



Industria y Comercio

SUPERINTENDENCIA

31
08

Delegatura de propiedad Industrial
División de Nuevas Creaciones

SOLICITUD

P.C.T. PATENTE DE INVENCION

07-7680

21 EXPEDIENTE No.

54. TÍTULO "ANTAGONISMO DE LA ACTIVIDAD DEL
RECEPTOR DE INTERLEUCINA 24"

51 CLASIFICACIÓN INTERNACIONAL A61K 38/17, 39/395

71. SOLICITANTE WYETH

DOMICILIO NUEVA JERSEY, ESTADOS UNIDOS

74. APODERADO ALVARO CORREA ORDÓÑEZ
T.P. No. 20.281.

22. BOGOTÁ, D. C., ENERO 26, 2007.

35

Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

SECRETARÍA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
Rad: 07-007880-00000-0000
Fol: 2007-21-26 16 01-16 Dep 2026 ALICREACIONES ón
E: 11 PATENTEY
E: 378 FASENACIONALI
61411 PRESENTACION F8308 452

FORMULARIO ÚNICO DE SOLICITUD DE PATENTE
PCT
ENTRADA EN FASE NACIONAL

①

SOLICITUD DE :

☒

Patente de Invención

☐

Patente de Modelo de Utilidad

☒

Capítulo I.

☐

Capítulo II.

②

SOLICITANTE

(71)

Nombre: WYETH

Dirección: Five Giraldi Farms, Madison, NJ 07940 Estados Unidos de América

Nacionalidad o Domicilio: Nueva Jersey, Estados Unidos

Lugar de Constitución: Delaware, Estados Unidos

Teléfono:

Fax:

E-Mail:

IDENTIFICACION

C.C.

☐

NIT

☐

C.E.

☐

Otro

☐

Cual

Número

③

REPRESENTANTE
O APODERADO

Nombre: ALVARO CORREA ORDOÑEZ

Dirección: Avenida 82 No.10-82 Piso 6

Teléfono: 634 1500

Fax: 378 2211

E-Mail: office.bogota@bakame.com

IDENTIFICACION

C.C.

☒

NIT

☐

C.E.

☐

Otro

☐

Cual

Número

78.143.386 de
Usaquén

TP 20.281

④

INVENTOR (ES)

(72)

Nombre: YOUNG, Deborah A.; COLLINS, Mary; DUNUSSI-JOANNOPOULOS, Kyriaki; O'HARA, Richard Michael Jr.; KASAIAN, Marion T. y WHITTERS, Matthew J.

Dirección: 39 Nelson Road, Melrose, MA 02178, Estados Unidos; 54 Rathbun Road, Natick, MA 01780, Estados Unidos; 64 Douglas Road, Belmont, MA 02478, Estados Unidos; 85 Tyler St., Quincy, MA 02170, Estados Unidos; 18 Concord Street #1, Charlestown, MA 02126, Estados Unidos y 14 Brenton Wood Road, Hudson, MA 01749, Estados Unidos.

Nacionalidad o Domicilio: Estadounidenses

⑤

PCT (85)

Solicitud Internacional No. PCT/US2005/027912

Fecha 05-AGO-05

Publicación Internacional No. WO 2006/135385

Fecha 21-DIC-08

⑥

Título (54)

ANTAGONISMO DE LA ACTIVIDAD DEL RECEPTOR DE INTERLEUQUINA 21

⑦

Clasificación Internacional (51)

A61K 38/17, A61K 39/395, A61P 37/00, C07K 19/00, C12N 15/63, C12N 5/10

⑧

Prioridad

SI ☒NO ☐

(33) País de Origen

US

US

(32) Fecha

05-AGO-04

23-DIC-04

(31) Número de Solicitud

60/599,086

60/639,176

⑨

Comprobante de pago No. 07-2486

Fecha 12-ENE-07

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

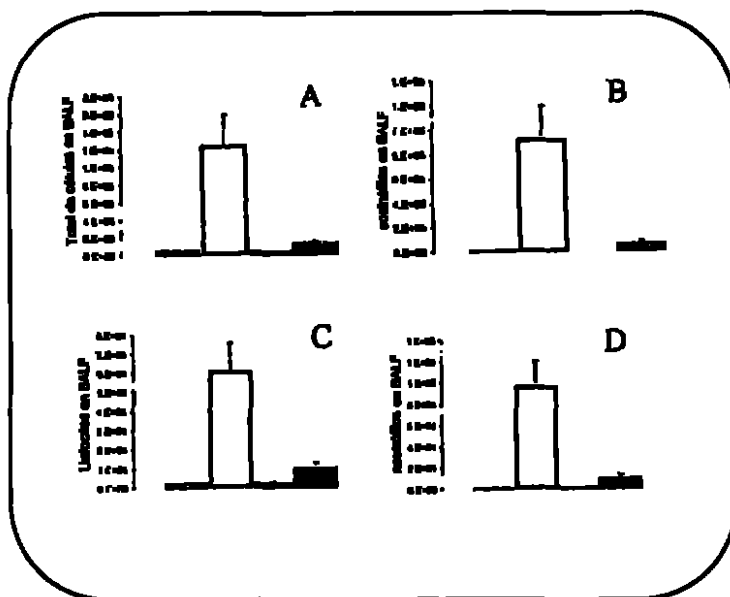
10

ANEXOS

00002

- ☒ Comprobante de pago de la tasa de presentación de la solicitud
- ☐ Documento que acredite 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 internacional efectuado por la Autoridad Internacional de Examen preliminar (IPEA)
- ☐ Traducción del examen preliminar internacional efectuado por la IPEA
- ☐ De ser el caso, copia del contrato de acceso
- ☐ De ser el caso, documento que acredite la licencia o autorización de uso de conocimientos tradicionales de las comunidades indígenas
- ☐ De ser el caso, certificado de depósito del material biológico
- ☐ Arte final 12 x 12
- ☐ De ser el caso, información sobre otras solicitudes de patente o títulos obtenidos en el extranjero por el mismo titular o su causante, relacionadas parcial o totalmente con la invención de esta solicitud
- ☐ De ser el caso, modificaciones efectuadas a la solicitud internacional.
- ☒ Otros: Extractos, Reporte internacional de búsqueda y opinión escrita

11 FIGURA CARACTERISTICA



12 Solicito la concesión de la patente,

NOMBRE: ALVARO CORREA ORDOÑEZ

FIRMA:

C.C. 70243.366 de Usaquén

T.P. 20.284

Instrucciones para la presentación de los anexos, ver reverso de esta página

00003 004 3

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

NIT : 800176089-2

RECIBO OFICIAL DE CAJA : 07 - 2.486
FECHA : ENERO 12 DE 2007

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
Id: 07-007600-00000-0000
15 2007-01-25 16 01 16 Dep 2020 NUECREACIONES
2 11 PATENTE IYE
18 376 FASE NACIONAL
M 411 PRESENTACION FOPIS 453

CONSIGNACION

DEBITANTE	TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PGO	Vr. PAGO
ORLANDO LINARES	CONSIGNACION	BANCO POPULAR	050-00110-6	64321256	11/01/2007	71,059,000.00

CONCEPTO

CANT. REMISISTICO	CONCEPTO	TOTAL CONCEPTO
1 50005-01-01 SOLICITUDES	1 TRAMITES DE SOL. DE PATENTE DE IN	482,000.00
	TOTAL :	\$ 482,000.00

SOM: CUATROCIENTOS OCHENTA Y DOS MIL PESOS

RESPONSABLE : 

RECIBO DE CAJA APLICADO AL EXPEDIENTE No. _____

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

(19) World Intellectual Property Organization
International Bureau(43) International Publication Date
21 December 2006 (21.12.2006)(10) International Publication Number
WO 2006/135385 A2

(51) International Patent Classification:

A61K 39/395 (2006.01) A61P 37/00 (2006.01)
A61K 38/17 (2006.01) C12N 5/10 (2006.01)
C07K 19/00 (2006.01) C12N 15/63 (2006.01)

(21) International Application Number:

PCT/US2005/027912

(22) International Filing Date: 5 August 2005 (05.08.2005)

(23) Filing Language: English

(26) Publication Language: English

(30) Priority Data:

60/599,086 5 August 2004 (05.08.2004) US
60/639,176 23 December 2004 (23.12.2004) US

(71) Applicant (for all designated States except US): WYETH
[US/US]; Five Glaxo Farms, Madison, NJ 07940 (US).

(72) Inventors; and

(73) Inventors/Applicants (for US only): YOUNG, Deborah,
A. [US/US]; 39 Nelson Road, Melrose, MA 02176 (US).
COLLINS, Mary [US/US]; 54 Rathbun Road, Natick,
MA 01760 (US). DUNUSSI-JOANNPOULLOS, Kyr-
leis [US/US]; 64 Douglas Road, Belmont, MA 02478
(US). O'HARA, Richard, Michael, Jr. [US/US]; 65 Tyler

St., Quincy, MA 02170 (US). KASAIAN, Marion, T.
[US/US]; 18 Concord Street #1, Charlestown, MA 02129
(US). WHITTERS, Matthew, J. [US/US]; 14 Banton
Wood Road, Hudson, MA 01749 (US).

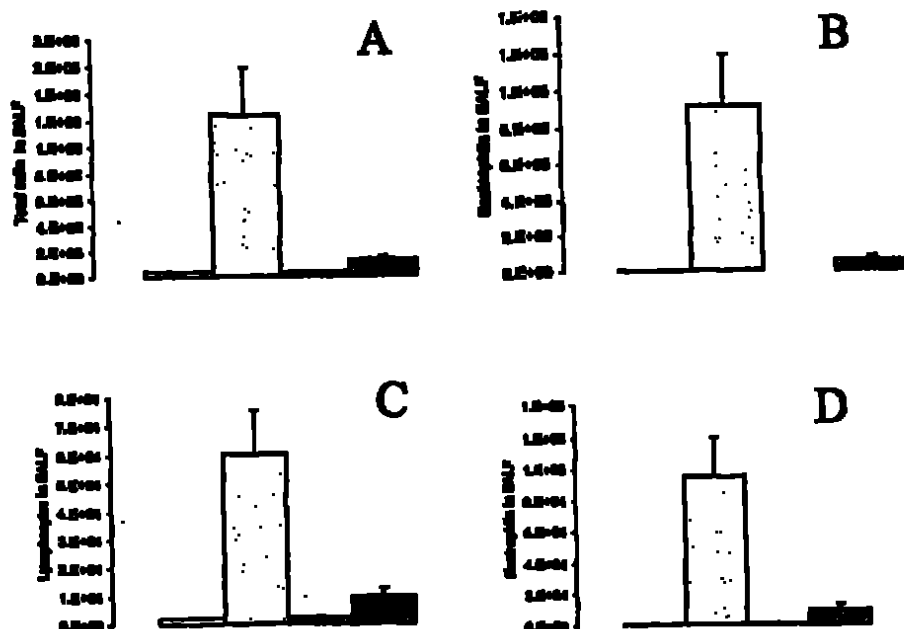
(74) Agents: MANDRA, Raymond, R. et al.; Fitzpatrick,
Cella, Harper & Smith, 30 Rockefeller Plaza, New York,
NY 10112-3801 (US).

(51) 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, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KR,
KG, KM, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA,
MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ,
OM, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL,
SM, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC,
VN, YU, ZA, ZM, ZW.

(54) 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,

[Continued on next page]

(54) Title: ANTAGONIZING INTERLEUKIN-21 RECEPTOR ACTIVITY



(57) Abstract: Methods and compositions for inhibiting interleukin-21 (IL-21)/IL-21 receptor (IL-21R) activity using antagonists of IL-21 or IL-21 receptor ("IL-21R" or "IL-21R"), are disclosed. IL-21/IL-21R antagonists can be used to induce immune suppression *in vivo*, e.g., for treating, ameliorating or preventing autoimmune or inflammatory disorders, including, e.g., inflammatory bowel disease (IBD), rheumatoid arthritis (RA), transplant/graft rejection, psoriasis, asthma, fibrosis, and systemic lupus erythematosus (SLE).

FR, GB, GR, HU, IE, IS, IT, LI, LU, LV, 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, TG).

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

Published:

— without international search report and to be republished upon receipt of that report

- 1 -

TITLE

ANTAGONIZING INTERLEUKIN-21 RECEPTOR ACTIVITY

[0001] This application claims the benefit of U.S. Provisional Application Ser. No. 60/599,086, filed August 5, 2004, and U.S. Provisional Application Ser. No. 60/639,176, filed December 23, 2004, both of which are incorporated herein by reference in their entireties.

BACKGROUND OF THE INVENTION

Field of the Invention

[0002] The present invention relates to methods and compositions for antagonizing, reducing, and/or inhibiting interleukin-21 (IL-21)/IL-21 receptor (MU-1) activity using IL-21 receptor antagonists. The methods and compositions disclosed herein are useful as immunotherapeutic agents.

Related Background Art

[0003] Human IL-21 is a cytokine that shows sequence homology to IL-2, IL-4 and IL-15 (Parrish-Novak et al. (2000) *Nature* 408:57-63). Despite low sequence homology among interleukin cytokines, cytokines share a common fold into a "four-helix-bundle" structure that is representative of the family. Most cytokines bind either class I or class II cytokine receptors. Class II cytokine receptors include the receptors for IL-10 and the interferons, whereas class I cytokine receptors include the receptors for IL-2 through IL-7, IL-9, IL-11, IL-12, IL-13,

and IL-15, as well as hematopoietic growth factors, leptin, and growth hormone (Cosman (1993) *Cytokine* 5:95-106).

[0004] Human IL-21 receptor (IL-21R) is a class I cytokine receptor that is expressed in lymphoid tissues, in particular by NK, B, and T cells (Parriah-Novak et al. (2000) *supra*). The nucleotide and amino acid sequences encoding human interleukin-21 (IL-21) and its receptor (IL-21R) are described in WO 00/53761; WO 01/85792; Parriah-Novak et al. (2000) *supra*; and Ozaki et al. (2000) *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 97:11439-44. IL-21R has the highest sequence homology to IL-2 receptor β chain and IL-4 receptor α chain (Ozaki et al. (2000) *supra*). Upon ligand binding, IL-21R associates with the common gamma cytokine receptor chain (γ_c) that is shared by receptors for IL-2, IL-3, IL-4, IL-7, IL-9, IL-13 and IL-15 (Ozaki et al. (2000) *supra*; Asao et al. (2001) *J. Immunol.* 167:1-5). The widespread lymphoid distribution of IL-21R suggests that IL-21 may play a role in immune regulation. Indeed, *in vitro* studies have shown that IL-21 significantly modulates the function of B cells, CD4⁺ and CD8⁺ T cells, and NK cells (Parriah-Novak et al. (2000) *supra*; Kasaian et al. (2002) *Immunity*. 16:559-69). Nevertheless, evidence supporting a regulatory effect of IL-21 *in vivo* is limited.

SUMMARY OF THE INVENTION

[0005] Methods and compositions for interfering with the activity of and/or an interaction between interleukin-21 (IL-21) and an IL-21 receptor (also referred to herein as "IL-21R" or "MU-1"), e.g., using antagonists of IL-21 or IL-21R, are disclosed (also referred to herein as an "IL-21/IL-21R antagonist" or "antagonist" or "IL-21/IL-21R pathway antagonist").

[0006] For example, Applicants have shown that reducing IL-21R activity by using an IL-21 antagonist, e.g., a fusion protein that includes the extracellular domain of the IL-21R fused to an Fc immunoglobulin region, ameliorates inflammatory symptoms in several different animal models reasonably predictive of inflammatory and/or autoimmune disorders, such as inflammatory bowel disease (IBD), rheumatoid arthritis (RA), transplant/graft rejection, graft vs. host

disease, asthma, systemic lupus erythematosus (SLE) (including a form of glomerulonephritis), and psoriasis (Examples 7-14). Expression of IL-21R mRNA is upregulated in the paws of collagen-induced arthritis (CIA) mice (Example 8). Furthermore, a mouse deficient in IL-21R showed a reduction of symptoms in an asthma model (Example 12). Accordingly, antagonists of IL-21/IL-21R activity can be used to induce immune suppression *in vivo*, e.g., for treating or preventing inflammatory or autoimmune disorders. These antagonists can also be used to treat or prevent an immune cell-associated disorder, e.g., a disorder associated with aberrant activity of one or more of mature T cells (e.g., mature CD8+ or mature CD4+ T cells), mature NK cells, B cells, macrophages, and megakaryocytes.

[0007] Accordingly, in one aspect, the invention features a method of treating (e.g., curing, suppressing, delaying), ameliorating (e.g., lessening, alleviating, reducing, decreasing) and/or preventing (e.g., preventing the onset of, or preventing recurrence or relapse of) an inflammatory or an autoimmune disorder in a subject. The method includes: administering to the subject an IL-21/IL-21R antagonist, e.g., in an amount sufficient to treat, ameliorate, or prevent the disorder or in an amount sufficient to inhibit or reduce immune cell activity and/or cell number.

[0008] The IL-21/IL-21R antagonist can be administered to the subject alone, or in combinations of IL-21/IL-21R antagonists, or in combination with other therapeutic modalities as described herein. Preferably, the subject is a mammal, e.g., a human, suffering from or at risk for an inflammatory or an autoimmune disorder. For example, the method can be used to treat or prevent, in a subject, an inflammatory or an autoimmune disorder. Examples of such a disorder include, but are not limited to: transplant/graft rejection; diabetes mellitus (e.g., type I); multiple sclerosis; an arthritic disorder (e.g., rheumatoid arthritis (RA), juvenile rheumatoid arthritis, osteoarthritis, psoriatic arthritis, or ankylosing spondylitis (preferably, RA)); myasthenia gravis; vasculitis; systemic lupus erythematosus (SLE); glomerulonephritis; autoimmune thyroiditis; a skin inflammatory disorder (e.g., dermatitis (including atopic dermatitis and eczematous dermatitis),

scleroderma, or psoriasis); lupus erythematosus; a fibrosis or fibrotic disorder (e.g., pulmonary fibrosis or liver fibrosis); a respiratory disorder (e.g., asthma or COPD); an atopic disorder (e.g., including allergy); or an intestinal inflammatory disorder (e.g., an IBD, e.g., Crohn's disease or ulcerative colitis).

[0009] Treatment of a disorder chosen from lupus erythematosus, a skin inflammatory disorder (e.g., psoriasis), an intestinal inflammatory disorder (e.g., IBD, Crohn's disease, ulcerative colitis), transplant/graft rejection, asthma, an atopic disorder, or rheumatoid arthritis, using the IL-21 or IL-21R antagonists of the present invention is preferred.

[0010] In one embodiment, the IL-21/IL-21R antagonist interacts with, e.g., binds to, IL-21 or IL-21R, preferably, mammalian, e.g., human IL-21 or IL-21R (referred to herein as an "IL-21 antagonist" and "IL-21R antagonist," respectively), and reduces or inhibits one or more IL-21 and/or IL-21R activities. Preferred antagonists bind to IL-21 or IL-21R with high affinity, e.g., with an affinity constant of at least about 10^7 M^{-1} , preferably about 10^8 M^{-1} , and more preferably, about 10^9 M^{-1} to 10^{10} M^{-1} or stronger.

[0011] For example, an IL-21/IL-21R antagonist can reduce and/or inhibit IL-21R activity by neutralizing IL-21. In one embodiment, the antagonist can be a fusion protein that includes a fragment of an IL-21R fused to a non-IL-21R fragment, e.g., an immunoglobulin Fc region. In other embodiments, the antagonist is an anti-IL-21R or anti-IL-21 antibody or an antigen-binding fragment thereof, a soluble form of the IL-21 receptor, a peptide or a small molecule inhibitor.

[0012] In one embodiment, the IL-21/IL-21R antagonist is an anti-IL-21R or anti-IL-21 antibody, or an antigen-binding fragment thereof; e.g., the antibody is a monoclonal or single specificity antibody that binds to IL-21, e.g., human IL-21, or an IL-21 receptor, e.g., human IL-21 receptor polypeptide, or an antigen-binding fragment thereof (e.g., an Fab, F(ab')₂, Fv or a single chain Fv fragment). Preferably, the antibody is a human, humanized, chimeric, or *in vitro*-generated antibody to human IL-21 or human IL-21 receptor polypeptide. Preferably, the antibody is a neutralizing antibody.

[0013] In other embodiments, the IL-21/IL-21R antagonist includes full length, or a fragment of an IL-21 polypeptide, e.g., an inhibitory IL-21 receptor-binding domain of an IL-21 polypeptide, e.g., a human IL-21 polypeptide (e.g., a human IL-21 polypeptide as described herein having an amino acid sequence shown as SEQ ID NO:19) or a sequence at least 85%, 90%, 95%, 98% or more identical thereto; or encoded by a corresponding nucleotide sequence shown as SEQ ID NO:18 or a sequence at least 85%, 90%, 95%, 98% or more identical thereto. Alternatively, the antagonist includes full length (e.g., from about amino acids 1-538 or 20-538 of SEQ ID NO:2; or from about amino acids 1-529 or 20-529 of SEQ ID NO:10), or a fragment of an IL-21 receptor polypeptide, e.g., an IL-21-binding domain of an IL-21 receptor polypeptide, e.g., a soluble fragment of an IL-21R (e.g., a fragment of an IL-21R comprising the extracellular domain of murine or human IL-21R; e.g., from about amino acids 1-235, 1-236, 20-235, 20-236 of SEQ ID NO:2 (human), or from about amino acids 1-236, 20-236 of SEQ ID NO:10 (murine), or encoded by the corresponding nucleotides of SEQ ID NO:1 or 9, or a sequence at least 85%, 90%, 95%, 98% or more identical thereto.

[0014] In one embodiment, the antagonist is a fusion protein comprising the aforesaid IL-21 or IL-21 receptor polypeptides or fragments thereof and, e.g., fused to a second moiety, e.g., a polypeptide (e.g., an immunoglobulin chain, a GST, Lex-A or MBP polypeptide sequence). In a preferred embodiment, the fusion protein includes at least a fragment of an IL-21R polypeptide that is capable of binding IL-21, e.g., a soluble fragment of an IL-21R (e.g., a fragment of an IL-21R comprising the extracellular domain of murine or human IL-21R, e.g., from about amino acids 1-235, 1-236, 20-235, 20-236 of SEQ ID NO:2 (human), or from about amino acids 1-236, 20-236 of SEQ ID NO:10 (murine), or encoded by the corresponding nucleotides of SEQ ID NO:1 or 9, or a sequence at least 85%, 90%, 95%, 98% or more identical thereto) and, e.g., fused to, a second moiety, e.g., a polypeptide (e.g., an immunoglobulin chain, an Fc fragment, a heavy chain constant regions of the various isotypes, including: IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgM, IgA1, IgA2, IgD, and IgE). For example, the fusion protein can include the extracellular domain of human IL-21R, e.g., from about

amino acids 1-235, 1-236, 20-235, 20-236 of SEQ ID NO:2, and, e.g., fused to, a human immunoglobulin Fc chain (e.g., human IgG, e.g., human IgG1, e.g., a naturally occurring human IgG1 or a mutated form of human IgG1). In one embodiment, the human Fc sequence has been mutated at one or more amino acids, e.g., mutated at residues 254 and 257 of SEQ ID NO:28, from the naturally occurring sequence to reduce Fc receptor binding. In other embodiments, the fusion protein can include the extracellular domain of murine IL-21R, e.g., from about amino acids 1-236, 20-235 of SEQ ID NO:10 (murine), and, e.g., fused to, a murine immunoglobulin Fc chain (e.g., murine IgG, e.g., murine IgG2a or a mutated form of murine IgG2a).

[0015] The fusion proteins may additionally include a linker sequence joining the first moiety, e.g., an IL-21R fragment, to the second moiety, e.g., the immunoglobulin fragment. In other embodiments, additional amino acid sequences can be added to the N- or C-terminus of the fusion protein to facilitate expression, steric flexibility, detection, and/or isolation or purification.

[0016] Examples of antagonistic fusion proteins that can be used in the methods of the invention are shown in FIGS. 7-15. In one embodiment, the fusion protein includes an amino acid sequence chosen from, e.g., SEQ ID NO:23, SEQ ID NO:25, SEQ ID NO:27, SEQ ID NO:29, SEQ ID NO:31, SEQ ID NO:33, SEQ ID NO:35, SEQ ID NO:37, or SEQ ID NO:39, or a sequence at least 85%, 90%, 95%, 98% or more identical thereto. In other embodiments, the fusion protein includes an amino acid sequence encoded by a nucleotide sequence chosen from, e.g., SEQ ID NO:22, SEQ ID NO:24, SEQ ID NO:26, SEQ ID NO:28, SEQ ID NO:30, SEQ ID NO:32, SEQ ID NO:34, SEQ ID NO:36, or SEQ ID NO:38, or a sequence at least 85%, 90%, 95%, 98% or more identical thereto. Preferred fusion proteins have the amino acid sequence shown as SEQ ID NO:25 or SEQ ID NO:29 (FIGS. 8A-8C and 10A-10C, respectively), or a sequence at least 85%, 90%, 95%, 98% or more identical thereto. In other embodiments, the fusion protein includes an amino acid sequence encoded by a nucleotide sequence chosen from, e.g., SEQ ID NO:24 or SEQ ID NO:28 (FIGS. 8A-8C and 10A-10C, respectively), or a sequence at least 85%, 90%, 95%, 98% or more

identical thereto. Most preferably, the fusion protein has the amino acid sequence shown as SEQ ID NO:29 or has an amino acid sequence encoded by a nucleotide sequence shown as SEQ ID NO:28 (FIG. 10A-10C).

[0017] The IL-21/IL-21R antagonists described herein, e.g., the fusion protein described herein, can be derivatized or linked to another functional molecule, e.g., another peptide or protein (e.g., an Fab' fragment). For example, the fusion protein or an antibody, or antigen-binding portion, can be functionally linked (e.g., by chemical coupling, genetic fusion, noncovalent association or otherwise) to one or more other molecular entities, such as an antibody (e.g., a bispecific or a multispecific antibody), toxins, radioisotopes, cytotoxic or cytostatic agents, among others.

[0018] In one embodiment, the IL-21/IL-21R antagonists described herein, e.g., the pharmaceutical compositions thereof, are administered in combination therapy, i.e., combined with other agents, e.g., therapeutic agents, which are useful for treating inflammatory or autoimmune disorders, e.g., a disorder chosen from one or more of: an arthritic disorder (including RA, juvenile rheumatoid arthritis, osteoarthritis, psoriatic arthritis, or ankylosing spondylitis); SLE; glomerulonephritis; a skin inflammatory disorder (e.g., psoriasis); a respiratory disorder (e.g., asthma, COPD); an atopic disorder; a fibrotic disorder (e.g., pulmonary fibrosis or liver fibrosis); an intestinal inflammatory disorder (e.g., an IBD, e.g., Crohn's disease or ulcerative colitis); or transplant/graft rejection. For example, the combination therapy can include one or more IL-21/IL-21R antagonists, e.g., an anti-IL-21 or anti-IL-21R antibody or an antigen-binding fragment thereof; an IL-21R fusion protein; a soluble IL-21R receptor; a peptide inhibitor or a small molecule inhibitor) coformulated with, and/or coadministered with, one or more additional therapeutic agents, e.g., one or more cytokine and growth factor inhibitors, immunosuppressants, anti-inflammatory agents, metabolic inhibitors, enzyme inhibitors, and/or cytotoxic or cytostatic agents, as described herein.

[0019] Examples of preferred additional therapeutic agents that can be coadministered and/or coformulated with one or more IL-21/IL-21R antagonists,

include, but are not limited to, one or more of: TNF antagonists (e.g., chimeric, humanized, human or *in vitro*-generated antibodies, or antigen-binding fragments thereof, that bind to TNF; soluble fragments of a TNF receptor, e.g., p55 or p75 human TNF receptor or derivatives thereof, e.g., 75 kDa TNFR-IgG (75 kDa TNF receptor-IgG fusion protein, ENBREL™), p55 kDa TNF receptor-IgG fusion protein; TNF enzyme antagonists, e.g., TNF α converting enzyme (TACE) inhibitors); antagonists of IL-6, IL-12, IL-15, IL-17, IL-18, IL-22; T cell and B cell depleting agents (e.g., anti-CD4 or anti-CD22 antibodies); small molecule inhibitors, e.g., methotrexate and leflunomide; sirolimus (rapamycin) and analogs thereof, e.g., CCI-779; Cox-2 and cPLA2 inhibitors; NSAIDs; p38 inhibitors, TPL-2, Mx-2 and NF κ B inhibitors; RAGE or soluble RAGE; P-selectin or PSGL-1 inhibitors (e.g., small molecule inhibitors, antibodies thereto, e.g., antibodies to P-selectin); estrogen receptor beta (ERB) agonists or ERB-NF κ B antagonists. Most preferred additional therapeutic agents that can be coadministered and/or coformulated with one or more IL-21/IL-21R antagonists include one or more of: a soluble fragment of a TNF receptor, e.g., p55 or p75 human TNF receptor or derivatives thereof, e.g., 75 kDa TNFR-IgG (75 kDa TNF receptor-IgG fusion protein, ENBREL™); methotrexate, leflunomide, or a sirolimus (rapamycin) or an analog thereof, e.g., CCI-779.

[0020] In another aspect, a method for decreasing immune cell activity (e.g., the activity of one or more of: a mature T cell (mature CD8⁺, CD4⁺, lymph node T cell, memory T cell), mature NK cell, B cell, antigen presenting cell (APC), e.g., a dendritic cell, macrophage or megakaryocyte, or a population of cells, e.g., a mixed or a substantially purified immune cell population, is provided. The method includes contacting the immune cell with an IL-21/IL-21R antagonist, e.g., an antagonist as described herein, in an amount sufficient to decrease immune cell activity.

[0021] In another aspect, the invention features a fusion protein that includes at least a fragment of an IL-21R polypeptide, which is capable of binding an IL-21 polypeptide, e.g., a soluble fragment of an IL-21R (e.g., a fragment of an IL-21R comprising the extracellular domain of murine or human IL-21R; e.g., from about

amino acids 1-235, 1-236, 20-235, 20-236 of SEQ ID NO:2 (human), or from about amino acids 1-236, 20-236 of SEQ ID NO:10 (murine), or encoded by the corresponding nucleotides of SEQ ID NO:1 or SEQ ID NO:9, or a sequence at least 85%, 90%, 95%, 98% or more identical thereto) and, e.g., fused to, a second moiety, e.g., a polypeptide (e.g., an immunoglobulin chain, an Fc fragment, a heavy chain constant regions of the various isotypes, including: IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgM, IgA1, IgA2, IgD, and IgE). For example, the fusion protein can include the extracellular domain of human IL-21R, e.g., from about amino acids 1-235, 1-236, 20-235, 20-236 of SEQ ID NO:2, and, e.g., fused to, a human immunoglobulin Fc chain (e.g., human IgG, e.g., human IgG1 or a mutated form of human IgG1). In one embodiment, the human Fc sequence has been mutated at one or more amino acids, e.g., mutated at residues 254 and 257 of SEQ ID NO:28, from the wild type sequence to reduce Fc receptor binding. In other embodiments, the fusion protein can include the extracellular domain of murine IL-21R, e.g., from about amino acids 1-236, 20-236 of SEQ ID NO:10 (murine), and, e.g., fused to, a murine immunoglobulin Fc chain (e.g., murine IgG, e.g., murine IgG2a or a mutated form of murine IgG2a). The fusion proteins may additionally include a linker sequence joining the IL-21R fragment to the second moiety. In other embodiments, additional amino acid sequences can be added to the N- or C-terminus of the fusion protein to facilitate expression, detection and/or isolation or purification.

[0022] The invention also features nucleic acid sequences that encode the fusion proteins described herein.

[0023] In another aspect, the invention features host cells and vectors containing the nucleic acids of the invention. Preferably, the host cell is a eukaryotic cell, e.g., a mammalian cell, an insect cell, or a yeast cell, or a prokaryotic cell, e.g., *E. coli*. For example, the mammalian cell can be a cultured cell or a cell line. Exemplary mammalian cells include lymphocytic cell lines (e.g., NSO), Chinese hamster ovary cells (CHO), COS cells, oocyte cells, and cells from a transgenic animal, e.g., mammary epithelial cell. For example, nucleic acids encoding the fusion proteins described herein can be expressed in a transgenic animal. In one

embodiment, the nucleic acids are placed under the control of a tissue-specific promoter (e.g., a mammary-specific promoter) and the antibody is produced in the transgenic animal. For example, the fusion protein is secreted into the milk of the transgenic animal, such as a transgenic cow, pig, horse, sheep, goat, or rodent.

[0024] In another aspect, the invention provides a process for producing a fusion protein, e.g., a fusion protein as described herein. The process comprises: (a) growing a culture of the host cell of the present invention in a suitable culture medium and (b) purifying the fusion protein from the culture. Proteins produced according to these methods are also provided.

[0025] In another aspect, the invention provides compositions, e.g., pharmaceutical compositions, which include a pharmaceutically acceptable carrier and at least one of IL-21/IL-21R antagonist as described herein (e.g., a fusion protein described herein). In one embodiment, the compositions, e.g., pharmaceutical compositions, comprise a combination of two or more IL-21/IL-21R antagonists. Combinations of the IL-21/IL-21R antagonists and a drug, e.g., a therapeutic agent (e.g., one or more cytokine and growth factor inhibitors, immunosuppressants, anti-inflammatory agents, metabolic inhibitors, enzyme inhibitors, and/or cytotoxic or cytostatic agents, as described herein) or an antigen, e.g., an antigenic peptide and/or an antigen-presenting cell, are also within the scope of the invention.

[0026] In one embodiment, the pharmaceutical composition includes an IL-21/IL-21R antagonist and at least one additional therapeutic agent, in a pharmaceutically acceptable carrier. Examples of preferred additional therapeutic agents that can be coformulated in a composition, e.g., a pharmaceutical composition, with one or more IL-21/IL-21R antagonists, include, but are not limited to, one or more of: TNF antagonists (e.g., chimeric, humanized, human or *in vitro*-generated antibodies, or antigen-binding fragments thereof, that bind to TNF; soluble fragments of a TNF receptor, e.g., p55 or p75 human TNF receptor or derivatives thereof, e.g., 75 kDa TNFR-IgG (75 kDa TNF receptor-IgG fusion protein, ENBREL™), p55 kDa TNF receptor-IgG fusion protein; TNF enzyme antagonists, e.g., TNF α converting enzyme (TACE) inhibitors); antagonists of

IL-6, IL-12, IL-15, IL-17, IL-18, IL-22; T cell and B cell depleting agents (e.g., anti-CD4 or anti-CD22 antibodies); small molecule inhibitors, e.g., methotrexate and leflunomide; sirolimus (rapamycin) and analogs thereof, e.g., CCI-779; Cox-2 and cPLA2 inhibitors; NSAIDs; p38 inhibitors, TPL-2, Mk-2 and NFκB inhibitors; RAGE or soluble RAGE; P-selectin or PSGL-1 inhibitors (e.g., small molecule inhibitors, antibodies thereto, e.g., antibodies to P-selectin); estrogen receptor beta (ERB) agonists or ERB-NFκB antagonists. Most preferred additional therapeutic agents that can be coadministered and/or coformulated with one or more IL-21/IL-21R antagonists include one or more of: a soluble fragment of a TNF receptor, e.g., p55 or p75 human TNF receptor or derivatives thereof, e.g., 75 kDa TNFR-IgG (75 kDa TNF receptor-IgG fusion protein, ENBREL™); methotrexate, leflunomide, or a sirolimus (rapamycin) or an analog thereof, e.g., CCI-779.

[0027] In another aspect, the invention features methods to treat, ameliorate, or prevent an atopic disorder in a subject, e.g., a mammal, e.g., a human. The method includes: administering to the subject an IL-21/IL-21R antagonist, e.g., in an amount sufficient to treat, ameliorate, or prevent the disorder or in an amount sufficient to inhibit or reduce immune cell activity and/or cell number. In one embodiment, the atopic disorder is allergic asthma. In another embodiment, the atopic disorder is atopic dermatitis, urticaria, eczema, allergic rhinitis, or allergic enterogastritis. In one embodiment, the IL-21/IL-21R antagonist can be administered in combination with another therapeutic agent, e.g., a cytokine inhibitor, an immunosuppressant, an anti-inflammatory agent, an enzyme inhibitor, a leukotriene antagonist, a bronchodilator, a beta 2-adrenoceptor agonist, an antimuscarinic, or a mast cell stabilizer. Examples of preferred therapeutic agents that can be administered in conjunction with an IL-21/IL-21R antagonist to treat, ameliorate, or prevent an atopic disorder include, e.g., TNF antagonists, IL-6 antagonists, IL-12 antagonists, IL-15 antagonists, IL-17 antagonists, IL-18 antagonists, IL-22 antagonists, T cell-depleting agents, B cell-depleting agents, methotrexate, leflunomide, sirolimus (rapamycin) or analogs thereof, Cox-2 inhibitors, cPLA2 inhibitors, NSAIDs, and p38 inhibitors.

[0028] In another aspect, the invention features methods to treat, ameliorate, or prevent an autoimmune disorder in a subject. The method includes: administering to the subject an IL-21/IL-21R antagonist, e.g., in an amount sufficient to treat, ameliorate, or prevent the disorder or an in amount sufficient to inhibit or reduce immune cell activity and/or cell number. In one embodiment, the autoimmune disorder is lupus, e.g., SLE. In one embodiment, the IL-21/IL-21R antagonist can be administered in combination with another therapeutic agent, e.g., a cytokine inhibitor, a growth factor inhibitor, an immunosuppressant, an anti-inflammatory agent, a metabolic inhibitor, an enzyme inhibitor, a cytotoxic agent, or a cytostatic agent. Examples of preferred therapeutic agents that can be administered in conjunction with an IL-21/IL-21R antagonist to treat, ameliorate, or prevent an autoimmune disorder include, e.g., TNF antagonists, IL-6 antagonists, IL-12 antagonists, IL-15 antagonists, IL-17 antagonists, IL-18 antagonists, IL-22 antagonists, T cell-depleting agents, B cell-depleting agents, chloroquine, hydroxychloroquine, methotrexate, leflunomide, sirolimus (rapamycin) or analogs thereof, Cox-2 inhibitors, cPLA2 inhibitors, NSAIDs, and p38 inhibitors.

[0029] In another aspect, the invention features methods to treat, ameliorate, or prevent a fibrotic disorder in a subject. The method includes: administering to the subject an IL-21/IL-21R antagonist, e.g., in an amount sufficient to treat, ameliorate, or prevent the disorder or an in amount sufficient to inhibit or reduce immune cell activity and/or cell number. For example, the subject may have or be at risk for fibrosis of an internal organ (e.g., liver fibrosis, renal fibrosis, or pulmonary fibrosis), a dermal fibrosing disorder, or a fibrotic condition of the eye.

[0030] In another aspect, the invention features methods of transplanting or grafting organs, tissues, or cells to a subject. The method includes administering to the subject an IL-21/IL-21R antagonist, e.g., before, during, or after the transplantation or grafting. The organs and tissues transplanted/grafted can include, but are not limited to, e.g., heart, kidney, liver, lung, pancreas, bone marrow, cartilage, cornea, neuronal tissue, and cells thereof. In one embodiment,

the IL-21/IL-21R antagonist is administered in combination with another therapeutic agent, e.g., a cytokine inhibitor, a growth factor inhibitor, an immunosuppressant, an anti-inflammatory agent, a metabolic inhibitor, an enzyme inhibitor, a cytotoxic agent, and a cytostatic agent. Examples of preferred therapeutic agents that can be administered in conjunction with IL-21/IL-21R antagonists include, e.g., rapamycin, cyclosporine, anti-CTLA-4 antibodies, anti-CD40 antibodies, anti-CD40L antibodies, and anti-CD154 antibodies.

[0031] In another aspect, the invention features a method of evaluating and treating a transplant/graft recipient for symptoms of transplant/graft rejection or a disorder associated with transplant/graft rejection, e.g., fibrosis or graft-versus-host-disease (GVHD). The method includes identifying a subject with symptoms of transplant/graft rejection and administering an IL-21/IL-21R antagonist, e.g., in an amount sufficient to treat or ameliorate the symptoms of transplant rejection. Symptoms of transplant/graft rejection include, e.g., inflammation, decreased organ function, abnormal biopsy, and fibrosis. In another embodiment, the invention provides a method of preventing (e.g., reducing the risk of) transplant/graft rejection or a disorder associated with transplant/graft rejection by administering an IL-21/IL-21R antagonist.

[0032] In another aspect, the invention features methods to treat, ameliorate, or prevent transplant/graft rejection or a disorder associated with transplant/graft rejection in a subject. The method features administering to the subject an IL-21/IL-21R antagonist in an amount sufficient to treat or ameliorate, or prevent (e.g., reduce the risk of), the rejection or in an amount sufficient to inhibit or reduce immune cell activity and/or cell number. The organs or tissues transplanted can include, e.g., heart, kidney, liver, lung, pancreas, and bone marrow. In one embodiment, the IL-21/IL-21R antagonist can be administered in combination with another therapeutic agent, e.g., a cytokine inhibitor, a growth factor inhibitor, an immunosuppressant, an anti-inflammatory agent, a metabolic inhibitor, an enzyme inhibitor, a cytotoxic agent, or a cytostatic agent. Examples of preferred therapeutic agents that can be administered in conjunction with IL-21/IL-21R antagonists to treat, ameliorate, or prevent transplant/graft rejection

include, e.g., rapamycin, cyclosporine, anti-CTLA-4 antibodies, anti-CD40 antibodies, anti-CD40L antibodies, and anti-CD154 antibodies.

[0033] The following sets of terms are used interchangeably herein: "MU-1" and "IL-21R," and peptides, polypeptides, and proteins.

[0034] Unless otherwise defined, all technical and scientific terms used herein have the same meaning as commonly understood by one of ordinary skill in the art to which this invention belongs. Although methods and materials similar or equivalent to those described herein can be used in the practice or testing of the invention, suitable methods and materials are described below. All publications, patent applications, patents, and other references mentioned herein are incorporated by reference in their entirety. In the case of conflict, the present specification, including definitions, will control. In addition, the materials, methods, and examples are illustrative only and not intended to be limiting.

[0035] Other features and advantages of the invention will be apparent from the following detailed description and claims.

BRIEF DESCRIPTION OF THE DRAWINGS

[0036] FIG. 1 depicts the full-length cDNA sequence of murine IL-21R/MU-1. The nucleotide sequence corresponds to nucleotides 1-2628 of SEQ ID NO:9.

[0037] FIGS. 2A-2B depict the amino acid sequences of murine and human IL-21R/MU-1. FIG. 2A depicts the amino acid sequence of murine IL-21R/MU-1 (corresponding to the amino acids 1-529 of SEQ ID NO:10). There is a predicted leader sequence at amino acids 1-19 (predicted by SPScan) with score of 10.1 (bold-face type). There is a predicted transmembrane domain at amino acids 237-253 of SEQ ID NO:10 (underlined). Predicted signaling motifs include the following regions: Box 1: amino acids 265-274 and Box 2: amino acids 310-324 (bold and underlined); six tyrosines are located at amino acid positions 281, 319, 361, 368, 397, and 510, of SEQ ID NO:10. The WSXWS motif (SEQ ID NO:8) is located at amino acid residue 214 to amino acid residue 218 (in large, bold-face type). Potential STAT docking sites include, amino acids 393-398 and amino acids 510-513 of SEQ ID NO:10. FIG. 2B

depicts the amino acid sequence of human MU-1 (corresponding to SEQ ID NO:2). The location of the predicted signal sequence (about amino acids 1-19 of SEQ ID NO:2); WSXWS motif (about amino acids 213-217 of SEQ ID NO:2); and transmembrane domain (about amino acids 236-252, 236-253, 236-254, of SEQ ID NO:2 (underlined)) are indicated. Potential JAK binding sites, signaling motifs and STAT docking sites are also indicated. The approximate location of these sites is boxed.

[0038] FIG. 3 depicts the GAP comparison of human and murine MU-1 cDNA sequences (corresponding to nucleic acids 1-2665 of SEQ ID NO:1 and nucleic acids 1-2628 of SEQ ID NO:9, respectively). HuMU-1 = human MU-1, murMU-1 = murine MU-1. Gap Parameters: Gap Weight = 50, Average Match = 10.000, Length Weight = 3, Average Mismatch = 0.000, Percent Identity = 66.116.

[0039] FIG. 4 depicts a GAP comparison of the human MU-1 protein (corresponding to amino acids of SEQ ID NO:2) and the murine MU-1 protein (corresponding to amino acids of SEQ ID NO:10). The alignment was generated by BLOSUM62 amino acid substitution matrix (Henikoff and Henikoff (1992) *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 89:10915-19). Gap parameters = Gap Weight: 8, Average Match = 2.9 12, Length Weight = 2, Average Mismatch = -2.003; Percent Identity = 65.267.

[0040] FIG. 5 depicts a multiple sequence alignment of the amino acids of human MU-1 (corresponding to SEQ ID NO:2), murine MU-1 (corresponding to SEQ ID NO: 10), and human IL2 beta chain (GENBANK® Accession No. M26062). Leader and transmembrane domains are underlined. Conserved cytokine receptor module motifs are indicated by bold-face type. Potential signaling regions are indicated by underlining and bold-face type.

[0041] FIG. 6 depicts signaling through MU-1. MU-1 phosphorylates STAT 5 in Clone E7 RPO-MU-1 chimera. Under the conditions specified in Example 3, signaling through MU-1 results in the phosphorylation of STAT 5 at all time-points tested. Treatment of controls or the chimeric BAF-3 cells with IL-3 resulted in phosphorylation of STAT 3, but not STAT 1 or 5.

