
GGG	CAG	CAG	CTG	CTG	TGG	AAG	GGC	TCC	TTC	AAG	CCC	AGC	GAG	CAT	285
Gly	Gln	Gln	Leu	Leu	Trp	Lys	Gly	Ser	Phe	Lys	Pro	Ser	Glu	His	95
GTG	AAA	CCC	AGG	GCC	CCA	GGA	AAC	CTG	ACA	GTT	CAC	ACC	AAT	GTC	330
Val	Lys	Pro	Arg	Ala	Pro	Gly	Asn	Leu	Thr	Val	His	Thr	Asn	Val	110
TCC	GAC	ACT	CTG	CTG	CTG	ACC	TGG	AGC	AAC	CCG	TAT	CCC	CCT	GAC	375
Ser	Asp	Thr	Leu	Leu	Leu	Thr	Trp	Ser	Asn	Pro	Tyr	Pro	Pro	Asp	125
AAT	TAC	CTG	TAT	AAT	CAT	CTC	ACC	TAT	GCA	GTC	AAC	ATT	TGG	AGT	420
Asn	Tyr	Leu	Tyr	Asn	His	Leu	Thr	Tyr	Ala	Val	Asn	Ile	Trp	Ser	140
GAA	AAC	GAC	CCG	GCA	GAT	TTC	AGA	ATC	TAT	AAC	GTG	ACC	TAC	CTA	465
Glu	Asn	Asp	Pro	Ala	Asp	Phe	Arg	Ile	Tyr	Asn	Val	Thr	Tyr	Leu	155
GAA	CCC	TCC	CTC	CGC	ATC	GCA	GCC	AGC	ACC	CTG	AAG	TCT	GGG	ATT	510
Glu	Pro	Ser	Leu	Arg	Ile	Ala	Ala	Ser	Thr	Leu	Lys	Ser	Gly	Ile	170
TCC	TAC	AGG	GCA	CGG	GTG	AGG	GCC	TGG	GCT	CAG	TGC	TAT	AAC	ACC	555
Ser	Tyr	Arg	Ala	Arg	Val	Arg	Ala	Trp	Ala	Gln	Cys	Tyr	Asn	Thr	185
ACC	TGG	AGT	GAG	TGG	AGC	CCC	AGC	ACC	AAG	TGG	CAC	AAC	TCC	TAC	600
Thr	Trp	Ser	Glu	Trp	Ser	Pro	Ser	Thr	Lys	Trp	His	Asn	Ser	Tyr	200
AGG	GAG	CCC	TTC	GAG	CAG	CAC	CTC	CTG	CTG	GGC	GTC	AGC	GTT	TCC	645
Arg	Glu	Pro	Phe	Glu	Gln	His	<u>Leu</u>	<u>Leu</u>	<u>Leu</u>	<u>Gly</u>	<u>Val</u>	<u>Ser</u>	<u>Val</u>	<u>Ser</u>	215
TGC	ATT	GTC	ATC	CTG	GCC	GTC	TGC	CTG	TTG	TGC	TAT	GTC	AGC	ATC	690
<u>Cys</u>	<u>Ile</u>	<u>Val</u>	<u>Ile</u>	<u>Leu</u>	<u>Ala</u>	<u>Val</u>	<u>Cys</u>	<u>Leu</u>	<u>Leu</u>	<u>Cys</u>	<u>Tyr</u>	<u>Val</u>	<u>Ser</u>	<u>Ile</u>	230
ACC	AAG	ATT	AAG	AAA	GAA	TGG	TGG	GAT	CAG	ATT	CCC	AAC	CCA	GCC	735
<u>Thr</u>	Lys	Ile	Lys	Lys	Glu	Trp	Trp	Asp	Gln	Ile	Pro	Asn	Pro	Ala	245