[0042] FIGS. 7A-7B depict an alignment of the nucleotide and amino acid sequences of human IL-21R monomer (corresponding to amino acids 20-235 of SEQ ID NO:2) fused at the amino terminal to honey bee leader sequence and His6 tags (amino acids 1-44 of SEQ ID NO:23). The nucleotide and amino acid sequences are shown as SEQ ID NO:22 and SEQ ID NO:23, respectively.

[0043] FIGS. 8A-8C depict an alignment of the nucleotide and amino acid sequences of human IL-21R extracellular domain (corresponding to amino acids 1-235 of SEQ ID NO:2) fused at the C-terminus via a linker (corresponding to amino acids 236-243 of SEQ ID NO:25) to human immunoglobulin G1 (IgG1) Fc sequence (corresponding to amino acids 244-467 of SEQ ID NO:25). The nucleotide and amino acid sequences are shown as SEQ ID NO:24 and SEQ ID NO:25, respectively.

[0044] FIGS. 9A-9C depict an alignment of the nucleotide and amino acid sequences of human IL-21R extracellular domain (corresponding to amino acids 1-235 of SEQ ID NO:2) fused at the C-terminus via a linker (corresponding to amino acids 236-243 of SEQ ID NO:27) to human immunoglobulin G1 (IgG1) Fc sequence (corresponding to amino acids 244-467 of SEQ ID NO:27), and His₆ sequence tag (corresponding to amino acids 468-492 of SEQ ID NO:27). The nucleotide and amino acid sequences are shown as SEQ ID NO:26 and SEQ ID NO:27, respectively.

[0045] FIGS. 10A-10C depict an alignment of the nucleotide and amino acid sequences of human IL-21R extracellular domain (corresponding to amino acids 1-235 of SEQ ID NO:2) fused at the C-terminus via a linker (corresponding to amino acids 236-243 of SEQ ID NO:29) to human immunoglobulin G1 (IgG1) Fc mutated sequence (corresponding to amino acids 244-467 of SEQ ID NO:29). The human Fc sequence has been mutated at residues 254 and 257 from the wild-type sequence to reduce Fc receptor binding. The nucleotide and amino acid sequences are shown as SEQ ID NO:28 and SEQ ID NO:29, respectively.

[0046] FIGS. 11A-11B depict an alignment of the nucleotide and amino acid sequences of human IL-21R extracellular domain (corresponding to amino acids 1-235 of SEQ ID NO:2) fused at the C-terminus to a rhodopsin sequence tag.

The nucleotide and amino acid sequences are shown as SEQ ID NO:30 and SEQ ID NO:31, respectively.

[0047] FIGS. 12A-12C depict an alignment of the nucleotide and amino acid sequences of human IL-21R extracellular domain (corresponding to amino acids 1-235 of SEQ ID NO:2) fused at the C-terminus to an EK cleavage site and mutated IgG1 Fc region (corresponding to amino acids 236-470 of SEQ ID NO:33). The nucleotide and amino acid sequences are shown as SEQ ID NO:32 and SEQ ID NO:33, respectively.

[0048] FIGS. 13A-13B depict an alignment of the nucleotide and amino acid sequences of murine IL-21R extracellular domain fused at the C-terminus to mouse immunoglobulin G2a (IgG2a). The nucleotide (genomic) and amino acid sequences are shown as SEQ ID NO:34 and SEQ ID NO:35, respectively.

[0049] FIGS. 14A-14B depict an alignment of the nucleotide and amino acid sequences of murine IL-21R extracellular domain fused at the C-terminus to Flag and His₆ sequence tags. The nucleotide (genomic) and amino acid sequences are shown as SEQ ID NO:36 and SEQ ID NO:37, respectively.

[0050] FIGS. 15A-15B depict an alignment of the nucleotide and amino acid sequences of (honey bee leader) murine IL-21R extracellular domain fused at the C-terminus to Flag and His₆ sequence tags. The nucleotide (genomic) and amino acid sequences are shown as SEQ ID NO:38 and SEQ ID NO:39, respectively.

[0051] FIG. 16 is a timetable summarizing the prophylactic, therapeutic and semi-therapeutic treatment schedules for the experiments using collagen-induced arthritis (CIA) mouse models.

[0052] FIG. 17 is a graph depicting the effects of MuIL-21RFc (200 µg/mouse 3x/week) on a semi-therapeutic CIA mouse as a function of days post-treatment. Mouse Ig (200 µg/mouse 3x/week) was used as a control.

[0053] FIGS. 18A-18B are photographs showing increased expression of IL-21R mRNA in arthritic paws of mice with CIA (panel A) compared to negative controls (panel B).

[0054] FIGS. 19 and 20 depict linear graphs showing a marked reduction in the clinical score of IBD-like symptoms in rats treated with muIL-21RFc and

mEnbrel, compared to the IgG control. FIG. 19, left side panel, is a photograph showing *in situ* hybridization of MU-1 mRNA in the lymphocytes and lymph nodes of the normal human intestine.

[0055] FIG. 21 is a table summarizing a reduction in histological scoring of disease severity in a rat IBD model after administration of MuIL-21RFc.

[0056] FIG. 22 is a linear graph showing the percentage of graft survival relative to days post-adoptive transfer in mice injected with retrovirally transduced T cells expressing IL-21, muIL-21RFc or control (GFP).

[0057] FIG. 23 is a linear graph showing an improvement of clinical scores in psoriatic lesions in a CD45RB^{high} adoptive transfer model after administration of MuIL-21RFc. FIG. 23, left hand side, shows photographs of mice before and after treatment with MuIL-21RFc.

[0058] FIG. 24 is a line graph depicting the levels of airway hyperresponsiveness (AHR) of ovalbumin (OVA)-sensitized mice challenged with either phosphate buffered saline (PBS) or OVA. Mice were administered sequentially increasing doses of methacholine. The Penh (enhanced pause) change is an indicator of AHR.

[0059] FIGS. 25A-25D are bar graphs depicting numbers of cells in bronchoalveolar lavage fluid (BALF) of OVA-sensitized mice challenged with either PBS or OVA. FIG. 25A depicts total BALF cell numbers. FIG. 25B depicts numbers of eosinophils in BALF. FIG. 25C depicts numbers of lymphocytes in BALF. FIG. 25D depicts numbers of neutrophils in BALF.

Unfilled bars indicate PBS-challenged WT mice; filled bars indicate OVA-challenged WT mice; gray bars indicate PBS-challenged IL-21R^{-/-} mice; hatched bars indicate OVA-challenged IL-21R^{-/-} mice. * indicates $p < 0.05$ as determined by Mann-Whitney U test.

[0060] FIGS. 26 and 27 are graphs depicting levels of cytokines in BALF of OVA-sensitized mice challenged with OVA. FIG. 26 depicts levels of TNF α and IL-5. FIG. 27 depicts levels of IL-13. Unfilled bars indicate PBS-challenged WT mice; filled bars indicate OVA-challenged WT mice; gray bars indicate PBS-

challenged IL-21R $-/-$ mice; hatched bars indicate OVA-challenged IL-21R $-/-$ mice. * indicates $p < 0.05$ as determined by Mann-Whitney U test.

[0061] FIGS. 28A-28B are bar graphs depicting levels of serum IgE in OVA-sensitized mice challenged with OVA or PBS. FIG. 28A depicts levels of total serum IgE. FIG. 28B depicts levels of anti-OVA specific IgE. Unfilled bars indicate PBS-challenged WT mice; filled bars indicate OVA-challenged WT mice; gray bars indicate PBS-challenged IL-21R $-/-$ mice; hatched bars indicate OVA-challenged IL-21R $-/-$ mice. * indicates $p < 0.05$ as determined by Mann-Whitney U test.

[0062] FIGS. 29A-29D are graphs depicting the levels of circulating dsDNA autoantibodies in MRL-*Fas*^{hr} mice following treatment with MuIL-21RFc or control. FIG. 29A depicts levels of IgG1. FIG. 29B depicts levels of IgG2a. FIG. 29C depicts levels of IgG2b. FIG. 29D depicts levels of IgG3. * indicates $p < 0.05$ as determined by Mann-Whitney U test.

[0063] FIGS. 30A-30D are graphs depicting circulating total IgG in MRL-*Fas*^{hr} mice following treatment with MuIL-21RFc or control. FIG. 30A depicts levels of IgG1. FIG. 30B depicts levels of IgG2a. FIG. 30C depicts levels of IgG2b. FIG. 30D depicts levels of IgG3. * indicates $p < 0.05$ as determined by Mann-Whitney U test.

[0064] FIG. 31 is a graph depicting levels of fluorescence in mouse kidney slices stained with goat anti-mouse IgG-FTTC.

[0065] FIG. 32 is a schematic diagram depicting exemplary effects of IL-21 on immune responses.

[0066] FIG. 33 is a schematic diagram depicting exemplary strategies for inhibiting the IL-21/IL-21R pathway.

[0067] FIG. 34 is a schematic diagram depicting an exemplary soluble IL-21RFc receptor fusion protein.

[0068] FIG. 35 is a line graph depicting the mean psoriasis score of MuIL-21RFc-treated and control-treated groups of mice stimulated with *E. tenella* ("Etenella").

[0069] FIG. 36 is a table summarizing a delay in onset and reduction of symptoms of psoriasis in *E. tenella*-stimulated mice treated with MuIL-21R^h compared to control-treated mice.

[0070] FIG. 37 is a line graph depicting a reduction in weight loss in *E. tenella*-stimulated mice treated with MuIL-21R^h compared to control treated mice. Weight index is defined as the ratio of weight measured to initial weight.

[0071] FIG. 38A is a line graph depicting a reduction in mean stool score in *E. tenella*-stimulated mice treated with MuIL-21R^h compared to control-treated mice.

[0072] FIG. 38B is a graph depicting stool scores of individual *E. tenella*-stimulated mice of each treatment group at day 77 post transfer.

[0073] FIG. 39 is a table summarizing the data depicted in FIG. 38A.

[0074] FIG. 40A is a graph depicting serum IFN- γ levels in *E. tenella*-stimulated mice treated with MuIL-21R^h compared to control-treated mice.

[0075] FIG. 40B is a graph depicting stool scores for *E. tenella*-stimulated mice treated with MuIL-21R^h compared to control-treated mice.

[0076] FIG. 41 is a line graph depicting ³H-thymidine incorporation into activated CD45RB^{hi} and CD45RB^{lo} cells following treatment with IL-21.

[0077] FIGS. 42A-B are bar graphs depicting an increase in secretion of cytokines by activated CD45RB^{hi} cells following IL-21 treatment.

[0078] FIG. 43 is a bar graph depicting a reduction in secretion of cytokines by activated CD45RB^{hi} cells following treatment with MuIL-21R^h.

[0079] FIG. 44A-B are bar (A) and scatter (B) graphs depicting that, in the GVHD model of SLE, IL-21R knockout mice engrafted with B6 bm12 spleen cells do not make anti-dsDNA autoantibodies (A) and IgG deposition is not observed in the kidneys of these mice (B).

DETAILED DESCRIPTION OF THE INVENTION

[0080] Methods and compositions for inhibiting interleukin-21 (IL-21)/IL-21 receptor (MU-1) activity using antagonists of IL-21 or IL-21 receptor ("IL-21R" or "MU-1"), are disclosed. IL-21/IL-21R antagonists can be used to induce

immune suppression *in vivo*, e.g., for treating or preventing inflammatory or autoimmune disorders. (e.g., disorders associated with aberrant activity of one or more of mature T cells (mature CD8⁺, mature CD4⁺ T cells), mature NK cells, B cells, macrophages and megakaryocytes, including transplant/graft rejection, psoriasis and autoimmune disorders such as rheumatoid arthritis and IBD).

[0081] In one embodiment, Applicants have shown that a reduction of IL-21R activity by using a neutralizing fusion protein that includes the extracellular domain of the IL-21R fused to an Fc immunoglobulin region ameliorates inflammatory symptoms in collagen-induced arthritis (CIA) animal models (Example 7), as well as animal models for IBD (Examples 9 and 11), graft rejection (Example 10), psoriasis (Example 11), and lupus (Example 13).

Expression of IL-21R mRNA is upregulated in the paws of CIA mice (Example 8). Mice deficient in IL-21R show a reduction in antigen-induced airway inflammation (Example 12). Accordingly, IL-21R binding agents that antagonize IL-21/IL-21R activity can be used to induce immune suppression *in vivo*, e.g., for treating or preventing inflammatory or autoimmune disorders (e.g., glomerulonephritis, transplant/graft rejection, psoriasis, atopic disorders, asthma, autoimmune disorders such as rheumatoid arthritis and SLE, and IBD (e.g., Crohn's disease, ulcerative colitis)).

[0082] In order that the present invention may be more readily understood, certain terms are first defined. Additional definitions are set forth throughout the detailed description.

[0083] The term "MU-1," "MU-1 protein," "interleukin-21 receptor" or "IL-21R," as used herein, refers to a class I cytokine family receptor, also known as NILR (WO 01/85792; Parrish-Novak et al. (2000) *Nature* 408:57-63; Ozaki et al. (2000) *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 97:11439-444). MU-1 is homologous to the shared β chain of the IL-2 and IL-15 receptors, and IL-4 α (Ozaki et al. (2000) *supra*). Upon ligand binding, IL-21R/MU-1 is capable of interacting with a common γ cytokine receptor chain (γc) (Asao et al. (2001) *J. Immunol.* 167:1-5), and inducing the phosphorylation of STAT1 and STAT3 (Asao et al. (2001)) or STAT5 (Ozaki et al. (2000)). MU-1 shows widespread lymphoid tissue

distribution. The term "MU-1" refers to a receptor (preferably of mammalian, e.g., murine or human origin) which is capable of interacting with, e.g., binding to, IL-21 (preferably of mammalian, e.g., murine or human IL-21) and having one of the following features: (i) an amino acid sequence of a naturally occurring mammalian MU-1 polypeptide IL-21R/MU-1 or a fragment thereof, e.g., an amino acid sequence shown as SEQ ID NO:2 (human) or SEQ ID NO:10 (murine) or a fragment thereof; (ii) an amino acid sequence substantially homologous to, e.g., at least 85%, 90%, 95%, 98%, or 99% homologous to, an amino acid sequence shown as SEQ ID NO:2 (human) or SEQ ID NO:10 (murine) or a fragment thereof; (iii) an amino acid sequence that is encoded by a naturally occurring mammalian IL-21R/MU-1 nucleotide sequence or a fragment thereof (e.g., SEQ ID NO:1 (human) or SEQ ID NO:9 (murine) or a fragment thereof); (iv) an amino acid sequence encoded by a nucleotide sequence which is substantially homologous to, e.g., at least 85%, 90%, 95%, 98%, 99% homologous to, a nucleotide sequence shown as SEQ ID NO:1 (human) or SEQ ID NO:9 (murine) or a fragment thereof; (v) an amino acid sequence encoded by a nucleotide sequence degenerate to a naturally occurring IL-21R/MU-1 nucleotide sequence or a fragment thereof, e.g., SEQ ID NO:1 (human) or SEQ ID NO:9 (murine) or a fragment thereof; or (vi) a nucleotide sequence that hybridizes to one of the foregoing nucleotide sequences under stringent conditions, e.g., highly stringent conditions.

[0084] The IL-21R/MU-1 is of mammalian, preferably, human origin. The nucleotide sequence and the predicted amino acid sequence of human IL-21R/MU-1 are shown in SEQ ID NO:1 and SEQ ID NO:2, respectively. Analysis of the human IL-21R/MU-1 amino acid sequence (SEQ ID NO:2; FIG. 2B) revealed the following structural features: a leader sequence (about amino acids 1-19 of SEQ ID NO:2 (FIG. 2B)); WSXWS motif (about amino acids 213-217 of SEQ ID NO:2); transmembrane domain (about amino acids 236-252 of SEQ ID NO:2 (FIG. 2B)); an extracellular domain from about amino acids 1-235 of SEQ ID NO:2; and an intracellular domain from about 253-538 of SEQ

ID NO:2. The mature human IL-21R/MU-1 is believed to have the sequence of amino acids 20-538 of SEQ ID NO:2.

[0085] The IL-21R/MU-1 cDNA was deposited with the American Type Culture Collection on Mar. 10, 1998, as accession number ATCC 98687.

[0086] Any form of IL-21R/MU-1 proteins of less than full length can be used in the methods and compositions of the present invention, provided that it retains the ability to bind to an IL-21 polypeptide. IL-21R/MU-1 proteins of less than full length, e.g., soluble IL-21R, can be produced by expressing a corresponding fragment of the polynucleotide encoding the full-length MU-1 protein in a host cell. These corresponding polynucleotide fragments are also part of the present invention. Modified polynucleotides as described above may be made by standard molecular biology techniques, including construction of appropriate desired deletion mutants, site-directed mutagenesis methods or by the polymerase chain reaction using appropriate oligonucleotide primers.

[0087] As used herein, a "soluble IL-21R/MU-1 polypeptide" is an IL-21R/MU-1 polypeptide incapable of anchoring itself in a membrane. Such soluble polypeptides include, for example, MU-1 or IL-21R polypeptides that lack a sufficient portion of their membrane-spanning domain to anchor the polypeptide or are modified such that the membrane-spanning domain is nonfunctional, e.g., a soluble fragment of an IL-21R (e.g., a fragment of an IL-21R comprising the extracellular domain of murine or human IL-21R includes an amino acid sequence from about amino acids 1-235, 1-236, 20-235, 20-236 of SEQ ID NO:2 (human), or from about amino acids 1-236, 20-236 of SEQ ID NO:10 (murine). A soluble IL-21R/MU-1 polypeptide can additionally include, e.g., be fused to, a second moiety, e.g., a polypeptide (e.g., an immunoglobulin chain, a GST, Lex-A or MBP polypeptide sequence). For example, a fusion protein can include at least a fragment of an IL-21R polypeptide, which is capable of binding IL-21, e.g., a soluble fragment of an IL-21R (e.g., a fragment of an IL-21R comprising the extracellular domain of murine or human IL-21R; e.g., from about amino acids 1-235, 1-236, 20-235, 20-236 of SEQ ID NO:2 (human), or from about amino acids 1-236, 20-236 of SEQ ID NO:10 (murine), fused to a

second moiety, e.g., a polypeptide (e.g., an immunoglobulin chain, an Fc fragment, a heavy chain constant regions of the various isotypes, including: IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgM, IgA1, IgA2, IgD, and IgE).

[0088] The term "interleukin-21" or "IL-21" refers to a cytokine showing sequence homology to IL-2, IL-4 and IL-15 (Parrish-Novak et al. (2000) *Nature* 408:57-63). Despite low sequence homology among interleukin cytokines, cytokines share a common fold into a "four-helix-bundle" structure that is representative of the family. It is expressed primarily in activated CD4+ T cells, and has been reported to have effects on NK, B and T cells (Parrish-Novak et al. (2000) *supra*; Kasaian et al. (2002) *supra*). IL-21 binds to IL-21R (also referred to herein as MU-1 and NILR). Upon IL-21 binding, activation of IL-21R leads to STAT5 or STAT3 signaling (Ozaki et al. (2000) *supra*). The term "IL-21" or "IL-21 polypeptide" refers to a protein (preferably of mammalian, e.g., murine or human origin) which is capable of interacting with, e.g., binding to, IL-21R (preferably of mammalian, e.g., murine or human IL-21) and having one of the following features: (i) an amino acid sequence of a naturally occurring mammalian IL-21 or a fragment thereof, e.g., an amino acid sequence shown as SEQ ID NO:19 (human) or a fragment thereof; (ii) an amino acid sequence substantially homologous to, e.g., at least 85%, 90%, 95%, 98%, 99% homologous to, an amino acid sequence shown as SEQ ID NO:19 (human) or a fragment thereof; (iii) an amino acid sequence which is encoded by a naturally occurring mammalian IL-21 nucleotide sequence or a fragment thereof (e.g., SEQ ID NO:18 (human) or a fragment thereof); (iv) an amino acid sequence encoded by a nucleotide sequence which is substantially homologous to, e.g., at least 85%, 90%, 95%, 98%, 99% homologous to, a nucleotide sequence shown as SEQ ID NO:18 (human) or a fragment thereof; (v) an amino acid sequence encoded by a nucleotide sequence degenerate to a naturally occurring IL-21 nucleotide sequence or a fragment thereof, e.g., SEQ ID NO:19 (human) or a fragment thereof; or (vi) a nucleotide sequence that hybridizes to one of the foregoing nucleotide sequences under stringent conditions, e.g., highly stringent conditions.

[0089] The phrase "a biological activity of" a MU-1 or IL-21R polypeptide refers to one or more of the biological activities of the corresponding mature MU-1 protein, including, but not limited to, (1) interacting with, e.g., binding to, an IL-21 polypeptide (e.g., a human IL-21 polypeptide); (2) associating with signal transduction molecules, e.g., γ c, JAK1; (3) stimulating phosphorylation and/or activation of stat proteins, e.g., STAT5 and/or STAT3; and/or (4) modulating, e.g., stimulating or decreasing, proliferation, differentiation, effector cell function, cytolytic activity, cytokine secretion, and/or survival of immune cells, e.g., T cells (CD8+, CD4+ T cells), NK cells, B cells, macrophages and megakaryocytes).

[0090] As used herein, an "IL-21/IL-21R antagonist" that is useful in the method of the invention refers to an agent which reduces, inhibits or otherwise diminishes one or more biological activities of an IL-21R/MU-1 polypeptide. In one preferred embodiment, the antagonist interacts with, e.g., binds to, an IL-21R/MU-1 polypeptide. In another preferred embodiment, the antagonist interacts with, e.g., binds to, an IL-21 polypeptide. Antagonism using an IL-21/IL-21R antagonist does not necessarily indicate a total elimination of the biological activity of the IL-21R/MU-1 polypeptide and/or the IL-21 polypeptide.

[0091] As used herein, a "therapeutically effective amount" of an IL-21/IL-21R antagonist refers to an amount of an agent which is effective, upon single or multiple dose administration to a subject, e.g., a human patient, at curing, reducing the severity of, ameliorating, or preventing one or more symptoms of a disorder, or in prolonging the survival of the subject beyond that expected in the absence of such treatment.

[0092] As used herein, "a prophylactically effective amount" of an IL-21/IL-21R antagonist refers to an amount of an IL-21/IL-21R antagonist which is effective, upon single or multiple dose administration to a subject, e.g., a human patient, in preventing or delaying the occurrence of the onset or recurrence of a disorder, e.g., a disorder as described herein.

[0093] The terms "induce," "inhibit," "potentiate," "elevate," "increase," "decrease" or the like, e.g., which denote quantitative differences between two states, refer to at least statistically significant differences between the two states.

[0094] The term "in combination" in this context means that the agents are given substantially contemporaneously, either simultaneously or sequentially. If given sequentially, at the onset of administration of the second compound, the first of the two compounds is preferably still detectable at effective concentrations at the site of treatment or in the subject.

[0095] As used herein, a "fusion protein" refers to a protein containing two or more operably associated, e.g., linked, moieties, e.g., protein moieties.

Preferably, the moieties are covalently associated. The moieties can be directly associated, or connected via a spacer or linker.

[0096] As used herein, the term "antibody" refers to a protein comprising at least one, and preferably two, heavy (H) chain variable regions (abbreviated herein as VH), and at least one and preferably two light (L) chain variable regions (abbreviated herein as VL). The VH and VL regions can be further subdivided into regions of hypervariability, termed "complementarity determining regions" ("CDR"), interspersed with regions that are more conserved, termed "framework regions" (FR). The extent of the framework region and CDRs has been precisely defined (see, e.g., Kabat et al. (1991) *Sequences of Proteins of Immunological Interest, Fifth Edition*, U.S. Department of Health and Human Services, NIH Publication No. 91-3242, and Chothia et al. (1987) *J. Mol. Biol.* 196:901-17, which are incorporated herein by reference). Each VH and VL is composed of three CDRs and four FRs, arranged from amino-terminus to carboxy-terminus in the following order: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, FR4.

[0097] The antibody can further include a heavy and light chain constant region, to thereby form a heavy and light immunoglobulin chain, respectively. In one embodiment, the antibody is a tetramer of two heavy immunoglobulin chains and two light immunoglobulin chains, wherein the heavy and light immunoglobulin chains are interconnected by, e.g., disulfide bonds. The heavy chain constant region is comprised of three domains, CH1, CH2 and CH3. The light chain constant region is comprised of one domain, CL. The variable region of the heavy and light chains contains a binding domain that interacts with an antigen. The constant regions of the antibodies typically mediate the binding of the

antibody to host tissues or factors, including various cells of the immune system (e.g., effector cells) and the first component (C1q) of the classical complement system.

[0098] As used herein, the term "immunoglobulin" refers to a protein consisting of one or more polypeptides substantially encoded by immunoglobulin genes. The recognized human immunoglobulin genes include the kappa, lambda, alpha (IgA1 and IgA2), gamma (IgG1, IgG2, IgG3, IgG4), delta, epsilon and mu constant region genes, as well as the myriad immunoglobulin variable region genes. Full-length immunoglobulin "light chains" (about 25 kDa or 214 amino acids) are encoded by a variable region gene at the NH₂-terminus (about 110 amino acids) and a kappa or lambda constant region gene at the COOH-terminus. Full-length immunoglobulin "heavy chains" (about 50 kDa or 446 amino acids), are similarly encoded by a variable region gene (about 116 amino acids) and one of the other aforementioned constant region genes, e.g., gamma (encoding about 330 amino acids).

[0099] As used herein, "isotype" refers to the antibody class (e.g., IgM or IgG1) that is encoded by heavy chain constant region genes.

[0100] The term "antigen-binding fragment" of an antibody (or simply "antibody portion," or "fragment"), as used herein, refers to one or more fragments of a full-length antibody that retain the ability to specifically bind to an antigen (e.g., CD3). Examples of binding fragments encompassed within the term "antigen-binding fragment" of an antibody include (i) an Fab fragment, a monovalent fragment consisting of the VL, VH, CL and CH1 domains; (ii) an F(ab')₂ fragment, a bivalent fragment comprising two Fab fragments linked by a disulfide bridge at the hinge region; (iii) an Fd fragment consisting of the VH and CH1 domains; (iv) an Fv fragment consisting of the VL and VH domains of a single arm of an antibody, (v) a dAb fragment (Ward et al., (1989) *Nature* 341:544-546), which consists of a VH domain; and (vi) an isolated complementarity determining region (CDR). Furthermore, although the two domains of the Fv fragment, VL and VH, are coded for by separate genes, they can be joined, using recombinant methods, by a synthetic linker that enables them to be made as a

single protein chain in which the VL and VH regions pair to form monovalent molecules (known as single chain Fv (scFv); see, e.g., Bird et al. (1988) *Science* 242:423-26; and Huston et al. (1988) *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 85:5879-83). Such single chain antibodies are also intended to be encompassed within the term "antigen-binding fragment" of an antibody. These antibody fragments are obtained using conventional techniques known to those with skill in the art, and the fragments are screened for utility in the same manner as are intact antibodies.

[0101] Sequences similar or homologous (e.g., at least about 85% sequence identity) to the sequences disclosed herein are also part of this application. In some embodiments, the sequence identity can be about 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% or higher. Alternatively, substantial identity exists when the nucleic acid segments will hybridize under selective hybridization conditions (e.g., highly stringent hybridization conditions) to the complement of the strand. The nucleic acids may be present in whole cells, in a cell lysate, or in a partially purified or substantially pure form.

[0102] Calculations of "homology" or "sequence identity" between two sequences (the terms are used interchangeably herein) are performed as follows. The sequences are aligned for optimal comparison purposes (e.g., gaps can be introduced in one or both of a first and a second amino acid or nucleic acid sequence for optimal alignment and nonhomologous sequences can be disregarded for comparison purposes). In a preferred embodiment, the length of a reference sequence aligned for comparison purposes is at least 30%, preferably at least 40%, more preferably at least 50%, even more preferably at least 60%, and even more preferably at least 70%, 80%, 90%, 100% of the length of the reference sequence. The amino acid residues or nucleotides at corresponding amino acid positions or nucleotide positions are then compared. When a position in the first sequence is occupied by the same amino acid residue or nucleotide as the corresponding position in the second sequence, then the molecules are identical at that position (as used herein amino acid or nucleic acid "identity" is equivalent to amino acid or nucleic acid "homology"). The percent identity between the two sequences is a function of the number of identical positions

shared by the sequences, taking into account the number of gaps, and the length of each gap, which need to be introduced for optimal alignment of the two sequences.

[0103] The comparison of sequences and determination of percent identity between two sequences can be accomplished using a mathematical algorithm. In a preferred embodiment, the percent identity between two amino acid sequences is determined using the Needleman and Wunsch ((1970) *J. Mol. Biol.* 48:444-53) algorithm which has been incorporated into the GAP program in the GCG software package (available at www.gcg.com), using either a BLOSUM 62 matrix or a PAM250 matrix, and a gap weight of 16, 14, 12, 10, 8, 6, or 4 and a length weight of 1, 2, 3, 4, 5, or 6. In yet another preferred embodiment, the percent identity between two nucleotide sequences is determined using the GAP program in the GCG software package (available at www.gcg.com), using a NWSgapdna.CMP matrix and a gap weight of 40, 50, 60, 70, or 80 and a length weight of 1, 2, 3, 4, 5, or 6. A particularly preferred set of parameters (and the one that should be used if the practitioner is uncertain about what parameters should be applied to determine if a molecule is within a sequence identity or homology limitation of the invention) are a BLOSUM 62 scoring matrix with a gap penalty of 12, a gap extend penalty of 4, and a frameshift gap penalty of 5. The percent identity between two amino acid or nucleotide sequences can also be determined using the algorithm of Meyers and Miller ((1989) *CABIOS*, 4:11-17) which has been incorporated into the ALIGN program (version 2.0), using a PAM120 weight residue table, a gap length penalty of 12 and a gap penalty of 4.

[0104] As used herein, the term "hybridizes under stringent conditions" describes conditions for hybridization and washing. Stringent conditions are known to those skilled in the art and can be found in *Current Protocols in Molecular Biology*, John Wiley & Sons, N.Y. (1989), 6.3.1-6.3.6. Aqueous and nonaqueous methods are described in that reference and either can be used. A preferred, example of stringent hybridization conditions are hybridization in 6X sodium chloride/sodium citrate (SSC) at about 45°C, followed by one or more washes in 0.2X SSC, 0.1% SDS at 50°C. Another example of stringent hybridization

conditions are hybridization in 6X SSC at about 45°C, followed by one or more washes in 0.2X SSC, 0.1% SDS at 55°C. A further example of stringent hybridization conditions are hybridization in 6X SSC at about 45°C, followed by one or more washes in 0.2X SSC, 0.1% SDS at 60°C. Preferably, stringent hybridization conditions are hybridization in 6X SSC at about 45°C, followed by one or more washes in 0.2X SSC, 0.1% SDS at 65°C. Particularly preferred highly stringent conditions (and the conditions that should be used if the practitioner is uncertain about what conditions should be applied to determine if a molecule is within a hybridization limitation of the invention) are 0.5M sodium phosphate, 7% SDS at 65°C, followed by one or more washes at 0.2X SSC, 1% SDS at 65°C. The isolated polynucleotides of the present invention may be used as hybridization probes and primers to identify and isolate nucleic acids having sequences identical to or similar to those encoding the disclosed polynucleotides. Hybridization methods for identifying and isolating nucleic acids include polymerase chain reaction (PCR), Southern hybridizations, *in situ* hybridization and Northern hybridization, and are well known to those skilled in the art. Further disclosure regarding hybridization conditions and reactions is provided herein.

[0105] Hybridization reactions can be performed under conditions of different stringency. The stringency of a hybridization reaction includes the difficulty with which any two nucleic acid molecules will hybridize to one another. Preferably, each hybridizing polynucleotide hybridizes to its corresponding polynucleotide under reduced stringency conditions, more preferably stringent conditions, and most preferably highly stringent conditions. Examples of stringency conditions are shown in Table 1 below: highly stringent conditions are those that are at least as stringent as, for example, conditions A-F; stringent conditions are at least as stringent as, for example, conditions G-L; and reduced stringency conditions are at least as stringent as, for example, conditions M-R.

non-25

TABLE 1

Stringency Condition	Poly-nucleotide Hybrid	Hybrid Length (bp) ¹	Hybridization Temperature and Buffer ²	Wash Temperature and Buffer ²
A	DNA:DNA	> 50	65°C; 1X SSC -or- 42°C; 1X SSC, 50% formamide	65°C; 0.3X SSC
B	DNA:DNA	<50	T _H *; 1X SSC	T _H *; 1X SSC
C	DNA:RNA	> 50	67°C; 1X SSC -or- 45°C; 1X SSC, 50% formamide	67°C; 0.3X SSC
D	DNA:RNA	<50	T _D *; 1X SSC	T _D *; 1X SSC
E	RNA:RNA	>50	70°C; 1X SSC -or- 50°C; 1X SSC, 50% formamide	70°C; 0.3X SSC
F	RNA:RNA	<50	T _R *; 1X SSC	T _R *; 1X SSC
G	DNA:DNA	>50	65°C; 4X SSC -or- 42°C; 4X SSC, 50% formamide	65°C; 1X SSC
H	DNA:DNA	<50	T _H *; 4X SSC	T _H *; 4X SSC
I	DNA:RNA	>50	67°C; 4X SSC -or- 45°C; 4X SSC, 50% formamide	67°C; 1X SSC
J	DNA:RNA	<50	T _J *; 4X SSC	T _J *; 4X SSC
K	RNA:RNA	>50	70°C; 4X SSC -or- 50°C; 4X SSC, 50% formamide	67°C; 1X SSC
L	RNA:RNA	<50	T _L *; 2X SSC	T _L *; 2X SSC
M	DNA:DNA	>50	50°C; 4X SSC -or- 40°C; 6X SSC, 50% formamide	50°C; 2X SSC
N	DNA:DNA	<50	T _N *; 6X SSC	T _N *; 6X SSC
O	DNA:RNA	>50	55°C; 4X SSC -or- 42°C; 6X SSC, 50% formamide	55°C; 2X SSC
P	DNA:RNA	<50	T _P *; 6X SSC	T _P *; 6X SSC
Q	RNA:RNA	>50	60°C; 4X SSC -or- 45°C; 6X SSC, 50% formamide	60°C; 2X SSC
R	RNA:RNA	<50	T _R *; 4X SSC	T _R *; 4X SSC

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

²SSPE (1xSSPE is 0.15M NaCl, 10mM NaH₂PO₄, and 1.25mM EDTA, pH 7.4) can be substituted for SSC (1xSSC is 0.15M NaCl and 15mM sodium citrate) in the hybridization and wash buffers; washes are performed for 15 minutes after hybridization is complete.

T_H* - T_R*: The hybridization temperature for hybrids anticipated to be less than 50 base pairs in length should be 5-10°C less than the melting temperature (T_m) of the hybrid, where T_m is determined according to the following equations. For hybrids less than 18 base pairs in length, T_m(°C) = 2(# of A + T bases) + 4(# of G + C bases). For hybrids between 18 and 49 base pairs in length, T_m(°C) = 81.5 + 16.6(log₁₀Na⁺) + 0.41(%G + C) - (600/N), where N is the number of bases in the hybrid, and Na⁺ is the concentration of sodium ions in the hybridization buffer (Na⁺ for 1X SSC = 0.165 M).

Additional examples of stringency conditions for polynucleotide hybridization are provided in Sambrook et al., Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Chs. 9 & 11, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY (1989), and Ausubel et al., eds., Current Protocols in Molecular Biology, Sects. 2.10 & 6.3-6.4, John Wiley & Sons, Inc. (1995), herein incorporated by reference.

[0106] The isolated polynucleotides of the present invention may be used as hybridization probes and primers to identify and isolate DNA having sequences encoding allelic variants of the disclosed polynucleotides. Allelic variants are naturally occurring alternative forms of the disclosed polynucleotides that encode polypeptides that are identical to or have significant similarity to the polypeptides encoded by the disclosed polynucleotides. Preferably, allelic variants have at least 90% sequence identity (more preferably, at least 95% identity; most preferably, at least 99% identity) with the disclosed polynucleotides.

[0107] The isolated polynucleotides of the present invention may also be used as hybridization probes and primers to identify and isolate DNAs having sequences encoding polypeptides homologous to the disclosed polynucleotides. These homologs are polynucleotides and polypeptides isolated from a different species than that of the disclosed polypeptides and polynucleotides, or within the same species, but with significant sequence similarity to the disclosed polynucleotides and polypeptides. Preferably, polynucleotide homologs have at least 50% sequence identity (more preferably, at least 75% identity; most preferably, at least 90% identity) with the disclosed polynucleotides, whereas polypeptide homologs have at least 30% sequence identity (more preferably, at least 45% identity; most preferably, at least 60% identity) with the disclosed polypeptides. Preferably, homologs of the disclosed polynucleotides and polypeptides are those isolated from mammalian species.

[0108] The isolated polynucleotides of the present invention may also be used as hybridization probes and primers to identify cells and tissues that express the polypeptides of the present invention and the conditions under which they are expressed.

[0109] It is understood that the IL-21/IL-21R antagonists of the present invention may have additional conservative or nonessential amino acid substitutions, which do not have a substantial effect on their functions. A "conservative amino acid substitution" is one in which the amino acid residue is replaced with an amino acid residue having a similar side chain. Families of amino acid residues having similar side chains have been defined in the art. These families include amino

acids with basic side chains (e.g., lysine, arginine, histidine), acidic side chains (e.g., aspartic acid, glutamic acid), uncharged polar side chains (e.g., glycine, asparagine, glutamine, serine, threonine, tyrosine, cysteine), nonpolar side chains (e.g., alanine, valine, leucine, isoleucine, proline, phenylalanine, methionine, tryptophan), beta-branched side chains (e.g., threonine, valine, isoleucine) and aromatic side chains (e.g., tyrosine, phenylalanine, tryptophan, histidine).

[0110] The term "recombinant host cell" (or simply "host cell"), as used herein, is intended to refer to a cell into which a recombinant expression vector has been introduced. It should be understood that such terms are intended to refer not only to the particular subject cell but also to the 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 "host cell" as used herein.

IL-21/IL-21R Antagonists

[0111] In one embodiment, an IL-21R/MU-1 polypeptide or active fragments thereof may be fused to a second moiety, e.g., an immunoglobulin or a fragment thereof (e.g., an Fc binding fragment thereof). For example, soluble forms of the IL-21R/MU-1 may be fused through "linker" sequences to the Fc portion of an immunoglobulin. Other fusion proteins, such as those with GST, Lex-A or MBP, may also be used.

[0112] The fusion proteins may additionally include a linker sequence joining the IL-21 or IL-21R fragment to the second moiety. For example, the fusion protein can include a peptide linker, e.g., a peptide linker of about 4 to 20, more preferably, 5 to 10, amino acids in length; in one embodiment, the peptide linker is 8 amino acids in length. Each of the amino acids in the peptide linker is selected from the group consisting of Gly, Ser, Asn, Thr and Ala; in one embodiment, the peptide linker includes a Gly-Ser element. In other embodiments, the fusion protein includes a peptide linker and the peptide linker

includes a sequence having the formula (Ser-Gly-Gly-Gly- Gly)_y, wherein y is 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, or 8.

[0113] In other embodiments, additional amino acid sequences can be added to the N- or C-terminus of the fusion protein to facilitate expression, detection and/or isolation or purification. For example, IL-21/IL-21R fusion protein may be linked to one or more additional moieties, e.g., GST, His₆ tag, FLAG tag. For example, the fusion protein may additionally be linked to a GST fusion protein in which the fusion protein sequences are fused to the C-terminus of the GST (i.e., glutathione S-transferase) sequences. Such fusion proteins can facilitate the purification of the MU-1 fusion protein.

[0114] In another embodiment, the fusion protein includes a heterologous signal sequence (i.e., a polypeptide sequence that is not present in a polypeptide encoded by a MU-1 nucleic acid) at its N-terminus. For example, the native MU-1 signal sequence can be removed and replaced with a signal sequence from another protein. In certain host cells (e.g., mammalian host cells), expression and/or secretion of MU-1 can be increased through use of a heterologous signal sequence.

[0115] A chimeric or fusion protein of the invention can be produced by standard recombinant DNA techniques. For example, DNA fragments coding for the different polypeptide sequences are ligated together in-frame in accordance with conventional techniques, e.g., by employing blunt-ended or stagger-ended termini for ligation, restriction enzyme digestion to provide for appropriate termini, filling-in of cohesive ends as appropriate, alkaline phosphatase treatment to avoid undesirable joining, and enzymatic ligation. In another embodiment, the fusion gene can be synthesized by conventional techniques including automated DNA synthesizers. Alternatively, PCR amplification of gene fragments can be carried out using anchor primers that give rise to complementary overhangs between two consecutive gene fragments that can subsequently be annealed and reamplified to generate a chimeric gene sequence (see, for example, Ausubel et al. (eds.) Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley & Sons, 1992). Moreover, many expression vectors are commercially available that encode a fusion moiety (e.g.,

an Fc region of an immunoglobulin heavy chain). A MU-1-encoding nucleic acid can be cloned into such an expression vector such that the fusion moiety is linked in-frame to the immunoglobulin protein. In some embodiments, MU-1 fusion polypeptides exist as oligomers, such as dimers or trimers. The first polypeptide, and/or nucleic acids encoding the first polypeptide, can be constructed using methods known in the art.

[0116] In some embodiments, the MU-1 polypeptide moiety is provided as a variant MU-1 polypeptide having a mutation in the naturally occurring MU-1 sequence (wild type) that results in higher affinity (relative to the nonmutated sequence) binding of the MU-1 polypeptide to an IL-21.

[0117] In some embodiments, the MU-1 polypeptide moiety is provided as a variant MU-1 polypeptide having mutations in the naturally occurring MU-1 sequence (wild type) that results in a MU-1 sequence more resistant to proteolysis (relative to the nonmutated sequence). In some embodiments, the first polypeptide includes full-length MU-1 polypeptide. Alternatively, the first polypeptide comprises less than full-length MU-1 polypeptide.

[0118] A signal peptide that can be included in the fusion protein is MPLLLLLLLLLPSPLHP (SEQ ID NO:21). If desired, one or more amino acids can additionally be inserted between the first polypeptide moiety comprising the MU-1 moiety and the second polypeptide moiety.

[0119] The second polypeptide is preferably soluble. In some embodiments, the second polypeptide enhances the half-life, (e.g., the serum half-life) of the linked polypeptide. In some embodiments, the second polypeptide includes a sequence that facilitates association of the fusion polypeptide with a second MU-1 polypeptide. In preferred embodiments, the second polypeptide includes at least a region of an immunoglobulin polypeptide. Immunoglobulin fusions polypeptides are known in the art and are described in, e.g., U.S. Patent Nos. 5,516,964; 5,225,538; 5,428,130; 5,514,582; 5,714,147; and 5,455,165.

[0120] In some embodiments, the second polypeptide comprises a full-length immunoglobulin polypeptide. Alternatively, the second polypeptide comprises less than full-length immunoglobulin polypeptide, e.g., a heavy chain, light chain,

Fab, Fab₂, Fv, or Fc. Preferably, the second polypeptide includes the heavy chain of an immunoglobulin polypeptide. More preferably, the second polypeptide includes the Fc region of an immunoglobulin polypeptide.

[0121] In another aspect of the invention, the second polypeptide has less effector function than the effector function of a Fc region of a wild-type immunoglobulin heavy chain. Fc effector function includes for example, Fc receptor binding, complement fixation and T cell depleting activity (see, e.g., U.S. Patent No. 6,136,310). Methods for assaying T cell-depleting activity, Fc effector function, and antibody stability are known in the art. In one embodiment, the second polypeptide has low or no affinity for the Fc receptor. In an alternative embodiment, the second polypeptide has low or no affinity for complement protein C1q.

[0122] A preferred second polypeptide sequence includes the amino acid sequence of SEQ ID NO: 17. This sequence includes an Fc region. Underlined amino acids are those that differ from the amino acid found in the corresponding position of the wild-type immunoglobulin sequence:

HTCPPCPAPRALGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVIGFQNWYVDGVEVHNAK
TKPREQYNSTYRVSVLTVLIHQDWLNQKEYKCKVSNKALPVPPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPP
SREEMTKNQVSLTCLVKGFPYSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRNQ
QGNVFSCSVHREALHNEYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:17)

[0123] Examples of antagonistic fusion proteins that can be used in the methods of the invention are shown in FIGS. 7-15. In one embodiment, the fusion protein includes an amino acid sequence chosen from, e.g., SEQ ID NO:23, SEQ ID NO:25, SEQ ID NO:27, SEQ ID NO:29, SEQ ID NO:31, SEQ ID NO:33, SEQ ID NO:35, SEQ ID NO:37, or SEQ ID NO:39, or a sequence at least 85%, 90%, 95%, 98% or more identical thereto. In other embodiments, the fusion protein includes an amino acid sequence encoded by a nucleotide sequence chosen from, e.g., SEQ ID NO:22, SEQ ID NO:24, SEQ ID NO:26, SEQ ID NO:28, SEQ ID NO:30, SEQ ID NO:32, SEQ ID NO:34, SEQ ID NO:36, or SEQ ID NO:38, or a sequence at least 85%, 90%, 95%, 98% or more identical thereto. Preferred fusion proteins have the amino acid sequence shown as SEQ ID NO:25 or SEQ ID NO:29 (FIGS. 8A-8C and 10A-10C, respectively), or a sequence at least 85%, 90%, 95%, 98% or more identical thereto. In other embodiments, the fusion

protein includes an amino acid sequence encoded by a nucleotide sequence chosen from, e.g., SEQ ID NO:24 or SEQ ID NO:28 (FIGS. 8A-8C and 10A-10C, respectively), or a sequence at least 85%, 90%, 95%, 98% or more identical thereto. Most preferably, the fusion protein has the amino acid sequence shown as SEQ ID NO:29, or has an amino acid sequence encoded by a nucleotide sequence shown as SEQ ID NO:28 (FIG. 10A-10C).

[0124] In other embodiments, the IL-21/IL-21R antagonists are antibodies, or antigen-binding fragments thereof, that bind to IL-21 or IL-21R, preferably, mammalian (e.g., human or murine) IL-21 or IL-21R.

[0125] MU-1 proteins of the invention may also be used to immunize animals to obtain polyclonal and monoclonal antibodies which specifically react with the MU-1 protein and which may inhibit binding of ligands to the receptor. Such antibodies may be obtained using the entire MU-1 as an immunogen, or by using fragments of MU-1. Smaller fragments of the MU-1 may also be used to immunize animals. The peptide immunogens additionally may contain a cysteine residue at the carboxyl terminus and are conjugated to a hapten such as keyhole limpet hemocyanin (KLH). Additional peptide immunogens may be generated by replacing tyrosine residues with sulfated tyrosine residues. Methods for synthesizing such peptides are well known in the art.

[0126] Neutralizing or nonneutralizing antibodies (preferably monoclonal antibodies) binding to MU-1 protein may also be useful in the treatment of conditions described above. These neutralizing monoclonal antibodies may be capable of blocking ligand binding to the MU-1 receptor chain.

[0127] The present invention further provides for compositions comprising an antibody that specifically reacts with an IL-21 or an IL-21R.

[0128] Human monoclonal antibodies (mAbs) directed against IL-21 or IL-21R can be generated using transgenic mice carrying the human immunoglobulin genes rather than the mouse system. Splenocytes from these transgenic mice immunized with the antigen of interest are used to produce hybridomas that secrete human mAbs with specific affinities for epitopes from a human protein (see, e.g., Wood et al., International Publication WO 91/00906, Kucherlapati et

al., International Publication WO 91/10741; Lonberg et al., International Publication WO 92/03918; Kay et al., International Publication WO 92/03917; Lonberg et al. (1994) *Nature* 368:856-59; Green et al. (1994) *Nat. Genet.* 7:13-21; Morrison et al. (1994) *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 81:6851-55; Bruggeman et al. (1993) *Year Immunol.* 7:33-40; Tuailon et al. (1993) *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 90:3720-24; Bruggeman et al. (1991) *Eur. J. Immunol.* 21:1323-1326).

[0129] Monoclonal antibodies can also be generated by other methods known to those skilled in the art of recombinant DNA technology. An alternative method, referred to as the "combinatorial antibody display" method, has been developed to identify and isolate antibody fragments having a particular antigen specificity, and can be utilized to produce monoclonal antibodies; this method is well known in the art. After immunizing an animal with an immunogen, the antibody repertoire of the resulting B cell pool is cloned. Methods are generally known for obtaining the DNA sequence of the variable regions of a diverse population of immunoglobulin molecules by using a mixture of oligomer primers and PCR. For instance, mixed oligonucleotide primers corresponding to the 5' leader (signal peptide) sequences and/or framework 1 (FR1) sequences, as well as primer to a conserved 3' constant region primer can be used for PCR amplification of the heavy and light chain variable regions from a number of murine antibodies (Larrick et al. (1991) *Biotechniques* 11:152-56). A similar strategy can also be used to amplify human heavy and light chain variable regions from human antibodies (Larrick et al. (1991) *Methods: Companion to Methods in Enzymology* 2:106-10).

[0130] Chimeric antibodies, including chimeric immunoglobulin chains, can be produced by recombinant DNA techniques known in the art. For example, a gene encoding the Fc constant region of a murine (or other species) monoclonal antibody molecule is digested with restriction enzymes to remove the region encoding the murine Fc, and the equivalent portion of a gene encoding a human Fc constant region is substituted (see, e.g., Robinson et al., International Patent Publication PCT/US86/02269; Akira et al., European Patent Application 184,187; Taniguchi, European Patent Application 171,496; Morrison et al., European

Patent Application 173,494; Neuberger et al., International Publication WO 86/01533; Cabilly et al. U.S. Patent No. 4,816,567; Cabilly et al., European Patent Application 125,023; Better et al. (1988) *Science* 240:1041-43; Liu et al. (1987) *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 84:3439-43; Liu et al. (1987) *J. Immunol.* 139:3521-26; Sun et al. (1987) *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 84:214-18; Nishimura et al. (1987) *Canc. Res.* 47:999-1005; Wood et al. (1985) *Nature* 314:446-49; Shaw et al. (1988) *J. Natl. Cancer Inst.* 80:1553-59).

[0131] An antibody or an immunoglobulin chain can be humanized by methods known in the art. Humanized antibodies, including humanized immunoglobulin chains, can be generated by replacing sequences of the Fv variable region that are not directly involved in antigen binding with equivalent sequences from human Fv variable regions. General methods for generating humanized antibodies are provided by Morrison (1985) *Science* 229:1202-07; Oi et al. (1986) *BioTechniques* 4:214; and Queen et al. U.S. Patent Nos. 5,585,089, 5,693,761 and 5,693,762, the contents of all of which are hereby incorporated by reference. Those methods include isolating, manipulating, and expressing the nucleic acid sequences that encode all or part of immunoglobulin Fv variable regions from at least one of a heavy or light chain. Sources of such nucleic acids are well known to those skilled in the art and, for example, may be obtained from a hybridoma producing an antibody against a predetermined target. The recombinant DNA encoding the humanized antibody, or fragment thereof, can then be cloned into an appropriate expression vector.

[0132] Humanized or CDR-grafted antibody molecules or immunoglobulins can be produced by CDR-grafting or CDR substitution, wherein one, two, or all CDRs of an immunoglobulin chain can be replaced (see, e.g., U.S. Patent No. 5,225,539; Jones et al. (1986) *Nature* 321:552-25; Verhoeyan et al. (1988) *Science* 239:1534; Beidler et al. (1988) *J. Immunol.* 141:4053-60; Winter, U.S. Patent No. 5,225,539, the contents of all of which are hereby incorporated by reference. Winter describes a CDR-grafting method that may be used to prepare the humanized antibodies of the present invention (U.K. Patent Application GB 2188638A, filed on March 26, 1987; Winter U.S. Patent No. 5,225,539, the

contents of which are hereby incorporated by reference). All of the CDRs of a particular human antibody may be replaced with at least a portion of a nonhuman CDR or only some of the CDRs may be replaced with nonhuman CDRs. It is only necessary to replace the number of CDRs required for binding of the humanized antibody to a predetermined antigen.

[0133] Monoclonal, chimeric and humanized antibodies, which have been modified by, e.g., deleting, adding, or substituting other portions of the antibody, e.g., the constant region, are also within the scope of the invention. For example, an antibody can be modified by: (i) deleting the constant region; (ii) replacing the constant region with another constant region, e.g., a constant region meant to increase half-life, stability or affinity of the antibody, or a constant region from another species or antibody class; or (iii) modifying one or more amino acids in the constant region to alter, for example, the number of glycosylation sites, effector cell function, Fc receptor (FcR) binding, complement fixation, among others.

[0134] Methods for altering an antibody constant region are known in the art. Antibodies with altered function, e.g. altered affinity for an effector ligand, such as FcR on a cell, or the C1 component of complement, can be produced by replacing at least one amino acid residue in the constant portion of the antibody with a different residue (see, e.g., E.P. 388,151 A1, U.S. 5,624,821 and U.S. 5,648,260, the contents of all of which are hereby incorporated by reference). Similar types of alterations could be described that, if applied to the murine or other species immunoglobulin, would reduce or eliminate these functions.

[0135] For example, it is possible to alter the affinity of an Fc region of an antibody (e.g., an IgG, such as a human IgG) for an FcR (e.g., Fc gamma R1), or for C1q binding by replacing the specified residue(s) with a residue(s) having an appropriate functionality on its side chain, or by introducing a charged functional group, such as glutamate or aspartate, or perhaps an aromatic nonpolar residue such as phenylalanine, tyrosine, tryptophan or alanine (see, e.g., U.S. 5,624,821).

[0136] Amino acid sequences of IL-21 polypeptides are publicly known. For example, the nucleotide sequence and amino acid sequence of a human IL-21 is

available at GENBANK® Acc. No. X_011082. The disclosed human IL-21

nucleotide sequence is presented below:

```

1  gctgaagtga aaacgagacc aaggtctage tctactgttg gtacttatga gatccagtc
61  tggcaacatg gagaggattg tcatctgtct gatggtcac ttcttgggga cactgggtcca
121 caaatcaagc tcccaaggto aagatcgcca catgattaga atgcgtcaac ttatagatat
181 tgttgatcag ctgaaaaatt atgtgaatga cttgggtccct gaatttctgc cagctccaga
241 agatgtagag acaaaactgtg agtgggtcagc ttttctctgc tttcagaagg cccaactaaa
301 gtcagcaaat acaggaaaca atgaaaggat aatcaatgta tcaattaaaa agctgaagag
361 gaaaccacct tccacaaatg cagggagaag acagaaacac agactaacat gcccttcctg
421 tgattcttat gagaaaaaac caccacaaga attcctaga agattcaaat cacttctcca
481 aaagatgatt catcagcatc tgctctctag aacacacgga agtgaagatt cctgaggatc
541 taacttgtag ttggacacta tgttacatac tctaataatg tagtgaaagt catttctttg
601 tattccaagt ggaggag (SEQ ID NO:18)

```

[0137] The amino acid sequence of the disclosed human IL-21 polypeptide is

presented below:

```

MRSSPQNMERIVICIMVIFLGTLVHKSSSQGQDRHMIRMRLIDIVDQLKNYVNDLVPEFLPAPED
VETNCEWSAFSCFQKAQLKSAANTGNNERIINVSIIKKLRKPPSTNAGBRQKHRLTCPSCDSYEKIC
PKEFLERFKSLIQKMIHQHLSRTEGSEDS (SEQ ID NO:19)

```

[0138] The invention also encompasses nucleic acids that hybridize to the nucleotide sequence set forth in SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:22, SEQ ID NO:24, SEQ ID NO:26, SEQ ID NO:28, SEQ ID NO:30, SEQ ID NO:32, SEQ ID NO:34, SEQ ID NO:36, or SEQ ID NO:38, under highly stringent conditions (for example, 0.1X SSC at 65° C.). Isolated polynucleotides which encode MU-1 proteins or fusion proteins, but which differ from the nucleotide sequence set forth in SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:22, SEQ ID NO:24, SEQ ID NO:26, SEQ ID NO:28, SEQ ID NO:30, SEQ ID NO:32, SEQ ID NO:34, SEQ ID NO:36, or SEQ ID NO:38, by virtue of the degeneracy of the genetic code are also encompassed by the present invention. Variations in the nucleotide sequence as set forth in SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:22, SEQ ID NO:24, SEQ ID NO:26, SEQ ID NO:28, SEQ ID NO:30, SEQ ID NO:32, SEQ ID NO:34, SEQ ID NO:36, or SEQ ID NO:38, which are caused by point mutations or by induced modifications are also included in the invention.

[0139] The isolated polynucleotides of the invention may be operably linked to an expression control sequence such as the pMT2 or pED expression vectors disclosed in Kaufman et al. (1991) *Nucleic Acids Res.* 19:4485-90, in order to produce the MU-1 protein recombinantly. Many suitable expression control sequences are known in the art. General methods of expressing recombinant proteins are also known and are exemplified in Kaufman (1990) *Methods in*

Enzymology 185:537-66. As defined herein "operably linked" means enzymatically or chemically ligated to form a covalent bond between the isolated polynucleotide of the invention and the expression control sequence, in such a way that the MU-1 protein is expressed by a host cell which has been transformed (transfected) with the ligated polynucleotide/expression control sequence.

[0140] The term "vector", as used herein, is intended to refer to a nucleic acid molecule capable of transporting another nucleic acid to which it has been linked.

One type of vector is a "plasmid", which refers to a circular double-stranded DNA loop into which additional DNA segments may be ligated. Another type of vector is a viral vector, wherein additional DNA segments may be ligated into the viral genome. Certain vectors are capable of autonomous replication in a host cell into which they are introduced (e.g., bacterial vectors having a bacterial origin of replication and episomal mammalian vectors). Other vectors (e.g., nonepisomal mammalian vectors) can be integrated into the genome of a host cell upon introduction into the host cell, and thereby are replicated along with the host genome. Moreover, certain vectors are capable of directing the expression of genes to which they are operatively linked. Such vectors are referred to herein as "recombinant expression vectors" (or simply, "expression vectors"). In general, expression vectors of utility in recombinant DNA techniques are often in the form of plasmids. In the present specification, "plasmid" and "vector" may be used interchangeably as the plasmid is the most commonly used form of vector.

However, the invention is intended to include such other forms of expression vectors, such as viral vectors (e.g., replication defective retroviruses, adenoviruses and adeno-associated viruses), which serve equivalent functions.

[0141] The term "regulatory sequence" is intended to include promoters, enhancers and other expression control elements (e.g., polyadenylation signals) that control the transcription or translation of the antibody chain genes. Such regulatory sequences are described, for example, in Goeddel (1990) *Gene Expression Technology: Methods in Enzymology* 185, Academic Press, San Diego, CA. It will be appreciated by those skilled in the art that the design of the expression vector, including the selection of regulatory sequences may depend on

such factors as the choice of the host cell to be transformed, the level of expression of protein desired, etc. Preferred regulatory sequences for mammalian host cell expression include viral elements that direct high levels of protein expression in mammalian cells, such as promoters and/or enhancers derived from FF-1a promoter and BGH poly A, cytomegalovirus (CMV) (such as the CMV promoter/enhancer), Simian Virus 40 (SV40) (such as the SV40 promoter/enhancer), adenovirus, (e.g., the adenovirus major late promoter (AdMLP)) and polyoma. For further description of viral regulatory elements, and sequences thereof, see, e.g., U.S. Patent Nos. 5,168,062; 4,510,245; 4,968,615.

[0142] The recombinant expression vectors of the invention may carry additional sequences, such as sequences that regulate replication of the vector in host cells (e.g., origins of replication) and selectable marker genes. The selectable marker gene facilitates selection of host cells into which the vector has been introduced (see, e.g., U.S. Patents Nos. 4,399,216; 4,634,665; 5,179,017). For example, typically the selectable marker gene confers resistance to drugs, such as G418, hygromycin or methotrexate, on a host cell into which the vector has been introduced. Preferred selectable marker genes include the dihydrofolate reductase (DHFR) gene (for use in dhfr⁻ host cells with methotrexate selection/amplification) and the *neo* gene (for G418 selection).

[0143] A number of types of cells may act as suitable host cells for expression of the MU-1 protein or fusion protein thereof. Any cell type capable of expressing functional MU-1 protein may be used. Suitable mammalian host cells include, for example, monkey COS cells, Chinese Hamster Ovary (CHO) cells, human kidney 293 cells, human epidermal A431 cells, human Colo205 cells, 3T3 cells, CV-1 cells, other transformed primate cell lines, normal diploid cells, cell strains derived from *in vitro* culture of primary tissue, primary explants, HeLa cells, mouse L cells, BHK, HL-60, U937, HaK, Rat2, BaF3, 32D, FDCP-1, PC12, M1x or C2C12 cells.

[0144] The MU-1 protein or fusion protein thereof may also be produced by operably linking the isolated polynucleotide of the invention to suitable control sequences in one or more insect expression vectors, and employing an insect

expression system. Materials and methods for baculovirus/insect cell expression systems are commercially available in kit form from, e.g., Invitrogen, San Diego, CA (e.g., the MAXBAC[®] kit), and such methods are well known in the art, as described in Summers and Smith, Texas Agricultural Experiment Station Bulletin No. 1555 (1987), incorporated herein by reference. Soluble forms of the MU-1 protein may also be produced in insect cells using appropriate isolated polynucleotides as described above.

[0145] Alternatively, the MU-1 protein or fusion protein thereof may be produced in lower eukaryotes such as yeast or in prokaryotes such as bacteria. Suitable yeast strains include *Saccharomyces cerevisiae*, *Schizosaccharomyces pombe*, *Kluyveromyces* strains, *Candida*, or any yeast strain capable of expressing heterologous proteins. Suitable bacterial strains include *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Salmonella typhimurium*, or any bacterial strain capable of expressing heterologous proteins.

[0146] Expression in bacteria may result in formation of inclusion bodies incorporating the recombinant protein. Thus, refolding of the recombinant protein may be required in order to produce active or more active material. Several methods for obtaining correctly folded heterologous proteins from bacterial inclusion bodies are known in the art. These methods generally involve solubilizing the protein from the inclusion bodies, then denaturing the protein completely using a chaotropic agent. When cysteine residues are present in the primary amino acid sequence of the protein, it is often necessary to accomplish the refolding in an environment that allows correct formation of disulfide bonds (a redox system). General methods of refolding are disclosed in Kohno (1990) *Meth. Enzym.* 185:187-95; E.P. 0433225 and U.S. Patent No. 5,399,677 describe other appropriate methods.

[0147] The MU-1 protein or fusion protein thereof may also be expressed as a product of transgenic animals, e.g., as a component of the milk of transgenic cows, goats, pigs, or sheep which are characterized by somatic or germ cells containing a polynucleotide sequence encoding the MU-1 protein or fusion protein thereof.

[0148] The MU-1 protein or fusion protein thereof may be prepared by growing culture transformed host cells under culture conditions necessary to express the desired protein. The resulting expressed protein may then be purified from the culture medium or cell extracts. Soluble forms of the MU-1 protein or fusion protein thereof can be purified from conditioned media. Membrane-bound forms of MU-1 protein of the invention can be purified by preparing a total membrane fraction from the expressing cell and extracting the membranes with a nonionic detergent such as TRITON® X-100.

[0149] The MU-1 protein or fusion protein can be purified using methods known to those skilled in the art. For example, the MU-1 protein of the invention can be concentrated using a commercially available protein concentration filter, for example, an AMICON® or PELLICON® ultrafiltration unit (Millipore, Billerica, MA). Following the concentration step, the concentrate can be applied to a purification matrix such as a gel filtration medium. Alternatively, an anion exchange resin can be employed, for example, a matrix or substrate having pendant diethylaminoethyl (DEAE) or polyethyleimine (PEI) groups. The matrices can be acrylamide, agarose, dextran, cellulose or other types commonly employed in protein purification. Alternatively, a cation exchange step can be employed. Suitable cation exchangers include various insoluble matrices comprising sulfopropyl or carboxymethyl groups. Sulfopropyl groups are preferred (e.g., S-SEPHAROSE® columns). The purification of the MU-1 protein or fusion protein from culture supernatant may also include one or more column steps over such affinity resins as concanavalin A-agarose, heparin-TOYOPEARL® or Cibacron blue 3GA SEPHAROSE®; or by hydrophobic interaction chromatography using such resins as phenyl ether, butyl ether, or propyl ether; or by immunoaffinity chromatography. Finally, one or more reverse-phase high performance liquid chromatography (RP-HPLC) steps employing hydrophobic RP-HPLC media, e.g., silica gel having pendant methyl or other aliphatic groups, can be employed to further purify the MU-1 protein. Affinity columns including antibodies to the MU-1 protein can also be used in purification in accordance with known methods. Some or all of the foregoing

nnn-1

purification steps, in various combinations or with other known methods, can also be employed to provide a substantially purified isolated recombinant protein. Preferably, the isolated MU-1 protein is purified so that it is substantially free of other mammalian proteins.

[0150] MU-1 proteins or fusion proteins of the invention may also be used to screen for agents that are capable of binding to MU-1. Binding assays using a desired binding protein, immobilized or not, are well known in the art and may be used for this purpose using the MU-1 protein of the invention. Purified cell-based or protein-based (cell free) screening assays may be used to identify such agents. For example, MU-1 protein may be immobilized in purified form on a carrier and binding of potential ligands to purified MU-1 protein may be measured.

Pharmaceutical Compositions

[0151] IL-21/IL-21R-antagonists may be used as a pharmaceutical composition when combined with a pharmaceutically acceptable carrier. Such a composition may contain, in addition to the IL-21/IL-21R-antagonists and carrier, various diluents, fillers, salts, buffers, stabilizers, solubilizers, and other materials well known in the art. The term "pharmaceutically acceptable" means a nontoxic material that does not interfere with the effectiveness of the biological activity of the active ingredient(s). The characteristics of the carrier will depend on the route of administration.

[0152] The pharmaceutical composition of the invention may be in the form of a liposome in which an IL-21/IL-21R-antagonist(s) is combined, in addition to other pharmaceutically acceptable carriers, with amphipathic agents such as lipids that exist in aggregated form as micelles, insoluble monolayers, liquid crystals, or lamellar layers which are in aqueous solution. Suitable lipids for liposomal formulation include, without limitation, monoglycerides, diglycerides, sulfatides, lysolecithin, phospholipids, saponin, bile acids, and the like. Preparation of such liposomal formulations is within the level of skill in the art, as disclosed, e.g., in

U.S. Patent Nos. 4,235,871; 4,501,728; 4,837,028; and 4,737,323, all of which are incorporated herein by reference.

[0153] As used herein, the term "therapeutically effective amount" means the total amount of each active component of the pharmaceutical composition or method that is sufficient to show a meaningful patient benefit, e.g., amelioration of symptoms of, healing of, or increase in rate of healing of such conditions. When applied to an individual active ingredient, administered alone, the term refers to that ingredient alone. When applied to a combination, the term refers to combined amounts of the active ingredients that result in the therapeutic effect, whether administered in combination, serially or simultaneously.

[0154] In practicing the method of treatment or use of the present invention, a therapeutically effective amount of an IL-21/IL-21R-antagonist is administered to a subject, e.g., mammal (e.g., a human). An IL-21/IL-21R-antagonist(s) may be administered in accordance with the method of the invention either alone or in combination with other therapies as described in more detail herein. When coadministered with one or more agents, an IL-21- and/or IL-21R-antagonist may be administered either simultaneously with the second agent, or sequentially. If administered sequentially, the attending physician will decide on the appropriate sequence of administering the IL-21/IL-21R-antagonist(s) in combination with other agents.

[0155] Administration of an IL-21/IL-21R-antagonist used in the pharmaceutical composition or to practice the method of the present invention can be carried out in a variety of conventional ways, such as oral ingestion, inhalation, or cutaneous, subcutaneous, or intravenous injection. Intravenous administration to the patient is preferred.

[0156] When a therapeutically effective amount of an IL-21/IL-21R-agonist or antagonist is administered orally, the binding agent will be in the form of a tablet, capsule, powder, solution or elixir. When administered in tablet form, the pharmaceutical composition of the invention may additionally contain a solid carrier such as a gelatin or an adjuvant. The tablet, capsule, and powder contain from about 5 to 95% binding agent, and preferably from about 25 to 90% binding

agent. When administered in liquid form, a liquid carrier such as water, petroleum, oils of animal or plant origin such as peanut oil, mineral oil, soybean oil, or sesame oil, or synthetic oils may be added. The liquid form of the pharmaceutical composition may further contain physiological saline solution, dextrose or other saccharide solution, or glycols such as ethylene glycol, propylene glycol or polyethylene glycol. When administered in liquid form, the pharmaceutical composition contains from about 0.5 to 90% by weight of the binding agent, and preferably from about 1 to 50% the binding agent.

[0157] When a therapeutically effective amount of an IL-21/IL-21R-antagonist is administered by intravenous, cutaneous or subcutaneous injection, binding agent will be in the form of a pyrogen-free, parenterally acceptable aqueous solution. The preparation of such parenterally acceptable protein solutions, having due regard to pH, isotonicity, stability, and the like, is within the skill in the art. A preferred pharmaceutical composition for intravenous, cutaneous, or subcutaneous injection should contain, in addition to binding agent an isotonic vehicle such as sodium chloride injection, Ringer's injection, dextrose injection, dextrose and sodium chloride injection, lactated Ringer's injection, or other vehicles as known in the art. The pharmaceutical composition of the present invention may also contain stabilizers, preservatives, buffers, antioxidants, or other additive known to those of skill in the art.

[0158] The amount of an IL-21/IL-21R-antagonist in the pharmaceutical composition of the present invention will depend upon the nature and severity of the condition being treated, and on the nature of prior treatments that the patient has undergone. Ultimately, the attending physician will decide the amount of binding agent with which to treat each individual patient. Initially, the attending physician will administer low doses of binding agent and observe the patient's response. Larger doses of binding agent may be administered until the optimal therapeutic effect is obtained for the patient, and at that point the dosage is not generally increased further. It is contemplated that the various pharmaceutical compositions used to practice the method of the present invention should contain about 0.1 μ g to about 100 mg IL-21/IL-21R-antagonist per kg body weight.

[0159] The duration of intravenous therapy using the pharmaceutical composition of the present invention will vary, depending on the severity of the disease being treated and the condition and potential idiosyncratic response of each individual patient. It is contemplated that the duration of each application of the IL-21/IL-21R-antagonist will be in the range of 12 to 24 hours of continuous intravenous administration. Ultimately the attending physician will decide on the appropriate duration of intravenous therapy using the pharmaceutical composition of the present invention.

[0160] The polynucleotides and proteins of the present invention are expected to exhibit one or more of the uses or biological activities (including those associated with assays cited herein) identified herein. Uses or activities described for proteins of the present invention may be provided by administration or use of such proteins or by administration or use of polynucleotides encoding such proteins (such as, for example, in gene therapies or vectors suitable for introduction of DNA).

Uses of IL-21/IL-21R Antagonists to Decrease Immune Cell Activity

[0161] In yet another aspect, the invention features a method for inhibiting the activity of an immune cell, e.g., mature T cells (mature CD8⁺ T cells, mature CD4⁺ T cells), mature NK cells, B cells, macrophages and megakaryocytes, or a population thereof, by contacting a population of T cells with an IL-21/IL-21R antagonist in an amount sufficient to inhibit the activity of the immune cell or population. Antagonists of IL-21 and/or IL-21R (e.g., a fusion protein or a neutralizing antibody, as described herein) can also be administered to subjects for which inhibition of an immune response is desired. These conditions or disorders include, e.g., autoimmune disorders (e.g., arthritic disorders, RA, IBD), SLE, asthma, glomerulonephritis, psoriasis, or graft/organ transplantation (and rejection related thereto).

[0162] Applicants have shown that a reduction of IL-21R activity by using a neutralizing fusion protein that includes the extracellular domain of the IL-21R fused to an Fc immunoglobulin region ameliorates inflammatory symptoms in

collagen-induced arthritis (CIA) animal models (Example 7), as well as animal models for Crohn's disease, ulcerative colitis, and IBD (Examples 9 and 11), graft rejection (Example 10), psoriasis (Example 11), and lupus (Example 13). Expression of IL-21R mRNA is upregulated in the paws of CIA mice (Example 8). Mice deficient in IL-21R show a reduction in antigen-induced airway inflammation (Example 12). Accordingly, IL-21R binding agents that antagonize IL-21/IL-21R activity can be used to induce immune suppression *in vivo*, e.g., for treating or preventing immune cell-associated pathologies, including autoimmune disorders (e.g., arthritic disorders, RA, IBD), SLE, glomerulonephritis, asthma, psoriasis, or graft/organ transplantation.

[0163] The IL-21R DNA also maps to the chromosomal locus for Crohn's disease, thus providing additional support for the use of IL-21/IL-21R antagonists to treat Crohn's disease and other inflammatory bowel diseases.

[0164] The subject method can also be used to modulate (e.g., inhibit) the activity, e.g., proliferation, differentiation, survival, of an immune cell, and, thus, can be used to treat or prevent a variety of immune disorders. Nonlimiting examples of the disorders that can be treated or prevented include, but are not limited to, transplant rejection, autoimmune diseases (including, for example, diabetes mellitus, arthritis (including RA, juvenile RA, osteoarthritis (OA), psoriatic arthritis), multiple sclerosis, encephalomyelitis, myasthenia gravis, SLE, glomerulonephritis, autoimmune thyroiditis, dermatitis (including atopic dermatitis and eczematous dermatitis), psoriasis and related skin conditions (e.g., conditions associated with UV damage, e.g., photoaging, atopic dermatitis, cutaneous T cell lymphoma such as mycosis fungoides, allergic and irritant contact dermatitis, lichen planus, alopecia areata, vitiligo, ocular cicatricial pemphigoid, and urticaria), Sjögren's syndrome, Crohn's disease, aphthous ulcer, iritis, ulcerative colitis, spondyloarthropathy, ankylosing spondylitis, intrinsic asthma, allergic asthma, chronic obstructive pulmonary disease (COPD), interstitial lung fibrosis, cutaneous lupus erythematosus, scleroderma, drug eruptions, autoimmune uveitis, allergic encephalomyelitis, Wegener's granulomatosis, hepatitis, Stevens-Johnson syndrome, idiopathic sprue, Graves'

disease, sarcoidosis, liver fibrosis, primary biliary cirrhosis, uveitis posterior, graft-versus-host disease, and allergy, such as atopic allergy. Preferred disorders that can be treated using the IL-21/IL-21R antagonists include arthritic disorders (e.g., RA, juvenile RA, OA, psoriatic arthritis, and ankylosing spondylitis (preferably, rheumatoid arthritis)), multiple sclerosis, type I diabetes, lupus (SLE), IBD (Crohn's disease, ulcerative colitis), asthma, vasculitis, allergy, scleroderma, glomerulonephritis and psoriasis.

[0165] In another embodiment, IL-21/IL-21R antagonists, alone or in combination with other therapeutic agents as described herein (e.g., TNF antagonists), can be used to treat multiple myeloma and related B lymphocytic malignancies (Brenne et al. (2002) *Blood* 99(10):3756-62).

[0166] Using the IL-21/IL-21R antagonists, it is possible to modulate immune responses in a number of ways. Downregulation may be in the form of inhibiting or blocking an immune response already in progress or may involve preventing the induction of an immune response. The functions of activated T cells may be inhibited by suppressing T cell responses or by inducing specific tolerance in T cells, or both. Immunosuppression of T cell responses is generally an active, nonantigen-specific, process that requires continuous exposure of the T cells to the suppressive agent. Tolerance, which involves inducing nonresponsiveness or anergy in T cells, is distinguishable from immunosuppression in that it is generally antigen-specific and persists after exposure to the tolerizing agent has ceased. Operationally, tolerance can be demonstrated by the lack of a T cell response upon reexposure to specific antigen in the absence of the tolerizing agent.

[0167] Downregulating or preventing immune functions, e.g., using IL-21/IL-21R antagonists, will be useful in situations of tissue, skin and organ transplantation and in graft-versus-host disease (GVHD). For example, inhibiting T cell function may reduce tissue destruction in tissue transplantation. Typically, in tissue transplants, rejection of the transplant is initiated through its recognition as foreign by T cells, followed by an immune reaction that destroys the transplant. The administration of an IL-21/IL-21R antagonist, alone or in combination with

a molecule which inhibits or blocks interaction of other immune effectors prior to, during, or following transplantation, can serve to reduce immune responses.

[0168] The efficacy of IL-21/IL-21R antagonists in preventing organ transplant rejection or GVHD can be assessed using animal models that are predictive of efficacy and dosing in humans. Examples of appropriate systems which can be used include allogeneic cardiac grafts in rats and xenogeneic pancreatic islet cell grafts in mice, both of which have been used to examine the immunosuppressive effects of CTLA4 Ig fusion proteins *in vivo*, as described in Lenschow et al. (1992) *Science* 257:789-92 and Turka et al. (1992) *Proc. Natl. Acad. Sci U.S.A.*, 89:11102-05. IL-21/IL-21R antagonists can also be evaluated in other animal models, e.g., in murine models for vascularized cardiac allografts, and full thickness skin allografts. The model can test rejection of tissues that have full MHC mismatches, and can combine IL-21 blockade with donor specific lymphocyte transfusion. In addition, murine models of GVHD (see, e.g., Paul et al., *Fundamental Immunology*, Raven Press, New York (1989) pp. 846-47) can be used to determine the effect of IL-21/IL-21R antagonists *in vivo* on the development of GVHD or SLE. The efficacy of IL-21/IL-21R antagonists in preventing organ transplant rejection or GVHD can also be assessed in combination with other therapeutic agents, e.g., an immunosuppressant, such as rapamycin, cyclosporine, or CTLA4Ig.

[0169] IL-21/IL-21R antagonists may also be therapeutically useful for treating autoimmune diseases. Many autoimmune disorders are the result of inappropriate activation of T cells that are reactive against self tissue and that promote the production of cytokines and autoantibodies involved in the pathology of the diseases. Preventing the activation of autoreactive T cells may reduce or eliminate disease symptoms. Administration of IL-21/IL-21R antagonists, alone or in combination with other agents (e.g., as described herein) can be used to inhibit T cell activation and prevent production of autoantibodies or T cell-derived cytokines that may be involved in the disease process. Additionally, IL-21/IL-21R antagonists, alone or in combination with other agents (e.g., as described herein) increase antigen-specific tolerance of autoreactive T cells and

lead to long-term relief from the disease. The efficacy of these agents in preventing or alleviating autoimmune disorders can be determined using a number of well-characterized animal models of human autoimmune diseases. Examples include murine experimental autoimmune encephalitis, systemic lupus erythematosus in MRL/lpr/lpr mice or NZB hybrid mice, murine autoimmune collagen arthritis, diabetes mellitus in NOD mice and BB rats, and murine experimental myasthenia gravis (see, e.g., Paul ed., *Fundamental Immunology*, Raven Press, New York (1989) pp. 840-56).

[0170] In one embodiment, the IL-21/IL-21R antagonists, e.g., pharmaceutical compositions thereof, are administered in combination therapy, i.e., combined with other agents, e.g., therapeutic agents, which are useful for treating pathological conditions or disorders, such as immune and inflammatory disorders.

The term "in combination" in this context means that the agents are given substantially contemporaneously, either simultaneously or sequentially. If given sequentially, at the onset of administration of the second compound, the first of the two compounds is preferably still detectable at effective concentrations at the site of treatment or in the subject.

[0171] For example, the combination therapy can include one or more IL-21/IL-21R antagonists, e.g., an antibody or an antigen-binding fragment thereof (e.g., a chimeric, humanized, human, or *in vitro*-generated antibody or antigen-binding fragment thereof) against IL-21 or IL-21 receptor, an IL-21 fusion protein, a soluble IL-21 receptor, peptide inhibitor or a small molecule inhibitor) coformulated with, and/or coadministered with, one or more additional therapeutic agents, e.g., one or more cytokine and growth factor inhibitors, immunosuppressants, anti-inflammatory agents, metabolic inhibitors, enzyme inhibitors, and/or cytotoxic or cytostatic agents, as described in more detail herein. Furthermore, one or more IL-21/IL-21R antagonists described herein may be used in combination with two or more of the therapeutic agents described herein. Such combination therapies may advantageously utilize lower dosages of the administered therapeutic agents, thus avoiding possible toxicities or complications associated with the various monotherapies. Moreover, the

therapeutic agents disclosed herein act on pathways that differ from the IL-21/IL-21R receptor pathway, and thus are expected to enhance and/or synergize with the effects of the IL-21/IL-21R antagonists.

[0172] Preferred therapeutic agents used in combination with an IL-21/IL-21R antagonist are those agents that interfere at different stages in the autoimmune and subsequent inflammatory response. In one embodiment, one or more IL-21/IL-21R antagonists described herein may be coformulated with, and/or coadministered with, one or more additional agents such as other cytokine or growth factor antagonists (e.g., soluble receptors, peptide inhibitors, small molecules, ligand fusions); or antibodies or antigen-binding fragments thereof that bind to other targets (e.g., antibodies that bind to other cytokines or growth factors, their receptors, or other cell surface molecules); and anti-inflammatory cytokines or agonists thereof. Nonlimiting examples of the agents that can be used in combination with the IL-21/IL-21R antagonists described herein, include, but are not limited to, antagonists of one or more interleukins (ILs) or their receptors, e.g., antagonists of IL-1, IL-2, IL-6, IL-7, IL-8, IL-12, IL-13, IL-15, IL-16, IL-18, and IL-22; antagonists of cytokines or growth factors or their receptors, such as tumor necrosis factor (TNF), LT, EMAP-II, GM-CSF, FGF and PDGF. IL-21/IL-21R antagonists can also be combined with inhibitors of, e.g., antibodies to, cell surface molecules such as CD2, CD3, CD4, CD8, CD25, CD28, CD30, CD40, CD45, CD69, CD80 (B7.1), CD86 (B7.2), CD90, or their ligands, including CD154 (gp39 or CD40L), or LFA-1/ICAM-1 and VLA-4/VCAM-1 (Yusuf-Makagiansar et al. (2002) *Med. Res. Rev.* 22(2):146-67). Preferred antagonists that can be used in combination with IL-21/IL-21R antagonists described herein include antagonists of IL-1, IL-6, IL-12, TNF α , IL-15, IL-17, IL-18, and IL-22.

[0173] Examples of those agents include IL-12 antagonists, such as chimeric, humanized, human or *in vitro*-generated antibodies (or antigen-binding fragments thereof) that bind to IL-12 (preferably human IL-12), e.g., the antibody disclosed in WO 00/56772, Genetics Institute/BASF); IL-12 receptor inhibitors, e.g., antibodies to human IL-12 receptor; and soluble fragments of the IL-12 receptor,

e.g., human IL-12 receptor. Examples of IL-6 antagonists include antibodies (or antigen-binding fragments thereof) against IL-6 or its receptor, e.g., chimeric, humanized, human or *in vitro*-generated antibodies to human IL-6 or its receptor, soluble fragments of the IL-6 receptor, and IL-6-binding proteins. Examples of IL-15 antagonists include antibodies (or antigen-binding fragments thereof) against IL-15 or its receptor, e.g., chimeric, humanized, human or *in vitro*-generated antibodies to human IL-15 or its receptor, soluble fragments of the IL-15 receptor, and IL-15-binding proteins. Examples of IL-18 antagonists include antibodies, e.g., chimeric, humanized, human or *in vitro*-generated antibodies (or antigen-binding fragments thereof), to human IL-18, soluble fragments of the IL-18 receptor, and IL-18 binding proteins (IL-18BP, Mallat et al. (2001) *Circ. Res.* 89:e41-45). Examples of IL-1 antagonists include interleukin-1-converting enzyme (ICE) inhibitors, such as Vx740, IL-1 antagonists, e.g., IL-1RA (ANIKINRA™, Amgen), sIL1RII (Immunex), and anti-IL-1 receptor antibodies (or antigen-binding fragments thereof).

[0174] Examples of TNF antagonists include chimeric, humanized, human or *in vitro*-generated antibodies (or antigen-binding fragments thereof) to TNF (e.g., human TNF α), such as D2E7, (human TNF α antibody, U.S. 6,258,562; BASF), CDP-571/CDP-870/BAY-10-3356 (humanized anti-TNF α antibody; Celltech/Pharmacia), cA2 (chimeric anti-TNF α antibody; REMICADE™, Centocor); anti-TNF antibody fragments (e.g., CPD870); soluble fragments of the TNF receptors, e.g., p55 or p75 human TNF receptors or derivatives thereof, e.g., 75 kDa TNFR-IgG (75 kDa TNF receptor-IgG fusion protein, ENBREL™; Immunex; see, e.g., *Arthritis & Rheumatism* (1994) Vol. 37, S295; *J. Invest. Med.* (1996) Vol. 44, 235A), p55 kDa TNFR-IgG (55 kDa TNF receptor-IgG fusion protein (Lenercept)); enzyme antagonists, e.g., TNF α converting enzyme (TACE) inhibitors (e.g., an alpha-sulfonyl hydroxamic acid derivative, WO 01/55112, and N-hydroxyformamide TACE inhibitor GW 3333, -005, or -022); and TNF-bp/s-TNFR (soluble TNF binding protein; see, e.g., *Arthritis & Rheumatism* (1996) Vol. 39, No. 9 (supplement), S284; *Amer. J. Physiol. - Heart and Circulatory Physiology* (1995) Vol. 268, pp. 37-42). Preferred TNF antagonists are soluble

non-1

fragments of the TNF receptors, e.g., p55 or p75 human TNF receptors or derivatives thereof, e.g., 75 kD TNFR-IgG, and TNF- α converting enzyme (TACE) inhibitors.

[0175] In other embodiments, the IL-21/IL-21R antagonists described herein can be administered in combination with one or more of the following: IL-13 antagonists, e.g., soluble IL-13 receptors (sIL-13) and/or antibodies against IL-13; IL-2 antagonists, e.g., DAB 486-IL-2 and/or DAB 389-IL-2 (IL-2 fusion proteins; Seragen; see, e.g., *Arthritis & Rheumatism* (1993) Vol. 36, 1223), and/or antibodies to IL-2R, e.g., anti-Tac (humanized anti-IL-2R; Protein Design Labs, *Cancer Res.* (1990) Mar 1; 50(5):1495-502). Yet another combination includes IL-21 antagonists in combination with nondepleting anti-CD4 inhibitors (IDEC-CR9.1/SB 210396 (nondepleting primatized anti-CD4 antibody; IDEC/SmithKline)). Yet other preferred combinations include antagonists of the costimulatory pathway CD80 (B7.1) or CD86 (B7.2) including antibodies, soluble receptors or antagonistic ligands; as well as p-selectin glycoprotein ligand (PSGL), anti-inflammatory cytokines, e.g., IL-4 (DNAX/Schering); IL-10 (SCH 52000; recombinant IL-10 DNAX/Schering); IL-13 and TGF, and agonists thereof (e.g., agonist antibodies).

[0176] In other embodiments, one or more IL-21/IL-21R antagonists can be coformulated with, and/or coadministered with, one or more anti-inflammatory drugs, immunosuppressants, or metabolic or enzymatic inhibitors. Nonlimiting examples of the drugs or inhibitors that can be used in combination with the IL-21 antagonists described herein, include, but are not limited to, one or more of: nonsteroidal anti-inflammatory drug(s) (NSAIDs), e.g., ibuprofen, tenidap (see, e.g., *Arthritis & Rheumatism* (1996) Vol. 39, No. 9 (supplement), S280)), naproxen (see, e.g., *Neuro Report* (1996) Vol. 7, pp. 1209-1213), meloxicam, piroxicam, diclofenac, and indomethacin; sulfasalazine (see, e.g., *Arthritis & Rheumatism* (1996) Vol. 39, No. 9 (supplement), S281); corticosteroids such as prednisolone; cytokine suppressive anti-inflammatory drug(s) (CSAIDs); inhibitors of nucleotide biosynthesis, e.g., inhibitors of purine biosynthesis, folate antagonists (e.g., methotrexate (N-[4-[(2,4-diamino-6-

pteridinyl)methyl[methylamino]benzoyl]-L-glutamic acid); and inhibitors of pyrimidine biosynthesis, e.g., dihydroorotate dehydrogenase (DHODH) inhibitors (e.g., leflunomide (see, e.g., *Arthritis & Rheumatism* (1996) Vol. 39, No. 9 (supplement), S131; *Inflammation Research* (1996) Vol. 45, pp. 103-107).

Preferred therapeutic agents for use in combination with IL-21/IL-21R antagonists include NSAIDs, CSAIDs, (DHODH) inhibitors (e.g., leflunomide), and folate antagonists (e.g., methotrexate).

[0177] Examples of additional inhibitors include one or more of: corticosteroids (oral, inhaled and local injection); immunosuppressants, e.g., cyclosporin, tacrolimus (FK-506); and mTOR inhibitors, e.g., sirolimus (rapamycin) or rapamycin derivatives, e.g., soluble rapamycin derivatives (e.g., ester rapamycin derivatives, e.g., CCI-779 (Elit (2002) *Current Opinion Investig. Drugs* 3(8):1249-53; Huang et al. (2002) *Current Opinion Investig. Drugs* 3(2):295-304); agents which interfere with signaling by proinflammatory cytokines such as TNF α or IL-1 (e.g. IRAK, NIK, IKK, p38 or MAP kinase inhibitors); COX2 inhibitors, e.g., celecoxib and variants thereof, MK-966, see, e.g., *Arthritis & Rheumatism* (1996) Vol. 39, No. 9 (supplement), S81); phosphodiesterase inhibitors, e.g., R973401 (phosphodiesterase Type IV inhibitor; see, e.g., *Arthritis & Rheumatism* (1996) Vol. 39, No. 9 (supplement), S282)); phospholipase inhibitors, e.g., inhibitors of cytosolic phospholipase 2 (cPLA2) (e.g., trifluoromethyl ketone analogs (U.S. 6,350,892)); inhibitors of vascular endothelial cell growth factor or growth factor receptor, e.g., VEGF inhibitor and/or VEGF-R inhibitor, and inhibitors of angiogenesis. Preferred therapeutic agents for use in combination with IL-21/IL-21R antagonists include immunosuppressants, e.g., cyclosporin, tacrolimus (FK-506); and mTOR inhibitors, e.g., sirolimus (rapamycin) or rapamycin derivatives, e.g., soluble rapamycin derivatives (e.g., ester rapamycin derivatives, e.g., CCI-779; COX2 inhibitors, e.g., celecoxib and variants thereof; and phospholipase inhibitors, e.g., inhibitors of cytosolic phospholipase 2 (cPLA2) (e.g., trifluoromethyl ketone analogs).