232
722

FIGURE 1B

CGC	AGC	CGC	CTC	GTG	GCT	ATA	ATA	ATC	CAG	GAT	GCT	CAG	GGG	TCA	780
Arg	Ser	Arg	Leu	Val	Ala	Ile	Ile	Ile	Gln	Asp	Ala	Gln	Gly	Ser	260
CAG	TGG	GAG	AAG	CGG	TCC	CGA	GGC	CAG	GAA	CCA	GCC	AAG	TGC	CCA	825
Gln	Trp	Glu	Lys	Arg	Ser	Arg	Gly	Gln	Glu	Pro	Ala	Lys	Cys	Pro	275
CAC	TGG	AAG	AAT	TGT	CTT	ACC	AAG	CTC	TTG	CCC	TGT	TTT	CTG	GAG	870
His	Trp	Lys	Asn	Cys	Leu	Thr	Lys	Leu	Leu	Pro	Cys	Phe	Leu	Glu	290
CAC	AAC	ATG	AAA	AGG	GAT	GAA	GAT	CCT	CAC	AAG	GCT	GCC	AAA	GAG	915
His	Asn	Met	Lys	Arg	Asp	Glu	Asp	Pro	His	Lys	Ala	Ala	Lys	Glu	305
ATG	CCT	TTC	CAG	GGC	TCT	GGA	AAA	TCA	GCA	TGG	TGC	CCA	GTG	GAG	960
Met	Pro	Phe	Gln	Gly	Ser	Gly	Lys	Ser	Ala	Trp	Cys	Pro	Val	Glu	320
ATC	AGC	AAG	ACA	GTC	CTC	TGG	CCA	GAG	AGC	ATC	AGC	GTG	GTG	CGA	1005
Ile	Ser	Lys	Thr	Val	Leu	Trp	Pro	Glu	Ser	Ile	Ser	Val	Val	Arg	335
TGT	GTG	GAG	TTG	TTT	GAG	GCC	CCG	GTG	GAG	TGT	GAG	GAG	GAG	GAG	1050
Cys	Val	Glu	Leu	Phe	Glu	Ala	Pro	Val	Glu	Cys	Glu	Glu	Glu	Glu	350
GAG	GTA	GAG	GAA	GAA	AAA	GGG	AGC	TTC	TGT	GCA	TCG	CCT	GAG	AGC	1095
Glu	Val	Glu	Glu	Glu	Lys	Gly	Ser	Phe	Cys	Ala	Ser	Pro	Glu	Ser	365
AGC	AGG	GAT	GAC	TTC	CAG	GAG	GGA	AGG	GAG	GGC	ATT	GTG	GCC	CGG	1140
Ser	Arg	Asp	Asp	Phe	Gln	Glu	Gly	Arg	Glu	Gly	Ile	Val	Ala	Arg	380
CTA	ACA	GAG	AGC	CTG	TTC	CTG	GAC	CTG	CTC	GGA	GAG	GAG	AAT	GGG	1185
Leu	Thr	Glu	Ser	Leu	Phe	Leu	Asp	Leu	Leu	Gly	Glu	Glu	Asn	Gly	395
GGC	TTT	TGC	CAG	CAG	GAC	ATG	GGG	GAG	TCA	TGC	CTT	CTT	CCA	CCT	1230
Gly	Phe	Cys	Gln	Gln	Asp	Met	Gly	Glu	Ser	Cys	Leu	Leu	Pro	Pro	410
TCG	GGA	AGT	ACG	AGT	GCT	CAC	ATG	CCC	TGG	GAT	GAG	TTC	CCA	AGT	1275
Ser	Gly	Ser	Thr	Ser	Ala	His	Met	Pro	Trp	Asp	Glu	Phe	Pro	Ser	425
GCA	GGG	CCC	AAG	GAG	GCA	CCT	CCC	TGG	GGC	AAG	GAG	CAG	CCT	CTC	1320
Ala	Gly	Pro	Lys	Glu	Ala	Pro	Pro	Trp	Gly	Lys	Glu	Gln	Pro	Leu	440
CAC	CTG	GAG	CCA	AGT	CCT	CCT	GCC	AGC	CCG	ACC	CAG	AGT	CCA	GAC	1365
His	Leu	Glu	Pro	Ser	Pro	Pro	Ala	Ser	Pro	Thr	Gln	Ser	Pro	Asp	455
AAC	CTG	ACT	TGC	ACA	GAG	ACG	CCC	CTC	GTC	ATC	GCA	GGC	AAC	CCT	1410
Asn	Leu	Thr	Cys	Thr	Glu	Thr	Pro	Leu	Val	Ile	Ala	Gly	Asn	Pro	470
GCT	TAC	CGC	AGC	TTC	AGC	AAC	TCC	CTG	AGC	CAG	TCA	CCG	TGT	CCC	1455
Ala	Tyr	Arg	Ser	Phe	Ser	Asn	Ser	Leu	Ser	Gln	Ser	Pro	Cys	Pro	485
AGA	GAG	CTG	GGT	CCA	GAC	CCA	CTG	CTG	GCC	AGA	CAC	CTG	GAG	GAA	1500
Arg	Glu	Leu	Gly	Pro	Asp	Pro	Leu	Leu	Ala	Arg	His	Leu	Glu	Glu	500
GTA	GAA	CCC	GAG	ATG	CCC	TGT	GTC	CCC	CAG	CTC	TCT	GAG	CCA	ACC	1545