00000

[0178] Additional examples of therapeutic agents that can be combined with an IL-21/IL-21R antagonist include one or more of: 6-mercaptopurines (6-MP); azathioprine sulphasalazine; mesalazine; olsalazine chloroquine/hydroxychloroquine; pencillamine; aurothiornalate (intramuscular and oral); azathioprine; colchicine; beta-2 adrenoreceptor agonists (salbutamol, terbutaline, salmeterol); xanthines (theophylline, aminophylline); cromoglycate; nedocromil; ketotifen; ipratropium and oxitropium; mycophenolate mofetil; adenosine agonists; antithrombotic agents; complement inhibitors; and adrenergic agents.

[0179] The use of the IL-21/IL-21R antagonists disclosed herein in combination with other therapeutic agents to treat or prevent specific immune disorders is discussed in further detail herein.

[0180] Nonlimiting examples of agents for treating or preventing arthritic disorders (e.g., RA, inflammatory arthritis, juvenile RA, OA and psoriatic arthritis), with which an IL-21/IL-21R antagonist can be combined include one or more of the following: IL-12 antagonists as described herein; NSAIDs; CSAIDs; TNFs, e.g., TNF α , antagonists as described herein; nondepleting anti-CD4 antibodies as described herein; IL-2 antagonists as described herein; anti-inflammatory cytokines, e.g., IL-4, IL-10, IL-13 and TGF α , or agonists thereof; IL-1 or IL-1 receptor antagonists as described herein; phosphodiesterase inhibitors as described herein; COX-2 inhibitors as described herein; Iloprost (see, e.g., *Arthritis & Rheumatism* (1996) Vol. 39, No. 9 (supplement), S82); methotrexate; thalidomide (see, e.g., *Arthritis & Rheumatism* (1996) Vol. 39, No. 9 (supplement), S282) and thalidomide-related drugs (e.g., Celgen); leflunomide; inhibitor of plasminogen activation, e.g., tranexamic acid (see, e.g., *Arthritis & Rheumatism* (1996) Vol. 39, No. 9 (supplement), S284); cytokine inhibitor, e.g., T-614; see, e.g., *Arthritis & Rheumatism* (1996) Vol. 39, No. 9 (supplement), S282); prostaglandin E1 (see, e.g., *Arthritis & Rheumatism* (1996) Vol. 39, No. 9 (supplement), S282); azathioprine (see, e.g., *Arthritis & Rheumatism* (1996) Vol. 39, No. 9 (supplement), S281); an inhibitor of interleukin-1 converting enzyme (ICE); zap-70 and/or lck inhibitor (inhibitor of the tyrosine kinase zap-70 or lck); an inhibitor of vascular endothelial cell growth factor or vascular endothelial cell

growth factor receptor as described herein; an inhibitor of angiogenesis as described herein; corticosteroid anti-inflammatory drugs (e.g., SB203580); TNF-convertase inhibitors; interleukin-11 (see, e.g., *Arthritis & Rheumatism* (1996) Vol. 39, No. 9 (supplement), S296); IL-13 (see, e.g., *Arthritis & Rheumatism* (1996) Vol. 39, No. 9 (supplement), S308); IL-17 inhibitors (see, e.g., *Arthritis & Rheumatism* (1996) Vol. 39, No. 9 (supplement), S120); gold; penicillamine; chloroquine; hydroxychloroquine; chlorambucil; cyclophosphamide; cyclosporine; total lymphoid irradiation; anti-thymocyte globulin; CD5-toxins; orally-administered peptides and collagen; lobenzarit disodium; Cytokine Regulating Agents (CRAs) HP228 and HP466 (Houghten Pharmaceuticals, Inc.); ICAM-1 antisense phosphorothioate oligodeoxynucleotides (ISIS 2302; Isis Pharmaceuticals, Inc.); soluble complement receptor 1 (TP10; T Cell Sciences, Inc.); prednisone; orgotein; glycosaminoglycan polysulphate; minocycline; anti-IL-2R antibodies; marine and botanical lipids (fish and plant seed fatty acids; see, e.g., DeLuca et al. (1995) *Rheum. Dis. Clin. North Am.* 21:759-777); auranofin; phenylbutazone; meclofenamic acid; flufenamic acid; intravenous immune globulin; zileuton; mycophenolic acid (RS-61443); tacrolimus (FK-506); sirolimus (rapamycin); amiprilose (therafectin); cladribine (2-chlorodeoxyadenosine); and azaribine. Preferred combinations include one or more IL-21 antagonists in combination with methotrexate or leflunomide, and in moderate or severe rheumatoid arthritis cases, cyclosporine.

[0181] Preferred examples of inhibitors to use in combination with IL-21/IL-21R antagonists to treat arthritic disorders include TNF antagonists (e.g., chimeric, humanized, human or *in vitro*-generated antibodies, or antigen-binding fragments thereof, that bind to TNF; soluble fragments of a TNF receptor, e.g., p55 or p75 human TNF receptor or derivatives thereof, e.g., 75 kDa TNFR-IgG (75 kDa TNF receptor-IgG fusion protein, ENBREL™), p55 kDa TNF receptor-IgG fusion protein; TNF enzyme antagonists, e.g., TNF α converting enzyme (TACE) inhibitors); antagonists of IL-6, IL-12, IL-15, IL-17, IL-18, IL-22; T cell and B cell depleting agents (e.g., anti-CD4 or anti-CD22 antibodies); small molecule inhibitors, e.g., methotrexate and leflunomide; sirolimus (rapamycin) and analogs

thereof, e.g., CCI-779; Cox-2 and cPLA2 inhibitors; NSAIDs; p38 inhibitors, TPL-2, Mκ-2 and NFκb inhibitors; RAGE or soluble RAGE; P-selectin or PSGL-1 inhibitors (e.g., small molecule inhibitors, antibodies thereto, e.g., antibodies to P-selectin); estrogen receptor beta (ERB) agonists or ERB-NFκb antagonists. Most preferred additional therapeutic agents that can be coadministered and/or coformulated with one or more IL-21/IL-21R antagonists include one or more of: a soluble fragment of a TNF receptor, e.g., p55 or p75 human TNF receptor or derivatives thereof, e.g., 75 kDTNFR-IgG (75 kDa TNF receptor-IgG fusion protein, ENBREL™); methotrexate, leflunomide, or a sirolimus (rapamycin) or an analog thereof, e.g., CCI-779.

[0182] Nonlimiting examples of agents for treating or preventing multiple sclerosis with which an IL-21-/IL-21R antagonist can be combined include the following: interferons, e.g., interferon-alpha1a (e.g., AVONEX™; Biogen) and interferon-1b (BETASERON™; Chiron/Berlex); Copolymer 1 (Cop-1; COPAXONE™; Teva Pharmaceutical Industries, Inc.); hyperbaric oxygen; intravenous immunoglobulin; clabribine; TNF antagonists as described herein; corticosteroids; prednisolone; methylprednisolone; azathioprine; cyclophosphamide; cyclosporine; methotrexate; 4-aminopyridine; and tizanidine. Additional antagonists that can be used in combination with IL-21 include antibodies to or antagonists of other human cytokines or growth factors, for example, TNF, LT, IL-1, IL-2, IL-6, IL-7, IL-8, IL-12 IL-15, IL-16, IL-18, EMAP-11, GM-CSF, FGF, and PDGF. IL-21 antagonists as described herein can be combined with antibodies to cell surface molecules such as CD2, CD3, CD4, CD8, CD25, CD28, CD30, CD40, CD45, CD69, CD80, CD86, CD90 or their ligands. The IL-21 antagonists may also be combined with agents, such as methotrexate, cyclosporine, FK506, rapamycin, mycophenolate mofetil, leflunomide, NSAIDs, for example, ibuprofen, corticosteroids such as prednisolone, phosphodiesterase inhibitors, adenosine agonists, antithrombotic agents, complement inhibitors, adrenergic agents, agents that interfere with signaling by proinflammatory cytokines as described herein, IL-1b converting enzyme inhibitors (e.g., Vx740), anti-P7s, PSGL, TACE inhibitors, T cell

nnn88

signaling inhibitors such as kinase inhibitors, metalloproteinase inhibitors, sulfasalazine, azathioprine, 6-mercaptopurines, angiotensin converting enzyme inhibitors, soluble cytokine receptors and derivatives thereof, as described herein, and anti-inflammatory cytokines (e.g. IL-4, IL-10, IL-13 and TGF).

[0183] Preferred examples of therapeutic agents for multiple sclerosis with which the IL-21 antagonists can be combined include interferon-b, for example, IFN β -1a and IFN β -1b; copaxone, corticosteroids, IL-1 inhibitors, TNF inhibitors, antibodies to CD40 ligand and CD80, IL-12 antagonists.

[0184] Nonlimiting examples of agents for treating or preventing inflammatory bowel disease (Crohn's disease; ulcerative colitis) with which an IL-21/IL-21R antagonist can be combined include the following: budenoside; epidermal growth factor; corticosteroids; cyclosporin, sulfasalazine; aminosalicylates; 6-mercaptopurine; azathioprine; metronidazole; lipoxygenase inhibitors; mesalamine; olsalazine; balsalazide; antioxidants; thromboxane inhibitors; IL-1 receptor antagonists; anti-IL-1 monoclonal antibodies; anti-IL-6 monoclonal antibodies; growth factors; elastase inhibitors; pyridinyl-imidazole compounds; TNF antagonists as described herein; IL-4, IL-10, IL-13 and/or TGF β cytokines or agonists thereof (e.g., agonist antibodies); IL-11; glucuronide- or dextran-conjugated prodrugs of prednisolone, dexamethasone or budesonide; ICAM-1 antisense phosphorothioate oligodeoxynucleotides (ISIS 2302; Isis Pharmaceuticals, Inc.); soluble complement receptor 1 (TP10; T Cell Sciences, Inc.); slow-release mesalazine; methotrexate; antagonists of platelet activating factor (PAF); ciprofloxacin; and lignocaine.

[0185] In one embodiment, an IL-21/IL-21R antagonist can be used in combination with one or more antibodies directed at other targets involved in regulating immune responses, e.g., transplant rejection, graft-vs-host disease, or other immune response-related disorders. Nonlimiting examples of agents for treating or preventing immune responses with which an IL-21/IL-21R antagonist of the invention can be combined include the following: antibodies against cell surface molecules or their ligands, including but not limited to CD25 (IL-2 receptor- α), CD11a (LFA-1), CD54 (ICAM-1), CD4, CD40, CD40L, CD45,

nnn87

CD28/CTLA4, CD80 (B7-1) and/or CD86 (B7-2). In yet another embodiment, an IL-21/IL-21R antagonist can be used in combination with corticosteroids; sirolimus (rapamycin) and analogs thereof, e.g., CCI-779; cyclosporin A; FK506; FTY720; azathioprine; cyclophosphamide; methotrexate; anti-IL-2R antibodies, e.g., basiliximab, daclizumab; cA2 (chimeric anti-TNF α antibody, REMICADE™, Centocor); anti-CD3 antibodies (e.g., muromonab-CD3); Copolymer 1 (Cop-1; COPAXONE™; Teva Pharmaceutical Industries, Inc.); deoxyspergualin; and mycophenolate mofetil.

[0186] Nonlimiting examples of agents for treating or preventing psoriasis and other skin conditions with which an IL-21/IL-21R antagonist can be combined include one or more of the following: inhibitors of CD2 or LFA-3 interactions (e.g., soluble CD2- or LFA-polypeptides, such as Fc fusions, or antibodies against CD2 or LFA-3), cyclosporin A, prednisone, FK506, methotrexate, PUVA, UV light, steroids, retinoids, interferon, or nitrogen mustard. Examples of preferred agents that can be used in combination with an IL-21/IL-21R antagonist include cyclosporins A and methotrexate.

[0187] Nonlimiting examples of agents for treating or preventing asthma with which an IL-21/IL-21R antagonist can be combined include one or more of the following: inhaled bronchodilators, e.g., pirbuterol, bitolterol, metaproterenol; beta 2-adrenoceptor agonists, e.g., albuterol, terbutaline, salmeterol, formoterol; antimuscarinics, e.g., ipratropium, oxitropium; systemic corticosteroids, e.g., prednisone, prednisolone, dexamethasone; inhaled corticosteroids, e.g., fluticasone, budesonide, beclomethasone, mometasone; leukotriene antagonists, e.g., montelukast sodium, zafirlukast; mast cell stabilizers, e.g., cromolyn sodium, nedocromil; omalizumab (XOLAIR™; Genentech/Novartis); or COX-2 inhibitors, as described herein.

[0188] Nonlimiting examples of agents for treating or preventing lupus (e.g., SLE) with which an IL-21/IL-21R antagonist can be combined include one or more of the following: IL-6/IL-6R antagonists, e.g. anti-IL-6 or anti-IL-6R antibodies; NSAIDs; corticosteroids, e.g., dexamethasone, hydrocortisone,

methylprednisolone, prednisolone, prednisone; azathioprine, cyclophosphamide, hydroxychloroquine, or chloroquine.

[0189] Another aspect of the present invention accordingly relates to kits for carrying out the combined administration of the IL-21/IL-21R antagonists with other therapeutic compounds. In one embodiment, the kit comprises one or more binding agents formulated in a pharmaceutical carrier, and at least one agent, e.g., therapeutic agent, formulated as appropriate, in one or more separate pharmaceutical preparations.

Exemplary Disorders

[0190] Rheumatoid arthritis is an autoimmune inflammatory disease that causes pain, swelling, stiffness, and loss of function in the joints. Rheumatoid arthritis often presents in a symmetrical pattern. The disease can affect the wrist joints and the finger joints closest to the hand. It can also affect other parts of the body besides the joints. In addition, people with rheumatoid arthritis may have fatigue, occasional fevers, and a general malaise. Positive factors for diagnosis of rheumatoid arthritis include the "rheumatoid factor" blood antibody and citrulline antibody. IL-21/IL-21R antagonists can be useful in treating, preventing, or alleviating rheumatoid arthritis or one or more symptoms of rheumatoid arthritis.

[0191] Systemic lupus erythematosus (SLE) is an autoimmune disorder that leads to inflammation and damage to various body tissues. SLE can be mediated by self-antibodies directed against one's own DNA. Lupus can affect many parts of the body, including the joints, skin, kidneys, heart, lungs, blood vessels, and brain. Although various symptoms may present, some of the most common include extreme fatigue, painful or swollen joints (arthritis), unexplained fever, skin rashes, and kidney problems (e.g., glomerulonephritis). Exemplary symptoms of lupus include painful or swollen joints, unexplained fever, and extreme fatigue. A characteristic red skin rash may appear across the nose and cheeks. Rashes may also occur on the face and ears, upper arms, shoulders, chest, and hands. Other symptoms of lupus include chest pain, hair loss, anemia, mouth ulcers, and pale or purple fingers and toes from cold and stress. Some people also

experience headaches, dizziness, depression, confusion, or seizures. Positive factors for SLE diagnosis include circulating anti-nuclear antibodies, anti-DNA antibodies, and anti-Sm antibodies. IL-21/IL-21R antagonists can be useful in treating, ameliorating (alleviating), or preventing SLE or one or more symptoms of SLE.

[0192] Ankylosing spondylitis is an autoimmune disorder that not only affects the spine, but may also affect the hips, shoulders, and knees as the tendons and ligaments around the bones and joints become inflamed, resulting in pain and stiffness. Ankylosing spondylitis tends to affect people in late adolescence or early adulthood. IL-21/IL-21R antagonists can be useful in treating, preventing, or alleviating ankylosing spondylitis, or one or more symptoms thereof.

[0193] Inflammatory bowel disease (IBD) is the general name for diseases that cause inflammation in the intestines. Two examples of inflammatory bowel disease are Crohn's disease and ulcerative colitis. IL-21/IL-21R antagonists can be useful in treating, preventing, or alleviating inflammatory bowel disease or one or more symptoms of inflammatory bowel disease.

[0194] Crohn's disease causes inflammation in the small intestine. Crohn's disease usually occurs in the lower part of the small intestine (the ileum), but it can affect any part of the digestive tract, from the mouth to the anus. The inflammation can extend deep into the lining of the affected organ, causing pain and making the intestines empty frequently, resulting in diarrhea. The most common symptoms of Crohn's disease are abdominal pain, often in the lower right area, and diarrhea. Rectal bleeding, weight loss, and fever may also occur. Bleeding may be serious and persistent, leading to anemia. Direct visualization of the bowel may be useful to determine the extent of inflammation.

[0195] Ulcerative colitis is a disease that causes inflammation and sores, called ulcers, in the lining of the large intestine. The inflammation usually occurs in the rectum and lower part of the colon, but it may affect the entire colon. Ulcerative colitis rarely affects the small intestine except for the end section, called the terminal ileum. The inflammation makes the colon empty frequently, causing diarrhea. Ulcers form in places where the inflammation has killed the cells lining

the colon; the ulcers bleed and produce pus. The most common symptoms of ulcerative colitis are abdominal pain and bloody diarrhea. Patients also may experience fatigue, weight loss, loss of appetite, rectal bleeding, and loss of body fluids and nutrients. About half of patients have mild symptoms. Others suffer frequent fever, bloody diarrhea, nausea, and severe abdominal cramps. Ulcerative colitis may also cause problems such as arthritis, inflammation of the eye, liver disease (hepatitis, cirrhosis, and primary sclerosing cholangitis), osteoporosis, skin rashes, and anemia. Diagnosis of ulcerative colitis typically depends on identifying bloody stool and direct visualization of the colon.

[0196] Psoriasis is a chronic skin disease of scaling and inflammation. Psoriasis occurs when skin cells quickly rise from their origin below the surface of the skin and pile up on the surface before they have a chance to mature. Usually this movement (also called turnover) takes about a month, but in psoriasis it may occur in only a few days. In its typical form, psoriasis results in patches of thick, inflamed skin covered with silvery scales. These patches, which are sometimes referred to as plaques, usually itch or feel sore. They most often occur on the elbows, knees, other parts of the legs, scalp, lower back, face, palms, and soles of the feet, but they can occur on skin anywhere on the body. Diagnosis of psoriasis is based primarily on these characteristic symptoms. A skin biopsy can be useful in diagnosis. IL-21/IL-21R antagonists can be useful in treating, preventing, or alleviating psoriasis or one or more symptoms of psoriasis. Psoriatic arthritis occurs in some patients with psoriasis, a scaling skin disorder. Psoriatic arthritis often affects the joints at the ends of the fingers and toes and is accompanied by changes in the fingernails and toenails. Back pain may occur if the spine is involved. IL-21/IL-21R antagonists can be useful in treating, preventing, or alleviating psoriasis or one or more symptoms of psoriasis or psoriatic arthritis.

[0197] Glomerular diseases include both proliferative and nonproliferative disorders. Glomerulonephritis is a disorder presenting with intraglomerular inflammation and cell proliferation (see, e.g., Hricik et al. (1998) *New Eng. J. Med.* 339:888-99. Nonproliferative and sclerosing glomerulopathies include membranous glomerulopathy, diabetic nephropathy, focal segmental

glomerulosclerosis, thin basement membrane disease, amyloidosis, light-chain nephropathy, HIV nephropathy, Alport's syndrome, drug-induced glomerulopathies, and minimal-change disease. The inflammation accompanying glomerular disease arises largely due to antibody-mediated glomerular injury that results from autoimmunity. Activation of humoral immunity can lead to the production of antibodies against glomerular cell surfaces (e.g., basement membranes), and circulating antigen-antibody complexes are deposited in the glomerulus, reported to contribute to glomerulonephritis pathology. Glomerular injury and glomerulonephritis thus often result from larger systemic autoimmune disorders, such as, e.g., SLE, hepatitis, and fibrotic disorders. Glomerulonephritis also may be associated with IgA nephropathy, Henoch-Schonlein purpura, infection (caused by, e.g., bacteria, virus, protozoa), vasculitides, cryoglobulinemia, inherited nephritis, granulomatosis (e.g., Wegener's granulomatosis, microscopic polyangitis, and Churg-Strauss syndrome), glomerular basement membrane disease, Goodpasture's syndrome, nephritic syndrome (as occurs with, e.g., diabetes mellitus, lupus (e.g., SLE), amyloidosis, drug use, cancer, and infection), lipodystrophy, sickle cell disease, complement deficiencies, membrane proliferative glomerulonephritis, lupus nephritis, and lupus membranous nephropathy. IL-21/IL-21R antagonists can be useful in treating, ameliorating, or preventing glomerulonephritis or one or more symptoms of glomerulonephritis, and other glomerular diseases.

[0198] IL-21/IL-21R antagonists can be used to prevent or treat tissue/graft rejection or symptoms associated with rejection, e.g., before, during, or after transplantation of an organ, tissue, or cells, e.g., heart, lung, liver, kidney, pancreas, or bone marrow. Transplant/graft rejection occurs when the immune system of the host organism raises an immune response against nonself antigens in the transplanted tissue, e.g., syngeneic, allogeneic, or xenogeneic tissue. Rejection can be mediated, for example, by antibodies, lymphocytes or both and can manifest itself in a variety of different ways, including, e.g., hyperacute rejection (e.g., during the early post-transplant period), acute rejection, and chronic rejection (generally, a slowly developing process causing a progressive

decline in graft function). Rejection is often accompanied by inflammation and can result in the damage and/or failure of the transplanted tissue or organ, e.g., vasculopathy, fibrosis, or a loss of organ function. During rejection, the host may experience general discomfort, pain or swelling in the area of the transplant, and/or fever. Organ and tissue transplants can be monitored for rejection, e.g., by examination of biopsies for signs of rejection, or by assessing organ function. Histopathological signs of rejection include, e.g., increased expression of HLA class II antigens, e.g., in renal tubular cells following kidney transplantation. Liver function, e.g., can be assessed by measuring serum levels of bilirubin and hepatic enzymes, e.g., alkaline phosphatase; kidney function can be assessed, e.g., by measuring serum creatine levels.

[0199] Osteoarthritis (OA) is characterized by the breakdown of cartilage at the joints. This allows bones under the cartilage to rub together, causing pain, swelling, and loss of motion of the joint. Over time, the joint may lose its normal shape, and bone spurs or osteophytes may grow on the edges of the joint. Additionally, bits of bone or cartilage can break off and float inside the joint space causing more pain and damage. People with OA typically have joint pain and limited movement. Unlike some other forms of arthritis, OA affects only joints and not internal organs. Positive factors for diagnosis of OA include loss of cartilage as seen by X-ray. IL-21/IL-21R antagonists can be useful in treating, preventing, or alleviating OA or one or more symptoms of OA.

Respiratory Disorders

[0200] IL-21/IL-21R antagonists can be used to treat respiratory disorders including, but not limited to, asthma (e.g., allergic and nonallergic asthma); bronchitis (e.g., chronic bronchitis); chronic obstructive pulmonary disease (COPD) (e.g., emphysema, e.g., cigarette-induced emphysema); conditions involving airway inflammation, eosinophilia, fibrosis and excess mucus production, e.g., cystic fibrosis, pulmonary fibrosis, and allergic rhinitis.

[0201] The methods for treating or preventing asthma include those for extrinsic asthma (also known as allergic asthma or atopic asthma), intrinsic asthma (also

known as nonallergic asthma or nonatopic asthma) or combinations of both, which has been referred to as mixed asthma. Extrinsic or allergic asthma includes incidents caused by, or associated with, e.g., allergens, such as pollens, spores, grasses or weeds, pet danders, dust, mites, etc. As allergens and other irritants present themselves at varying points over the year, these types of incidents are also referred to as seasonal asthma. Also included in the group of extrinsic asthma is bronchial asthma and allergic bronchopulmonary aspergillosis.

[0202] Asthma that can be treated or alleviated by the present methods include those caused by infectious agents, such as viruses (e.g., cold and flu viruses, respiratory syncytial virus (RSV), paramyxovirus, rhinovirus and influenza viruses). RSV, rhinovirus and influenza virus infections are common in children, and viral infection is a leading cause of respiratory tract illnesses in infants and young children. Children with viral bronchiolitis can develop chronic wheezing and asthma, which can be treated using the methods of the invention. Also included are the asthma conditions that may be brought about in some asthmatics by exercise and/or cold air. The methods are useful for asthmas associated with smoke exposure (e.g., cigarette-induced and industrial smoke), as well as industrial and occupational exposures, such as smoke; ozone; noxious gases; sulfur dioxide; nitrous oxide; fumes, including isocyanates, from paint, plastics, polyurethanes, varnishes, etc.; wood, plant, or other organic dusts; etc. The methods are also useful for asthmatic incidents associated with food additives, preservatives, or pharmacological agents. Also included are methods for treating, inhibiting, or alleviating the types of asthma referred to as silent asthma or cough variant asthma.

[0203] The methods disclosed herein are also useful for treatment and alleviation of asthma associated with gastroesophageal reflux (GERD), which can stimulate bronchoconstriction. GERD, along with retained bodily secretions, suppressed cough, and exposure to allergens and irritants in the bedroom can contribute to asthmatic conditions and have been collectively referred to as nighttime asthma or nocturnal asthma. In methods of treatment, inhibition or alleviation of asthma associated with GERD, a pharmaceutically effective amount of the IL-21/IL-21R

antagonist can be used as described herein in combination with a pharmaceutically effective amount of an agent for treating GERD. These agents include, but are not limited to, proton pump inhibiting agents like PROTONIX[®] brand of delayed-release pantoprazole sodium tablets, PRILOSEC[®] brand omeprazole delayed release capsules, ACIPHEX[®] brand rebeprazole sodium delayed release tablets, or PREVACID[®] brand delayed release lansoprazole capsules.

Atopic Disorders and Symptoms Thereof

[0204] "Atopic" refers to a group of diseases where there is often an inherited tendency to develop an allergic reaction. Examples of atopic disorders include allergy, allergic rhinitis, atopic dermatitis, and hay fever. An IL-21/IL-21R pathway antagonist can be administered to ameliorate an atopic disorder or one or more of the symptoms thereof.

[0205] Symptoms of allergic rhinitis (hay fever) include itchy, runny, sneezing, or stuffy noses, and itchy eyes. An IL-21/IL-21R pathway antagonist can be administered to ameliorate one or more of these symptoms.

[0206] Atopic dermatitis is a chronic disease that affects the skin. Information about atopic dermatitis is available, e.g., from NIH Publication No. 03-4272. In atopic dermatitis, the skin can become extremely itchy, leading to redness, swelling, cracking, weeping clear fluid, and finally, crusting and scaling. In many cases, there are periods of time when the disease is worse (called exacerbations or flares) followed by periods when the skin improves or clears up entirely (called remissions). Atopic dermatitis is often referred to as "eczema," which is a general term for the several types of inflammation of the skin. Atopic dermatitis is the most common of the many types of eczema. Examples of atopic dermatitis include: allergic contact eczema or dermatitis (e.g., sometimes manifested as a red, itchy, weepy reaction where the skin has come into contact with a foreign substance, such as poison ivy or certain preservatives in creams and lotions); contact eczema (e.g., a localized reaction that includes redness, itching, and burning where the skin has come into contact with an allergen or with an irritant

such as an acid, a cleaning agent, or other chemical); dyshidrotic eczema (e.g., an irritation of the skin on the palms of hands and soles of the feet characterized by clear, deep blisters that itch and burn); neurodermatitis (e.g., scaly patches of the skin on the head, lower legs, wrists, or forearms caused by a localized itch (such as an insect bite) that become intensely irritated when scratched); nummular eczema (e.g., manifested as coin-shaped patches of irritated skin—most common on the arms, back, buttocks, and lower legs—that may be crusted, scaling, and extremely itchy); seborrheic eczema (e.g., manifested as yellowish, oily, scaly patches of skin on the scalp, face, and occasionally other parts of the body). Additional particular symptoms include stasis dermatitis, atopic pleat (e.g., Dennie-Morgan fold), cheilitis, hyperlinear palms, hyperpigmented eyelids: eyelids that have become darker in color from inflammation or hay fever, ichthyosis, keratosis pilaris, lichenification, papules, and urticaria. An IL-21/IL-21R pathway antagonist can be administered to ameliorate one or more of these symptoms.

Fibrotic Disorders

[0207] Although production of collagen is a highly regulated process, its disturbance may lead to the development of tissue fibrosis. Abnormal accumulation of fibrous materials may ultimately lead to organ failure (Border et al. (1994) *New Engl. J. Med.* 331:1286-92). Injury to any organ leads to a stereotypical physiological response: platelet-induced hemostasis, followed by an influx of inflammatory cells and activated fibroblasts. Cytokines derived from these cell types drive the formation of new extracellular matrix and blood vessels (granulation tissue). The generation of granulation tissue is a carefully orchestrated program in which the expression of protease inhibitors and extracellular matrix proteins is upregulated, and the expression of proteases is reduced, leading to the accumulation of extracellular matrix.

[0208] The development of fibrotic conditions, whether induced or spontaneous, is caused at least in part by stimulation of fibroblast activity. The influx of inflammatory cells and activated fibroblasts into the injured organ depends on the ability of these cell types to interact with the interstitial matrix, which contains

primarily collagens. Many of the diseases associated with the proliferation of fibrous tissue are both chronic and often debilitating, including for example, skin diseases such as scleroderma. Some, including pulmonary fibrosis, can be fatal due in part to the fact that the currently available treatments for this disease have significant side effects and are generally not efficacious in slowing or halting the progression of fibrosis (Nagler et al. (1996) *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 154:1082-86).

[0209] Fibrotic disorders include disorders characterized by fibrosis, e.g., fibrosis of an internal organ, a dermal fibrosing disorder, and fibrotic conditions of the eye. Fibrosis of internal organs (e.g., liver, lung, kidney, heart blood vessels, gastrointestinal tract), occurs in disorders such as pulmonary fibrosis, myelofibrosis, liver cirrhosis, mesangial proliferative glomerulonephritis, crescentic glomerulonephritis, diabetic nephropathy, renal interstitial fibrosis, renal fibrosis in patients receiving cyclosporin, and HIV associated nephropathy.

[0210] Dermal fibrosing disorders include, e.g., scleroderma, morphea, keloids, hypertrophic scars, familial cutaneous collagenoma, and connective tissue nevi of the collagen type. Fibrotic conditions of the eye include conditions such as diabetic retinopathy, postsurgical scarring (for example, after glaucoma filtering surgery and after cross-eye surgery), and proliferative vitreoretinopathy.

[0211] Additional fibrotic conditions that may be treated by the methods of the present invention include: rheumatoid arthritis, diseases associated with prolonged joint pain and deteriorated joints, systemic sclerosis (including progressive systemic sclerosis), polymyositis, dermatomyositis, eosinophilic fasciitis, morphea (localized scleroderma), Raynaud's syndrome, and nasal polyposis.

[0212] An IL-21/IL-21R pathway antagonist can be administered to treat or prevent fibrotic disorders or to ameliorate one or more of the symptoms of these disorders.

Assays for Measuring the Activity of IL-21/IL-21R Antagonists as Modulators of Cytokine Production and Cell Proliferation/Differentiation

[0213] The activity of IL-21/IL-21R antagonists as modulator of cytokine production and cell proliferation/differentiation can be tested using any one of a number of routine factor-dependent cell proliferation assays for cell lines including, without limitation, 32D, DA2, DA1G, T10, B9, B9/11, BaF3, MC9/G, M+(preB M+), 2E8, RB5, DA1, 123, T1165, HT2, CTLL2, TF-1, Mo7e and CMK.

[0214] Assays for T-cell or thymocyte proliferation include without limitation those described in: *Current Protocols in Immunology*, Ed by J. E. Coligan, A. M. Kruisbeek, D. H. Margulies, E. M. Shevach, W Strober, Pub. Greene Publishing Associates and Wiley-Interscience (Chapter 3, *In vitro* assays for Mouse Lymphocyte Function 3.1-3.19; Chapter 7, Immunologic studies in Humans); Takai et al. (1986) *J. Immunol.* 137:3494-500; Bertagnolli et al. (1990) *J. Immunol.* 145:1706-12; Bertagnolli et al. (1991) *Cellular Immunology* 133:327-41; Bertagnolli et al. (1992) *J. Immunol.* 149:3778-83; Bowman et al. (1994) *J. Immunol.* 152:1756-61. Assays for cytokine production and/or proliferation of spleen cells, lymph node cells or thymocytes include, without limitation, those described in: Polyclonal T cell stimulation, Kruisbeek, A. M. and Shevach, E. M. In *Current Protocols in Immunology*. J. E.e.a. Coligan eds. Vol 1 pp. 3.12.1-3.12.14, John Wiley and Sons, Toronto. 1994; and Measurement of mouse and human Interferon gamma, Schreiber, R. D. In *Current Protocols in Immunology*. J. E.e.a. Coligan eds. Vol 1 pp. 6.8.1-6.8.8, John Wiley and Sons, Toronto. 1994.

[0215] Assays for proliferation and differentiation of hematopoietic and lymphopoietic cells include, without limitation, those described in: Measurement of Human and Murine Interleukin 2 and Interleukin 4, Bottomly, K., Davis, L. S. and Lipsky, P. E. In *Current Protocols in Immunology*. J. E.e.a. Coligan eds. Vol 1 pp. 6.3.1-6.3.12, John Wiley and Sons, Toronto. 1991; deVries et al. (1991) *J. Exp. Med.* 173:1205-11; Moreau et al. (1988) *Nature* 336:690-92; Greenberger et al. (1983) *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 80:2931-38; Measurement of mouse and human interleukin 6, Nordan, R. In *Current Protocols in Immunology*. J. E.e.a.

Coligan eds. Vol 1 pp. 6.6.1-6.6.5, John Wiley and Sons, Toronto. 1991; Smith et al. (1986) *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 83:1857-61; Measurement of human Interleukin 11, Bennett, F., Giannotti, J., Clark, S. C. and Turner, K. J. In *Current Protocols in Immunology*. J. E.e.a. Coligan eds. Vol 1 pp. 6.15.1 John Wiley and Sons, Toronto. 1991; Measurement of mouse and human Interleukin 9, Ciarletta, A., Giannotti, J., Clark, S. C. and Turner, K. J. In *Current Protocols in Immunology*. J. E.e.a. Coligan eds. Vol 1 pp. 6.13.1, John Wiley and Sons, Toronto. 1991.

[0216] Assays for T cell clone responses to antigens (which will identify, among others, proteins that affect APC-T cell interactions as well as direct T cell effects by measuring proliferation and cytokine production) include, without limitation, those described in: *Current Protocols in Immunology*, Ed by J. E. Coligan, A. M. Kruisbeek, D. H. Margulies, E. M. Shevach, W Strober, Pub. Greene Publishing Associates and Wiley-Interscience (Chapter 3, *In vitro* assays for Mouse Lymphocyte Function; Chapter 6, Cytokines and their cellular receptors; Chapter 7, Immunologic studies in Humans); Weinberger et al. (1980) *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 77:6091-95; Weinberger et al. (1981) *Eur. J. Immun.* 11:405-11; Takai et al. (1986) *J. Immunol.* 137:3494-500; Takai et al. (1988) *J. Immunol.* 140:508-12.

EXAMPLES

[0217] The invention will be further illustrated in the following nonlimiting examples.

Example 1: Isolation and Characterization of Murine MU-1 cDNAs

[0218] A partial fragment of the murine homolog of the MU-1 receptor was isolated by PCR using oligonucleotides derived from the human sequences. cDNA was prepared from RNA isolated from 17-day old murine thymus and from the murine 2D6 T cell line. A DNA fragment of approximately 300 nucleotides was amplified from the cDNA by PCR with the following oligonucleotides, corresponding to regions 584-603 and 876-896, respectively, of the human cDNA sequence in FIG. 1 (corresponding to SEQ ID NO:1):

AGCATCAAGCCGGCTCCCCC (5p)(SEQ ID NO:11)

CTCCATTCACTCCAGGTCCC (3p) (SEQ ID NO:12)

Amplification was carried out using Taq polymerase in 1X Taq buffer containing 1.5 mM of magnesium chloride for 30 cycles at 94°C for one minute, 50°C for 1 minute, and 72°C for one minute. The DNA sequence of this fragment was determined, and two oligonucleotides were derived from an internal portion of this fragment with the following sequences:

TTGAACGTGACTGRRGGCCTT (5P) (SEQ ID NO:13)

TGAATGAAGTGCCTGGCTGA (3P) (SEQ ID NO:14)

[0219] The oligonucleotides were used to amplify an internal 262-nucleotide fragment of the original PCR product (corresponding to nucleotides 781-1043 in of the murine cDNA sequence of FIG. 1, and SEQ ID NO:9) to use as a hybridization probe to screen a cDNA library isolated from the 2D6 T cell line. Filters were hybridized at 65°C using standard 5X SSC hybridization conditions and washed into SSC at 65°C. Twenty clones were isolated that hybridized to the probe in a screen of 426,000 clones. DNA sequence was determined from two independent clones. Full-length sequence of clone #6 confirmed that it was the full-length murine homolog of human MU-1 (SEQ ID NO:9).

[0220] The full-length nucleotide sequence of murine MU-1 is shown in FIG. 1 (corresponding to SEQ ID NO:9). The nucleotide sequence has a predicted leader sequence at nucleotides 407-464, coding sequence at nucleotides 407-1993, termination codon at nucleotides 1994-1996. Nucleotides 1-406 correspond to the 5' untranslated region, and nucleotides 1997-2628 correspond to the 3' untranslated region (SEQ ID NO:9).

[0221] The predicted protein sequence of murine MU-1 is shown in FIG. 2 (corresponding to SEQ ID NO: 10). This murine MU-1 protein contains a predicted leader sequence determined by SPScan (score= 10.1) (corresponding to amino acids 1-19 of SEQ ID NO: 10), and a predicted transmembrane domain (corresponding to amino acids 237-253 of SEQ ID NO:10). Predicted signaling motifs include the following regions in FIG. 2B: Box 1: amino acids 265-274 of SEQ ID NO: 10; Box 2: amino acids 310-324 of SEQ ID NO: 10, six tyrosine

residues at positions 281, 319, 361, 368, 397, and 510 of SEQ ID NO:10.

Potential STAT docking sites include: STAT5: EDDGYPA (SEQ ID NO:20);
STAT3: YLQR.

Example 2: Comparison of Human and Murine MU-1:

[0222] The GAP algorithm was used to compare the human and murine MU-1 amino acids. Human MU-1 was cloned using a 70-amino acid region of the human IL-5 receptor (SEQ ID NO:3) for searching a GenBank database, as well as primers for PCR (SEQ ID NOs:4 and 5), and hybridization oligonucleotides (SEQ ID NOs:6 and 7). A comparison of the murine and human predicted protein sequences is shown in FIG. 4. The amino acids were 65.267% identical using the GAP algorithm. The alignment was generated by BLOSUM62 amino acid substitution matrix (Henikoff and Henikoff (1992) *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 89: 10915-19). Gap parameters = Gap Weight: 8, Average Match = 2.912, Length Weight = 2, Average Mismatch = -2.003; Percent Similarity = 69.466.

[0223] A comparison of the human and murine cDNA nucleotide sequences is shown in FIG. 3. The DNA sequences are 66.116% identical when aligned using the GAP algorithm. Gap Parameters: Gap Weight = 50, Average Match 10.000, Length Weight = 3, Average Mismatch = 0.000, Percent Similarity = 66.198.

[0224] Both human and mouse MU-1 proteins are members of the Type 1 cytokine receptor superfamily. Evaluation of the sequence of both murine and human MU-1 reveals the presence of potential Box-1 and Box-2 signaling motifs. Six tyrosine residues are present in the cytoplasmic domain and could also be important in signaling functions of MU-1. Comparison of the sequences of MU-1 with other members of the family suggested the presence of potential docking sites for STAT 5 and STAT 3.

Example 3: Determination of STAT signaling pathways used by Human MU-1

[0225] BAF-3 cells were engineered to express a chimeric cytokine receptor consisting of the extracellular domain of the human EPO receptor and the intracellular domain of the MU-1 receptor. BAF-3 cells that expressed huEPORJMU-1(cyto) chimeric receptors proliferated in response to human

soluble EPO. These cells were analyzed to determine which STAT molecules were phosphorylated in response to EPO signaling. Briefly, control unmodified parental BAF-3 cells and EPOR/MU chimeric BAF-3 cells were rested from IL-3 containing growth medium, and restimulated with either IL-3 or EPO for 0, 15, 30 and 60 minutes. The cells were pelleted and resuspended in ice-cold lysis buffer containing orthovanadate to preserve phosphorylated tyrosines. Equal amounts of cell lysate were electrophoresed by SDS-PAGE and blotted onto nitrocellulose membranes for western analysis. Duplicate blots were stained for phosphorylated and nonphosphorylated forms of STAT 1, 3, 5, and 6 by using antibodies specific for each form of the STAT molecule. HELA cells, nonactivated and activated with alpha-interferon, were used as positive controls. [0226] These results indicated that under these specific conditions, signaling through MU-1 results in the phosphorylation of STAT 5 at all time points tested (T=0, T=15', T=30', T=60'). Treatment of controls or the chimeric BAF-3 cells with IL-3 resulted in phosphorylation of STAT 3, but not STAT 1 or 5.

Example 4: Tissue Expression of Murine and Human MU-1

Example 4.1: Northern Analysis

[0227] Northern blots of polyA+ RNA from various tissues (Clontech, Palo Alto, CA) were performed as recommended by the manufacturer. For the murine blots, a 262-nucleotide fragment corresponding to nucleotides 781-1043 of FIG. 1 and SEQ ID NO:9 was used for hybridization.

[0228] A single transcript of murine MU-1 was detected in adult murine spleen, lung, and heart tissues. The larger transcript observed in human tissues was not observed in mouse tissues.

[0229] Two transcripts of human MU-1 were detected in adult human lymphoid tissues, PBLs, thymus, spleen and lymph node, and in fetal lung.

Example 4.2: In Situ Hybridization

[0230] In situ hybridization studies were performed by Phylogency Inc. of Columbus, OH (according to the method of Lyons et al. (1990) *J. Cell. Biol.* 111:2427-36). Briefly, serial 5-7 micron paraffin sections were deparaffinized,

fixed, digested with proteinase K, treated with tri-ethanolamine and dehydrated. cRNAs were prepared from linearized cDNA templates to generate antisense and sense probes. The cRNA transcripts were synthesized according to manufacturer's conditions (Ambion) and labeled with ³⁵S-UTP. Sections were hybridized overnight, washed under stringent conditions, and treated with RNase A and dipped in nuclear track emulsion and exposed for 2-3 weeks. Control sections were hybridized with sense probes to indicate the background level of the procedure. The murine probe consisted of a 186-bp fragment corresponding to nucleotides 860-1064 (SEQ ID NO:9). The human probe was a 23-bp PCR product generated from human MU-1 DNA.

[0231] Murine MU-1 expression was observed in the lymph nodes of the adult small intestine at germinal centers. Specialized lymph nodes and Peyer's patches also exhibited murine MU-1 expression.

[0232] Human MU-1 expression was detected at germinal centers of the lymph nodules in the cortex. The medulla, which contains macrophages, was negative for human MU-1. In human spleen, human MU-1 expression was detected in the regions of white pulp but not red pulp.

Example 5: Expression of Human MU-1 in cells and cell lines:

[0233] RNase protection analysis was performed on resting and activated human T cells and the B cell lines, Raji and RPMI 8866, and the T cell line Jurkat.

Human T cells were activated with anti-CD3 and anti-CD28. The cell lines were activated by phorbol ester and ionomycin. MU-1 riboprobe-producing plasmid was constructed by inserting a 23-bp PCR product (PCR was performed by using 5' primer CACAAAGCTTCAGTATGAGCTGCAGTACAGGAACCGGGGA (SEQ ID NO:15) and 3' primer

CACAGGATCCCTTTAACTCCTCTGACTGGGTCTGAAAGAT (SEQ ID NO:16) into the BamHI and HindIII sites of pGEM3zf(-) (Promega, Madison, WI) vector). To make the riboprobe, the riboprobe-producing plasmid was linearized with HindIII. The resulting DNA was phenol/chloroform extracted and precipitated with ethanol. T7 RNA polymerase was used to make the riboprobe

according to the protocol suggested by the vendor (PharMingen, San Diego, CA).

The RNase protection assay was performed by using PharMingen's RIBOQUANT™ Multi-Probe Ribonuclease Protection Assay system. 2.0 µg of total RNA were included in each RPA reaction, after RNase digestion, the protected riboprobes were run on a QUICKPOINT™ rapid nucleic acid separation system (Novex, San Diego, CA). Gels were dried and exposed according to the suggestion of the vendor.

[0234] Human MU-1 RNA is upregulated in anti-CD3+ anti-CD28-stimulated human purified CD3+ cells when compared with unstimulated populations. MU-1 is also upregulated upon restimulation in Th1 and Th2-skewed T cell populations. The B cell lines, RPMI 8866 and Raji, constitutively express MU-1 while the Jurkat T cell line does not.

Example 6: Binding of Human MU-1 to Known Cytokines

[0235] Both human and murine Ig fusion proteins were constructed and immobilized on Biacore chips in an effort to identify the ligand for MU-1. A variety of cell culture conditioned media as well as a panel of known cytokines were evaluated for binding to MU-1. Some cytokines were also tested in combination with other receptor chains in the family to consider the possibility that MU-1 may require a second receptor chain for ligand binding. The following cytokines were tested and found to be negative for MU-1 binding: mIL-2, hIL-2, hIL-15, mIL-7, TSLP, TSLP + IL-7, TSLP + IL-7R, TSLP + IL-7g, TSLP + IL-2, TSLP + IL-2 + IL-2Rbeta, IL-2-Rbeta, IL-2Rgamma, IL-7R, IL-2 + IL-2Rbeta, IL-2 + IL-2Rgamma, IL-15 + IL-2Rbeta, IL-15 + IL-2Rgamma, IL-7 + IL-2Rgamma, IL-2 + IL-7R, IL-15 + IL-7R, IL-7 + IL-7R. Known receptors have been immobilized as well and tested for MUFc binding with negative results. IL-15 will bind to IL-2Rb but not IL-2Rg or MUFc.