333

Val Glu Pro Glu Met Pro Cys Val Pro Gln Leu Ser Glu Pro Thr 515

2x3

324
274

FIGURE 1C

ACT	GTG	CCC	CAA	CCT	GAG	CCA	GAA	ACC	TGG	GAG	CAG	ATC	CTC	CGC	1590
Thr	Val	Pro	Gln	Pro	Glu	Pro	Glu	Thr	Trp	Glu	Gln	Ile	Leu	Arg	530
CGA	AAT	GTC	CTC	CAG	CAT	GGG	GCA	GCT	GCA	GCC	CCC	GTC	TCG	GCC	1635
Arg	Asn	Val	Leu	Gln	His	Gly	Ala	Ala	Ala	Ala	Pro	Val	Ser	Ala	545
CCC	ACC	AGT	GGC	TAT	CAG	GAG	TTT	GTA	CAT	GCG	GTG	GAG	CAG	GGT	1680
Pro	Thr	Ser	Gly	Tyr	Gln	Glu	Phe	Val	His	Ala	Val	Glu	Gln	Gly	560
GGC	ACC	CAG	GCC	AGT	GCG	GTG	GTG	GGC	TTG	GGT	CCC	CCA	GGA	GAG	1725
Gly	Thr	Gln	Ala	Ser	Ala	Val	Val	Gly	Leu	Gly	Pro	Pro	Gly	Glu	575
GCT	GGT	TAC	AAG	GCC	TTC	TCA	AGC	CTG	CTT	GCC	AGC	AGT	GCT	GTG	1770
Ala	Gly	Tyr	Lys	Ala	Phe	Ser	Ser	Leu	Leu	Ala	Ser	Ser	Ala	Val	590
TCC	CCA	GAG	AAA	TGT	GGG	TTT	GGG	GCT	AGC	AGT	GGG	GAA	GAG	GGG	1815
Ser	Pro	Glu	Lys	Cys	Gly	Phe	Gly	Ala	Ser	Ser	Gly	Glu	Glu	Gly	605
TAT	AAG	CCT	TTC	CAA	GAC	CTC	ATT	CCT	GGC	TGC	CCT	GGG	GAC	CCT	1860
Tyr	Lys	Pro	Phe	Gln	Asp	Leu	Ile	Pro	Gly	Cys	Pro	Gly	Asp	Pro	620
GCC	CCA	GTC	CCT	GTC	CCC	TTG	TTC	ACC	TTT	GGA	CTG	GAC	AGG	GAG	1905
Ala	Pro	Val	Pro	Val	Pro	Leu	Phe	Thr	Phe	Gly	Leu	Asp	Arg	Glu	635
CCA	CCT	CGC	AGT	CCG	CAG	AGC	TCA	CAT	CTC	CCA	AGC	AGC	TCC	CCA	1950
Pro	Pro	Arg	Ser	Pro	Gln	Ser	Ser	His	Leu	Pro	Ser	Ser	Ser	Pro	650
GAG	CAC	CTG	GGT	CTG	GAG	CCG	GGG	GAA	AAG	GTA	GAG	GAC	ATG	CCA	1995
Glu	His	Leu	Gly	Leu	Glu	Pro	Gly	Glu	Lys	Val	Glu	Asp	Met	Pro	665
AAG	CCC	CCA	CTT	CCC	CAG	GAG	CAG	GCC	ACA	GAC	CCC	CTT	GTG	GAC	2040
Lys	Pro	Pro	Leu	Pro	Gln	Glu	Gln	Ala	Thr	Asp	Pro	Leu	Val	Asp	680
AGC	CTG	GGC	AGT	GGC	ATT	GTC	TAC	TCA	GCC	CTT	ACC	TGC	CAC	CTG	2085
Ser	Leu	Gly	Ser	Gly	Ile	Val	Tyr	Ser	Ala	Leu	Thr	Cys	His	Leu	695
TGC	GGC	CAC	CTG	AAA	CAG	TGT	CAT	GGC	CAG	GAG	GAT	GGT	GGC	CAG	2130
Cys	Gly	His	Leu	Lys	Gln	Cys	His	Gly	Gln	Glu	Asp	Gly	Gly	Gln	710
ACC	CCT	GTC	ATG	GCC	AGT	CCT	TGC	TGT	GGC	TGC	TGC	TGT	GGA	GAC	2175
Thr	Pro	Val	Met	Ala	Ser	Pro	Cys	Cys	Gly	Cys	Cys	Cys	Gly	Asp	725
AGG	TCC	TCG	CCC	CCT	ACA	ACC	CCC	CTG	AGG	GCC	CCA	GAC	CCC	TCT	2220
Arg	Ser	Ser	Pro	Pro	Thr	Thr	Pro	Leu	Arg	Ala	Pro	Asp	Pro	Ser	740
CCA	GGT	GGG	GTT	CCA	CTG	GAG	GCC	AGT	CTG	TGT	CCG	GCC	TCC	CTG	2265
Pro	Gly	Gly	Val	Pro	Leu	Glu	Ala	Ser	Leu	Cys	Pro	Ala	Ser	Leu	755
GCA	CCC	TCG	GGC	ATC	TCA	GAG	AAG	AGT	AAA	TCC	TCA	TCA	TCC	TTC	2310
Ala	Pro	Ser	Gly	Ile	Ser	Glu	Lys	Ser	Lys	Ser	Ser	Ser	Ser	Phe	770
CAT	CCT	GCC	CCT	GGC	AAT	GCT	CAG	AGC	TCA	AGC	CAG	ACC	CCC	AAA	2355
His	Pro	Ala	Pro	Gly	Asn	Ala	Gln	Ser	Ser	Ser	Gln	Thr	Pro	Lys	785

225

ATC GTG AAC TTT GTC TCC GTG GGA CCC ACA TAC ATG AGG GTC TCT 2400
Ile Val Asn Phe Val Ser Val Gly Pro Thr Tyr Met Arg Val Ser 800

225

336
246

Figure 2A

FR1									
L1	1	GAAATTGTGT	TGACGCAGTC	TCCAGGCACC	CTGTCCTTGT	CTCCAGGGGA	AAGAGCCACC	60	
L2	1	GAAATTGTGT	TGACGCAGTC	TCCAGGCACC	CTGTCCTTGT	CTCCAGGGGA	AAGAGCCACC	60	
L3	1	GAAATTGTGT	TGACGCAGTC	TCCAGGCACC	CTGTCCTTGT	CTCCGGGGGA	AAGAGCCACC	60	
L4	1	GAAATTGTGA	TGACGCAGTC	TCCAGGCACC	CTGTCCTTGT	CTCCAGGGGA	AAGAGCCACC	60	
L5	1	GATATTGTGC	TGACCCAGTC	TCCAGCCACC	CTGTCCTTGT	CTCCAGGGGA	AAGAGCCACC	60	
L6	1	GATATTGTGC	TGACGCAGAC	TCCAGCCACC	CTGTCCTTGT	CTCCAGGGGA	AAGAGCCACC	60	
CDR1									
L1	61	CTCTCCTGCA	GGGCCAGTCA	GAGTGTTAGC	AGCAGCTACT	TAGCCTGGTA	CCAGCAGAAA	120	
L2	61	CTCTCCTGCA	GGGCCAGTCA	GAGTGTTAGC	AACAGCTACT	TAGCCTGGTA	CCAGCAGAAA	120	
L3	61	CTCTCCTGCA	GGGCCAGTCA	GACTGTTAAC	AGCGACTACT	TAGCCTGGTA	CCAGCAGAAA	120	
L4	61	CTCTCCTGCA	GGGCCAGTCA	GAGTGTTAGC	AGCGACTACT	TAGCCTGGTA	CCAGCAGAAA	120	
L5	61	CTCTCCTGCA	GGGCCAGTCA	GAGTGTTAAC	AGCAACTACT	TAGCCTGGTA	CCAGCAGAAA	120	
L6	61	CTCTCCTGCA	GGGCCAGTCA	GAGTGTGGC	AGCAGCTACT	TAGCCTGGTA	CCAGCAGAGA	120	
FR2					CDR2				
L1	121	CCTGGCCAGG	CTCCCAGGCT	CCTCATCTTT	GGTGCATCCA	GCAGGGCCAC	TGGCATCCCA	180	
L2	121	CCTGGCCAGG	CTCCCAGGCT	CCTCATCTAT	GGTGCATCCA	GCAGGGCCCC	TGGCATCCCA	180	
L3	121	CCGGGCCAGG	CTCCCAGGCT	CCTCATCTAT	GGTGCATCCA	GCAGGGCCAC	TGGCATCCCA	180	
L4	121	CCTGGCCAGG	CTCCCAGGCT	CCTCATCTAT	GGTGCATCTA	GCAGGGCCTC	TGGCATCCCA	180	
L5	121	CCTGGCCAGG	CTCCCAGGCT	CCTCATCTAT	GGTACATCCT	ACAGGGCCAC	TGGCATCCCA	180	
L6	121	CCTGGCCAGG	CTCCCAGGCT	CCTCATCTAT	GGTGCATCCA	GCAGGGCCAC	TGGCATCCCG	180	
FR3									
L1	181	GACAGGTTCA	GTGGCAGTGG	GTCTGGGACA	GACTTCACTC	TCACCATCAG	CAGACTGGAG	240	
L2	181	GACAGGTTCA	GTGGCAGTGG	GTCTGGGACA	GACTTCACTC	TCACCATCAG	CAGACTGGAG	240	
L3	181	GACAGGTTCA	GTGGCAGTGG	GTCTGGGACA	GACTTCACTC	TCACCATCAG	CAGACTGGAG	240	
L4	181	GACAGGTTCA	GTGGCAGTGG	GTTTGGGACA	GACTTCACTC	TCACCATCAG	CAGACTGGAG	240	
L5	181	GACAGGTTCA	GTGGCAGTGG	GTCTGGGACA	GACTTCACTC	TCACCATCAC	CAGACTGGAG	240	
L6	181	GACAGGTTCA	GTGGCAGTGG	GTCTGGGACA	GACTTCACTC	TCACGATCAG	CAGACTGGAG	240	
CDR3									
L1	241	CCTGAAGATT	TTGCAGTGTA	TTACTGTCAG	CAGTATGGTA	GCTCACCTCC	GTGGACGTTT	300	
L2	241	CCTGAAGATT	TTGCAGTGTA	TTACTGTCAG	CAGTATGATC	ACTCAGCAGG	GTGGACGTTT	300	
L3	241	CCTGAAGATT	TTGCAGTCTA	TTACTGTCAG	CAGTATGGTA	GGTCACCTCC	GTGGACGTTT	300	
L4	241	CCTGAAGATT	TTGCAATATA	TTACTGTCAG	CAGTATGGTA	GCTCACCTCC	GTGGACGTTT	300	
L5	241	CCTGAAGATT	TTGCAGTGTA	TTACTGTCAG	CAGTATGGTA	GCTCACCCAC	GTGGACGTTT	300	
L6	241	CCTGAAGATT	TTGCAGTGTA	TTATTTGTCAG	CAGTATGGAA	GTTCACCTCC	GTGGATGTTT	300	
FR4									
L1	301	GGCCAAGGGA	CCAAGGTGGA	AATCAAA	327				
L2	301	GGCCAAGGGA	CCAAGGTGGA	GATCAAA	327				
L3	301	GGCCAAGGGA	CCAAGGTGGA	TATCAAA	327				
L4	301	GGCCAAGGGA	CCAAGGTGGA	AATCAAA	327				
L5	301	GGCCAAGGGA	CACGACTGGA	GATTAAA	327				
L6	301	GGCCAAGGGA	CCAAGGTGGA	GATCAAA	327				

339
2A

Figure 2D

H1	241	CAAATGAACA	GCCTGAGAGC	CGAGGACATG	GCTGTGTATT	ACTGTGCAAG	AGGGAGGTAC	300
H2	241	CAAATGAACA	GCCTGAGTGC	CGAGGACATG	GCTGTGTATT	ACTGTGCAAG	AGGGAGGTAC	300
H3	241	CAAATGAACA	GCCTGAGAGC	CGAGGACATG	GCTGTGTATT	ACTGTGCAAG	AGGGAGGTAC	300
H4	241	CAAATGAACA	GCCTGAGAGC	CGAGGACATG	GCTGTGTATT	ACTGTGCAAG	AGGGAGGTAC	300
H5	241	CAAATGAACA	GCCTGAGAGC	CGAGGACATG	GCTGTGTATT	ACTGTGCAAG	AGGGAGGTAC	300
H6	241	CAAATGAACA	GCCTGAGAGC	CGAGGACATG	GCTGTGTATT	ACTGTGCAAG	AGGGAGGTAC	300
H7	241	CAAATGAACA	GCCTGAGAGC	CGAGGACATG	GCTGTGTATT	ACTGTGCAAG	AGGGAGGTAC	300
H8	241	CAAATGAACA	GCCTGAGAGC	CGAGGACATG	GCTGTGTATT	ACTGTGCAAG	AGGGAGGTAC	300
H9	241	CAAATGAACA	GCCTGAGAGC	CGAGGACATG	GCTGTGTATT	ACTGTGCAAG	AGGGAGGTAC	300
H10	241	CAAATGAACA	GCCTGAGAGC	CGAGGACATG	GCTGTGTATT	ACTGTGCAAG	AGGGAGGTAC	300
H11	241	CAAATGAACA	GCCTGAGAGC	CGAGGACATG	GCTGTGTATT	ACTGTGCAAG	AGGGAGGTAC	300
H12	241	CAAATGAACA	GCCTGAGAGC	CGAGGACATG	GCTGTGTATT	ACTGTGCAAG	AGGGAGGTAC	300
H13	241	CAAATGAACA	GCCTGAGTGC	CGAGGACATG	GCTGTGTATT	ACTGTGCAAG	AGGGAGGTAC	300
H14	241	CAAATGAACA	GCCTGAGAGC	CGAGGACACG	GCTGTGTATT	ACTGTGCAAG	AGGGAGGTAC	300
H15	241	CAAATGAACA	GCCTGAGAGC	CGAGGACACG	GCTGTGTATT	ACTGTGCAAG	AGGGAGGTAC	300
H16	241	CAAATGAACA	GCCTGAGAGC	CGAGGACACG	GCTGTGTATT	ACTGTGCAAG	AGGGAGGTAC	300
H17	241	CAAATGAACA	GCCTGAGAGC	CGAGGACACG	GCTGTGTATT	ACTGTGCAAG	AGGGAGGTAC	300
H18	241	CAAATGAACA	GCCTGAGAGC	CGAGGACACG	GCTGTGTATT	ACTGTGCAAG	AGGGAGGTAC	300
H19	241	CAAATGAACA	GCCTGAGAGC	CGAGGACACG	GCTGTGTATT	ACTGTGCAAG	AGGGAGGTAC	300
H20	241	CAAATGAACA	GCCTGAGAGC	CGAGGACACG	GCTGTGTATT	ACTGTGCAAG	AGGGAGGTAC	300
H21	241	CAAATGAACA	GCCTGAGAGC	CGAGGACACG	GCTGTGTATT	ACTGTGCAAG	AGGGAGGTAC	300
H22	241	CAAATGAACA	GCCTGAGAGC	CGAGGACACG	GCTGTGTATT	ACTGTGCAAG	AGGGAGGTAC	300
H23	241	CAAATGAACA	GCCTGAGAGC	CGAGGACACG	GCTGTGTATT	ACTGTGCAAG	AGGGAGGTAC	300
H24	241	CAAATGAACA	GCCTGAGAGC	CGAGGACACG	GCTGTGTATT	ACTGTGCAAG	AGGGAGGTAC	300