Example 7: Inhibition of IL-21/IL-21R Activity Ameliorates the Severity of Symptoms in Collagen-Induced Arthritis (CIA) Mice

[0236] This example shows that IL-21R antagonists, e.g., IL-21R-Ig fusion proteins (murine IL-21RFc protein or "muIL-21RFc") or anti-IL-21R antibodies, ameliorate symptoms in a CIA murine model.

[0237] Male DBA/1 (Jackson Laboratories, Bar Harbor, ME) mice were used for all experiments. Arthritis was induced with the use of bovine collagen type II (Chondrex, Redmond, WA). Bovine collagen type II (Chondrex) was dissolved in 0.1 M acetic acid and emulsified in an equal volume of complete Freund's adjuvant (Sigma) containing 1 mg/ml *Mycobacterium tuberculosis* (strain H37RA). 100 µg of bovine collagen was injected subcutaneously in the base of the tail on day 0. On day 21, mice were injected subcutaneously, in the base of the tail, with a solution containing 100 µg of bovine collagen in 0.1 M acetic acid that had been mixed with an equal volume of incomplete Freund's adjuvant (Sigma). Naïve animals received the same sets of injections, minus collagen. The dosing protocol is shown schematically in FIG. 16. MuIL-21RFc was administered prophylactically or therapeutically to DBA mice. In the therapeutic regimen, treatment was initiated if disease was observed for two consecutive days in a mouse.

[0238] Mice were monitored at least three times a week for disease progression. Individual limbs were assigned a clinical score based on the index: 0 = normal, no swelling; 1 = visible erythema accompanied by 1-2 swollen digit, or mild swelling in ankle; 2 = pronounced erythema, characterized by mild to moderate paw swelling and/or two swollen digits; 3 = extensive swelling of the entire paw, i.e., extending into ankle or wrist joint; 4 = resolution of swelling, ankylosis of the paw; difficulty in use of limb or joint rigidity. Thus, the sum of all limb scores for any given mouse yielded a maximum total body score of 16.

[0239] At various stages of disease, animals were euthanized, tissues were harvested and paws were fixed in 10% formalin for histology or 4% paraformaldehyde, pH 7.47, decalcified in 20% EDTA (pH 8.0) and embedded in paraffin for *in situ* hybridization. Using light microscopy the paws were scored

on a 5-grade scoring method (0-4) to characterize the intensity and extent of arthritis. Inflammatory infiltrates were used for scoring in addition to other changes related to the inflammation, such as pannus formation, fibrosis of the synovial membrane, articular cartilage erosion and/or subchondral bone destruction. Histology grades were determined using readings of individual paws: NAD = 0 or nothing abnormal discovered; 1 = slight to moderate; 2 = mild to moderate; 3 = marked; and 4 = massive.

[0240] A reduction in the severity of the symptoms was observed after prophylactic treatment of CIA mice using mIL-21R_{FC} (100 µg or 200 µg) administered intraperitoneally (IP) every other day starting one day before the collagen boost (data not shown).

[0241] The effects of mIL-21R_{FC} (200 µg/mouse 3x/week) on a semi-therapeutic CIA mouse as a function of day post-treatment are shown in FIG. 17. Mouse Ig (200 µg/mouse 3x/week) was used as a control. A reduction in the severity score is shown starting from day 7 post-treatment.

[0242] These experiments demonstrate that administration of an IL-21R antagonist, e.g., IL-21R-Fc fusion proteins, to CIA mice either prophylactically or semi-therapeutically significantly ameliorated arthritic symptoms.

Example 8: *In situ* hybridization of IL-21R transcripts

[0243] The expression of IL-21R mRNA in arthritic paws of mice with CIA was determined. Anti-sense murine IL-21R riboprobes were used (FIG. 18A); sense probes were used as negative controls (FIG. 18B). Digoxigenin-labeled probes were prepared with the use of a DIG RNA labeling mix (Roche Diagnostics, Mannheim, Germany), as described by the manufacturer. Expression of IL-21 receptor mRNA was detected in macrophages, neutrophils, fibroblasts, a subpopulation of lymphocytes, synoviocytes and epidermis (FIG. 18A). Decreased staining was seen in the control paws or with sense probes (FIG. 18B). mIL-21R mRNA positive cells were: neutrophils (N), and macrophages (M). *In situ* hybridization shows enhanced expression of IL-21R in the paws of arthritic mice.

Example 9: Inhibition of IL-21/IL-21R Activity Ameliorates the Severity of IBD-like Symptoms in the HLA-B27 Rat Model

[0244] This example shows that IL-21R antagonists, e.g., IL-21R-Ig fusion proteins (murine IL-21RFc protein or "muIL-21RFc") or anti-IL-21R antibodies, ameliorate IBD-like symptoms in HLA-B27 rat model.

[0245] A murine IL-21 Receptor-Fc fusion polypeptide (MuIL-21RFc) was generated as described herein and was evaluated for its ability to alleviate inflammation of the bowel in the HLA-B27 rat model. The HLA-B27 rat model has been extensively used to evaluate IBD therapies because the bowel inflammation observed in the model shares several clinical, histological, and immunological features with IBD in humans (reviewed in, e.g., Elson et al. (1995) *Gastroenterology*, 109:1344-67; Blanchard et al. (2001) *European Cytokine Network* 12:111-18; Kim et al. (1999) *Arch. Pharm. Res.* 22:354-60). For example, the HLA-B27 rat overexpresses human major histocompatibility complex I allele B27 and B2-microglobulin gene products. Such gene products are associated with the development of chronic inflammatory diseases, such as IBD.

[0246] Rats utilized in the study had developed chronic inflammation of the gastrointestinal tract (GI) as evidenced by clinical signs of persistent diarrhea. Stools were assigned a clinical score (0-3) based on the index: 0 = normal with formed stool pellets; 1 = soft, with formed stool pellets; 2 = loose, no formation of stool pellets; and 3 = watery diarrhea (see FIG. 19). The rats were monitored for 18 days during which stools were evaluated for disease progression. A clinical score of 3 is indicative of persistent diarrhea (shown as IgG control). MuIL-21RFc was administered (6 mg/kg IP, 3X week) to five HLA-B27 transgenic rats/group for a period of 18 days. Another group was given 6 mg/ml mEnbrel (soluble TNF-receptor Fc fusion), a positive control. A third group, consisting of an equal number of mice, was administered IgG as a control in the same manner and dosage.

[0247] A marked reduction in the clinical score was detected in the groups treated with MuIL-21RFc and mEnbrel, compared to the IgG control (see FIGS. 19 and 20). Administration of MuIL-21RFc showed an efficacy similar to

mEnbrel in ameliorating IBD-like symptoms. Results from this study demonstrate that the administration of MuIL-21RFc decreases bowel inflammation with similar efficacy as mEnbrel in a HLA-B27 rat model relative to rats administered control IgG (see FIGS: 19 and 20).

[0248] The alleviation of symptoms expressed in terms of improved stool score was confirmed by histological analysis. Rats treated with MuIL-21RFc scored significantly lower disease severity than those treated with control, IgG, in regards to ulceration, inflammation, lesions depth, and fibrosis (see FIG. 21). The histological analysis was assigned a clinical score from 0-2 or 0-3, as indicated, where a higher score is indicative of increased severity in the rat IBD model. A significant decrease of inflammation in the bowel was detected in all categories examined in groups treated with MuIL-21RFc and mEnbrel relative to control. MuIL-21RFc showed a similar efficacy as mEnbrel in ameliorating the histological signs of disease severity. To support an extension of the results shown above to humans, FIG. 19 (right side panel) shows *in situ* hybridization of MU-1 mRNA in the lymphocytes and lymph nodes of the normal human intestine, indicating expression of MU-1 mRNA in the organ relevant to the disease.

Example 10: Inhibition of IL-21/IL-21R Activity Delays Allogeneic Skin Graft Rejection in Mice

[0249] This example shows that IL-21R antagonists, e.g., IL-21R-Ig fusion proteins (murine IL-21RFc protein or "muIL-21RFc") or anti-IL-21R antibodies, delays allogeneic skin graft rejection in mice, and thus prolongs graft survival.

[0250] Administration of MuIL-21RFc was shown to delay allogeneic skin graft rejection in mice injected with retrovirally transduced T cells. FIG. 22 depicts a graph showing the percentage of graft survival relative to days post-adoptive transfer. In this model, nude mice show healed allogeneic skin grafts because the mice have no detectable T cells. When activated B6 T cells that had been retrovirally engineered to secrete control GFP or IL-21 were injected into the nude mice, grafts were rejected (see FIG. 22). If the T cells were engineered to secrete MuIL-21RFc (which is expected to neutralize IL-21-made by these cells),

the grafts survived for longer time intervals as shown in FIG. 22 (indicated by the IL-21R-Fc compared to the GFP and IL-21 controls). Ten mice were used for the GFP and muIL-21R-Fc, respectively; fifteen mice were used for the IL-21 controls. These results demonstrate a role for IL-21R antagonists in prolonging graft survival.

Example 11: Inhibition of IL-21/IL-21R Activity Reduces Disease Symptoms in a CD45RB^{hi} Adoptive Transfer Model

[0251] This example shows that IL-21R antagonists, e.g., IL-21R-Ig fusion proteins (murine IL-21R-Fc protein or "muIL-21R-Fc") or anti-IL-21R antibodies, ameliorate symptoms in a mouse model of psoriasis and inflammatory bowel disease (IBD).

[0252] Transfer of CD45RB^{hi} CD4⁺ naive T cells into severe combined immunodeficient (SCID) mice results in colitis and/or skin lesions resembling psoriasis, depending upon cage housing conditions. BALBc CD45RB^{hi} CD4⁺ T cells (naive population) were sorted from spleen cells first by negative selection on columns for CD4⁺ T cells and then further sorted by flow cytometry, selecting for high CD45 expression. 4×10^5 cells of this population were transferred into female C.B-17 SCID mice, and the mice were scored for several weeks for clinical signs of psoriasis and IBD. Mice housed under static cage conditions develop inflammatory bowel disease; mice housed under regular conditions with air flow changes also develop psoriasis. Mice were scored for psoriasis on a scale from 1-6: 1 = mild, moderate erythema (usually eyelids and ears) <2% of body; 2 = mild scaling and moderate to severe erythema (usually ear and face) 2-10 % of body; 3 = severe erythema and scaling (ear face and trunk) 10-20% of body; 4 = very severe erythema throughout body 20-40% of body; 5 = very severe erythema throughout body, 40-60% of body; 6 = very severe erythema throughout body 60-100% of body. Mice were scored for IBD by weight loss and stool score: 0 = normal; 1 = soft; 2 = diarrhea; 3 = diarrhea containing blood and mucus.

[0253] Treatment using muIL-21R-Fc was effective in ameliorating psoriasis-like symptoms. In mice that developed skin inflammation, treatment by

intraperitoneal injection with 200 µg muIL-21RFc 3x per week beginning eight weeks after CD45RB^{hi} cell transfer resulted in reduced erythema, scaling and hair loss when compared to control mice treated with anti-*E. tenella* Ig (FIG. 23).

Treatment of CD45RB^{hi} recipient mice with 200 µg muIL-21RFc 3x per week at the time of cell transfer resulted in delayed onset of psoriasis and less severe clinical disease compared to controls over the course of the experiment (FIG. 35).

The results of the experiment are summarized in FIG. 36.

[0254] Treatment using muIL-21RFc was also effective in ameliorating inflammatory bowel symptoms. Treatment of CD45RB^{hi} recipient mice with 200 µg or 400 µg muIL-21RFc three times per week at the time of cell transfer resulted in a significant reduction of clinical signs of colitis as measured by body weight loss (FIG. 37) and stool score (FIG. 38) when compared with Ig control-treated mice. The results are summarized in FIG. 39. Macroscopic evaluation of colons from control-treated CD45RB^{hi} recipients showed severe thickening and swelling which was almost completely suppressed in mice treated with muIL-21RFc. Microscopically, control-treated mice also exhibited a greater degree of epithelial hyperplasia and leukocyte infiltration in the lamina propria/submucosa when compared with muIL-21RFc-treated mice.

Additionally, serum cytokines were measured from control-treated mice and muIL-21RFc-treated mice. Of several cytokines measured, only gamma interferon (IFN-γ) was detectable in the serum. Treatment with muIL-21RFc at 200 µg or 400 µg doses resulted in significantly reduced serum levels of IFN-γ when compared with Ig control-treated mice (FIG. 40). IFN-γ can be used as a biomarker for IL-21R antagonist efficacy in IBD.

[0255] CD45RB^{hi} (naïve) and CD45RB^{lo} (memory) subsets were tested by a proliferation assay for their response to IL-21. In the IBD transfer model, only the naïve cells cause disease, and disease can be suppressed by the addition of the memory population. In this assay, purified populations were stimulated with plate-bound anti-CD3 and tested for ³H-thymidine incorporation in response to IL-21. The naïve population showed a significantly increased response to IL-21

compared to the memory population (FIG. 41). This suggests that IL-21 is an important cytokine for the expansion of this population in vivo.

[0256] Addition of IL-21 to activated CD4⁺ CD45RB^{hi} cells in culture induced the secretion of multiple cytokines. Anti-CD3-stimulated CD45RB^{hi} CD4⁺ T cells were treated with 100 units/ml IL-2 or 1 ng/ml, 10 ng/ml or 100 ng/ml IL-21. In response to IL-21, CD45RB^{hi} cells secreted increased levels of IL-2, IL-4, IL-10, IL-17, IL-18, IL-22, IFN- γ and TNF α (FIG. 42). Blockade of endogenous IL-21 by addition of 50 μ g/ml or 100 μ g/ml muIL-21R α resulted in decreased levels of cytokines in these cultures compared to cultures treated with an Ig control (FIG. 43).

[0257] Taken together, these results indicate that IL-21 is a potent potential player in the inflammatory responses in this model and that IL-21R antagonists can be of therapeutic benefit in Th1-mediated diseases such as Crohn's and psoriasis.

Example 12: Mice Lacking IL-21R Show a Reduction in Antigen-induced Airway Inflammation

[0258] This example shows that transgenic knockout mice lacking the IL-21 receptor (IL-21R $-/-$) have a significantly reduced response to antigen-induced airway inflammation and airway hyperresponsiveness.

[0259] IL-21R $-/-$ and wild type (WT $+/+$) C57BL/6 mice (8-12 weeks old) were immunized by intraperitoneal injection of 20 μ g OVA emulsified in 2.25 mg alum (Alum Inject; Pierce) on days 0 and 14. On days 26, 27 and 28 the airways were challenged with an aerosol of 5% OVA in PBS for 30 min. Forty-eight hours after the last OVA challenge, animals were assessed for changes in lung resistance and dynamic compliance to aerosolized methacholine. OVA sensitization and challenge resulted in a significant increase in airway hyperresponsiveness after aerosolization of methacholine in WT $+/+$ mice when compared with OVA-sensitized PBS-challenged WT $+/+$ mice (FIG. 24). However, there was no difference of airway hyperresponsiveness in OVA-sensitized/OVA-challenged IL-21R $-/-$ mice to aerosolized methacholine over the

entire dose range compared to OVA-sensitized /OVA-challenged WT +/+ mice (FIG. 24).

[0260] Animals were then sacrificed and blood and bronchoalveolar lavage fluid (BALF) collected for analysis of pulmonary inflammation, cytokine levels and total and anti-OVA IgE titers. BALF was collected by bronchoalveolar lavage with 3x 0.7 ml of PBS. Total BALF cell numbers were increased approximately 36 fold after OVA challenge in WT +/+ mice, compared with PBS-challenged controls in contrast to a 3-fold increase over PBS-challenged controls in IL-21R -/- animals (FIG. 25A). Furthermore, total cell numbers within the BALF of OVA-sensitized/OVA-challenged IL-21R -/- mice were significantly lower than those observed in OVA-sensitized/OVA-challenged WT +/+ animals. There was no difference in BALF total cell numbers in OVA-sensitized/PBS-challenged IL-21R -/- and WT +/+ mice (FIG. 25A). OVA challenge resulted in a significant increase in BALF eosinophils in both WT +/+ and IL-21R -/- mice, compared to identically sensitized but PBS-challenged controls. Absolute numbers of BALF eosinophils were significantly attenuated in IL-21 -/- animals compared to those observed in OVA-sensitized/OVA-challenged WT +/+ animals (FIG. 25B). Deletion of IL-21R also significantly attenuated the increases in numbers of BALF lymphocytes (FIG. 25C) and neutrophils (FIG. 25D) after OVA challenge.

[0261] Levels of IL-5, IL-13 and TNF α within the BALF increased significantly in OVA-sensitized/challenged WT +/+ mice compared with PBS-challenged controls (FIGS. 26 and 27). In contrast, OVA-sensitization and challenge induced a very modest increase in the levels of these cytokines in the BALF of IL-21R -/- mice as compared with PBS-challenged controls and levels were significantly lower than those observed in OVA-sensitized/OVA-challenged WT animals (FIGS. 26 and 27). TNF α and IL-5 levels in BALF were quantified using a cytometric bead array kit (Mouse Th1/Th2 Cytokine CBA, BD Biosciences, San Diego, CA). IL-13 levels in BALF were quantified by ELISA.

[0262] As shown in FIGS. 28A-B, serum total IgE and anti-OVA IgE levels after OVA sensitization/OVA challenge in IL-21R -/- were much lower compared

with identically treated WT+/+ mice. However, there was no significant difference in the IL-21R -/- and WT +/+ mice when either total or OVA-specific IgE levels were compared after PBS challenge.

[0263] These results suggest that inhibition of IL-21-mediated responses can provide therapeutic value in the treatment of allergy and asthma.

Example 13: Inhibition of IL-21/IL-21R Activity Ameliorates the Severity of Symptoms in a MRL-*Fas*^{lpr} Lupus Model

[0264] This example shows that IL-21R antagonists, e.g., IL-21R-Ig fusion proteins (murine IL-21RFc protein or "muIL-21RFc") or anti-IL-21R antibodies, ameliorate systemic lupus erythematosus (SLE)-like symptoms in an MRL-*Fas*^{lpr} mouse model.

[0265] Male MRL-*Fas*^{lpr} mice were used for all experiments. These mice present multiple symptoms similar to human SLE, including DNA autoantibodies, destruction of multiple tissues, and immune complex glomerulonephritis. 400 µg MuIL-21RFc or an isotype control was injected intraperitoneally three times per week beginning at 10 weeks of age, and the mice were analyzed weekly for disease progression. At 15 weeks, mice were sacrificed for further analysis. Each treatment group contained 10 mice.

[0266] MuIL-21RFc treatment significantly reduced the levels of circulating anti-dsDNA autoantibodies (FIG. 29) and serum total IgG (FIG. 30) in MRL-*Fas*^{lpr} mice, as measured by ELISA. Briefly, for measurement of anti-dsDNA autoantibodies, dsDNA was coated on a titer plate, serum antibodies were added, and antibodies were detected using an anti-mouse secondary antibody. For measurement of total IgG, serum was adhered to a titer plate, followed by detection using an anti-mouse secondary antibody.

[0267] Treatment with MuIL-21RFc also reduced the accumulation of IgG deposits in MRL-*Fas*^{lpr} mouse kidney. At 15 weeks, mice were sacrificed and frozen kidney sections (5 µm) were stained with goat anti-mouse IgG-FITC. Fluorescence intensity was scored on a scale of 0 to 3. FIG. 31 shows the total fluorescence intensity measured in kidney sections from treated and control mice.

[0268] These results show that therapeutic treatment with an IL-21R antagonist can alleviate lupus-like symptoms.

Example 14: Animal Model of Lupus and GVHD: Lack of Autoantibody Formation and IgG Deposition in the Kidneys of IL-21R Deficient Mice Engrafted with B6 bm12 Spleen Cells

[0269] Experiments were conducted to investigate the response of IL-21R knockout (KO) mice in the chronic graft-versus-host-disease (GVHD) model of systemic lupus erythematosus (SLE) (Chen et al. (1998) *J. Immunol.* 161:5880-85). This model comprises representative aspects of both SLE and GVHD.

[0270] The animals used were: B6.C-H2<bm12>/KhEG (bm12), Jackson Labs (spleen cells); IL-21R-2 KO mice, Charles River Labs (CRL); C57/B6 wild type (WT) mice, Charles River Labs; and C57/B6 wild type mice, Taconic (TAC) (Germantown, NY).

[0271] Appropriate donor mice were sacrificed on the day of disease induction via CO₂ exposure. Spleens were harvested and minced. Red blood cells were lysed using 0.16M NH₄Cl : 0.17M TrisCl (9:1) at 1ml lysis solution per spleen, for a total of 5 minutes with occasional mixing. Cell suspensions were counted using trypan blue and adjusted to a final concentration of 2x10⁸ cells/ml using sterile phosphate buffered saline. 0.5 ml of the appropriate cell suspension was then injected intraperitoneally into the appropriate recipient mouse (as indicated in Table 2, below). The recipient mice were then monitored weekly for urine protein and weight gain/loss. Every two weeks, each mouse was bled via retro-orbital sinus, and the sera were stored for further analysis. ELISA assays were performed on all sera collected at each of the time points (as described in Zouali and Stollar (1986) *J. Immunol. Methods* 90:105-10) for the detection of autoantibodies against double-stranded DNA.

[0272] At 12 weeks post-disease induction, half of the animals from each group were euthanized, and the spleen and both kidneys were collected. The left kidney was preserved (intact) in 10% nonbuffered formalin and stained with H&E. Scoring for staining was performed according to the method of Chen et al., *supra*. Score parameters included: perivascular lymphocytic infiltration, interstitial

lymphocytic infiltration, hypercellularity and basement membrane thickening. The right kidney was cut longitudinally and each half was embedded cut side down in a tissue block cassette. The right kidney was then analyzed using immunohistochemical techniques for the presence of immune deposits, specifically IgG, IgM and C3.

Table 2

	Group	Donor	Recipient	n
1	IL-21R KO	bm12	CRL IL-21R KO	8
2	CRL-GVHD (C-GVHD)	bm12	CRL B6	10
3	TAC-GVHD (T-GVHD)	bm12	TAC B6	10
4	CRL-Control (C-Control)	CRL B6	CRL B6	5
5	TAC-Control (T-Control)	TAC B6	TAC B6	5

[0273] The results from these experiments are shown in FIG. 44. No anti-dsDNA autoantibodies were detected in any of the IL-21R knockout mice at any time point (FIG. 44A). In addition, FIG. 44B shows that at twenty weeks post disease induction, IgG deposition is not observed in the kidneys of IL-21R-deficient mice when compared with GVHD mice. Thus, mice deficient for IL-21R do not generate autoantibodies in the GVHD-SLE model, nor do they form IgG deposits in kidneys. Accordingly, treatment of individuals with IL-21/IL-21R antagonists may provide an effective therapy for both SLE and GVHD.

[0274] The contents of all references, pending patent applications (inclusive of 60/599,086, filed August 5, 2004 and 60/639,176, filed December 23, 2004), published patent applications (inclusive of 2003/0108549, filed October 4, 2002), and published patents cited throughout this application are hereby incorporated by reference.

Equivalents

[0275] Those skilled in the art will recognize, or be able to ascertain using no more than routine experimentation, many equivalents of the specific embodiments of the invention described herein. Such equivalents are intended to be encompassed by the following claims.

WHAT IS CLAIMED IS:

1. A method of treating, ameliorating, or preventing an autoimmune or inflammatory disorder in a mammalian subject, comprising administering to the subject an IL-21/IL-21R antagonist selected from the group consisting of an anti-IL-21R antibody, an anti-IL-21 antibody, an antigen-binding fragment of an anti-IL-21R antibody, an antigen-binding fragment of an anti-IL-21 antibody, and an IL-21R soluble fragment, in an amount sufficient to treat, ameliorate, or prevent the disorder.
2. A method of treating, ameliorating, or preventing a disorder selected from the group consisting of an arthritic disorder, an atopic disorder, a respiratory disorder, a skin inflammatory disorder, an intestinal inflammatory disorder, a fibrotic disorder, systemic lupus erythematosus, transplant/graft rejection, and a disorder associated with transplant/graft rejection, in a mammalian subject, comprising administering to the subject an IL-21/IL-21R antagonist selected from the group consisting of an anti-IL-21R antibody, an anti-IL-21 antibody, an antigen-binding fragment of an anti-IL-21R antibody, an antigen-binding fragment of an anti-IL-21 antibody, and an IL-21R soluble fragment, in an amount sufficient to treat, ameliorate, or prevent the disorder.
3. The method of claim 2, wherein the anti-IL-21R antibody is capable of binding to an IL-21R comprised of an amino acid sequence at least 90% identical to the sequence set forth in SEQ ID NO:2, and wherein the IL-21R is capable of binding IL-21.
4. The method of claim 3, wherein the arthritic disorder is selected from the group consisting of rheumatoid arthritis, juvenile rheumatoid arthritis, osteoarthritis, psoriatic arthritis, and ankylosing spondylitis.

5. The method of claim 4, wherein the arthritic disorder is rheumatoid arthritis.
6. The method of claim 3, wherein the respiratory disorder is asthma or chronic obstructive pulmonary disease.
7. The method of claim 3, wherein the fibrotic disorder is selected from the group consisting of fibrosis of an internal organ, a dermal fibrosing disorder, a fibrotic condition of the eye, systemic sclerosis, polymyositis, dermatomyositis, eosinophilic fasciitis, Raynaud's syndrome, glomerulonephritis and nasal polyposis.
8. The method of claim 3, wherein the intestinal inflammatory disorder is selected from the group consisting of inflammatory bowel disease, ulcerative colitis, and Crohn's disease.
9. The method of claim 3, wherein the skin inflammatory disorder is psoriasis.
10. The method of claim 3, wherein the atopic disorder is selected from the group consisting of allergic asthma, atopic dermatitis, urticaria, eczema, allergic rhinitis, and allergic enterogastritis.
11. The method of claim 10, wherein the atopic disorder is allergic asthma.
12. The method of claim 3, wherein the disorder associated with transplant/graft rejection is graft versus host disease.
13. The method of claim 3, wherein the disorder is transplant/graft rejection.
14. The method of claim 3, wherein the disorder is systemic lupus erythematosus.

15. The method of claim 2, wherein the mammalian subject is a human.
16. The method of claim 2, wherein the IL-21R soluble fragment is comprised of an IL-21R extracellular domain and an Fc immunoglobulin fragment.
17. The method of claim 16, wherein the IL-21R extracellular domain comprises about amino acids 1-235 of SEQ ID NO:2.
18. The method of claim 2, wherein the IL-21R soluble fragment is comprised of an amino acid sequence at least 90% identical to the sequence set forth in SEQ ID NO:29.
19. The method of claim 2, wherein the IL-21/IL-21R antagonist is an anti-IL-21R antibody, or an antigen-binding fragment thereof.
20. The method of claim 2, wherein the IL-21/IL-21R antagonist is an anti-IL-21 antibody, or an antigen-binding fragment thereof.
21. A fusion protein comprised of an extracellular domain of an IL-21R and an Fc immunoglobulin fragment, wherein the IL-21R has an amino acid sequence at least 90% identical to the sequence set forth in SEQ ID NO:2, and wherein the fusion protein is capable of binding IL-21.
22. The fusion protein of claim 21, comprised of an amino acid sequence at least 90% identical to the sequence set forth in SEQ ID NO:29.
23. A vector having a nucleotide sequence encoding the fusion protein of claim 21.
24. A recombinant host cell comprising the vector of claim 23.

25. A method of producing a fusion protein comprising:
- (a) culturing the recombinant host cell of claim 24 under conditions such that the fusion protein is expressed; and
 - (b) recovering the fusion protein.
26. A pharmaceutical composition comprising an IL-21/IL-21R antagonist and a pharmaceutically acceptable carrier.
27. The pharmaceutical composition of claim 26, wherein the IL-21/IL-21R antagonist is selected from the group consisting of an anti-IL-21R antibody, an anti-IL-21 antibody, an antigen-binding fragment of an anti-IL-21R antibody, an antigen-binding fragment of an anti-IL-21 antibody, and an IL-21R soluble fragment.
28. The pharmaceutical composition of claim 27, wherein the IL-21R soluble fragment is comprised of an extracellular domain of an IL-21R and an Fc immunoglobulin fragment.
29. A method of transplanting/grafting an organ, tissue, cell or group of cells to a mammalian subject comprising the steps of:
- (a) administering to the subject an antagonist of IL-21/IL-21R selected from the group consisting of an anti-IL-21R antibody, an anti-IL-21 antibody, an antigen-binding fragment of an anti-IL-21R antibody, an antigen-binding fragment of an anti-IL-21 antibody, and an IL-21R soluble fragment, in an amount sufficient to reduce the risk of transplant/graft rejection; and
 - (b) transplanting/grafting an organ, tissue, cell or group of cells to the subject,
- wherein the transplanting/grafting step (b) occurs either before, during, or after the administering step (a).

30. The method of claim 29, wherein the organ, tissue, cell or group of cells transplanted/grafted is selected from the group consisting of heart, kidney, liver, lung, pancreas, bone marrow, cartilage, cornea, neuronal tissue, and cells thereof.

31. A method of treating, preventing or ameliorating transplant/graft rejection in a mammalian transplant/graft recipient comprising:

- (a) detecting a symptom of transplant/graft rejection in a transplant/graft recipient; and
- (b) administering to the transplant/graft recipient an IL-21/IL-21R antagonist selected from the group consisting of an anti-IL-21R antibody, an anti-IL-21 antibody, an antigen-binding fragment of an anti-IL-21R antibody, an antigen-binding fragment of an anti-IL-21 antibody, and an IL-21R soluble fragment.

32. The method of claim 31, wherein the symptom of transplant/graft rejection is selected from the group consisting of inflammation, decreased organ function, signs of rejection in biopsy, and fibrosis.

ABSTRACT

Methods and compositions for inhibiting interleukin-21 (IL-21)/IL-21 receptor (MU-1) activity using antagonists of IL-21 or IL-21 receptor ("IL-21R" or "MU-1"), are disclosed. IL-21/IL-21R antagonists can be used to induce immune suppression *in vivo*, e.g., for treating, ameliorating or preventing autoimmune or inflammatory disorders, including, e.g., inflammatory bowel disease (IBD), rheumatoid arthritis (RA), transplant/graft rejection, psoriasis, asthma, fibrosis, and systemic lupus erythematosus (SLE).

NY_MAIN 515118_1.DOC

SEQUENCE LISTING

001-01

<110> Wyeth

<120> Antagonizing Interleukin-21 Receptor Activity

<130> 01997.043400

<150> US 60/599,086

<151> 2004-08-05

<150> US 60/639,176

<151> 2004-12-23

<160> 39

<170> PatentIn version 3.1

<210> 1

<211> 2665

<212> DNA

<213> Human

<400> 1

```

gtcgactgga ggcccagctg ccggtcatca gaggacaggg tcttatgaca gcctgattgg      60
tgactcgggc tgggtgtgga ttctacccc aggcctctgc ctgctttctc agaccctcat      120
ctgtcacccc cagctgaac ccagctgcca ccccagaag cccatcagac tgccccagc      180
acacgggaatg gattttetgag aaagaagccg aaacagaagg cccgtgggag tcagcatgcc      240
gcgtggctgg gccgccccct tgctcctgtc gctgtccag ggaggctggg gctgccccga      300
cctcgtctgc tacaccgatt acctccagac ggtcatctgc atcctggaaa tgtggaacct      360
ccaccccagc acgtcaccc ttacctggca agaccagtat gaagagctga aggacgaggg      420
cacctcctgc agctccaca ggtcggccca caatgccacg catgccacct acacctgcca      480
catggatgta ttccacttca tggccgacga cattttcagt gtcaacatca cagaccagtc      540
tggcaactac tcccaggagt gtggcagctt tctcctggct gagagatca agccggctcc      600
ccctttcaac gtgactgtga ccttctcagg acagtataat atctcctggc gctcagatta      660
cgaagacct gccttctaca tgctgaaggg caagcttcag tatgagctgc agtacaggaa      720
ccggggagac ccctgggctg tgagtccgag gagaaagctg atctcagtgg actcaagaag      780
tgtctccctc ctccccctgg agttccgcaa agactcgagc tatgagctgc aggtgcgggc      840
agggcccatg cctggctcct cctaccaggg gacctggagt gaatggagtg acccggtcat      900
ctttcagacc cagtcagagg agttaaagga aggctggaac cctcacctgc tgcttctcct      960
cctgcttgtc atagtcttca ttctgcctt ctggagcctg aagacccatc cattgtggag      1020
gctatggaaq aagatatggg ccgtccccag ccctgagcgg ttcttcatgc ccctgtacaa      1080
gggctgcagc ggagacttca agaaatgggt ggggtcaccc ttactggct ccagcctgga      1140

```

gctgggaccc tggagcccag aggtgccctc caccctggag gtgtacagct gccacccacc 1200
 acggagcccc gccaagaggc tgcagctcac ggagctacaa gaaccagcag agctggtgga 1260
 gtctgacggg gtgcccgaag ccagcttctg gccgacagcc cagaactcgg ggggctcagc 1320
 ttacagtggg gagagggatc ggccatacgg cctgggtgtc attgacacag tgactgtgct 1380
 agatgcagag gggccatgca cctggccctg cagctgtgag gatgacggct acccagccct 1440
 ggacctggat gctggcctgg agcccagccc aggcctagag gacctactct tggatgcagg 1500
 gaccacagtc ctgtcctgtg gctgtgtctc agctggcagc cctgggctag gaggggccct 1560
 ggggaagcctc ctggacagac taaagccacc ccttgacagat ggggaggact gggctggggg 1620
 actgccctgg ggtggccggg cacttgaggg ggtctcagag agtgaggcgg gctcacccct 1680
 ggcgggcctg gatatggaca cgtttgacag tggctttgtg ggctctgact gcagcagccc 1740
 tgtggagtgt gaattcacca gcccggggga cgaaggaccc ccccgagct acctccgcca 1800
 gtgggtggtc attcctccgc cactttcagc ccctggaccc caggccagct aatgaggctg 1860
 actggatgtc cagagctggc caggccactg ggccctgagc cagagacaag gtcacctggg 1920
 ctgtgatgtg aagacacctg cagccttttg tctcctggat gggcctttga gcctgatgtt 1980
 tacagtgtct gtgtgtgtgt gtgcataatgt gtgtgtgtgc atatgcatgt gtgtgtgtgt 2040
 gtgtgtctta ggtgcgcagt ggcatgtcca cgtgtgtgtg tgattgcacg tgootgtggg 2100
 cctgggataa tgccatggg actccatgca ttcacctgcc ctgtgcatgt ctggactcac 2160
 ggagctcacc catgtgcaca agtgtgcaca gtaaacgtgt ttgtggtcaa cagatgacaa 2220
 cagccgtcct cctcctagg gtcttgtgtt gcaagtggg ccacagcctc tccggggctt 2280
 tgtgggatca gggcattgcc tgtgactgag gcggagccca gccctccagc gtctgcctcc 2340
 aggagctgca agaagtccat attgttcctt atcacctgcc aacaggaagc gaaaggggat 2400
 ggagtgagcc catggtgacc tcgggaatgg caattttttg ggcggccctt ggacgaagg 2460
 ctgaatcccg actctgatac cttctggctg tgctacctga gccaaagtcg cccccctctc 2520
 tgggctagag ttctcttctc cagacagtgg ggaaggcatg acacacctgg gggaaattgg 2580
 cgatgtcacc cgtgtacggg acgcagccca ggcagaccc tcaataaacg tcagcttctc 2640
 tcaaaaaaaa aaaaaaaat ctaga 2665

<210> 2
 <211> 538
 <212> PRT
 <213> Human

<400> 2

Met Pro Arg Gly Trp Ala Ala Pro Leu Leu Leu Leu Leu Leu Gln Gly
1 5 10 15

Gly Trp Gly Cys Pro Asp Leu Val Cys Tyr Thr Asp Tyr Leu Gln Thr
20 25 30

Val Ile Cys Ile Leu Glu Met Trp Asn Leu His Pro Ser Thr Leu Thr
35 40 45

Leu Thr Trp Gln Asp Gln Tyr Glu Glu Leu Lys Asp Glu Ala Thr Ser
50 55 60

Cys Ser Leu His Arg Ser Ala His Asn Ala Thr His Ala Thr Tyr Thr
65 70 75 80

Cys His Met Asp Val Phe His Phe Met Ala Asp Asp Ile Phe Ser Val
85 90 95

Asn Ile Thr Asp Gln Ser Gly Asn Tyr Ser Gln Glu Cys Gly Ser Phe
100 105 110

Leu Leu Ala Glu Ser Ile Lys Pro Ala Pro Pro Phe Asn Val Thr Val
115 120 125

Thr Phe Ser Gly Gln Tyr Asn Ile Ser Trp Arg Ser Asp Tyr Glu Asp
130 135 140

Pro Ala Phe Tyr Met Leu Lys Gly Lys Leu Gln Tyr Glu Leu Gln Tyr
145 150 155 160

Arg Asn Arg Gly Asp Pro Trp Ala Val Ser Pro Arg Arg Lys Leu Ile
165 170 175

Ser Val Asp Ser Arg Ser Val Ser Leu Leu Pro Leu Glu Phe Arg Lys
180 185 190

Asp Ser Ser Tyr Glu Leu Gln Val Arg Ala Gly Pro Met Pro Gly Ser
195 200 205

Ser Tyr Gln Gly Thr Trp Ser Glu Trp Ser Asp Pro Val Ile Phe Gln
210 215 220

Thr Gln Ser Glu Glu Leu Lys Glu Gly Trp Asn Pro His Leu Leu Leu
225 230 235 240

Leu Leu Leu Leu Val Ile Val Phe Ile Pro Ala Phe Trp Ser Leu Lys
245 250 255

Thr His Pro Leu Trp Arg Leu Trp Lys Lys Ile Trp Ala Val Pro Ser
260 265 270

Pro Glu Arg Phe Phe Met Pro Leu Tyr Lys Gly Cys Ser Gly Asp Phe
275 280 285

Lys Lys Trp Val Gly Ala Pro Phe Thr Gly Ser Ser Leu Glu Leu Gly
290 295 300

Pro Trp Ser Pro Glu Val Pro Ser Thr Leu Glu Val Tyr Ser Cys His
305 310 315 320

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

325 330 335
Pro Ala Glu Leu Val Glu Ser Asp Gly Val Pro Lys Pro Ser Phe Trp
340 345 350
Pro Thr Ala Gln Asn Ser Gly Gly Ser Ala Tyr Ser Glu Glu Arg Asp
355 360 365
Arg Pro Tyr Gly Leu Val Ser Ile Asp Thr Val Thr Val Leu Asp Ala
370 375 380
Glu Gly Pro Cys Thr Trp Pro Cys Ser Cys Glu Asp Asp Gly Tyr Pro
385 390 395 400
Ala Leu Asp Leu Asp Ala Gly Leu Glu Pro Ser Pro Gly Leu Glu Asp
405 410 415
Pro Leu Leu Asp Ala Gly Thr Thr Val Leu Ser Cys Gly Cys Val Ser
420 425 430
Ala Gly Ser Pro Gly Leu Gly Gly Pro Leu Gly Ser Leu Leu Asp Arg
435 440 445
Leu Lys Pro Pro Leu Ala Asp Gly Glu Asp Trp Ala Gly Gly Leu Pro
450 455 460
Trp Gly Gly Arg Ser Pro Gly Gly Val Ser Glu Ser Glu Ala Gly Ser
465 470 475 480
Pro Leu Ala Gly Leu Asp Met Asp Thr Phe Asp Ser Gly Phe Val Gly
485 490 495
Ser Asp Cys Ser Ser Pro Val Glu Cys Asp Phe Thr Ser Pro Gly Asp
500 505 510
Glu Gly Pro Pro Arg Ser Tyr Leu Arg Gln Trp Val Val Ile Pro Pro
515 520 525
Pro Leu Ser Ser Pro Gly Pro Gln Ala Ser
530 535

<210> 3
<211> 70
<212> PRT
<213> Human

<400> 3

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

Phe Ile Leu Leu Ile Leu
65 70

nn1n5

<210> 4
<211> 25
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: PCR Primer

<400> 4
gagtcgagg agaaagctga tctca 25

<210> 5
<211> 24
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: PCR Primer

<400> 5
gaaagatgac cgggtcactc catt 24

<210> 6
<211> 29
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Labelled Hybridization
Oligonucleotide

<400> 6
actcgagcta tgagctgcag gtgcgggca 29

<210> 7
<211> 29
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: MW14-1b (MU-1) Labelled
Hybridization Oligonucleotide

<400> 7
actcgagcta tgagctgcag gtgcgggca 29

<210> 8
<211> 5
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Motif Characteristic of the

Hematopoietin Receptor Family

nn408

106

<220>

<221> MISC FEATURE

<222> (3)..(3)

<223> Wherein Xaa is any amino acid.