		CDR3		FR4			
H1	301	<u>TACTTTGACT</u>	ACTGGGGCCA	GGGAACCCTG	GTCACCGTCT	CCTCA	345
H2	301	TACTTCACCC	ACTGGGGCCA	GGGAACCCTG	GTCACCGTCT	CCTCA	345
H3	301	TGGTACAACA	ACTGGGGCCA	GGGAACCCTG	GTCACCGTCT	CCTCA	345
H4	301	TACTTCCCGT	GGTGGGGCCA	GGGAACCCTG	GTCACCGTCT	CCTCA	345
H5	301	TACTTCACGA	GGTGGGGCCA	GGGAACCCTG	GTCACCGTCT	CCTCA	345
H6	301	TGGTACCCGT	GGTGGGGCCA	GGGAACCCTG	GTCACCGTCT	CCTCA	345
H7	301	TGGTACCCGT	GGTGGGGCCA	GGGAACCCTG	GTCACCGTCT	CCTCA	345
H8	301	TGGTTCCCGT	GGTGGGGCCA	GGGAACCCTG	GTCACCGTCT	CCTCA	345
H9	301	TGGTTCCCGT	GGTGGGGCCA	GGGAACCCTG	GTCACCGTCT	CCTCA	345
H10	301	TGGTACCCGT	GGTGGGGCCA	GGGAACCCTG	GTCACCGTCT	CCTCA	345
H11	301	TGGTACCCGT	GGTGGGGCCA	GGGAACCCTG	GTCACCGTCT	CCTCA	345
H12	301	TACTTCCCGT	GGTGGGGCCA	GGGAACCCTG	GTCACCGTCT	CCTCA	345
H13	301	TACTTCCCGT	GGTGGGGCCA	GGGAACCCTG	GTCACCGTCT	CCTCA	345
H14	301	TACTTCCCGT	GGTGGGGCCA	GGGAACCCTG	GTCACCGTCT	CCTCA	345
H15	301	<u>TACTTTGACT</u>	ACTGGGGCCA	GGGAACCCTG	GTCACCGTCT	CCTCA	345
H16	301	TACTTCACCC	ACTGGGGCCA	GGGAACCCTG	GTCACCGTCT	CCTCA	345
H17	301	TGGTACAACA	ACTGGGGCCA	GGGAACCCTG	GTCACCGTCT	CCTCA	345
H18	301	TACTTCACGA	GGTGGGGCCA	GGGAACCCTG	GTCACCGTCT	CCTCA	345
H19	301	TGGTACCCGT	GGTGGGGCCA	GGGAACCCTG	GTCACCGTCT	CCTCA	345
H20	301	TGGTACCCGT	GGTGGGGCCA	GGGAACCCTG	GTCACCGTCT	CCTCA	345
H21	301	TGGTTCCCGT	GGTGGGGCCA	GGGAACCCTG	GTCACCGTCT	CCTCA	345
H22	301	TGGTTCCCGT	GGTGGGGCCA	GGGAACCCTG	GTCACCGTCT	CCTCA	345
H23	301	TGGTACCCGT	GGTGGGGCCA	GGGAACCCTG	GTCACCGTCT	CCTCA	345
H24	301	TGGTACCCGT	GGTGGGGCCA	GGGAACCCTG	GTCACCGTCT	CCTCA	345

PCT

340
200

To:

see form PCT/ISA/220

WRITTEN OPINION OF THE
INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY
(PCT Rule 43bis.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.
PCT/US2004/037242

International filing date (day/month/year)
04.11.2004

Priority date (day/month/year)
07.11.2003

International Patent Classification (IPC) or both national classification and IPC
C07K16/28, A61P35/00

Applicant
IMMUNEX CORPORATION

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 43bis.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

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"). However, this does not apply where the applicant chooses an Authority other than this one to be the IPEA and the chosen IPEA has notified the International Bureau under Rule 66.1bis(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 three 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:



European Patent Office - P.B. 5818 Patentlaan 2
NL-2280 HV Rijswijk - Pays Bas
Tel. +31 70 340 - 2040 Tx: 31 661 epo nl
Fax: +31 70 340 - 3016

Authorized Officer

Vadot, P

Telephone No. +31 70 340-3968



**WRITTEN OPINION OF THE
INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY**

341
International application No.
PCT/US2004/037242

281
Box No. 1 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, unless otherwise indicated under this item.
 - ☐ This opinion has been established on the basis of a translation from the original language into the following language , which is the language of a translation furnished for the purposes of international search (under Rules 12.3 and 23.1(b)).
2. 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:
 - ☒ in written format
 - ☒ in computer readable form
 - c. time of filing/furnishing:
 - ☒ contained in the international application as filed.
 - ☒ filed together with the international application in computer readable form.
 - ☐ furnished subsequently to this Authority for the purposes of search.
3. ☐ 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.
4. Additional comments:

342

282

Box No. III Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability

The questions whether the claimed invention appears to be novel, to involve an inventive step (to be non obvious), or to be industrially applicable have not been examined in respect of:

☐ the entire international application,

☒ claims Nos. 1-9 (partially)

because:

☐ the said international application, or the said claims Nos. relate to the following subject matter which does not require an international preliminary examination (specify):

☒ the description, claims or drawings (indicate particular elements below) or said claims Nos. 1-9 (partially) are so unclear that no meaningful opinion could be formed (specify):

see separate sheet

☐ the claims, or said claims Nos. are so inadequately supported by the description that no meaningful opinion could be formed.

☐ no international search report has been established for the whole application or for said claims Nos.

☐ the nucleotide and/or amino acid sequence listing does not comply with the standard provided for in Annex C of the Administrative Instructions in that:

the written form

☐ has not been furnished

☐ does not comply with the standard

the computer readable form

☐ has not been furnished

☐ does not comply with the standard

☐ the tables related to the nucleotide and/or amino acid sequence listing, if in computer readable form only, do not comply with the technical requirements provided for in Annex C-bis of the Administrative Instructions.

☐ See separate sheet for further details

Box No. IV Lack of unity of invention

1. ☒ In response to the invitation (Form PCT/ISA/206) to pay additional fees, the applicant has:
- ☐ paid additional fees.
 - ☐ paid additional fees under protest.
 - ☒ not paid additional fees.
2. ☐ This Authority found that the requirement of unity of invention is not complied with and chose not to invite the applicant to pay additional fees.
3. This Authority considers that the requirement of unity of invention in accordance with Rule 13.1, 13.2 and 13.3 is
- ☐ complied with
 - ☒ not complied with for the following reasons:
see separate sheet
4. Consequently, this report has been established in respect of the following parts of the international application:
- ☐ all parts.
 - ☒ the parts relating to claims Nos. 1-47 (partially)

Box No. V Reasoned statement under Rule 43b/a.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	1-47 (all partially)
Inventive step (IS)	Yes: Claims	
	No: Claims	1-47 (all partially)
Industrial applicability (IA)	Yes: Claims	1-35
	No: Claims	

2. Citations and explanations

see separate sheet

Box No. VIII Certain observations on the international application

The following observations on the clarity of the claims, description, and drawings or on the question whether the claims are fully supported by the description, are made:

see separate sheet

Re Item III

Non-establishment of opinion with regard to novelty, Inventive step and Industrial applicability

1. Claims 36-43 relate to subject-matter considered by this Authority to be covered by the provisions of Rule 37.1 (iv) PCT. Consequently, no opinion will be formulated with respect to the industrial applicability of the subject-matter of these claims (Article 34(4)(a)(i) PCT).

2. No International Preliminary Examination will be carried out in respect of subject-matter which is not covered by the search report (Rule 66.1(e) PCT). Only invention 1 i.e. claims 1-47 (all partially) will be examined.

Re Item IV

Lack of unity of invention

The problem to be solved by the present application is to provide antibodies directed against the human IL-4 receptor.

The proposed solutions are:

1. claims 1-47 (all partially) : a light chain variable domain consisting of at least 80% identical to SEQ ID NO : 4
2. claims 1-7,10,11,14-47 (all partially) : a light chain variable domain consisting of at least 80% identical to SEQ ID NO : 6
3. claims 1-7,10-47 (all partially) : a light chain variable domain consisting of at least 80% identical to SEQ ID NO : 8
4. claims 1-7,10-47 (all partially) : a light chain variable domain consisting of at least 80% identical to SEQ ID NO : 10
5. claims 1-7,10-47 (all partially) : a light chain variable domain consisting of at least 80% identical to SEQ ID NO : 12
6. claims 1-7,10-47 (all partially) : a light chain variable domain consisting of at least 80% identical to SEQ ID NO : 14
7. claims 1-47 (all partially) : an heavy chain variable domain consisting of at least 80% identical to SEQ ID NO : 16

**WRITTEN OPINION OF THE
INTERNATIONAL SEARCHING
AUTHORITY (SEPARATE SHEET)**

285 345
International application No.

PCT/US2004/037242

8. claims 1-7,10-47 (all partially) : an heavy chain variable domain consisting of at least 80% identical to SEQ ID NO : 18
9. claims 1-7,10,11,14-47 (all partially) : an heavy chain variable domain consisting of at least 80% identical to SEQ ID NO : 20
10. claims 1-7,10,11,14-47 (all partially) : an heavy chain variable domain consisting of at least 80% identical to SEQ ID NO : 22
11. claims 1-7,10,11,14-47 (all partially) : an heavy chain variable domain consisting of at least 80% identical to SEQ ID NO : 24
12. claims 1-7,10,11,14-47 (all partially) : an heavy chain variable domain consisting of at least 80% identical to SEQ ID NO : 26
13. claims 1-7,14-47 (all partially) : an heavy chain variable domain consisting of at least 80% identical to SEQ ID NO : 28
14. claims 1-7,10,11,14-47 (all partially) : an heavy chain variable domain consisting of at least 80% identical to SEQ ID NO : 30
15. claims 1-7,14-47 (all partially) : an heavy chain variable domain consisting of at least 80% identical to SEQ ID NO : 32
16. claims 1-7,10,11,14-47 (all partially) : an heavy chain variable domain consisting of at least 80% identical to SEQ ID NO : 34
17. claims 1-7,14-47 (all partially) : an heavy chain variable domain consisting of at least 80% identical to SEQ ID NO : 36
18. claims 1-7,14-47 (all partially) : an heavy chain variable domain consisting of at least 80% identical to SEQ ID NO : 38
19. claims 1-7,14-47 (all partially) : an heavy chain variable domain consisting of at least 80% identical to SEQ ID NO : 40
20. claims 1-7,14-47 (all partially) : an heavy chain variable domain consisting of at least 80% identical to SEQ ID NO : 42
21. claims 1-7,14-47 (all partially) : an heavy chain variable domain consisting of at least 80% identical to SEQ ID NO : 44
22. claims 1-7,14-47 (all partially) : an heavy chain variable domain consisting of at least 80% identical to SEQ ID NO : 46
23. claims 1-7,14-47 (all partially) : an heavy chain variable domain consisting of at least 80% identical to SEQ ID NO : 48
24. claims 1-7,14-47 (all partially) : an heavy chain variable domain consisting of at least 80% identical to SEQ ID NO : 50