<400> 8

Trp Ser Xaa Trp Ser

1

5

<210> 9

<211> 2628

<212> DNA

<213> Mouse

<400> 9

```
gtcgcacgcgg cggtagcagg tgtctgccca cttctcctgt ggtgtgcctc acggtcactt      60
gcttgtctga ccgcaagtct gcccatccct ggggcagcca actggcctca gcccgtagcc      120
caggcgtagc ctgtctctgt ctggctgcc cagccctact gtcttctct gtgtaggctc      180
tgcccagatg cccggctggt cctcagcctc aggactatct cagcagtgc tcccctgatt      240
ctggacttgc acctgactga actcctgccc acctcaaacc ttcacctccc accaccacca      300
ctccgagtcc cgctgtgact cccacgcccc ggagaccacc caagtgcctc agcctaaaga      360
atggccttct gagaaagacc ctgaaggagt aggtctggga cacagcatgc cccggggccc      420
actggctgcc ttactcctgc tgattotcca tggagcttgg agctgcctgg acctcacttg      480
ctacactgac tacctctgga ccacacctg tgcctggag acacggagcc ccaaccccag      540
catactcagt ctcacctggc aagatgaata tgaggaaact caggaccaag agaccttctg      600
cagcctacac aggtctggcc acaacaccac acatatatgg tacacgtgcc atatgcgctt      660
gtctcaattc ctgtccgatg aagttttcat tgtcaatgtg acggaccagt ctggcaacaa      720
ctcccaagag tgtggcagct ttgtcctggc tgagagcatc aaaccagctc cccccttgaa      780
cgtgactgtg gccttctcag gacgctatga tatctcctgg gactcagctt atgacgaacc      840
ctccaactac gtgctgaggg gcaagctaca atatgagctg cagtatcgga acctcagaga      900
cccctatgct gtgaggccgg tgaccaagct gatctcagt gactcaagaa acgtctctct      960
tctccctgaa gagttccaca aagattctag ctaccagctg cagggtgcggg cagcgcctca     1020
gccaggcact tcattcaggg ggacctggag tgagtggagt gaccccgta tctttcagac     1080
ccaggctggg gagcccgagg caggctggga cctcacatg ctgctgctcc tggctgtctt     1140
gatcattgtc ctggttttca tgggtctgaa gatccacctg ccttggaggc tatggaaaaa     1200
gatatgggca ccagtgccta cccctgagag tttcttccag cccctgtaca gggagcacag     1260
```

cgggaacttc aagaatggg ttaatacccc ttccacggcc tccagcatag agttggtgcc 1320
 acagagttcc acaacaacat cagccttaca tctgtcattg tatccagcca aggagaagaa 1380
 gttcccgggg ctgcggggtc tggaaagagca actggagtgat gatggaatgt ctgagcctgg 1440
 tcactggtgc ataatccoot tggcagctgg ccaagcggtc tcagcctaca gtgaggagag 1500
 agaccggcca tatggtctgg tgtccattga cacagtgaact gtgggagatg cagagggcct 1560
 gtgtgtctgg cctgttagct gtgaggatga tggctatcca gccatgaacc tggatgctgg 1620
 ccgagagtct ggccctaatt cagaggatct gctcttggtc acagaccctg cttttctgtc 1680
 ttgcggctgt gtctcaggta gtggtctcag gcttggaggc tcccaggca gcctactgga 1740
 caggttgagg ctgtcatttg caaagggaagg ggactggaca gcagacccaa cctggagaac 1800
 tgggtcccca ggagggggct ctgagagtga agcagggtcc cccctggtc tggacatgga 1860
 cacatttgac agtggctttg caggttcaga ctgtggcagc cccgtggaga ctgatgaagg 1920
 accccctcga agctatctcc gccagtgggt ggtcaggacc cctccacctg tggacagtgg 1980
 agcccagagc agctagcata taataaccag ctatagttag aagaggcctc tgagcctggc 2040
 atttacagtg tgaacatgta ggggtgtgtg tgtgtgtgtg tgtgtgtgtg tgtgtgtgtg 2100
 tgtgtgtgtg tgtgtgtgtg tgtcttgggt tgtgtgttag cacatccatg ttgggatttg 2160
 gtctgttget atgtattgta atgctaaatt ctctacccaa agttctaggc ctacgagtga 2220
 attctcatgt ttacaaactt gctgtgtaaa ccttgttccct taatttaata ccattgggta 2280
 aataaaattg gctgcaacca attactggag ggattagagg tagggggctt ttgagttacc 2340
 tgtttggaga tggagaagga gagaggagag accaagagga gaaggaggaa ggagaggaga 2400
 ggagaggaga ggagaggaga ggagaggaga ggagaggaga ggagaggaga ggctgccgtg 2460
 aggggagagg gaccatgagc ctgtggccag gagaancagc aagtatctgg ggtacactgg 2520
 tgaggagggtg gccaggccag cagttagaag agtagattag gggtgacctc cagtatttgt 2580
 caaagccaat taaaataaca aaaaaaaaaa aaaagcggcc gctctaga 2628

<210> 10
 <211> 529
 <212> PRT
 <213> Mouse

<400> 10

Met	Pro	Arg	Gly	Pro	Val	Ala	Ala	Leu	Leu	Leu	Leu	Ile	Leu	His	Gly
1				5				10						15	
Ala	Trp	Ser	Cys	Leu	Asp	Leu	Thr	Cys	Tyr	Thr	Asp	Tyr	Leu	Trp	Thr
			20					25					30		

Ile Thr Cys Val Leu Glu Thr Arg Ser Pro Asn Pro Ser Ile Leu Ser
35 40 45

Leu Thr Trp Gln Asp Glu Tyr Glu Glu Leu Gln Asp Gln Glu Thr Phe
50 55 60

Cys Ser Leu His Arg Ser Gly His Asn Thr Thr His Ile Trp Tyr Thr
65 70 75 80

Cys His Met Arg Leu Ser Gln Phe Leu Ser Asp Glu Val Phe Ile Val
85 90 95

Asn Val Thr Asp Gln Ser Gly Asn Asn Ser Gln Glu Cys Gly Ser Phe
100 105 110

Val Leu Ala Glu Ser Ile Lys Pro Ala Pro Pro Leu Asn Val Thr Val
115 120 125

Ala Phe Ser Gly Arg Tyr Asp Ile Ser Trp Asp Ser Ala Tyr Asp Glu
130 135 140

Pro Ser Asn Tyr Val Leu Arg Gly Lys Leu Gln Tyr Glu Leu Gln Tyr
145 150 155 160

Arg Asn Leu Arg Asp Pro Tyr Ala Val Arg Pro Val Thr Lys Leu Ile
165 170 175

Ser Val Asp Ser Arg Asn Val Ser Leu Leu Pro Glu Glu Phe His Lys
180 185 190

Asp Ser Ser Tyr Gln Leu Gln Val Arg Ala Ala Pro Gln Pro Gly Thr
195 200 205

Ser Phe Arg Gly Thr Trp Ser Glu Trp Ser Asp Pro Val Ile Phe Gln
210 215 220

Thr Gln Ala Gly Glu Pro Glu Ala Gly Trp Asp Pro His Met Leu Leu
225 230 235 240

Leu Leu Ala Val Leu Ile Ile Val Leu Val Phe Met Gly Leu Lys Ile
245 250 255

His Leu Pro Trp Arg Leu Trp Lys Lys Ile Trp Ala Pro Val Pro Thr
260 265 270

Pro Glu Ser Phe Phe Gln Pro Leu Tyr Arg Glu His Ser Gly Asn Phe
275 280 285

Lys Lys Trp Val Asn Thr Pro Phe Thr Ala Ser Ser Ile Glu Leu Val
290 295 300

Pro Gln Ser Ser Thr Thr Thr Ser Ala Leu His Leu Ser Leu Tyr Pro
305 310 315 320

Ala Lys Glu Lys Lys Phe Pro Gly Leu Pro Gly Leu Glu Glu Gln Leu
325 330 335

Glu Cys Asp Gly Met Ser Glu Pro Gly His Trp Cys Ile Ile Pro Leu
340 345 350

Ala Ala Gly Gln Ala Val Ser Ala Tyr Ser Glu Glu Arg Asp Arg Pro

nn1ag 109

355	360	365
Tyr Gly Leu Val Ser Ile Asp Thr Val Thr Val Gly Asp Ala Glu Gly		
370	375	380
Leu Cys Val Trp Pro Cys Ser Cys Glu Asp Asp Gly Tyr Pro Ala Met		
385	390	395 400
Asn Leu Asp Ala Gly Arg Glu Ser Gly Pro Asn Ser Glu Asp Leu Leu		
	405	410 415
Leu Val Thr Asp Pro Ala Phe Leu Ser Cys Gly Cys Val Ser Gly Ser		
	420	425 430
Gly Leu Arg Leu Gly Gly Ser Pro Gly Ser Leu Leu Asp Arg Leu Arg		
	435	440 445
Leu Ser Phe Ala Lys Glu Gly Asp Trp Thr Ala Asp Pro Thr Trp Arg		
	450	455 460
Thr Gly Ser Pro Gly Gly Gly Ser Glu Ser Glu Ala Gly Ser Pro Pro		
465	470	475 480
Gly Leu Asp Met Asp Thr Phe Asp Ser Gly Phe Ala Gly Ser Asp Cys		
	485	490 495
Gly Ser Pro Val Glu Thr Asp Glu Gly Pro Pro Arg Ser Tyr Leu Arg		
	500	505 510
Gln Trp Val Val Arg Thr Pro Pro Pro Val Asp Ser Gly Ala Gln Ser		
	515	520 525
Ser		

<210> 11
<211> 20
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: PCR Primer

<400> 11
agcatcaagc cggctccccc 20

<210> 12
<211> 20
<212> DNA
<213> Artificial Primer

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: PCR Primer

<400> 12
ctccattcac tccaggtccc 20

<210> 13

<211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: PCR Primer

<400> 13

ttgaacgtga ctgrggcctt

20

<210> 14

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: Murine MU-1 cDNA Internal Oligonucleotide

<400> 14

tgaatgaagt gcctggctga

20

<210> 15

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: 5' PCR Primer

<400> 15

cacaaagctt cagtatgagc tgcagtacag gaaccgggga

40

<210> 16

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: 3' PCR primer

<400> 16

cacaggatcc cttaactcc tctgactggg tctgaaagat

40

<210> 17

<211> 224

<212> PRT

<213> Unknown Organism

<220>

<221> Unknown Organism

<222> (1)..(224)

<223> Description of Unknown Organism: Second polypeptide comprising an Fc region

<400> 17

His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Leu Gly Ala Pro Ser
1 5 10 15

Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg
20 25 30

Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro
35 40 45

Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala
50 55 60

Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val
65 70 75 80

Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr
85 90 95

Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Val Pro Ile Glu Lys Thr
100 105 110

Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu
115 120 125

Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys
130 135 140

Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser
145 150 155 160

Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp
165 170 175

Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser
180 185 190

Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala
195 200 205

Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
210 215 220

<210> 18
<211> 617
<212> DNA
<213> Human

<400> 18
gctgaagtga aaacgagacc aaggtctagc tctactgttg gtacttatga gatccagtcc 60
tggcaacatg gagaggattg tcatctgtct gatggtcac ttcttgggga cactggtcca 120
caaatcaagc tcccaagggtc aagatcgcca catgattaga atgcgtcaac ttatagatat 180
tggtgatcag ctgaaaaatt atgtgaatga cttggtccct gaatttctgc cagctccaga 240
agatgtagag acaaaactgtg agtggtcagc tttttcctgc tttcagaagg cccaactaaa 300
gtcagcaaat acaggaacaa atgaaaggat aatcaatgta tcaattaaaa agctgaagag 360

gaaaccacct tccacaaatg cagggagaag acagaaacac agactaacat gcccttcacg 420
 tgattcttat gagaaaaaac caccacaaaga attcctagaa agattcaaat cacttctcca 480
 aaagatgatt catcagcatc tgtcctctag aacacacgga agtgaagatt cctgaggatc 540
 taacttgag ttggacacta tgttacatac tctaatatag tagtgaaagt catttctttg 600
 tattccaagt ggaggag 617

<210> 19
 <211> 162
 <212> PRT
 <213> Human

<400> 19

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

<210> 20
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Human

<400> 20

Glu Asp Asp Gly Tyr Pro Ala

1

5

<210> 21
<211> 16
<212> PRT
<213> Human

<400> 21

Met Pro Leu Leu Leu Leu Leu Leu Leu Leu Pro Ser Pro Leu His Pro
1 5 10 15

<210> 22
<211> 786
<212> DNA
<213> Human

<400> 22

atgaattct tagtcaacgt tgcccttggt tttatggctg tgtacatttc ttacatctat 60
gccggcagcg gacaccacca tcatcaccac ggtagcggcg actataaaga cgatgacgat 120
aaggggttcg gatgccccga cctcgtctgc tacaccgatt acctccagac ggtcatctgc 180
atcctggaaa tgtggaacct ccaccccagc acgctcacc ttacctggca agaccagtat 240
gaagagctga aggacgaggg cacctcctgc agcctccaca ggtcggccca caatgccacg 300
catgccacct acacctgcca catggatgta ttccacttca tggccgacga cattttcagt 360
gtcaacatca cagaccagtc tggcaactac tcccaggagt gtggcagctt totcctggct 420
gagagcatca agccggctcc ccctttcaac gtgactgtga ctttctcagg acagtataat 480
atctcctggc gctcagatta cgaagacct gccttctaca tgctgaagg caagcttcag 540
tatgagctgc agtacaggaa ccggggagac ccctgggctg tgagtccgag gagaagctg 600
atctcagtg agtcaagaag tgtctccctc ctcccctgg agttccgcaa agactcgagc 660
tatgagctgc aggtgcgggc agggcccatg cctggtcct cctaccaggg gacctggagt 720
gaatggagt acccggatcat ctttcagacc cagtcagagg agttaaagga aggtgggaa 780
taatga 786

<210> 23
<211> 260
<212> PRT
<213> Human

<400> 23

Met Lys Phe Leu Val Asn Val Ala Leu Val Phe Met Val Val Tyr Ile
1 5 10 15

Ser Tyr Ile Tyr Ala Gly Ser Gly His His His His His His Gly Ser
20 25 30

Gly Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys Gly Ser Gly Cys Pro Asp Leu
35 40 45.

Val Cys Tyr Thr Asp Tyr Leu Gln Thr Val Ile Cys Ile Leu Glu Met
50 55 60

Trp Asn Leu His Pro Ser Thr Leu Thr Leu Thr Trp Gln Asp Gln Tyr
65 70 75 80

Glu Glu Leu Lys Asp Glu Ala Thr Ser Cys Ser Leu His Arg Ser Ala
85 90 95

His Asn Ala Thr His Ala Thr Tyr Thr Cys His Met Asp Val Phe His
100 105 110

Phe Met Ala Asp Asp Ile Phe Ser Val Asn Ile Thr Asp Gln Ser Gly
115 120 125

Asn Tyr Ser Gln Glu Cys Gly Ser Phe Leu Leu Ala Glu Ser Ile Lys
130 135 140

Pro Ala Pro Pro Phe Asn Val Thr Val Thr Phe Ser Gly Gln Tyr Asn
145 150 155 160

Ile Ser Trp Arg Ser Asp Tyr Glu Asp Pro Ala Phe Tyr Met Leu Lys
165 170 175

Gly Lys Leu Gln Tyr Glu Leu Gln Tyr Arg Asn Arg Gly Asp Pro Trp
180 185 190

Ala Val Ser Pro Arg Arg Lys Leu Ile Ser Val Asp Ser Arg Ser Val
195 200 205

Ser Leu Leu Pro Leu Glu Phe Arg Lys Asp Ser Ser Tyr Glu Leu Gln
210 215 220

Val Arg Ala Gly Pro Met Pro Gly Ser Ser Tyr Gln Gly Thr Trp Ser
225 230 235 240

Glu Trp Ser Asp Pro Val Ile Phe Gln Thr Gln Ser Glu Glu Leu Lys
245 250 255

Glu Gly Trp Asn
260

<210> 24
<211> 1426
<212> DNA
<213> Human

<400> 24
gcggccgcac caccatgccg cgtgggtggg ccgccccctt gctcctgctg ctgctccagg 60
gaggctgggg ctgccccgac ctgctgtgct acaccgatta cctccagacg gtcattctgca 120
tcctggaaat gtggaacctc caccccagca cgctcaccct tacctggcaa gaccagtatg 180
aagagctgaa ggacgaggcc acctcctgca gcctccacag gtcggccac aatgccacgc 240

nn115

atgccaccta cacctgccac atggatgtat tccacttcat ggcgcgcgac attttcagtg 300
tcaacatcac agaccagtct ggcaactact cccaggagtg tggcagcttt ctcttggtg 360
agagcatcaa gccggctccc cctttcaacg tgactgtgac cttctcagga cagtataata 420
tctcttggtg ctccagattac gaagaccctg ccttctacat gctgaagggc aagcttcagt 480
atgagctgca gtacaggaac cggggagacc cctgggctgt gagtccgagg agaaagctga 540
tctcagtgga ctcaagaagt gtctccctcc tccccctgga gttccgcaaa gactcgagct 600
atgagctgca ggtgcgggca ggycccatgc ctggctcctc ctaccagggg acctggagtg 660
aatggagtga cccggtcacc tttcagaccc agtcagagga gttaaaggaa ggctggaacg 720
gctccgggtc tagagacaaa actcacacat gccaccgtg cccagcacct gaactcctgg 780
ggggaccgtc agtcttctc tccccccaa aacccaagga caccctcatg atctcccgga 840
cccctgaggt cacatgcgtg gtggtggacg tgagccacga agaccctgag gtcaagttca 900
actggtacgt ggacggcgtg gaggtgcata atgccaagac aaagccgcgg gaggagcagt 960
acaacagcac gtaccgtgtg gtcagcgtcc tcaccgtcct gcaccaggac tggctgaatg 1020
gcaaggagta caagtgaag gtctccaaca aagccctccc agtccccatc gagaaaacca 1080
tctccaaagc caaagggcag ccccgagaac cacaggtgta caccctgccc ccctcccggt 1140
aggagatgac caagaaccag gtcagcctga cctgccttgt caaaggcttc tatccagcg 1200
acatgcccgt ggagtgggag agcaatgggc agccggagaa caactacaag accacgcctc 1260
ccgtgctgga ctccgacggc tcttcttcc tctatagcaa gctcaccgtg gacaagagca 1320
ggtggcagca ggggaacgtc ttctcatgct ccgtgatgca tgaggctctg cacaaccact 1380
acacgcagaa gagcctctcc ctgtccccgg gtaaagtagt gaattc 1426

<210> 25
<211> 467
<212> PRT
<213> Human

<400> 25

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

nnv-48

65		70		75		80
Cys His Met Asp Val Phe His Phe Met Ala Asp Asp Ile Phe Ser Val						
	85			90		95
Asn Ile Thr Asp Gln Ser Gly Asn Tyr Ser Gln Glu Cys Gly Ser Phe						
	100			105		110
Leu Leu Ala Glu Ser Ile Lys Pro Ala Pro Pro Phe Asn Val Thr Val						
	115			120		125
Thr Phe Ser Gly Gln Tyr Asn Ile Ser Trp Arg Ser Asp Tyr Glu Asp						
	130			135		140
Pro Ala Phe Tyr Met Leu Lys Gly Lys Leu Gln Tyr Glu Leu Gln Tyr						
	145			150		155
Arg Asn Arg Gly Asp Pro Trp Ala Val Ser Pro Arg Arg Lys Leu Ile						
	165			170		175
Ser Val Asp Ser Arg Ser Val Ser Leu Leu Pro Leu Glu Phe Arg Lys						
	180			185		190
Asp Ser Ser Tyr Glu Leu Gln Val Arg Ala Gly Pro Met Pro Gly Ser						
	195			200		205
Ser Tyr Gln Gly Thr Trp Ser Glu Trp Ser Asp Pro Val Ile Phe Gln						
	210			215		220
Thr Gln Ser Glu Glu Leu Lys Glu Gly Trp Asn Gly Ser Gly Ser Arg						
	225			230		235
Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly						
	245			250		255
Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met						
	260			265		270
Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His						
	275			280		285
Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val						
	290			295		300
His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr						
	305			310		315
Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly						
	325			330		335
Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Val Pro Ile						
	340			345		350
Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val						
	355			360		365
Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser						
	370			375		380
Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu						
	385			390		395
						400

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
405 410 415

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
420 425 430

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
435 440 445

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
450 455 460

Pro Gly Lys
465

<210> 26
<211> 1499
<212> DNA
<213> Human

<400> 26
gcgccgcac caccatgccg cgtggctggg ccgccccctt gctcctgctg ctgctccagg 60
gaggctgggg ctgccccgac ctgctctgct acaccgatta cctccagacg gtcctctgca 120
tcttggaat gtggaacctc caccocagca cgctcacctt tacctggcaa gaccagtatg 180
aagagctgaa ggacgaggcc acctcctgca gctccacag gtcggcccac aatgccacgc 240
atgccacctc cacttgccac atggatgtat tccacttcat ggccgacgac attttcagt 300
tcaacatcac agaccagtct ggcaactact cccaggagtg tggcagcttt ctctggctg 360
agagcatcaa gccggctccc ctttcaacg tgactgtgac cttctcagga cagtataata 420
tctcctggcg ctacagattac gaagacctg cctttctacat gctgaagggc aagcttcagt 480
atgagctgca gtacaggaac cggggagacc cctgggctgt gactccgagg agaaagctga 540
tctcagtgga ctcaagaagt gtctccctcc tccccctgga gttccgcaaa gactcgagct 600
atgagctgca ggtgcgggca gggcccatgc ctggctcctc ctaccagggg acctggagt 660
aatggagtga cccggctcatc ttccagacc agtcagagga gttaaaggaa ggctggaacg 720
gctccggctc tagagacaaa actcacacat gccaccgtg cccagcacct gaactcctgg 780
ggggaccgtc agtcttctc tccccccaa aacccaagga caccctcatg atctcccgga 840
cccctgaggt cacatgcgtg gtgggtggacg tgagccacga agaccctgag gtcaagtcca 900
actggtacgt ggacggcgtg gaggtgcata atgccaagac aaagccgcgg gaggagcagt 960
acaacagcac gtaccgtgtg gtcagcgtcc tcaccgtcct gcaccaggac tggctgaatg 1020
gcaaggagta caagtgaag gtctccaaca aagccctccc agtccccatc gagaaaacca 1080
tctccaaagc caaagggcag ccccgagaac cacaggtgta caccctgccc ccctccggg 1140

aggagatgac caagaaccag gtcagcctga cctgcctggt caaaggcttc tatcccagcg 1200
 acatcgccgt ggagtgggag agcaatgggc agccggagaa caactacaag accacgcctc 1260
 ccgtgctgga ctccgaaggc tccttcttcc tctatagcaa gctcacctg gacaagagca 1320
 ggtggcagca ggggaacgtc ttctcatgct ccgtgatgca tgaggctctg cacaaccact 1380
 acacgcagaa gagcctctcc ctgtccccgg gtaaaccagg aatggcatca atgacaggag 1440
 gtcaacaaat gggttctgga tctcatcatc atcatcatca ttctggaggt tgagaattc 1499

<210> 27
 <211> 492
 <212> PRT
 <213> Human

<400> 27

Met Pro Arg Gly Trp Ala Ala Pro Leu Leu Leu Leu Leu Leu Gln Gly
 1 5 10 15
 Gly Trp Gly Cys Pro Asp Leu Val Cys Tyr Thr Asp Tyr Leu Gln Thr
 20 25 30
 Val Ile Cys Ile Leu Glu Met Trp Asn Leu His Pro Ser Thr Leu Thr
 35 40 45
 Leu Thr Trp Gln Asp Gln Tyr Glu Glu Leu Lys Asp Glu Ala Thr Ser
 50 55 60
 Cys Ser Leu His Arg Ser Ala His Asn Ala Thr His Ala Thr Tyr Thr
 65 70 75 80
 Cys His Met Asp Val Phe His Phe Met Ala Asp Asp Ile Phe Ser Val
 85 90 95
 Asn Ile Thr Asp Gln Ser Gly Asn Tyr Ser Gln Glu Cys Gly Ser Phe
 100 105 110
 Leu Leu Ala Glu Ser Ile Lys Pro Ala Pro Pro Phe Asn Val Thr Val
 115 120 125
 Thr Phe Ser Gly Gln Tyr Asn Ile Ser Trp Arg Ser Asp Tyr Glu Asp
 130 135 140
 Pro Ala Phe Tyr Met Leu Lys Gly Lys Leu Gln Tyr Glu Leu Gln Tyr
 145 150 155 160
 Arg Asn Arg Gly Asp Pro Trp Ala Val Ser Pro Arg Arg Lys Leu Ile
 165 170 175
 Ser Val Asp Ser Arg Ser Val Ser Leu Leu Pro Leu Glu Phe Arg Lys
 180 185 190
 Asp Ser Ser Tyr Glu Leu Gln Val Arg Ala Gly Pro Met Pro Gly Ser
 195 200 205
 Ser Tyr Gln Gly Thr Trp Ser Glu Trp Ser Asp Pro Val Ile Phe Gln
 210 215 220

Thr Gln Ser Glu Glu Leu Lys Glu Gly Trp Asn Gly Ser Gly Ser Arg
225 230 235 240

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
245 250 255

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
260 265 270

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
275 280 285

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
290 295 300

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
305 310 315 320

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
325 330 335

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Val Pro Ile
340 345 350

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
355 360 365

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser
370 375 380

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
385 390 395 400

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
405 410 415

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
420 425 430

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
435 440 445

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
450 455 460

Pro Gly Lys Ser Gly Met Ala Ser Met Thr Gly Gly Gln Gln Met Gly
465 470 475 480

Ser Gly Ser His His His His His His Ser Gly Gly
485 490

<210> 28
<211> 1426
<212> DNA
<213> Human

<400> 28
gcggccgcac caccatgccg cgtggctggg ccgccccctt gctcctgctg ctgctccagg 60

gaggctgggg ctgccccgac ctogtctgct acaccgatta cctccagacg gtcattctgca 120
tcctggaaat gtggaacctc caccocagca cgctcaccct tacctggcaa gaccagtatg 180
aagagctgaa ggacgagggc acctcctgca gcctccacag gtcggcccac aatgccacgc 240
atgccacctc cacctgccac atggatgtat tccacttcat ggccgacgac attttcagtg 300
tcaacatcac agaccagtct ggcaactact cccaggagtg tggcagcttt ctctgggtg 360
agagcatcaa gccggctccc cctttcaacg tgactgtgac cttctcagga cagtataata 420
tctcctggcg ctacagattac gaagaccctg cctttacat gctgaagggc aagcttcagt 480
atgagctgca gtacaggaac cggggagacc cctgggctgt gactccgagg agaaagctga 540
tctcagtggc ctcaagaagt gtctccctcc tccccctgga gttccgcaa gactogagct 600
atgagctgca ggtgcgggca gggcccatgc ctggctcctc ctaccagggg acctggagtg 660
aatggagtga cccggtcatc tttcagacc agtcagagga gttaaaggaa ggctggaacg 720
gctccggctc tagagacaaa actcacacat gccaccgtg cccagcacct gaagccctgg 780
gggcaccgtc agtcttctc tttcccccaa aaccgaaggc caccctcatg atctcccgga 840
cccctgaggt cacatgcgtg gtggtggacg tgagccacga agaccctgag gtcaagttca 900
actggtacgt ggacggcgtg gaggtgcata atgccaagac aaagccgctg gaggagcagt 960
acaacagcac gtaccgtgtg gtcagcgtcc tcaccgtcct gcaccaggac tggctgaatg 1020
gcaaggagta caagtgaag gtctccaaca aagccctccc agccccatc gagaaaacca 1080
tctccaaagc caaagggcag ccccgagAAC cacaggtgta caccctgccc ccattccggg 1140
aggagatgac caagaaccag gtcagcctga cctgocctgg caaaggcttc tatcccagcg 1200
acatcgccgt ggagtgggag agcaatgggc agccggagaa caactacaag accacgcctc 1260
ccgtgctgga ctccgacggc toottcttcc tctatagcaa gctcaccgtg gacaagagca 1320
ggtggcagca ggggaacgtc ttctcatgct ccgtgatgca tgaggctctg cacaaccact 1380
acacgcagaa gagcctctcc ctgtccccgg gtaaattgagt gaattc 1426

<210> 29
<211> 467
<212> PRT
<213> Human

<400> 29

Met Pro Arg Gly Trp Ala Ala Pro Leu Leu Leu Leu Leu Leu Gln Gly
1 5 10 15

Gly Trp Gly Cys Pro Asp Leu Val Cys Tyr Thr Asp Tyr Leu Gln Thr
20 25 30

Val Ile Cys Ile Leu Glu Met Trp Asn Leu His Pro Ser Thr Leu Thr

21

nn121

35.	40	45
Leu Thr Trp Gln Asp Gln Tyr Glu Glu Leu Lys Asp Glu Ala Thr Ser 50 55 60		
Cys Ser Leu His Arg Ser Ala His Asn Ala Thr His Ala Thr Tyr Thr 65 70 75 80		
Cys His Met Asp Val Phe His Phe Met Ala Asp Asp Ile Phe Ser Val 85 90 95		
Asn Ile Thr Asp Gln Ser Gly Asn Tyr Ser Gln Glu Cys Gly Ser Phe 100 105 110		
Leu Leu Ala Glu Ser Ile Lys Pro Ala Pro Pro Phe Asn Val Thr Val 115 120 125		
Thr Phe Ser Gly Gln Tyr Asn Ile Ser Trp Arg Ser Asp Tyr Glu Asp 130 135 140		
Pro Ala Phe Tyr Met Leu Lys Gly Lys Leu Gln Tyr Glu Leu Gln Tyr 145 150 155 160		
Arg Asn Arg Gly Asp Pro Trp Ala Val Ser Pro Arg Arg Lys Leu Ile 165 170 175		
Ser Val Asp Ser Arg Ser Val Ser Leu Leu Pro Leu Glu Phe Arg Lys 180 185 190		
Asp Ser Ser Tyr Glu Leu Gln Val Arg Ala Gly Pro Met Pro Gly Ser 195 200 205		
Ser Tyr Gln Gly Thr Trp Ser Glu Trp Ser Asp Pro Val Ile Phe Gln 210 215 220		
Thr Gln Ser Glu Glu Leu Lys Glu Gly Trp Asn Gly Ser Gly Ser Arg 225 230 235 240		
Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Leu Gly 245 250 255		
Ala Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met 260 265 270		
Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His 275 280 285		
Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val 290 295 300		
His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr 305 310 315 320		
Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly 325 330 335		
Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile 340 345 350		
Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val 355 360 365		

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser
370 375 380

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
385 390 395 400

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
405 410 415

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
420 425 430

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
435 440 445

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
450 455 460

Pro Gly Lys
465

<210> 30
<211> 741
<212> DNA
<213> Human

<400> 30
atgccgcgtg gctggggccgc ccccttgctc ctgctgctgc tccagggagg ctggggctgc 60
cccgacctcg tctgctacac cgattacctc cagacggcca tctgcatcct ggaaatgtgg 120
aacctccacc ccagcacgct cacccttacc tggcaagacc agtatgaaga gctgaaggac 180
gaggccacct cctgcagcct ccacaggctc gccacaaatg ccacgcctgc cacctacacc 240
tgccacatgg atgtattcca cttcattggc gacgacattt tcagtgtcaa catcacagac 300
cagtctggca actactccca ggagtgtggc agctttctcc tggctgagag catcaagccg 360
gtccccctt tcaacgtgac tgtgaccttc tcaggacagt ataatatctc ctggcgctca 420
gattacgaag accctgcctt ctacatgctg aagggaagc ttcagtatga gctgcagtac 480
aggaaccggg gagaccctg ggctgtgagt ccgaggagaa agctgatctc agtggactca 540
agaagtgtct ccctcctccc cctggagttc cgcaaagact cgagctatga gctgcaggtg 600
cgggcagggc ccatgcctgg ctccctctac caggggacct ggagtgaatg gactgacccg 660
gtcatctttc agaccagtc agaggagtta aagggaaggct ggaacaaac cgaaacctcc 720
caggttgctc cggcataatg a 741

<210> 31
<211> 245
<212> PRT
<213> Human

12193

<400> 31

Met Pro Arg Gly Trp Ala Ala Pro Leu Leu Leu Leu Leu Leu Gln Gly
1 5 10 15

Gly Trp Gly Cys Pro Asp Leu Val Cys Tyr Thr Asp Tyr Leu Gln Thr
20 25 30

Val Ile Cys Ile Leu Glu Met Trp Asn Leu His Pro Ser Thr Leu Thr
35 40 45

Leu Thr Trp Gln Asp Gln Tyr Glu Glu Leu Lys Asp Glu Ala Thr Ser
50 55 60

Cys Ser Leu His Arg Ser Ala His Asn Ala Thr His Ala Thr Tyr Thr
65 70 75 80

Cys His Met Asp Val Phe His Phe Met Ala Asp Asp Ile Phe Ser Val
85 90 95

Asn Ile Thr Asp Gln Ser Gly Asn Tyr Ser Gln Glu Cys Gly Ser Phe
100 105 110

Leu Leu Ala Glu Ser Ile Lys Pro Ala Pro Pro Phe Asn Val Thr Val
115 120 125

Thr Phe Ser Gly Gln Tyr Asn Ile Ser Trp Arg Ser Asp Tyr Glu Asp
130 135 140

Pro Ala Phe Tyr Met Leu Lys Gly Lys Leu Gln Tyr Glu Leu Gln Tyr
145 150 155 160

Arg Asn Arg Gly Asp Pro Trp Ala Val Ser Pro Arg Arg Lys Leu Ile
165 170 175

Ser Val Asp Ser Arg Ser Val Ser Leu Leu Pro Leu Glu Phe Arg Lys
180 185 190

Asp Ser Ser Tyr Glu Leu Gln Val Arg Ala Gly Pro Met Pro Gly Ser
195 200 205

Ser Tyr Gln Gly Thr Trp Ser Glu Trp Ser Asp Pro Val Ile Phe Gln
210 215 220

Thr Gln Ser Glu Glu Leu Lys Glu Gly Trp Asn Lys Thr Glu Thr Ser
225 230 235 240

Gln Val Ala Pro Ala
245

<210> 32

<211> 1413

<212> DNA

<213> Human

<400> 32

atgccgcgtg gctggggccgc ccccttgcctc ctgctgctgc tccagggagg ctggggctgc 60

cccgacctcg tctgctacac cgattacctc cagacggtca tctgcatcct ggaaatgtgg 120

nm24

aacctccacc ccagcacgct caccettacc tggcaagacc agtatgaaga gctgaaggac 180
 gaggccacct cotgcagcct ccacaggtcg gccacaatg ccacgcacgc cacctacacc 240
 tgccacatgg atgtattcca cticcatggcc gacgacattt tcagtgtcaa catcacagac 300
 cagtctggca actactccca ggagtgtggc agctttctcc tggctgagag catcaagccg 360
 gctccccctt tcaacgtgac tgtgacctc tcaggacagt ataatatctc ctgbcgctca 420
 gattacgaag accctgcctt ctacatgctg aagggcaagc ttcagtatga gctgcagtac 480
 aggaaccggg gagaccctg ggctgtgagt ccgaggagaa agctgatctc agtggactca 540
 agaagtgtct ccctcctccc cctggagttc cgcaagact cgagctatga gctgcaggtg 600
 cgggcagggc ccatgcctgg ctctcctac caggggacct ggagtgaatg gagtgacctg 660
 gtcatttttc agaccacgtc agaggagtta aaggaaggct ggaacgatga cgatgacaag 720
 ggctccggcg acaaaactca cacatgccc cctgcccag cacctgaagc cctgggggca 780
 cgtcagttct tcctcttccc cccaaaaccc aaggacccc tcagtatctc ccggaccctt 840
 gaggtcacat gcgtggtggt ggacgtgagc cacgaagacc ctgaggtcaa gttcaactgg 900
 tacgtggacg gcgtggaggt gcataatgcc aagacaaagc cgcgggagga gcagtacaac 960
 agcacgtacc gtgtggtcag cgtcctcacc gtcctgcacc aggactggct gaatggcaag 1020
 gagtacaagt gcaaggtctc caacaaagcc ctcccagccc ccatcgagaa aaccatctcc 1080
 aaagccaaag ggcagccccc agaaccacag gtgtacacc tgcctccatc ccgggaggag 1140
 atgaccaaga accaggtcag cctgacctgc ctggtcaag gcttctatcc cagcgacatc 1200
 gccgtggagt gggagagcaa tgggcagccg gagaacaact acaagaccac gcctcccgtg 1260
 ctggactccg acggctcctt ctctcttat agcaagctca ccgtggacaa gacaggtgg 1320
 cagcagggga acgtcttctc atgtccgtg atgcatgagg ctctgcacaa ccactacag 1380
 cagaagagcc tctccctgtc cccgggtaaa tga 1413

<210> 33
 <211> 470
 <212> PRT
 <213> Human

<400> 33

Met Pro Arg Gly Trp Ala Ala Pro Leu Leu Leu Leu Leu Leu Gln Gly
1 5 10 15

Gly Trp Gly Cys Pro Asp Leu Val Cys Tyr Thr Asp Tyr Leu Gln Thr
20 25 30

Val Ile Cys Ile Leu Glu Met Trp Asn Leu His Pro Ser Thr Leu Thr
35 40 45

Leu Thr Trp Gln Asp Gln Tyr Glu Glu Leu Lys Asp Glu Ala Thr Ser
 50 55 60
 Cys Ser Leu His Arg Ser Ala His Asn Ala Thr His Ala Thr Tyr Thr
 65 70 75 80
 Cys His Met Asp Val Phe His Phe Met Ala Asp Asp Ile Phe Ser Val
 85 90 95
 Asn Ile Thr Asp Gln Ser Gly Asn Tyr Ser Gln Glu Cys Gly Ser Phe
 100 105 110
 Leu Leu Ala Glu Ser Ile Lys Pro Ala Pro Pro Phe Asn Val Thr Val
 115 120 125
 Thr Phe Ser Gly Gln Tyr Asn Ile Ser Trp Arg Ser Asp Tyr Glu Asp
 130 135 140
 Pro Ala Phe Tyr Met Leu Lys Gly Lys Leu Gln Tyr Glu Leu Gln Tyr
 145 150 155 160
 Arg Asn Arg Gly Asp Pro Trp Ala Val Ser Pro Arg Arg Lys Leu Ile
 165 170 175
 Ser Val Asp Ser Arg Ser Val Ser Leu Leu Pro Leu Glu Phe Arg Lys
 180 185 190
 Asp Ser Ser Tyr Glu Leu Gln Val Arg Ala Gly Pro Met Pro Gly Ser
 195 200 205
 Ser Tyr Gln Gly Thr Trp Ser Glu Trp Ser Asp Pro Val Ile Phe Gln
 210 215 220
 Thr Gln Ser Glu Glu Leu Lys Glu Gly Trp Asn Asp Asp Asp Asp Lys
 225 230 235 240
 Gly Ser Gly Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu
 245 250 255
 Ala Leu Gly Ala Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp
 260 265 270
 Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp
 275 280 285
 Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly
 290 295 300
 Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn
 305 310 315 320
 Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp
 325 330 335
 Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro
 340 345 350
 Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu
 355 360 365
 Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn

370		375		380
Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile				
385		390		395 400
Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr				
	405		410	415
Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys				
	420		425	430
Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys				
	435		440	445
Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu				
	450		455	460
Ser Leu Ser Pro Gly Lys				
	465		470	

<210> 34
 <211> 1754
 <212> DNA
 <213> Mouse

<400> 34

atgccccggg gccagtggc tgccttactc ctgctgattc tccatggagc ttggagctgc	60
ctggacctca cttgctacac tgactacctc tggaccatca cctgtgtcct ggagacacgg	120
agccccaacc ccagcatact cagtctcacc tggcaagatg aatatgagga acttcaggac	180
caagagaact tctgcagcct acacaggtct ggccacaaca ccacacatat atggtacacg	240
tgccatatgc gcttgtctca attcctgtcc gatgaagttt tcattgtcaa tgtgacggac	300
cagtctggca acaactccca agagtgtggc agctttgtcc tggctgagag catcaaacca	360
gctccccct tgaacgtgac tgtggccttc tcaggacgct atgatattctc ctgggactca	420
gcttatgacg aaccctccaa ctacgtgctg aggggcaagc tacaatatga gctgcagtat	480
cggaacctca gagacccta tgctgtgagg ccggtgacca agctgatctc agtggactca	540
agaaacgtct ctcttctccc tgaagagttc cacaagatt ctagctacca gctgcagggtg	600
cgggcagcgc ctcagccagg cacttcattc agggggacct ggagtgagtg gagtgacccc	660
gtcatctttc agacccaggc tggggagccc gaggcaggct gggacggctc cggctctaga	720
gagccccgcy gaccgacaat caagccctgt cctccatgca aatgcccagg taagtcacta	780
gaccagagct ccactcccg gagaatggta agtgctataa acatccctgc actagaggat	840
aagccatgta cagatccatt tccatctctc ctcatcagca cctaacctcg aggggtggacc	900
atccgtcttc atcttccctc caaagatcaa ggatgtactc atgatctccc tgagcccat	960
agtcacatgt gtggtggtgg atgtgagcga ggatgaccca gatgtccaga tcagctggtt	1020

tgtgaacaac gtggaagtac acacagctca gacacaaacc catagagagg attacaacag 1080
tactctccgg gtggtcagtg ccctcccat ccagcaccag gactggatga gtggcaaggc 1140
tttcgcatgc gccgtcaaca acaagacct cccagcgccc atcgagagaa ccatctcaaa 1200
acccaaggt gagagctgca gcctgactgc atgggggctg ggatgggcat aaggataaag 1260
gtctgtgtgg acagccttct gcttcagcca tgaccttct gtatgtttct accctcacag 1320
ggtcagtaag agtccacag gtatatgtct tgcctccacc agaagaagag atgactaaga 1380
aacaggtcac tctgacctgc atggtcacag acttcatgcc tgaagacatt tacgtggagt 1440
ggaccaacaa cgggaaaaca gagctaaact acaagaacac tgaaccagtc ctggactctg 1500
atggttctta cttcatgtac agcaagctga gagtggaaaa gaagaactgg gtggaaagaa 1560
atagctactc ctgttcagtg gtccacgagg gtctgcacaa tcaccacacg actaagagct 1620
tctcccgga cccgggtaaa tgagctcagc acccacaana ctctcaggtc caaagagaca 1680
cccacactca tctccatgct tcccttctat aaataaagca cccagcaatg cctgggacca 1740
tgtaatagga attc 1754

<210> 35
<211> 240
<212> PRT
<213> Mouse

<400> 35

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

nn128

Pro Ser Asn Tyr Val Leu Arg Gly Lys Leu Gln Tyr Glu Leu Gln Tyr
 145 150 155 160

Arg Asn Leu Arg Asp Pro Tyr Ala Val Arg Pro Val Thr Lys Leu Ile
 165 170 175

Ser Val Asp Ser Arg Asn Val Ser Leu Leu Pro Glu Glu Phe His Lys
 180 185 190

Asp Ser Ser Tyr Gln Leu Gln Val Arg Ala Ala Pro Gln Pro Gly Thr
 195 200 205

Ser Phe Arg Gly Thr Trp Ser Glu Trp Ser Asp Pro Val Ile Phe Gln
 210 215 220

Thr Gln Ala Gly Glu Pro Glu Ala Gly Trp Asp Gly Ser Gly Ser Arg
 225 230 235 240

<210> 36
 <211> 795
 <212> DNA
 <213> Mouse

<400> 36
 ctgcaggtcg acaccaccat gccccggggc ccagtggctg ccttactcct gctgattctc 60
 catggagctt ggagctgcct ggacctcact tgctacactg actacctctg gaccatcacc 120
 tgtgtcctgg agacacggag ccccaacccc agcatactca gtctcacctg gcaagatgaa 180
 tatgaggaac ttcaggacca agagaccttc tgcagcctac acaggtctgg ccacaacacc 240
 acacatatat ggtacacgtg ccatatgcgc ttgtctcaat tctgtccga tgaagttttc 300
 attgtcaatg tgacggacca gtctggcaac aactcccaag agtgtggcag ctttgtcctg 360
 gctgagagca tcaaaccagc tcccccttg aacgtgactg tggccttctc aggacgctat 420
 gatctctcct gggactcagc ttatgacgaa ccttccaact acgtgctgag gggcaagcta 480
 caatatgagc tgcagtatcg gaacctcaga gaccctatg ctgtgaggcc ggtgaccaag 540
 ctgatctcag tggactcaag aaacgtctct cttctccctg aagagttcca caagattct 600
 agctaccagc tgcaggtgcy ggcagcgcct cagccaggca cttcattcag ggggacctgg 660
 agtgagtgga gtgaccccgct catctttcag acccaggctg gggagcccga ggcaggctgg 720
 gacggcagcg gacaccacca tcatcaccac ggtagcggcg actataaaga cgatgacgat 780
 aagtagtgag aattc 795

<210> 37
 <211> 255
 <212> PRT
 <213> Mouse

<400> 37

Met Pro Arg Gly Pro Val Ala Ala Leu Leu Leu Leu Ile Leu His Gly
1 5 10 15
Ala Trp Ser Cys Leu Asp Leu Thr Cys Tyr Thr Asp Tyr Leu Trp Thr
20 25 30
Ile Thr Cys Val Leu Glu Thr Arg Ser Pro Asn Pro Ser Ile Leu Ser
35 40 45
Leu Thr Trp Gln Asp Glu Tyr Glu Glu Leu Gln Asp Gln Glu Thr Phe
50 55 60
Cys Ser Leu His Arg Ser Gly His Asn Thr Thr His Ile Trp Tyr Thr
65 70 75 80
Cys His Met Arg Leu Ser Gln Phe Leu Ser Asp Glu Val Phe Ile Val
85 90 95
Asn Val Thr Asp Gln Ser Gly Asn Asn Ser Gln Glu Cys Gly Ser Phe
100 105 110
Val Leu Ala Gln Ser Ile Lys Pro Ala Pro Pro Leu Asn Val Thr Val
115 120 125
Ala Phe Ser Gly Arg Tyr Asp Ile Ser Trp Asp Ser Ala Tyr Asp Glu
130 135 140
Pro Ser Asn Tyr Val Leu Arg Gly Lys Leu Gln Tyr Glu Leu Gln Tyr
145 150 155 160
Arg Asn Leu Arg Asp Pro Tyr Ala Val Arg Pro Val Thr Lys Leu Ile
165 170 175
Ser Val Asp Ser Arg Asn Val Ser Leu Leu Pro Glu Glu Phe His Lys
180 185 190
Asp Ser Ser Tyr Gln Leu Gln Val Arg Ala Ala Pro Gln Pro Gly Thr
195 200 205
Ser Phe Arg Gly Thr Trp Ser Glu Trp Ser Asp Pro Val Ile Phe Gln
210 215 220
Thr Gln Ala Gly Glu Pro Glu Ala Gly Trp Asp Gly Ser Gly His His
225 230 235 240
His His His His Gly Ser Gly Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys
245 250 255

<210> 38
<211> 792
<212> DNA
<213> Mouse

<400> 38
atgaaattct tagtcaacgt tgcccttggt tttatggtcg tgtacatttc ttacatctat 60
gccggcagcg gacaccacca toatcaccac ggtagcggcg actataaaga cgatgacgat 120
aaggggttccg gatgcctgga cctcacttgc tacactgact acctctggac catcacctgt 180

gtcctggaga cacggagccc caaccccagc atactcagtc tcacctggca agatgaatat 240
gaggaacttc aggaccaaga gacottctgc agcctacaca ggtctggcoa caacaccaca 300
catatatggt acacgtgcca tatgogcttg totcaattcc tgtccgatga agttttcatt 360
gtcaatgtga cggaccagtc tggcaacaac toccaagagt gtggcagctt tgtcctggct 420
gagagcatca aaccagctcc ccccttgaac gtgactgtgg ccttctcagg acgctatgat 480
atctcctggg actcagctta tgacgaaccc tccaactacg tgctgagggg caagctacaa 540
tatgagctgc agtatcgaa cctcagagac cctatgctg tgaggccggt gaccaagctg 600
atctcagtggt actcaagaaa cgtctctctt ctccctgaag agttccacaa agattctagc 660
taccagctgc aggtgcgggc agcgccctcag ccaggcactt cattcagggg gacctggagt 720
gagtggagtg accccgtcat ctttcagacc caggotgggg agcccgaggc aggctgggac 780
tagtgagaat tc 792