25. claims 1-7,14-47 (all partially) : an heavy chain variable domain consisting of at least 80% identical to SEQ ID NO : 52
26. claims 1-7,14-47 (all partially) : an heavy chain variable domain consisting of at least 80% identical to SEQ ID NO : 54
27. claims 1-7,14-47 (all partially) : an heavy chain variable domain consisting of at least 80% identical to SEQ ID NO : 56
28. claims 1-7,14-47 (all partially) : an heavy chain variable domain consisting of at least 80% identical to SEQ ID NO : 58
29. claims 1-7,14-47 (all partially) : an heavy chain variable domain consisting of at least 80% identical to SEQ ID NO : 60
30. claims 1-7,14-47 (all partially) : an heavy chain variable domain consisting of at least 80% identical to SEQ ID NO : 62

The antibody represents the technical feature which may *a priori* unify the different solutions.

Document WO 01/92340 deals with a human antibody that binds human IL-4 receptor wherein the light chain of said antibody comprises amino acid sequence NO: 10 (see claims 1 and 3). Document XP002331703 from the database Uniprot, retrieved from EBI indicates that SEQ ID NO : 4 from the present application has 100 % identity with sequence 10 from patent WO 01/92340.

This document is considered as a sufficient evidence of the existence of an antibody against human IL-4 receptor.

Thus, the antibody can no longer serve as a single general inventive concept linking the different entity, which has no other special technical features in common.

Therefore, each solution represents a distinct invention, characterized by its own special technical feature.

In the present application no further technical feature(s) can be distinguished that can be regarded as a "special technical feature" in the sense of Rule 13 PCT involved in the technical relationship among the different inventions. Consequently, the present application lacks of unity

of invention, and the different solutions not belonging to a common inventive concept are identified as the different subjects listed here above.

Each of the inventions listed is a distinct invention, characterized by its own special technical feature, defining the contribution which each of the claimed inventions, considered as whole, makes over the prior art, i.e. the specific features of the individual composition.

Furthermore, searching this plurality of different inventions would have caused major additional searching effort.

The application relates to a plurality of inventions, or groups of inventions, in the sense of Rule 13.1 PCT. They have been divided as defined above. If the applicant pays additional fees for one (or more) not yet searched group(s) of invention(s), then the further search(es) may reveal further prior art that gives evidence of a further lack of unity 'a posteriori' within one (or more) of the not yet searched group(s). In such a case only the first invention in this (each of these) group(s) of inventions, which is considered to lack unity of invention, will be the subject of a search.

Re Item V

Reasoned statement with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement .

Only invention 1 as defined by the search report will be examined:

Reference is made to the following documents:

- D1: WO 01/92340 A (IMMUNEX CORPORATION; PLUENNEKE, JOHN, D) 6 December 2001 (2001-12-06)
- D2: DATABASE EPO PROTEINS EBI; 13 June 2005 (2005-06-13), XP002331703
Database accession no. AX365126
- D3: HOLT L J ET AL: "Domain antibodies: proteins for therapy" November 2003 (2003-11), TRENDS IN BIOTECHNOLOGY, ELSEVIER PUBLICATIONS, CAMBRIDGE, GB, PAGE(S) 484-490 , XP004467495 ISSN: 0167-7799

5.1 Novelty (Art. 33.2 PCT)

Document D1 WO 01/92340 cited by the applicant deals with a human antibody that binds human IL-4 receptor wherein the light chain of said antibody comprises amino acid sequence NO: 10 (see claims 1 and 3). Document XP002331703 from the database EPO proteins, retrieved from EBI indicates that SEQ ID NO : 4 from the present application has 100 % identity with sequence 10 from patent WO 01/92340.

The present application does not meet the criteria of Article 33(1) PCT, because the subject-matter of claims 1-47 (all partially) is not new in the sense of Article 33(2) PCT.

5.2 Method or treatment:

Claims 36-43 involve compositions or substances in a method of treatment of the human/animal body.

For the assessment of the present claims 36-43 on the question whether they are industrially applicable, no unified criteria exist in the PCT Contracting States. The patentability can also be dependent upon the formulation of the claims. The EP, for instance, does not recognize as industrially applicable the subject-matter of claims to the use of a compound in medical treatment and the use of such a compound for the manufacture of a medicament for a new medical treatment.

Re Item VIII

Certain observations on the international application

8.1 Art 6 PCT :

Claims 1-9 do not meet the requirements of Article 6 PCT because the scope of these claims is such that the skilled person can only establish by the undue burden of experimentation and the use of inventive skill whether or not his particular choice from among the numerous possibilities falling under the wording :

- "of at least XX contiguous amino acids", (claims 1-6)
- "said light chain variable domain of a) and said heavy chain variable domain of b)", (claims 1-7)

- "that differs from SEQ ID:4 or SEQ ID:16 by at least one amino acid substitution", (claims 8 and 9)

- "with the proviso that said antibody does not comprise both the light chain variable domain", (claim 1)

will provide a satisfactory result.

The skilled person is not able to reproduce all embodiment falling under the scope of claims 1-9 since an enabling disclosure relating to said subject-matter is lacking within the application.

Moreover, document D3 states that the shortest length is the heavy chain which represents the smallest known antigen-binding fragments (see abstract). Thus a minimum sequence length of 109 amino acids as shown in Figure 3 of D3 is needed.

Furthermore, an identity of 100pc is needed since even the modification of 1 amino acid can change the binding capacity of the antibody.