<210> 39
<211> 260
<212> PRT
<213> Mouse
<400> 39

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

131
131

NY Main 516391 1

FIG. 1

1 GTGAGCGCG CGGTAGGAGC TGTCTGCCA CTCTCTCTGT GGTGTGCTC
 51 ACGGTCACTT GCTTGTCTGA CCGCAAGTCT GCCATCCCT GGGCAGCCA
 101 ACTGGCTCA GCCCGTGCC CAGGCGTGCC CTGTCTCTGT CTGGCTGCC
 151 CAGCCCTACT GTCTCTCTCT GTGTAGCTC TGCCAGATG CCGGCTGGT
 201 CCTCAGCTC AGGACTATCT CAGCAGTAC TCCCTGATT CTGACTTGC
 251 ACTGAGTGA ACTCTGCC ACCTCAGCC TTCAGCTCC ACCAGCACA
 301 CTCCAGTCC CGCTGTACT CCCAGGCCA GGAGACCACC CAGTGGCC
 351 ACCCTAAGA ATGGCTTCT GAGAAAGACC CTGAGGAGT AGGTCTGGA
 401 CACAGCTGC CCCGGGCCC AGTGGCTGCC TTACTCTGC TGATTCTCA
 451 TGAGCTTGG AGCTGCTGC ACCTCACTG CTACCTGAC TACCTCTGA
 501 CCATCCTG TGCTCTGAG ACAGGAGCC CCAACCCAG CATACTCAGT
 551 CTACCTGAC AGATGAATA TGGGACTT CAGGACCAAG AGACCTTCTG
 601 CAGCTACAC AGGTCTGCC ACAACACCAC ACATATATG TACAGTGC
 651 ATATCGCTT GTCTCAATC CTGTCCGATG AAGTTTCAT TGTCATGTG
 701 ACCGACCAGT CTGGCAACA CTCCAGAGG TGTTGAGCT TTGTCTTGC
 751 TGAGAGATC AAGCAGCTC CCCCTTGAA CTGACTGTG GCTTCTCAG
 801 GAGCTATGA TATCTCTGC GACTCAGCT ATGAGCAACC CTCCACTAC
 851 GTCTGAGG GCAAGCTACA ATATGAGCTC CAGTATCGA ACCTCAGGA
 901 CCCCTATGCT GTAGGCTGAG TGACCAAGCT GATCTCAGT GACTCAGGA
 951 ACGTCTCTT TCTCCCTGA AGTTCTACA AGATTCTAG CTACCTGCTG
 1001 CAGGTGCGG CAGCGCTCA GCCAGGACT TCATTEAGGG GAGCTGAG
 1051 TGAGTGAAT GACCCGCTA TCTTCTGAC CAGGCTGGG GAGCCGAGG
 1101 CAGGCTGGA CCTCAGATG CTGCTGCTC TGCTGTCTT GATCATTTG
 1151 CTGTTTTC TGGTCTGAA GATCCACTG CCTTGGGGC TATGGAAAA
 1201 GATATGGCA CCAGTGCCA CCGTGAAG TTTCTTCAG CCGCTGTACA
 1251 GGGAGCACAG CGGCACTTC AAGAAATGG TTAATACCC TTTCAGGCC
 1301 TCCAGCATG AGTTGGTGC ACAGAGTTC ACACCAACAT CAGCCTTACA
 1351 TCTGTATTG TATCCAGCA AGGAGAGAA GTTCCGGGG CTCCGGGTC
 1401 TGAAGAGCA ACTGGAGTG GATGCAATG CTGAGCCTGG TCACTGGTGC

FIG.1 (continued)

1451 ATATCCCTT TGCAGCTGG CAGAGGCTC TCAGCTACA GTAGGAGAG
 1501 AGACCGGCA TATGGTCTGG TGTCCTTGA CACAGTACT GTGGGAGTG
 1551 CAGAGGCTT GTGTGTCTGG CCTGTAGCT GTAGGATGA TGGTATCCA
 1601 GCGATGACC TGGATGCTGG CCGAGACTCT GCGCTAATT CAGAGATCT
 1651 GCTCTTGGT ACAGACCTTG CTTTCTGTC TTGCGGCTGT GTCTAGSTA
 1701 GTGTCTCAG GCTTGGAGG TCCGAGGCA GCTTACTGA CAGGTTGAG
 1751 CTGTATTTG CAGAGGAGG GAGTGGACA GCGACCCA CCTGAGAAC
 1801 TGGTCCCA GAGGGGCTT CTAGAGTGA AGCAGGTTCC CCGCTGGTC
 1851 TGGACATGA CACATTGAC AGTGGCTTG CAGGTTAGA CTGTGGCAG
 1901 CCGTGGAGA CTATGAGG ACCCCCTGA AGCTATCTCC GCGAGGGT
 1951 GGTACAGAC CCTCCACTG TGGACAGTG AGCCAGAGC AGCTAGATA
 2001 TATTAACAG CTATAGTGA AGAGGCTTC TGGGCTGGC ATTACAGTG
 2051 TGAACATGA GGGGTGTGT GTGTGTGTG TGTGTGTGT GTGTGTGTG
 2101 TGTGTGTGT GTGTGTGTG TGTGTGTGT TGTGTGTGT CAGTCCATG
 2151 TGGGATTG GTCTGTGCT ATGTATTGA ATGTAAAT CTCTACCCA
 2201 AGTCTAGGC CTAGAGTGA ATTCTATGT TTACAACTT GCTGTGTAA
 2251 CCTGTCTCT TAATTATTA CATTGTTA AATAAATTG GCTGCACCA
 2301 ATTACTGAG GATTAGAGG TAGGGGCTT TTAGTTACC TGTTTGAGA
 2351 TGAGAGAGA GAGAGGAGG ACCAGAGGA GAGGAGGAA GAGAGGAGA
 2401 GAGAGGAGA GAGAGGAGA GAGAGGAGA GAGAGGAGA GAGAGGAGA
 2451 GGTGCTGTG AGGGGAGAG GACCATGAG CTGTGGCCAG GAGAAACAG
 2501 AGTATCTGG GGTACACTG TGGAGGCTG GCGAGGCCAG CAGTTAGAG
 2551 AGTAGATTAG GGTGACCTC CAGTATTGT CAGGCCAAT TAAATACCA
 2601 AAAAAAAAA AAAGCGGCT CCTCTAGA

FIG.2A

1 HPRGPVAALL LLJLHCAWSC LDLCYTDYL NTITCVLETR SPNPSILSLT
51 HQDEYEELQD QETFCSLHNS GHNTHIMYT CNHRLSQFLS DEVFIVNVD
101 QSGWNSQECG SFVLAESIKP APFLNVTAF SGRYDISWDS AYDEPSNTYL
151 NGKIQYELQY RNLRDPIAVR PVTKLISVDS RNVSLPEEF HKDSSYQLQV
201 RAAPPGTSTF AGTWSEWSDF VIFOTQAGEP EAGNDPHILL LLAVLIIVLV
251 FHGLKINLPN RLNKKYAPY PTPESFTQPL YREHSGNFKK WYHTPTASS
301 JELVQSSTT TSALHLSLYP AKKKFPGLP GLEEQLECDG HSEFGHNCII
351 FLANGDAVSA YSEERDRPYG LVSIDTVTVG DAGGLCVHPC SCEODGYPH
401 NLDGARESDF HSEDLLLYTD PAFLSGGCVS GSGRLGGSP GSLIDRLRLS
451 FAKGGNTAD PTHRTGSPGG GSESEAGSPP GLINDTTDSG FAGSDCGSPV
501 ETDEGPPRST LKQVYVTRTP PVDSGAOSS

4 of 64

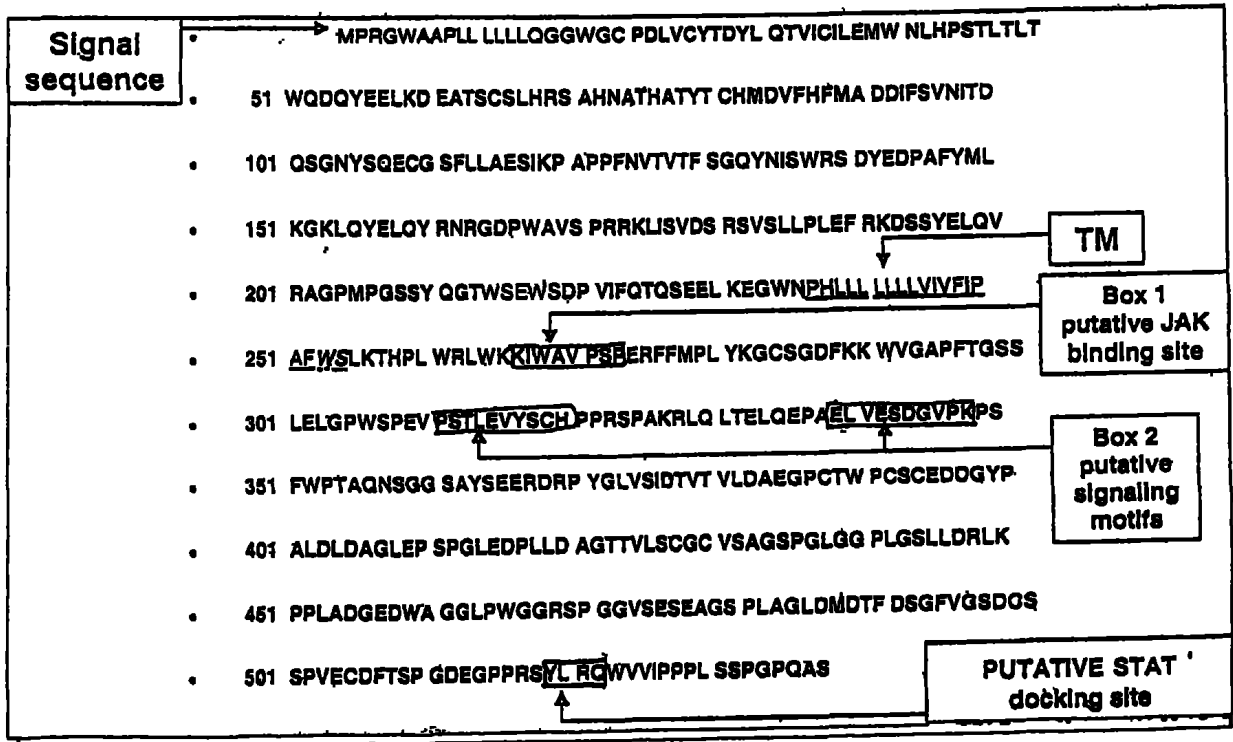


Figure 2B

135

FIG.3

hnu1-1 MSTCACTGAGCCCACTGCCCTCATCA 32
 : : : 4 : : : : : : : : : :
 hnu1-1 CAGCCTACTGTCTTCTCTGTGTAGGCTCTGCCAGATGCCGGC... 196
 hnu1-1 GASTGACAGGTCTTATGACAGCCTGATTGCTGACTCGGGCTGGGTGGA 82
 :
 hnu1-1 TGGTCTCAGCCTCAGGACTATCTCAGAGTGTCTC.CCTGATTCTGGA 245
 hnu1-1 TTTCACTCCCAAGCCTCTGCTGCTTTCTCAGACCTCATCT...GTGAC 329
 :
 hnu1-1 CTTCACCTTCACTGAATCTCTGCTCACTCAAACTTCACTCCCACTAC 295
 hnu1-1 CCCCACCTGAGCCGCTG.....CCACCCCAAGGCTCATGACT 373
 :
 hnu1-1 CACCACTCCGAGTCCGCTGTGACTCCACGCCAGGAGACCACTCAAT 345
 hnu1-1 GCCCCAGCAGCAGGATGATTTCTGAGAGAGAGCCCAAGCAGAGGC 223
 :
 hnu1-1 G.CCCAGCCTAAGATGCTTTCTGAGAGAGAGCCCAAGGATAGCT 394
 hnu1-1 CCGTGGAGTCACTGCGCCTGCTGCGCCGCCCTTCTCTCTCTG 273
 :
 hnu1-1 C...TGGACAGCATGCCCGCGCCAGTGGCTGCTTACTCTCTGCTG 442
 hnu1-1 CTCTCCAGGAGCCTTGGCTGCTCCGACCTCTCTCTCTACCTCATTA 323
 :
 hnu1-1 ATTCTCATGAGCTTGAAGTGGCTGCTGACCTCACTTCTCTACCTGATA 452
 hnu1-1 CCTCCAGAGCCTCATCTGCTATCTGAGATGTGAACCTCCAGCCAGCA 373
 :
 hnu1-1 CCTCTGAGCCTCATCTGTCTGCTGAGAGAGAGGCTCCAGCCAGCA 542
 hnu1-1 CCTCAGCCTTACCTGAGAGAGCCTATGAGAGCTGAGAGAGAGGCC 423
 :
 hnu1-1 TACTCATCTCAGCTGAGAGATGATATGAGAGCTTCAAGAGAGAG 592
 hnu1-1 ACCTCTGAGCCTCCAGAGCTGCGCCAGAGTCCAGCAGATGCCAGCTA 473
 :
 hnu1-1 ACCTTCTGAGCCTTACAGAGCTGCGCCAGAGAGAGAGAGAGAGAG 642
 hnu1-1 CAGCTGCTCATGAGTGTATCTCATCTTCTGCGCAGAGAGATTTTCACTG 523
 :
 hnu1-1 CAGCTGCTCATGAGCTTGTCTCATTTCTTCTGCTGAGTGTATTTTCTG 692
 hnu1-1 TCAATCTCAGAGAGCTGCTGAGAGAGTCTCCAGAGAGTGTGAGCTTT 573
 :
 hnu1-1 TCAATGCTGAGAGAGCTGCTGAGAGAGTCTCCAGAGAGTGTGAGCTTT 742
 hnu1-1 CTCTGCTGAGAGAGATCAGAGAGCTGCGCCAGAGTCTTCAAGCTGAGT 623
 :
 hnu1-1 GTCTGCTGAGAGAGATCAGAGAGCTGCGCCAGAGTCTTCAAGCTGAGT 792
 hnu1-1 CTCTCAGAGAGATATATATCTCTGCGCCTCAGATTACAGAGAGCTG 673
 :
 hnu1-1 CTCTCAGAGAGCTATGATATCTCTGCGCCTCAGATTACAGAGAGCT 842
 hnu1-1 CCTTCTACATGCTGAGAGAGAGCTTCAAGTATGAGCTGAGTACAGAG 723
 :
 hnu1-1 CCACTACGCTGCTGAGAGAGAGCTTCAATATGAGCTGAGTATGAGAG 892
 hnu1-1 CGGAGAGAGAGCTGCGCTGAGTCCGAGAGAGAGCTGATCTGAGTGA 773
 :
 hnu1-1 CTGAGAGAGAGCTATGCTGAGAGAGCTGAGAGAGCTGATCTGAGTGA 942
 hnu1-1 CTCAGAGAGTGTCTCTCTCTCTCTCTGAGAGTCTGAGAGAGCTGAGCT 823

nm39

FIG.3 (continue. ,

11 111 1111 111 1111 1111 1111 1111
 MOTHU-1 AERTTAGGGGTACCTCCGATTTCTCAGGCCATTAAATACAAA 2603
 HUNU-1 AAAATCTAGA..... 2567
 1111 11
 MOTHU-1 AAAAATAAAGGGCCCTCTAGA 2628

00140

FIG.4

Human HU-1	WFGWAPLALLLLGGGCGCPDLYCTDTYLOTVICILDHNLHPSTLTET 50
MerinoHU-1	WFGWVAAALLLLLGAGNSCLDTCTDTYLTITCVLTASHPSTLSLT 50
Human HU-1	WQGYELKDEATSCSLHRSANQTHATTTCHDVFHRAQDI7SVNITD 100
MerinoHU-1	WQGYELQDDSTTCSLHRSANQTHATTTCHHLSQTLSDVFI7VNTD 100
Human HU-1	QSGYSGECGCFLLAESIKPAPPTVNTTSGQTH1SWASDYEDPAFTN 150
MerinoHU-1	QSGYSGECGCFVLAESIKPAPPTVNTTSGQTH1SWASDYEDPAFTN 150
Human HU-1	NGKQYELQYHNLDPYAVHPTTKL1SVDSRNVSLLEEFKQDSYOLQV 200
MerinoHU-1	NGKQYELQYHNLDPYAVHPTTKL1SVDSRNVSLLEEFKQDSYOLQV 200
Human HU-1	LAGPFGCSYOGTWSNSDPV1FOTQSEKLEGNHPLALLLVIVFIP 250
MerinoHU-1	LAGPFGCSYOGTWSNSDPV1FOTQSEKLEGNHPLALLLVIVFIP 250
Human HU-1	ATWELATPLWRLWPKIWA.VFSPERTTFLYACCSGDFKRVGAPTTGS 299
MerinoHU-1	ATWELATPLWRLWPKIWA.VFSPERTTFLYACCSGDFKRVGAPTTGS 299
Human HU-1	SLKLPNSPDEVSTLEVYSCHPFSPAKRLQTELOPAELVESDGVFKP 349
MerinoHU-1	SLKLPNSPDEVSTLEVYSCHPFSPAKRLQTELOPAELVESDGVFKP 349
Human HU-1	SPV...PTAGNSGGSAYSEERDPYGLVSTDTVTVLNAGFCVTPCSCD 396
MerinoHU-1	SPV...PTAGNSGGSAYSEERDPYGLVSTDTVTVLNAGFCVTPCSCD 396
Human HU-1	DGYPAHLDNGLEFSPGLEDPILLDAGITVLSCGCVSAGSPGLGSPGL 446
MerinoHU-1	DGYPAHLDNGLEFSPGLEDPILLDAGITVLSCGCVSAGSPGLGSPGL 446
Human HU-1	DRKXPPLADGLOHAGELPCCGSPGCVSESEAGSPLAGLHDTFDSGTV 496
MerinoHU-1	DRKXPPLADGLOHAGELPCCGSPGCVSESEAGSPLAGLHDTFDSGTV 496
Human HU-1	SDCSFVECDFTSPGEGPFRSYLQWVY.1PPLSSPCFORS* 539
MerinoHU-1	SDCSFVECDFTSPGEGPFRSYLQWVY.1PPLSSPCFORS* 539

00000

FIG.5.

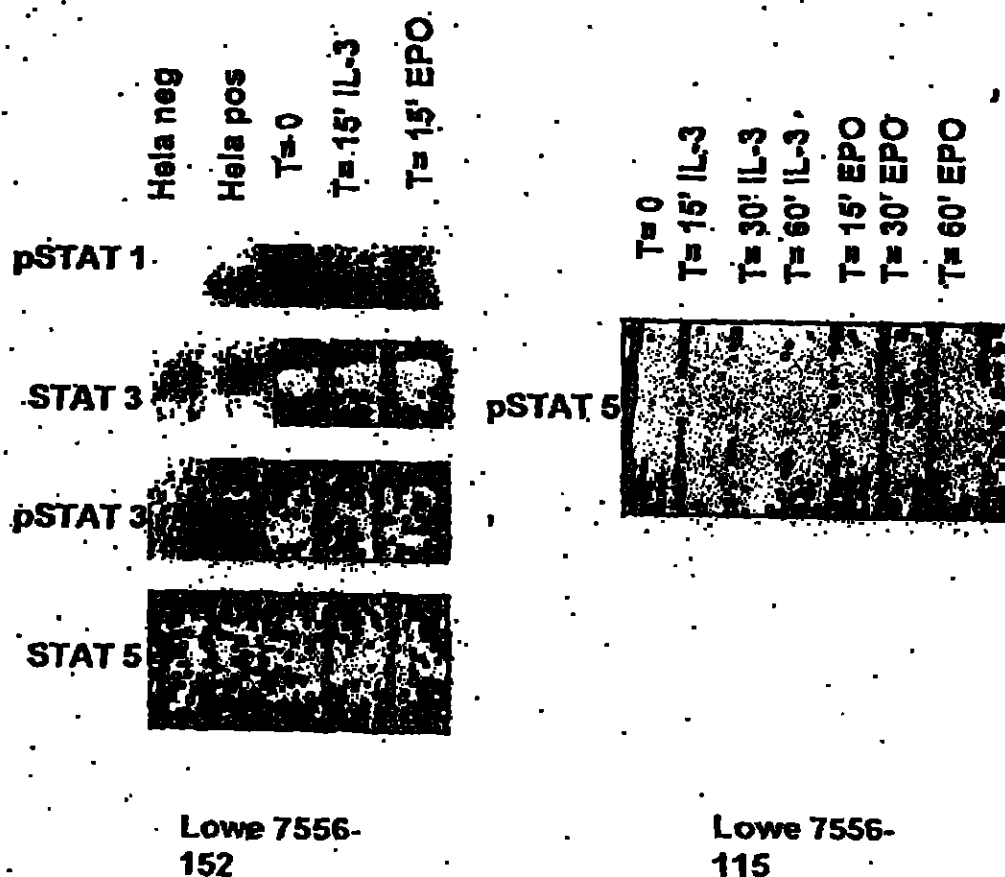
```

1                                     30
      hman ---HPRGPA FLILL..LO GNG..... CRLACTTNY IOTVTCLEN.
      mousemu ---HPRGPA ALLILL..LI GNG..... CLACTTNY IOTVTCLEN.
      hman12:bc HPAALSMIL FLILLFLA TSHANVNG TSOFTCTNS BANISCVNO
      51                                     100
      hman WH..LNPSTL TLWQOQTEZ LKQATSCSL HRSANNTA TTTCH....
      mousemu RS..PNPSIL SLWQOQTEZ LQOQTTCSL HRSANNTA TTTCH....
      hman12:bc DGALQUTSCQ VRANPDA... BRWOTCEL ....LPVSDA SHKCHJLA
      101                                     130
      hman .DVTHTADD IFSVNTDOS GN..YSQECG SYLAESIXP APFTHTVTF
      mousemu .RLSQFLSDE VFTVNTDOS GN..MSQECG SYLAESIXP APFTHTVTF
      hman12:bc PDSKLTVD IYTLRLCNE GVMKVAIQ DTKPTDRL HATISQVNB
      151                                     200
      hman ..SGYDISH ASDYDPAFY HLGKLOYEL QYNHGPMA VSPKRLISV
      mousemu ..SGYDISH DSAIDPSNY VLGKLOYEL QYNHGPMA VSPKRLISV
      hman12:bc VETNCHISH E..ISASHY FER.HLEFLA NTLSPGTYE EAP...LITL
      201                                     250
      hman DSAVSILLPL EYHDSYEL QYAGHPGS SYGTHWES DPVIFQTS.
      mousemu DSNVILLPE EYHDSYEL QYAAPOPT SYGTHWES DPVIFQTS.
      hman12:bc KQGEWICL TLJTDOTYEF QYVPLQCE F..TTHWES QPLATHTFA
      251                                     300
      hman ..EELKEGWI PHILL.. LLVIVFIFAF HGLATPLM LKQKHLVP
      mousemu ..GEPEAGWD PHILL.. AVLJVL VP HGLKHLPM LKQKHLVP
      hman12:bc ALGKHTPML GILLVLSA TETJLVYL JHCHWGM. LKQKHLVP
      301                                     350
      hman SPERFFNPLY HGCSEFKM VEPFTGSEL ELCPSTVP ELEVYDCH
      mousemu TPESTFOPL REHSGFTQM VHTFTASSI ELCPSTTT EAL.....HL
      hman12:bc DPKFTSLS SEHGGVQW LSEFFPSTF SPGLAPIS FLEVLEBN
      351                                     400
      hman PRPAKLOL TELQPA..E LVESGVKPK SPV...PTAQ HGGSEKTE
      mousemu ELPKELKE FGLGLE..E QLECGHEP GNCJPLA CONVAISEE
      hman12:bc TULLQOKV FEPASLSM SLTSCPTNG YTTALPDL ELEMCTTT
      401                                     450
      hman RDRFGLVSI DVTVLDAE PC...TVPCS CEDGYPALD LDGLEPSG
      mousemu RDRFGLVSI DVTVGDAE LC...VWPCS CEDGYPAM LDGKESPM
      hman12:bc YD.PYSEDP DEGVAGPTG SPOTLOPLS GEDATCTT.....PS
      451                                     500
      hman LEDPILONGT TVLSCGVSA CSPGLGCLG ELLORLAPL AD..GEMNG
      mousemu SEDLLYTOP AFLSCGVSG SELALGSPG ELLORLAPL AK..EGDRTA
      hman12:bc ADLLLYS.P SLL..GEPSP PSTAPGS.G AGEKHPPL QERVPRDOP
      501                                     550
      hman GLPAGHSPG GYSESENGSP LAGLHDTTD SGVGSDCSS PYEDFTSPG
      mousemu DFTWGTSPG GSESENGSP .MLHDTTD SGFAGSDCES PVET.....
      hman12:bc O.PLGPFTG VFDLVOTOP F...ELVLE AGEVPEAG. PRE.GVSPW
      551                                     588
      hman DEGPFASTLR QNVVTPPLS SPGPAS---
      mousemu DEGPFASTLR QNVVTPPNV DGAQSS---
      hman12:bc .SPFGGCTA ALNALPLNT DYLQLQLO GQPTLV

```

FIG.6

Signaling through MU-1



atg aaa ttc tta gtc aac gtt gcc ctt gtt ttt atg gtc gtc tac att	48
Met Lys Phe Leu Val Asn Val Ala Leu Val Phe Met Val Val Tyr Ile	
1 5 10 15	
tct tac atc tat gcc ggc agc gga cac cac cat cat cac tac ggt agc	96
Ser Tyr Ile Tyr Ala Gly Ser Gly His His His His His Gly Ser	
20 25 30	
ggc gac tat aaa gac gat gac gat aag ggt tcc gga tgc ccc gac ctc	144
Gly Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys Gly Ser Gly Cys Pro Asp Leu	
35 40 45	
gtc tgc tac acc gat tac ctc cag acg gtc atc tgt atc ctg gaa atg	192
Val Cys Tyr Thr Asp Tyr Leu Gln Thr Val Ile Cys Ile Leu Glu Met	
50 55 60	
tgg aac ctc cac ccc agc acg ctc acc ctt acc tgg caa gac cag tat	240
Trp Asn Leu His Pro Ser Thr Leu Thr Leu Thr Trp Gln Asp Gln Tyr	
65 70 75 80	
gaa gag ctg aag gac gag gcc acc tcc tgc agc ctc cac agg tgc gcc	288
Glu Glu Leu Lys Asp Glu Ala Thr Ser Cys Ser Leu His Arg Ser Ala	
85 90 95	
cac aat gcc acg cat gcc acc tac acc tgc cac atg gat gta ttc cac	336
His Asn Ala Thr His Ala Thr Tyr Thr Cys His Met Asp Val Phe His	
100 105 110	
ttc atg gcc gac gac att ttc agt gtc aac atc aca gac cag tct ggc	384
Phe Met Ala Asp Asp Ile Phe Ser Val Asn Ile Thr Asp Gln Ser Gly	
115 120 125	
aac tac tcc cag gag tgt ggc agc ttt ctc ctg gct gag agc atc aag	432
Asn Tyr Ser Gln Glu Cys Gly Ser Phe Leu Leu Ala Glu Ser Ile Lys	
130 135 140	
ctg gct ccc cct ttc aac gtg act gtg acc ttc tca gga cag tat aat	480
Pro Ala Pro Pro Phe Asn Val Thr Val Thr Phe Ser Gly Gln Tyr Asn	
145 150 155 160	
atc tcc tgg cgc tca gat tac gaa gac cct gcc ttc tac atg ctg aag	528
Ile Ser Trp Arg Ser Asp Tyr Glu Asp Pro Ala Phe Tyr Met Leu Lys	
165 170 175	
ggc aag ctt cag tat gag ctg cag tac agg aac cgg gga gac ccc tgg	576
Gly Lys Leu Gln Tyr Glu Leu Gln Tyr Arg Asn Arg Gly Asp Pro Trp	
180 185 190	
gct gtg agt ccg agg aga aag ctg atc tca gtg gac tca aga agt gtc	624
Ala Val Ser Pro Arg Arg Lys Leu Ile Ser Val Asp Ser Arg Ser Val	
195 200 205	
ttc ctc ctc ccc ctg gag ttc cgc aaa gac tgc agc tat gag ctg cag	672
Ser Leu Leu Pro Leu Glu Phe Arg Lys Asp Ser Ser Tyr Glu Leu Gln	
210 215 220	

Fig. 7A

gtg	cgg	gca	ggg	ctc	atg	cct	ggc	tcc	tcc	tac	cag	ggg	acc	tgg	agt	720
Val	Arg	Ala	Gly	Pro	Met	Pro	Gly	Ser	Ser	Tyr	Gln	Gly	Thr	Trp	Ser	
225					230					235					240	
gaa	tgg	agt	gac	ccg	gtc	atc	ttt	cag	acc	tag	tca	gag	gag	tta	aag	768
Glu	Trp	Ser	Asp	Pro	Val	Ile	Phe	Gln	Thr	Gln	Ser	Glu	Glu	Leu	Lys	
				245					250					255		
gaa	ggc	tgg	aac	taa	tga	seq ID NO: 22									786	
Glu	Gly	Trp	Asn	seq ID NO: 23												
	260															

Fig. 7B

145

00145

gcggccgcac cacc	atg ccg cgt ggc tgg gcc gcc ccc ttg ctc ctg ctg	50
	Met Pro Arg Gly Trp Ala Ala Pro Leu Leu Leu Leu	
	1 5 10	
ctg ctc cag gga ggc tgg ggc tgc ccc gac ctc gtc tgc tac acc gat		98
Leu Leu Gln Gly Gly Trp Gly Cys Pro Asp Leu Val Cys Tyr Thr Asp		
	15 20 25	
tac ctc cag atg gtc atc tgc atc ctg gaa atg tgg aac ctc cac ccc		146
Tyr Leu Gln Thr Val Ile Cys Ile Leu Glu Met Trp Asn Leu His Pro		
	30 35 40	
agc acg ctc acc ctt acc tgg caa gac cag tat gaa gag ctg aag gac		194
Ser Thr Leu Thr Leu Thr Trp Gln Asp Gln Tyr Glu Glu Leu Lys Asp		
	45 50 55 60	
gag gcc acc tcc tgc agc ctc cac agg tgc gcc cac aat gcc acg cat		242
Glu Ala Thr Ser Cys Ser Leu His Arg Ser Ala His Asn Ala Thr His		
	65 70 75	
gcc acc tac acc tgc cac atg gat gta ttc cac ttc atg gcc gac gac		290
Ala Thr Tyr Thr Cys His Met Asp Val Phe His Phe Met Ala Asp Asp		
	80 85 90	
att ttc agt gtc aac atc aca gac cag tct ggc aac tac tcc cag gag		338
Ile Phe Ser Val Asn Ile Thr Asp Gln Ser Gly Asn Tyr Ser Gln Glu		
	95 100 105	
tgt ggc agc ttt ctc ctg gct gag agc atc aag ccg gct ccc cct ttc		386
Cys Gly Ser Phe Leu Leu Ala Glu Ser Ile Lys Pro Ala Pro Pro Phe		
	110 115 120	
aac gtg act gtg acc ttc tca gga cag tat aat atc tcc tgg cgc tca		434
Asn Val Thr Val Thr Phe Ser Gly Gln Tyr Asn Ile Ser Trp Arg Ser		
	125 130 135 140	
gat tac gaa gac cct gcc ttc tac atg ctg aag ggc aag ctt cag tat		482
Asp Tyr Glu Asp Pro Ala Phe Tyr Met Leu Lys Gly Lys Leu Gln Tyr		
	145 150 155	
gag ctg cag tac agg aac cgg gga gac ecc tgg gct gtg agt ccg agg		530
Glu Leu Gln Tyr Arg Asn Arg Gly Asp Pro Trp Ala Val Ser Pro Arg		
	160 165 170	
aga aag ctg atc tca gtg gac tca aga agt gtc tcc ctc ctc ccc ctg		578
Arg Lys Leu Ile Ser Val Asp Ser Arg Ser Val Ser Leu Leu Pro Leu		
	175 180 185	
gag ttc cgc aaa gac tgc agc tat gag ctg cag gtg cgg gca ggg ccc		626
Glu Phe Arg Lys Asp Ser Ser Tyr Glu Leu Gln Val Arg Ala Gly Pro		
	190 195 200	
atg cct ggc tcc tcc tac cag ggg acc tgg agt gaa tgg agt gac ccg		674
Met Pro Gly Ser Ser Tyr Gln Gly Thr Trp Ser Glu Trp Ser Asp Pro		
	205 210 215 220	

Fig. 8A

gtc atc ttt cag acc cag tca gag gag tta aag gaa ggc tgg aac ggc	722
Val Ile Phe Gln Thr Gln Ser Glu Glu Leu Lys Glu Gly Trp Asn Gly	
225 230 235	
tcc ggc tct aga gac aaa act cac aca tgc cca ccg tgc cca gca cct	770
Ser Gly Ser Arg Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro	
240 245 250	
gaa ctc ctg ggg gga ccg tca gtc ttc ctc ttc ccc cca aaa ccc aag	818
Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Lys Pro Lys	
255 260 265	
gac acc ctc atg atc tcc cgg acc cct gag gtc aca tgc gtg gtg gtg	866
Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val	
270 275 280	
gac gtg agc cac gaa gac cct gag gtc aag ttc aac tgg tac gtg gac	914
Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp	
285 290 295 300	
ggc gtg gag gtg cat aat gcc aag aca aag ccg cgg gag gag cag tac	962
Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr	
305 310 315	
aac agc acg tac cgt gtg gtc agc gtc ctc acc gtc ctg cac cag gac	1010
Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp	
320 325 330	
tgg ctg aat ggc aag gag tac aag tgc aag gtc tcc aac aaa gcc ctc	1058
Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu	
335 340 345	
cca gtc ccc atc gag aaa acc atc tcc aaa gcc aaa ggg cag ccc cga	1106
Pro Val Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg	
350 355 360	
gaa cca cag gtg tac acc ctg ccc cea tcc cgg gag gag atg acc aag	1154
Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys	
365 370 375 380	
aac cag gtc agc ctg acc tgc ctg gtc aaa ggc ttc tat ccc agc gac	1202
Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp	
385 390 395	
atc gcc gtg gag tgg gag agc aat ggg cag ccg gag aac aac tac aag	1250
Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys	
400 405 410	
acc acg cct ccc gtg ctg gac tcc gac ggc tcc ttc ttc ctc tat agc	1298
Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser	
415 420 425	
aag ctc acc gtg gac aag agc agg tgg cag cag ggg aac gtc ttc tca	1346
Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser	
430 435 440	

Fig. 8B

tgc	tcc	gtg	atg	cat	gag	gct	ctg	cac	aac	cac	tac	acg	cag	aag	agc	1394
Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	
445					450				455					460		
ctc tcc ctg tcc ccg ggt aaa tgagtgaatt c SEQ ID NO: 24 1426																
Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys SEQ ID NO: 25																
465																

Fig. 8C

Q ID NO:26	gcggccgcac cacc atg ccg cgt ggc tgg gcc gcc ccc ttg ctc ctg ctg	50
Q ID NO:27	Met Pro Arg Gly Trp Ala Ala Pro Leu Leu Leu	
	1 5 10	
	ctg ctc cag gga ggc tgg ggc tgc ccc gac ctc gtc tgc tac acc gat	98
	Leu Leu Gln Gly Gly Trp Gly Cys Pro Asp Leu Val Cys Tyr Thr Asp	
	15 20 25	
	tac ctc cag acg gtc atc tgc atc ctg gaa atg tgg aat ctc cac ccc	146
	Tyr Leu Gln Thr Val Ile Cys Ile Leu Glu Met Trp Asn Leu His Pro	
	30 35 40	
	agc acg ctc acc ctt acc tgg caa gac cag tat gaa gag ctg aag gac	194
	Ser Thr Leu Thr Leu Trp Gln Asp Gln Tyr Glu Glu Leu Lys Asp	
	45 50 55 60	
	gag gcc acc tcc tgc agc ctc cac agg tgc gcc cac aat gcc atg cat	242
	Glu Ala Thr Ser Cys Ser Leu His Arg Ser Ala His Asn Ala Thr His	
	65 70 75	
	gcc acc tac acc tgc cac atg gat gta ttc cac ttc atg gcc gac gac	290
	Ala Thr Tyr Thr Cys His Met Asp Val Phe His Phe Met Ala Asp Asp	
	80 85 90	
	att ttc agt gtc aac atc aca gac cag tct ggc aac tac tcc cag gag	338
	Ile Phe Ser Val Asn Ile Thr Asp Gln Ser Gly Asn Tyr Ser Gln Glu	
	95 100 105	
	tgt ggc agc ttt ctc ctg gct gag agc atc aag ccg gct ccc cct ttc	386
	Cys Gly Ser Phe Leu Leu Ala Glu Ser Ile Lys Pro Ala Pro Pro Phe	
	110 115 120	
	aac gtg act gtg acc ttc tca gga cag tat aat atc tcc tgg cgc tca	434
	Asn Val Thr Val Thr Phe Ser Gly Gln Tyr Asn Ile Ser Trp Arg Ser	
	125 130 135 140	
	gat tac gaa gac cct gcc ttc tac atg ctg aag ggc aag ctt cag tat	482
	Asp Tyr Glu Asp Pro Ala Phe Tyr Met Leu Lys Gly Lys Leu Gln Tyr	
	145 150 155	
	gag ctg cag tac agg aac cgg gga gac ccc tgg gct gtg agt ccg agg	530
	Glu Leu Gln Tyr Arg Asn Arg Gly Asp Pro Trp Ala Val Ser Pro Arg	
	160 165 170	
	aga aag ctg atc tca gtg gac tca aga agt gtc tcc ctc ctc ccc ctg	578
	Arg Lys Leu Ile Ser Val Asp Ser Arg Ser Val Ser Leu Leu Pro Leu	
	175 180 185	
	gag ttc cgc aaa gac tgc agc tat gag ctg cag gtg cgg gca ggg ccc	626
	Glu Phe Arg Lys Asp Ser Ser Tyr Glu Leu Gln Val Arg Ala Gly Pro	
	190 195 200	
	atg cct ggc tcc tcc tac cag ggg acc tgg agt gaa tgg agt gac ccg	674
	Met Pro Gly Ser Ser Tyr Gln Gly Thr Trp Ser Glu Trp Ser Asp Pro	
	205 210 215 220	

Fig. 9A

gtc atc ttt cag acc cag tca gag gag tta aag gaa ggc tgg aac ggc Val Ile Phe Gln Thr Gln Ser Glu Glu Leu Lys Glu Gly Trp Asn Gly	722
225 230 235	
tcc ggc tct aga gac aaa act cac aca tgc cca ccg tgc cta gca cct Ser Gly Ser Arg Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro	770
240 245 250	
gaa ctc ctg ggg gga ccg tca gtc ttc ctc ttc ccc cca aaa ccc aag Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys	818
255 260 265	
gac acc ctc atg atc tcc cgg acc cct gag gtc aca tgc gtg gtg gtg Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val	866
270 275 280	
gac gtg agc cac gaa gac cct gag gtc aag ttc aac tgg tac gtg gac Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp	914
285 290 295 300	
ggc gtg gag gtg cat aat gcc aag aca aag ccg cgg gag gag cag tac Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr	962
305 310 315	
aac agc acg tac cgt gtg gtc agc gtc ctc acc gtc ctg cac cag gac Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp	1010
320 325 330	
tgg ctg aat ggc aag gag tac aag tgc aag gtc tct aac aaa gcc ctc Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu	1058
335 340 345	
cca gtc ccc atc gag aaa ace atc tcc aaa gcc aaa ggg cag ccc cga Pro Val Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg	1106
350 355 360	
gaa cca cag gtg tac acc ctg ccc cca tcc cgg gag gag atg acc aag Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys	1154
365 370 375 380	
aac cag gtc agc ctg acc tgc ctg gtc aaa ggc ttc tat ccc agc gac Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp	1202
385 390 395	
atc gcc gtg gag tgg gag agc aat ggg cag ccg gag aac aac tac aag Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys	1250
400 405 410	
acc acg cct ccc gtg ctg gac tcc gac ggc tcc ttc ttc ctc tat agc Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser	1298
415 420 425	
aag ctc acc gtg gac aag agc agg tgg cag cag ggg aac gtc ttc tca Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser	1346
430 435 440	

Fig. 9B

150

nn←70

tgc	tcc	gtg	atg	cat	gag	gct	ctg	cac	aac	cac	tac	acg	cag	aag	agc	1394
Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	
445					450				455						460	
ctc	tcc	ctg	tcc	ccg	ggt	aaa	tca	gga	atg	gca	tca	atg	aca	gga	ggt	1442
Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Lys	Ser	Gly	Met	Ala	Ser	Met	Thr	Gly	Gly	
				465				470						475		
caa	caa	atg	ggt	tct	gga	tct	cat	cat	cat	cat	cat	cat	tct	gga	ggt	1490
Gln	Gln	Met	Gly	Ser	Gly	Ser	His	His	His	His	His	His	Ser	Gly	Gly	
			480				485						490			
tgagaattc																1499

Fig. 9C

gcggccgcac cacc atg ccg cgt ggc tgg gcc gcc ccc ttg ctc ctg ctg	50
Met Pro Arg Gly Trp Ala Ala Pro Leu Leu Leu	
1 5 10	
ctg ctc cag gga ggc tgg ggc tgc ccc gac ctc gtc tgc tac acc gat	98
Leu Leu Gln Gly Gly Trp Gly Cys Pro Asp Leu Val Cys Tyr Thr Asp	
15 20 25	
tac ctc cag acg gtc atc tgc atc ctg gaa atg tgg aac ctc cac ccc	146
Tyr Leu Gln Thr Val Ile Cys Ile Leu Glu Met Trp Asn Leu His Pro	
30 35 40	
agc acg ctc acc ctt acc tgg caa gac cag tat gaa gag ctg aag gac	194
Ser Thr Leu Thr Leu Thr Trp Gln Asp Gln Tyr Glu Glu Leu Lys Asp	
45 50 55 60	
gag gcc acc tcc tgc agc ctc cac agg tgc gcc cac aat gct acg cat	242
Glu Ala Thr Ser Cys Ser Leu His Arg Ser Ala His Asn Ala Thr His	
65 70 75	
gcc acc tac acc tgc cac atg gat gta ttc cac ttc atg gcc gac gac	290
Ala Thr Tyr Thr Cys His Met Asp Val Phe His Phe Met Ala Asp Asp	
80 85 90	
att ttc agt gtc aac atc aca gac cag tct ggc aac tac tcc cag gag	338
Ile Phe Ser Val Asn Ile Thr Asp Gln Ser Gly Asn Tyr Ser Gln Glu	
95 100 105	
tgt gcc agc ttt ctc ctg gct gag agc atc aag ccg gct ccc cct ttc	386
Cys Gly Ser Phe Leu Leu Ala Glu Ser Ile Lys Pro Ala Pro Pro Phe	
110 115 120	
aac gtg act gtg acc ttc tca gga cag tat aat atc tcc tgg cgc tca	434
Asn Val Thr Val Thr Phe Ser Gly Gln Tyr Asn Ile Ser Trp Arg Ser	
125 130 135 140	
gat tac gaa gac cct gcc ttc tac atg ctg aag ggc aag ctt cag tat	482
Asp Tyr Glu Asp Pro Ala Phe Tyr Met Leu Lys Gly Lys Leu Gln Tyr	
145 150 155	
gag ctg cag tac agg aac cgg gga gac ccc tgg gct gtg agt ccg agg	530
Glu Leu Gln Tyr Arg Asn Arg Gly Asp Pro Trp Ala Val Ser Pro Arg	
160 165 170	
aga aag ctg atc tca gtg gac tca aga agt gtc tcc ctc ctc ccc ctg	578
Arg Lys Leu Ile Ser Val Asp Ser Arg Ser Val Ser Leu Leu Pro Leu	
175 180 185	
gag ttc cgc aaa gac tgc agc tat gag ctg cag gtg cgg gca ggg ccc	626
Glu Phe Arg Lys Asp Ser Ser Tyr Glu Leu Gln Val Arg Ala Gly Pro	
190 195 200	
atg cct ggc tcc tcc tac cag ggg acc tgg agt gaa tgg agt gac ccg	674
Met Pro Gly Ser Ser Tyr Gln Gly Thr Trp Ser Glu Trp Ser Asp Pro	
205 210 215 220	

Fig. 10A

nn152

gtc atc ttt cag acc cag tca gag gag tta aag gaa ggc tgg aac ggc	722
Val Ile Phe Gln Thr Gln Ser Glu Glu Leu Lys Glu Gly Trp Asn Gly	
225 230 235	
tcc ggc tct aga gac aaa act cac aca tgc cca ccg tgc cca gca cct	770
Ser Gly Ser Arg Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro	
240 245 250	
gaa gcc ctg ggg gca ccg tca gtc ttc ctc ttc ccc cca aaa ccc aag	818
Glu Ala Leu Gly Ala Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys	
255 260 265	
gac acc ctc atg atc tcc cgg acc cct gag gtc aca tgc gtg gtg gtg	866
Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val	
270 275 280	
gac gtg agc cac gaa gac cct gag gtc aag ttc aac tgg tac gtg gac	914
Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp	
285 290 295 300	
ggc gtg gag gtg cat aat gcc aag aca aag ccg cgg gag gag cag tac	962
Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr	
305 310 315	
aac agc acg tac cgt gtg gtc agc gtc ctc acc gtc ctg cac cag gac	1010
Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp	
320 325 330	
tgg ctg aat ggc aag gag tac aag tgc aag gtc tcc aac aaa gcc ctc	1058
Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu	
335 340 345	
cca gcc ccc atc gag aaa acc atc tcc aaa gcc aaa ggg cag ccc cga	1106
Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg	
350 355 360	
gaa cca cag gtg tac acc ctg ccc cca tcc cgg gag gag atg acc aag	1154
Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys	
365 370 375 380	
aac cag gtc agc ctg acc tgc ctg gtc aaa ggc ttc tat ccc agc gac	1202
Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp	
385 390 395	
atc gcc gtg gag tgg gag agc aat ggg cag ccg gag aac aac tac aag	1250
Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys	
400 405 410	
acc acg cct ccc gtg ctg gac tcc gac ggc tcc ttc ttc ctc tat agc	1298
Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser	
415 420 425	
aag ctc acc gtg gac aag agc agg tgg cag cag ggg aac gtc ttc tca	134
Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser	
430 435 440	