Consequently claims 1-9 do not meet the requirements of article 6 PCT. Sufficient support was found in the example 5 for the subject-matter of claims 14 and the subsequent examination will consequently deal only with this claim, while considering the clarity objection below.

8.2 Clarity problems:

8.2.1 Claim 8, paragraph b), an amino acid substitution is possible at position 99, from amino acid T to M. But with respect to figure 3, no amino acid T exists at position 99 and no substitution has been foreseen. This clarity problem must be solved.

8.2.2 Claim 11, paragraph f., SEQ ID NO: 4 cannot be encompassed under the heavy chain CDR3 since this sequence encodes a light chain.

8.2.3 Claim 14 gives a list of antibodies designated by LxHy which is considered to be an internal designation thus meaningless without a reference to a deposit number. Claim 14 should be removed or mentioning a deposit number.

8.2.4 The vague and imprecise statement in the description on page 19, lines 38-41; page 61, lines 10-16; page 63, line 16; page 68, lines 11-13 implies that the subject-matter for which protection is sought may be different to that defined by the claims, thereby resulting in lack of clarity of the claims when used to interpret them.

8.2.5 The wording "the prior art documents ... incorporated by reference", page 22, line 6;

**WRITTEN OPINION OF THE
INTERNATIONAL SEARCHING
AUTHORITY (SEPARATE SHEET)**

190 350
International application No.

PCT/US2004/037242

page 23, line 24; page 24, line 27; page 25, lines 12-14; page 52, line 28; page 53, line 13;
page 58, line 9; page 60, line 7; page 61, line 23; page 63, line 36; page 65, line 31; page 66,
line 31 seeks to extend the scope of protection sought in some vague and indefinite manner.

8.2.6 A typing error should be corrected page 67, line 31 "receptor".

352
241

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

NIT : 800176089-2

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
Rad: 06-052258- -00000-0000
Fec: 2006-05-31 16:57:21 Dep. 2020 NUECREACIONES
Tra. 11 PATENTEIYI
Eve: 378 FASENACIONAL
Act 411 PRESENTACION Folio: 352

RECIBO OFICIAL DE CAJA : 06 - 38,520
FECHA : MAYO 22 DE 2006

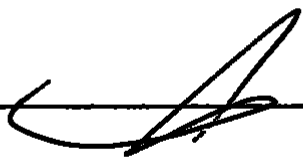
***** CONSIGNACION *****

DEPOSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PGO	Vr. PAGO
CAVELIER ABOGADOS	CONSIGNACION	BANCO POPULAR	050-00110-6	54982577	22/05/2006	34,522,500.00

***** 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	463,000.00
		TOTAL :	463,000.00

SON: CUATROCIENTOS SESENTA Y TRES MIL PESOS

RESPONSABLE : 

RECIBO DE CAJA APLICADO AL EXPEDIENTE No. _____

blo 07071-841-001-5.

383

242



Industria y Comercio

SUPERINTENDENCIA

Delegatura de Propiedad Industrial
División de Nuevas Creaciones

REQUISITOS NECESARIOS PARA PRESENTACIÓN Y AGILIZACIÓN DEL
TRAMITE

	USUARIO	RADICADOR
PATENTE DE INVENCION (☒) MODELO DE UTILIDAD ()	()	()
-Indicación de que se solicita la concesión de una patente ☒	()	()
-Datos de identificación del solicitante o de la persona que se presenta la solicitud. ☒	()	()
-Descripción de la invención. ☒	()	()
-Dibujos de ser estos pertinentes. <i>NO</i>	()	()
-Comprobante de Pago de las tasas establecidas. ☒	()	()
COMPLETA () INCOMPLETA ()	()	()

DISEÑO INDUSTRIAL ()		
-Indicación de que se solicita el registro de Diseño Industrial.	()	()
-Datos de identificación del solicitante o de la persona que se 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 ()		
-Indicación de que se solicita el registro de Diseño Industrial.	()	()
-Datos de identificación del solicitante o de la persona que se presenta la solicitud.	()	()
-Representación gráfica del Esquema Trazado.	()	()
-Comprobante de Pago de las tasas establecidas.	()	()
COMPLETA () INCOMPLETA ()	()	()

Firma Responsable: 
Fecha: Mayo 31 de 2006.

354
243

REPUBLICA DE COLOMBIA
SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

Bogotá,
2020

Doctor(a)
FERRERO EMILIO
Apoderado(a) y/o Representante de
IMMUNEK CORPORATION

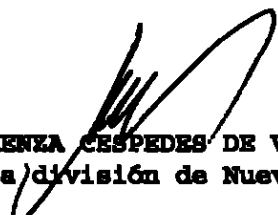
REFERENCIA	Radicación No.	6 52258
	Solicitud internacional	US2004/037242
	Fecha inicio fase nacional	07/06/2006
	Trámite	11
	Evento	378
	Actuación	430
	Oficio No.	3805

Como resultado del examen de forma, realizado con fundamento en el artículo 38 de la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina, artículo 27 del Tratado de Cooperación en Materia de Patentes (PCT), regla 51 bis del Reglamento y Circular Única de la Superintendencia de Industria y Comercio, se le comunica que:

1. La solicitud no contiene la copia del documento en que consta la cesión del derecho a la patente del inventor al solicitante o a su causante. (Art. 26-k) Decisión 486.

En cumplimiento de lo dispuesto por el artículo 39 de la Decisión 486, se le requiere para que dentro del término de dos meses siguientes a la fecha de notificación del presente oficio, complete los requisitos anteriormente enunciados. En caso de no dar cumplimiento al presente requerimiento, la solicitud se considerará abandonada y perderá su prelación.

Notifíquese el presente oficio conforme a lo dispuesto en el numeral 5.2, literal e), del capítulo quinto del título primero de la Circular Única No.10 de 2001.


ALIX CARMONA CESPÉDES DE VERGEL
Jefe de la división de Nuevas Creaciones

El anterior, requerimiento fue notificado por fijación en lista de fecha 11 JUN 2006
adpa11