Figure 10B

tgc tcc gtg atg cat gag gct ctg cac aac cac tac acg cag aag agc 1394
 Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
 445 450 455 460

ctc tcc ctg tcc ccg ggt aaa tgaatgaatt c SEQ ID NO: 28 1426
 Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys SEQ ID NO: 29
 465

atg ccg cgt ggc tgg gcc gcc ccc ttg ctc ctg ctg ctg ctc cag gga	48
Met Pro Arg Gly Trp Ala Ala Pro Leu Leu Leu Leu Leu Gln Gly	
1 5 10 15	
ggc tgg ggc tgc ccc gac ctc gtc tgc tac acc gat tac ctc cag acg	96
Gly Trp Gly Cys Pro Asp Leu Val Cys Tyr Thr Asp Tyr Leu Gln Thr	
20 25 30	
gtc atc tgc atc ctg gaa atg tgg aac ctc cac ccc agc atg ctc acc	144
Val Ile Cys Ile Leu Glu Met Trp Asn Leu His Pro Ser Thr Leu Thr	
35 40 45	
ctt acc tgg caa gac cag tat gaa gag ctg aag gac gag gcc acc tcc	192
Leu Thr Trp Gln Asp Gln Tyr Glu Glu Leu Lys Asp Glu Ala Thr Ser	
50 55 60	
tgc agc ctc cac agg tgc gcc cac aat gcc acg cat gcc acc tac acc	240
Cys Ser Leu His Arg Ser Ala His Asn Ala Thr His Ala Thr Tyr Thr	
65 70 75 80	
tgc cac atg gat gta ttc cac ttc atg gcc gac gac att ttg agt gtc	288
Cys His Met Asp Val Phe His Phe Met Ala Asp Asp Ile Phe Ser Val	
85 90 95	
aac atc aca gac cag tct ggc aac tac tcc cag gag tgt gcc agc ttt	336
Asn Ile Thr Asp Gln Ser Gly Asn Tyr Ser Ser Gln Glu Cys Gly Ser Phe	
100 105 110	
ctc ctg gct gag agc atc aag ccg gct ccc cct ttc aac gtg act gtg	384
Leu Leu Ala Glu Ser Ile Lys Pro Ala Pro Pro Phe Asn Val Thr Val	
115 120 125	
acc ttc tca gga cag tat aat atc tcc tgg cgc tca gat tac gaa gac	432
Thr Phe Ser Gly Gln Tyr Asn Ile Ser Trp Arg Ser Asp Tyr Glu Asp	
130 135 140	
cct gtc ttc tac atg ctg aag ggc aag ctt cag tat gag ctg cag tac	480
Pro Ala Phe Tyr Met Leu Lys Gly Lys Leu Gln Tyr Glu Leu Gln Tyr	
145 150 155 160	
agg aac cgg gga gac ccc tgg gct gtg agt ccg agg aga aag ctg atc	528
Arg Asn Arg Gly Asp Pro Trp Ala Val Ser Pro Arg Arg Lys Leu Ile	
165 170 175	
tca gtg gac tca aga agt gtc tcc ctc ctc ccc ctg gag ttc cgc aaa	576
Ser Val Asp Ser Arg Ser Val Ser Leu Leu Pro Leu Glu Phe Arg Lys	
180 185 190	
gac tgc agc tat gag ctg cag gtg cgg gca ggg ccc atg cct gcc tcc	624
Asp Ser Ser Tyr Glu Leu Gln Val Arg Ala Gly Pro Met Pro Gly Ser	
195 200 205	
tcc tac cag ggg atc tgg agt gaa tgg agt gac ccg gtc atc ttt cag	672
Ser Tyr Gln Gly Thr Trp Ser Glu Trp Ser Asp Pro Val Ile Phe Gln	
210 215 220	

Figure 11A

notes

acc	cag	tca	gag	gag	tta	aag	gaa	gpc	tgg	aac	aaa	acc	gaa	acc	tcc	720
Thr	Gln	Ser	Glu	Glu	Leu	Lys	Glu	Gly	Trp	Asn	Lys	Thr	Glu	Thr	Ser	
225					230				235						240	
cag gtt gct ccg gca taa tga SEQ ID NO: 30																741
Gln Val Ala Pro Ala SEQ ID NO: 31																
245																

Figure 11B

atg ccg cgt ggc tgg gcc gcc ccc ttg ctc ctg ctg ctg ctc cag gga Met Pro Arg Gly Trp Ala Ala Pro Leu Leu Leu Leu Leu Gln Gly 1 5 10 15	48
ggc tgg ggc tgc ccc gac ctc gtc tgc tac acc gat tac ctc cag acg Gly Trp Gly Cys Pro Asp Leu Val Cys Tyr Thr Asp Tyr Leu Gln Thr 20 25 30	96
gtc atc tgc atc ctg gaa atg tgg aac ctc cac ccc agc acg ctc acc Val Ile Cys Ile Leu Glu Met Trp Asn Leu His Pro Ser Thr Leu Thr 35 40 45	144
ctt acc tgg caa gac cag tat gaa gag ctg aag gac gag gcc acc tcc Leu Thr Trp Gln Asp Gln Tyr Glu Glu Leu Lys Asp Glu Ala Thr Ser 50 55 60	192
tgc agc ctc cac agg tgc gcc cac aat gcc acg cat gcc acc tac acc Cys Ser Leu His Arg Ser Ala His Asn Ala Thr His Ala Thr Tyr Thr 65 70 75 80	240
tgc cac atg gat gta ttc cac ttc atg gcc gac gac att ttc agt gtc Cys His Met Asp Val Phe His Phe Met Ala Asp Asp Ile Phe Ser Val 85 90 95	288
aac atc aca gac cag tct ggc aac tac tcc cag gag tgt ggc agc ttt Asn Ile Thr Asp Gln Ser Gly Asn Tyr Ser Ser Gln Glu Cys Gly Ser Phe 100 105 110	336
ctc ctg gct gag agc atc aag ccg gct ccc cct ttc aac gtg act gtg Leu Leu Ala Glu Ser Ile Lys Pro Ala Pro Pro Phe Asn Val Thr Val 115 120 125	384
acc ttc tca gga cag tat aat atc tcc tgg cgc tca gat tac gaa gac Thr Phe Ser Gly Gln Tyr Asn Ile Ser Trp Arg Ser Asp Tyr Glu Asp 130 135 140	432
cct gcc ttc tac atg ctg aag ggc aag ctt cag tat gag ctg cag tac Pro Ala Phe Tyr Met Leu Lys Gly Lys Leu Gln Tyr Glu Leu Gln Tyr 145 150 155 160	480
agg aac cgg gga gac ccc tgg gct gtg agt ccg agg aga aag ctg atc Arg Asn Arg Gly Asp Pro Trp Ala Val Ser Pro Arg Arg Lys Leu Ile 165 170 175	528
tca gtg gac tca aga agt gtc tcc ctc ctc ccc ctg gag ttc cgc aaa Ser Val Asp Ser Arg Ser Val Ser Leu Leu Pro Leu Glu Phe Arg Lys 180 185 190	576
gac tgc agc tat gag ctg cag gtg cgg gca ggg ccc atg cct ggc tcc Asp Ser Ser Tyr Glu Leu Gln Val Arg Ala Gly Pro Met Pro Gly Ser 195 200 205	624
ttc tac cag ggg acc tgg agt gaa tgg agt gac ccg gtc atc ttt cag Ser Tyr Gln Gly Thr Trp Ser Glu Trp Ser Asp Pro Val Ile Phe Gln 210 215 220	672

Fig. 12A

acc cag tca gag gag tta aag gaa ggc tgg aac gat gac gat gac aag Thr Gln Ser Glu Glu Leu Lys Glu Gly Trp Asn Asp Asp Asp Asp Lys 225 230 235 240	720
ggc tcc ggc gac aaa act cac aca tgc cca ccg tgc cca gca cct gaa Gly Ser Gly Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu 245 250 255	768
gcc ctg ggg gca ccg tca gtc ttc ctc ttc ccc cca aaa ccc aag gac Ala Leu Gly Ala Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp 260 265 270	816
acc ctc atg atc tcc cgg acc cct gag gtc aca tgc gtg gtg gtg gac Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp 275 280 285	864
gtg agc cac gaa gac cct gag gtc aag ttc aac tgg tac gtg gac ggc Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly 290 295 300	912
gtg gag gtg cat aat gcc aag aca aag tgc cgg gag gag cag tac aac Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn 305 310 315 320	960
agc acg tac cgt gtg gtc agc gtc ctc acc gtc ctg cac cag gac tgg Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp 325 330 335	1008
ctg aat ggc aag gag tac aag tgc aag gtc tcc aac aaa gcc ctc cca Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro 340 345 350	1056
gcc ccc atc gag aaa acc atc tcc aaa gcc aaa ggg cag ccc cga gaa Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu 355 360 365	1104
cca cag gtg tac acc ctg tcc cca tcc cgg gag gag atg acc aag aac Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn 370 375 380	1152
cag gtc agc ctg acc tgc ctg gtc aaa ggc ttc tat ccc agc gac atc Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile 385 390 395 400	1200
gcc gtg gag tgg gag agc aat ggg cag ccg gag aac aac tac aag acc Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr 405 410 415	1248
acg cct ccc gtg ctg gac tcc gac ggc tcc ttc ttc ctc tat agc aag Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys 420 425 430	1296
ctc acc gtg gac aag agc agg tgg cag cag ggg aac gtc ttc tca tgc Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys 435 440 445	1344

Fig. 12B

tcc	gtg	atg	cat	gag	gct	ctg	cac	aac	cac	tac	acg	cag	aag	agc	etc	1392
Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	
450						455					460					
tcc	ctg	tcc	ccg	ggt	aaa	tga	SEQ ID NO: 32								1413	
Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Lys		SEQ ID NO: 33									
465					470											

Fig. 12C

3 30 NO:34	atg	ccc	cgg	ggc	cca	gtg	gct	gcc	tta	ctc	ctg	ctg	att	ctc	cat	gga	48
3 30 NO:35	Met	Pro	Arg	Gly	Pro	Val	Ala	Ala	Leu	Leu	Leu	Ile	Leu	His	Gly		
	1			5					10					15			
	gct	tgg	agc	tgc	ctg	gac	ctc	act	tgc	tac	act	gac	tac	ctc	tgg	acc	96
	Ala	Trp	Ser	Cys	Leu	Asp	Leu	Thr	Cys	Tyr	Thr	Asp	Tyr	Leu	Trp	Thr	
				20					25					30			
	atc	acc	tgt	gtc	ctg	gag	aca	cgg	agc	ccc	aac	ccc	agc	ata	ctc	agt	144
	Ile	Thr	Cys	Val	Leu	Glu	Thr	Arg	Ser	Pro	Asn	Pro	Ser	Ile	Leu	Ser	
			35					40					45				
	ctc	acc	tgg	caa	gat	gaa	tat	gag	gaa	ctt	cag	gac	caa	gag	acc	ttc	192
	Leu	Thr	Trp	Gln	Asp	Glu	Tyr	Glu	Glu	Leu	Gln	Asp	Gln	Glu	Thr	Phe	
			50				55					60					
	tgc	agc	cta	cac	agg	tct	ggc	cat	aac	acc	aca	cat	ata	tgg	tac	acg	240
	Cys	Ser	Leu	His	Arg	Ser	Gly	His	Asn	Thr	Thr	His	Ile	Trp	Tyr	Thr	
	65					70				75						80	
	tgc	cat	atg	cgc	ttg	tct	caa	ttc	ctg	tcc	gat	gaa	gtt	ttc	att	gtc	288
	Cys	His	Met	Arg	Leu	Ser	Gln	Phe	Leu	Ser	Asp	Glu	Val	Phe	Ile	Val	
					85					90					95		
	aat	gtg	acg	gac	cag	tct	ggc	aac	aac	tcc	caa	gag	tgt	ggc	agc	ttt	336
	Asn	Val	Thr	Asp	Gln	Ser	Gly	Asn	Asn	Ser	Gln	Glu	Cys	Gly	Ser	Phe	
				100				105						110			
	gtc	ctg	gct	gag	agc	atc	aaa	cca	gct	ccc	ccc	ttg	aac	gtg	act	gtg	384
	Val	Leu	Ala	Glu	Ser	Ile	Lys	Pro	Ala	Pro	Pro	Leu	Asn	Val	Thr	Val	
			115					120					125				
	gcc	ttc	tca	gga	cgc	tat	gat	atc	tcc	tgg	gac	tca	gct	tat	gac	gaa	432
	Ala	Phe	Ser	Gly	Arg	Tyr	Asp	Ile	Ser	Trp	Asp	Ser	Ala	Tyr	Asp	Glu	
			130				135					140					
	ccc	tcc	aac	tac	gtg	ctg	agg	ggc	aag	cta	caa	tat	gag	ctg	cag	tat	480
	Pro	Ser	Asn	Tyr	Val	Leu	Arg	Gly	Lys	Leu	Gln	Tyr	Glu	Leu	Gln	Tyr	
			145			150					155					160	
	cgg	aac	ctc	aga	gac	ccc	tat	gct	gtg	agg	ccg	gtg	acc	aag	ctg	atc	528
	Arg	Asn	Leu	Arg	Asp	Pro	Tyr	Ala	Val	Arg	Pro	Val	Thr	Lys	Leu	Ile	
					165					170					175		
	tca	gtg	gac	tca	aga	aac	gtc	tct	ctt	ctc	cct	gaa	gag	ttc	cac	aaa	576
	Ser	Val	Asp	Ser	Arg	Asn	Val	Ser	Leu	Leu	Pro	Glu	Glu	Phe	His	Lys	
				180				185						190			
	gat	tct	agc	tac	cag	ctg	cag	gtg	cgg	gca	gcg	cct	cag	cca	ggc	act	624
	Asp	Ser	Ser	Tyr	Gln	Leu	Gln	Val	Arg	Ala	Ala	Pro	Gln	Pro	Gly	Thr	
				195				200					205				
	tca	ttc	agg	ggg	acc	tgg	agt	gag	tgg	agt	gac	ccc	gtc	atc	ttt	cag	672
	Ser	Phe	Arg	Gly	Thr	Trp	Ser	Glu	Trp	Ser	Asp	Pro	Val	Ile	Phe	Gln	
		210					215					220					

Fig. 13A

acc	cag	gct	ggg	gag	ctc	gag	gca	ggc	tgg	gac	ggc	tcc	ggc	tct	aga	720
Thr	Gln	Ala	Gly	Glu	Pro	Glu	Ala	Gly	Trp	Asp	Gly	Ser	Gly	Ser	Arg	
225					230					235					240	
gagccccgcg	gaccgacaat	caagccctgt	cctccatgca	aatgcccagg	taagtcacta	780										
gaccagagct	ccactccccg	gagaatggta	agtgtataa	acatccctgc	actagaggat	840										
aagccatgta	cagatccatt	tccatctctc	ctcatcagca	cctaacctcg	agggtygacc	900										
atccgtcttc	atcttccctc	caaagatcaa	ggatgtactc	atgatctccc	tgagcccat	960										
agtcacatgt	gtggtygtgg	atgtgagcga	ggatgacca	gatgtccaba	tcagctggtt	1020										
tgtgaacaac	gtggaagtac	acacagctca	gacacaaacc	catagagagg	attacaacag	1080										
tactctccg	gtggtcagtg	ccctcccat	ccagcaccag	gactggatga	gtggcaaggc	1140										
tttcgcatgc	gccgtcaaca	acaaagacct	ccagcgccc	atcgagagaa	ccatctcaaa	1200										
acccaagggt	gagagctgca	gcctgatigc	atgggggctg	ggatgggcat	aaggataaag	1260										
gtctgtgtgg	acagcctttt	gcttcagcca	tgacctttgt	gtatgtttct	accctcacag	1320										
ggtcagtaag	agctccacag	gtatatgtct	tgctccacc	agaagaagag	atgactaaga	1380										
aacagggtac	tctgacctgc	atggtcacag	acttcatgcc	tgaagacatt	tacgtggagt	1440										
ggaccaacaa	cgggaabaca	gagctaaact	acaagaacac	tgaaccagtc	ctggactctg	1500										
atggttctta	cttcatgtac	agcaagctga	gagtggaaaa	gaagaactgg	gtggaagaa	1560										
atagctactc	ctgttcagtg	gtccacgagg	gtctgcacaa	tcaccaacag	actaagagct	1620										
tctcccgac	tccgggtaaa	tgagctcagc	accacadaa	ctctcaggtc	caagagaca	1680										
cccacactca	tctctatgct	icctttgtat	aaataaagca	cccagcaatg	cctgggacca	1740										
tgtaatagga	attc					1754										

Fig. 13B

ctgcaggctcg acaccacc atg ccc cgg ggc cca gtg gct gcc tta ctc ctg	51
Met Pro Arg Gly Pro Val Ala Ala Leu Leu Leu	10
1	
ctg att ctc cat gga gct tgg agc tgc ctg gac ctc act tgc tac act	99
Leu Ile Leu His Gly Ala Trp Ser Cys Leu Asp Leu Thr Cys Tyr Thr	25
15	
gac tac ctc tgg acc atc acc tgt gtc ctg gag aca cgg agc ccc aac	147
Asp Tyr Leu Trp Thr Ile Thr Cys Val Leu Glu Thr Arg Ser Pro Asn	40
30	
ccc agc ata ctc agt ctc acc tgg caa gat gaa tat gag gaa ctt cag	195
Pro Ser Ile Leu Ser Leu Thr Trp Gln Asp Glu Tyr Glu Glu Leu Gln	55
45	
gac caa gag acc ttc tgc agc cta cac agg tct ggc cac aac acc aca	243
Asp Gln Glu Thr Phe Cys Ser Leu His Arg Ser Gly His Asn Thr Thr	75
60	
cat ata tgg tac acg tgc cat atg cgc ttg tct caa ttc ctg tcc gat	291
His Ile Trp Tyr Thr Cys His Met Arg Leu Ser Gln Phe Leu Ser Asp	90
80	
gaa gtt ttc att gtc aat gtg acg gac cag tct ggc aac aac tcc caa	339
Glu Val Phe Ile Val Asn Val Thr Asp Gln Ser Gly Asn Asn Ser Gln	105
95	
gag tgt ggc agc ttt gtc ctg gct gag agc atc aaa cca gct ccc ccc	387
Glu Cys Gly Ser Phe Val Leu Ala Glu Ser Ile Lys Pro Ala Pro Pro	120
110	
ttg aac gtg act gtg ggc ttc tca gga cgc tat gat atc tcc tgg gac	435
Leu Asn Val Thr Val Ala Phe Ser Gly Arg Tyr Asp Ile Ser Trp Asp	135
125	
tca gct tat gac gaa ccc tcc aac tac gtg ctg agg ggc aag cta caa	483
Ser Ala Tyr Asp Glu Pro Ser Asn Tyr Val Leu Arg Gly Lys Leu Gln	155
140	
tat gag ctg cag tat cgg aac ctc aga gac ccc tat gct gtg agg ccg	531
Tyr Glu Leu Gln Tyr Arg Asn Leu Arg Asp Pro Tyr Ala Val Arg Pro	170
160	
gtg acc aag ctg atc tca gtg gat tca aga aac gtc tct ctt ctc cct	579
Val Thr Lys Leu Ile Ser Val Asp Ser Arg Asn Val Ser Leu Leu Pro	185
175	
gaa gag ttc cac aaa gat tct agc tac cag ctg cag gtg cgg gca gcg	627
Glu Glu Phe His Lys Asp Ser Ser Tyr Gln Leu Gln Val Arg Ala Ala	200
190	
cct cag cca ggc act tca ttc agg ggg acc tgg agt gag tgg agt gac	675
Pro Gln Pro Gly Thr Ser Phe Arg Gly Thr Trp Ser Glu Trp Ser Asp	215
205	
210	

Fig. 14A

NOTE 2

ccc gtc atc ttt cag acc cag gct ggg gag ccc gag gca ggc tgg gac	723
Pro Val ile Phe Gln Thr Gln Ala Gly Glu Pro Glu Ala Gly Trp Asp	
220 225 230 235	
ggc agc gga cac cac cat cat cac cac ggt agc ggc gac tat aaa gac	771
Gly Ser Gly His His His His His His Gly Ser Gly Asp Tyr Lys Asp	
240 245 250	
gat gac gat aag tagtgagaat tc SEQ ID NO: 36	795
Asp Asp Asp Lys SEQ ID NO: 37	
255	

Fig. 14B

atg	aaa	ttc	tta	gtc	aac	gtt	gcc	cct	gtt	ttt	atg	gtc	gtg	tac	att	48
Met	Lys	Phe	Leu	Val	Asn	Val	Ala	Leu	Val	Phe	Met	Val	Val	Tyr	Ile	
1				5					10					15		
tct	tac	atc	tat	gcc	ggc	agc	gga	cac	cac	cat	cat	cac	cac	ggt	agc	96
Ser	Tyr	Ile	Tyr	Ala	Gly	Ser	Gly	His	His	His	His	His	His	Gly	Ser	
			20					25					30			
ggc	gac	tat	aaa	gac	gat	gac	gat	aag	ggt	tcc	gga	tgc	ctg	gac	ctc	144
Gly	Asp	Tyr	Lys	Asp	Asp	Asp	Asp	Lys	Gly	Ser	Gly	Cys	Leu	Asp	Leu	
			35				40					45				
act	tgc	tac	act	gac	tac	ctc	tgg	acc	atc	acc	tgt	gtc	ctg	gag	aca	192
Thr	Cys	Tyr	Thr	Asp	Tyr	Leu	Trp	Thr	Ile	Thr	Cys	Val	Leu	Glu	Thr	
	50					55					60					
cgg	agc	ccc	aac	ccc	agc	ata	ctc	agt	ctc	acc	tgg	caa	gat	gaa	tat	240
Arg	Ser	Pro	Asn	Pro	Ser	Ile	Leu	Ser	Leu	Thr	Trp	Gln	Asp	Glu	Tyr	
65					70					75					80	
gag	gaa	ctt	cag	gac	caa	gag	acc	ttc	tgc	agc	cta	cac	agg	tct	ggc	288
Glu	Glu	Leu	Gln	Asp	Gln	Glu	Thr	Phe	Cys	Ser	Leu	His	Arg	Ser	Gly	
				85					90					95		
cac	aac	acc	aca	cat	ata	tgg	tac	acg	tgc	cat	atg	cgc	tig	tct	caa	336
His	Asn	Thr	Thr	His	Ile	Trp	Tyr	Thr	Cys	His	Met	Arg	Leu	Ser	Gln	
			100					105					110			
ttc	ctg	tcc	gat	gaa	gtt	ttc	att	gtc	aat	gtg	acg	gac	cag	tct	ggc	384
Phe	Leu	Ser	Asp	Glu	Val	Phe	Ile	Val	Asn	Val	Thr	Asp	Gln	Ser	Gly	
			115				120					125				
aac	aac	tcc	caa	gag	tgt	ggc	agc	ttt	gtc	ctg	gct	gag	agc	atc	aaa	432
Asn	Asn	Ser	Gln	Glu	Cys	Gly	Ser	Phe	Val	Leu	Ala	Glu	Ser	Ile	Lys	
			130			135					140					
cca	gct	ccc	ccc	tig	aac	gtg	act	gtg	gcc	ttc	tca	gga	cgc	tat	gat	480
Pro	Ala	Pro	Pro	Leu	Asn	Val	Thr	Val	Ala	Phe	Ser	Gly	Arg	Tyr	Asp	
145					150				155						160	
atc	tcc	tgg	gac	tca	gct	tat	gac	gaa	ccc	tcc	aac	tac	gtg	ctg	agg	528
Ile	Ser	Trp	Asp	Ser	Ala	Tyr	Asp	Glu	Pro	Ser	Asn	Tyr	Val	Leu	Arg	
			165						170					175		
ggc	aag	cta	caa	tat	gag	ctg	cag	tat	cgg	aac	ctc	aga	gac	ccc	tat	576
Gly	Lys	Leu	Gln	Tyr	Glu	Leu	Gln	Tyr	Arg	Asn	Leu	Arg	Asp	Pro	Tyr	
			180					185					190			
gct	gtg	agg	ccg	gtg	acc	aag	ctg	atc	tca	gtg	gac	tca	aga	aac	gtc	624
Ala	Val	Arg	Pro	Val	Thr	Lys	Leu	Ile	Ser	Val	Asp	Ser	Arg	Asn	Val	
		195					200					205				
tct	ctt	ctc	cct	gaa	gag	ttc	cac	aaa	gat	tct	agc	tac	cag	ctg	cag	672
Ser	Leu	Leu	Pro	Glu	Glu	Phe	His	Lys	Asp	Ser	Ser	Tyr	Gln	Leu	Gln	
	210					215					220					

Fig. 15A

Timetable for the CIA Model

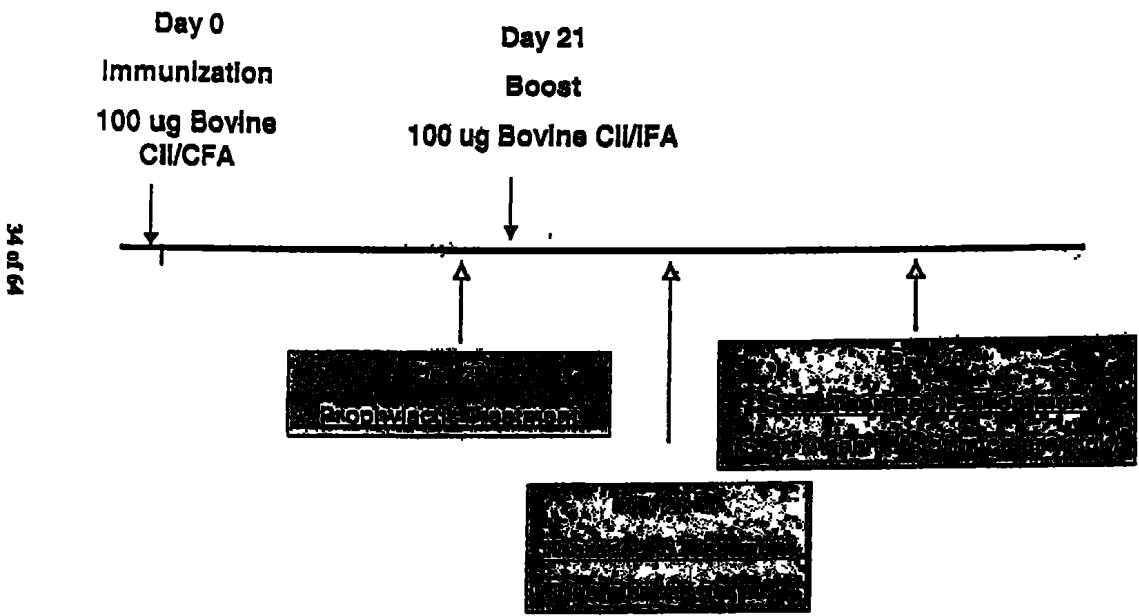


FIG 16

un45

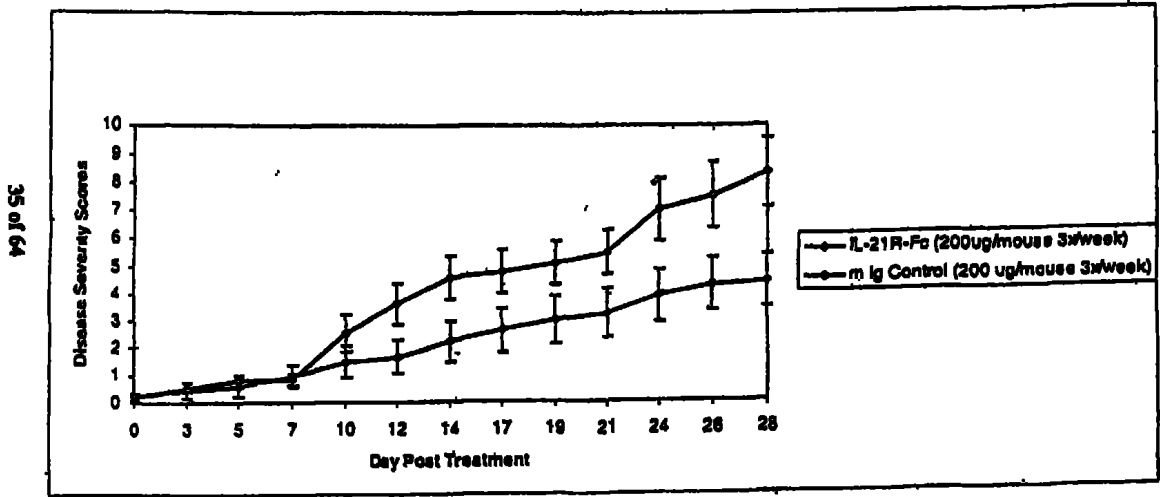
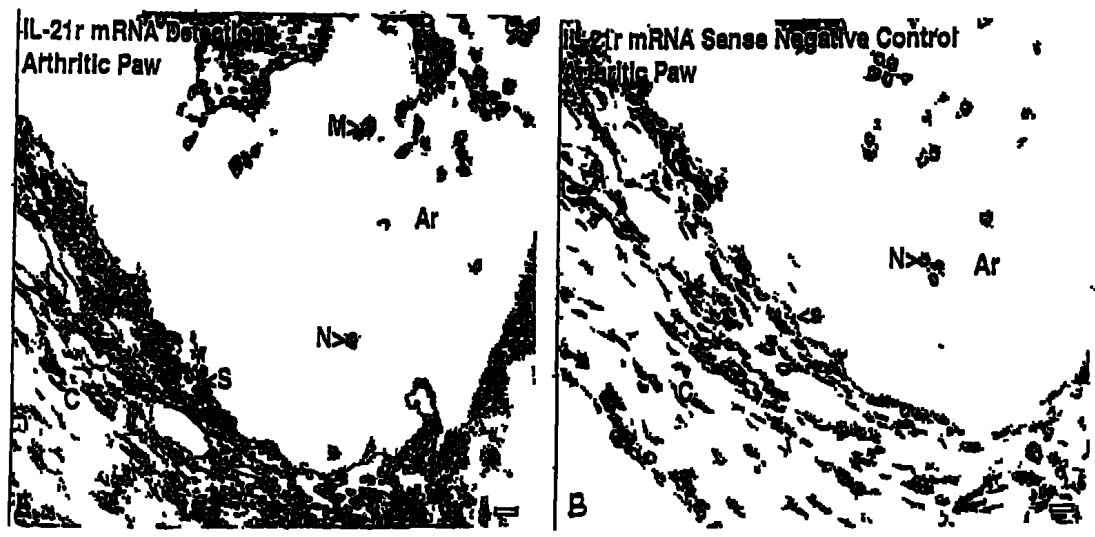


FIG.17

unif

1557



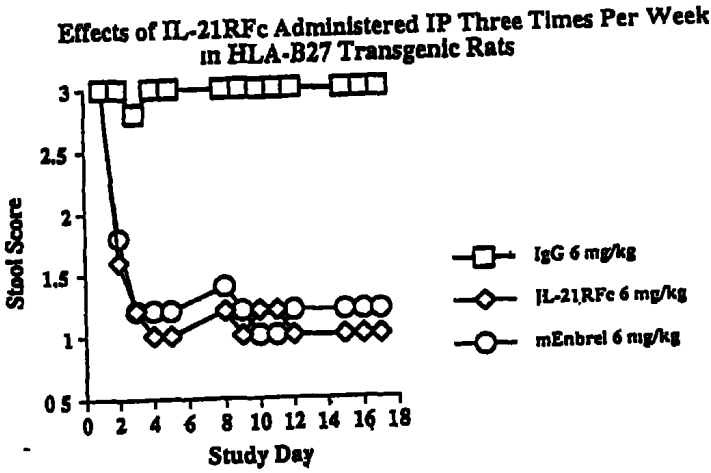
36 of 64
FIG 18

mIL21RFc reduces disease in spontaneous model of Inflammatory bowel disease when administered therapeutically

FIG. 19



In situ mRNA expression of IL21R in normal human intestine



168

Murine IL21R-Fc reduces clinical signs of IBD in HLAB27 rat model of autoimmunity

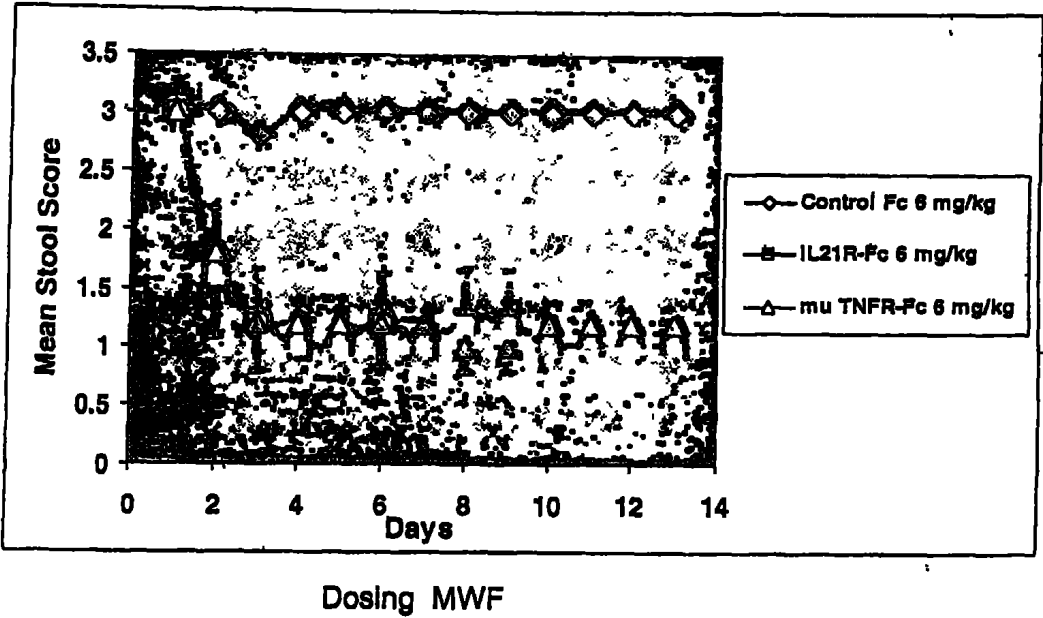


FIG. 20
38 of 64

6449

Soluble IL21R reduces clinical signs of IBD in HLAB27 rat model of autoimmunity

Histological scoring of disease severity in rat IBD model

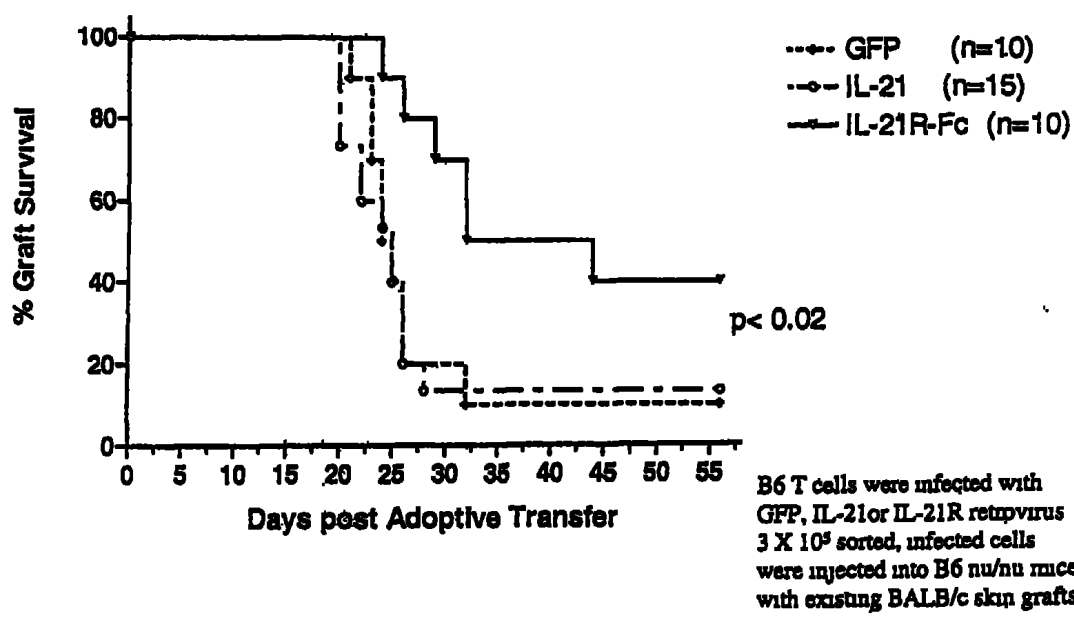
Group	Ulceration (0-2)	Inflammation (0-3)	Lesion Depth (0-3)	Fibrosis 0-2	Total score 0-10
IgG 6 mg/kg	1.8 + 0.45	2.6 + 0.37	1.93 + 0.60	1.33 + 0.34	7.67 + 1.62
TNFR-Fc 6 mg/kg	0.53 + 0.30	1.00 + 0.53*	0.40 + 0.37	0.33 + 0.24	2.27 + 1.23
IL21R-Fc 6 mg/kg	0.53 + 0.56	0.80 + 0.45*	0.47 + 0.45	0.20 + 0.30	2.00 + 1.70
*sig < vehicle (p < 0.05) ANOVA & Duncan's New Multiple Range Test					

Fig. 21
39 of 64

nm170

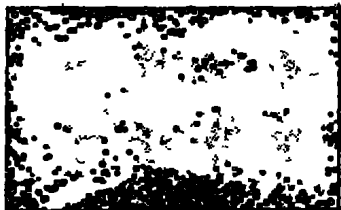
Retroviral Transduction of Graft Rejecting T cells IL-21R α

FIG. 22
40 of 64

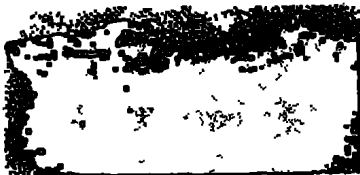


0.0571

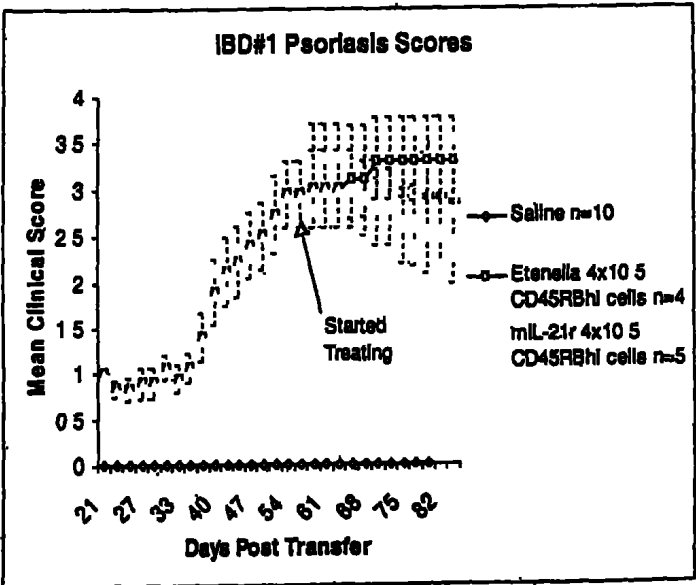
Therapeutic treatment with IL21RFc reverses clinical signs of psoriasis in CD45RBhi adoptive transfer model



Before treatment with IL21RFc:
loss of hair on face and back



9 doses of IL21RFc: hair is
restored



Mice were dosed ip with murine IL21RFc 200ug MWF

FIG 23
41 of 64

un

Figure 24

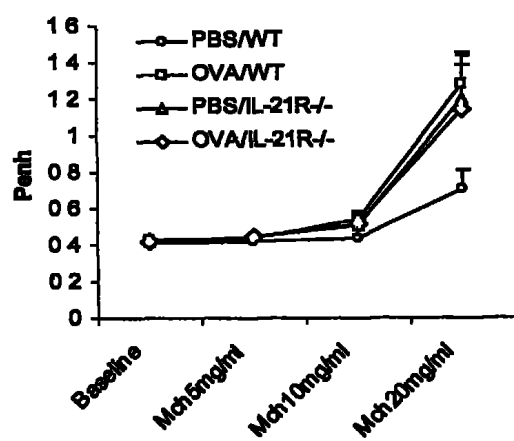


Figure 25

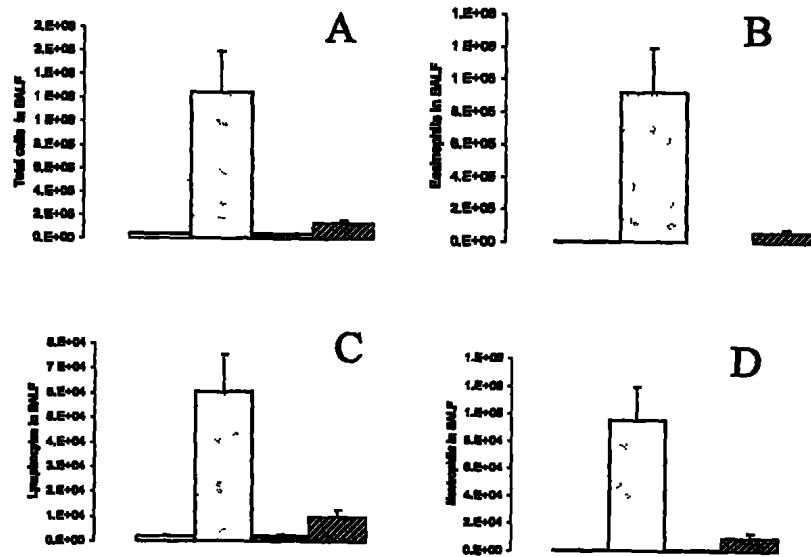


Figure 26

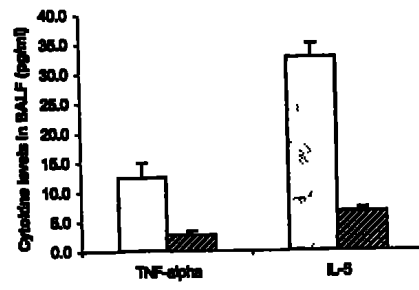
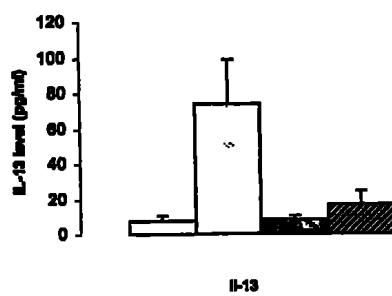


Figure 26

Figure 27



nK49S

Figure 28

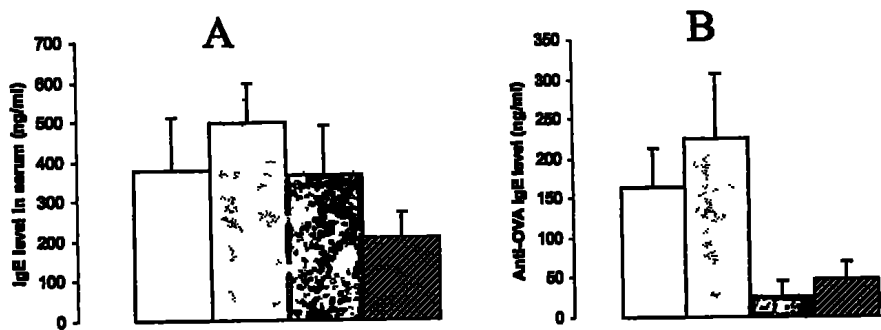


Figure 29

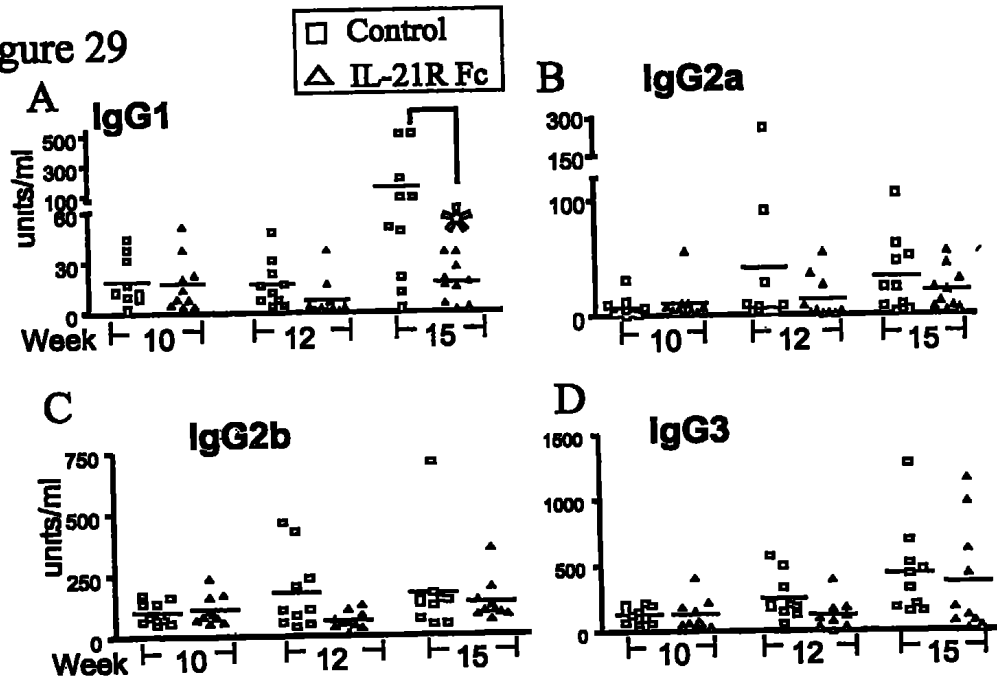
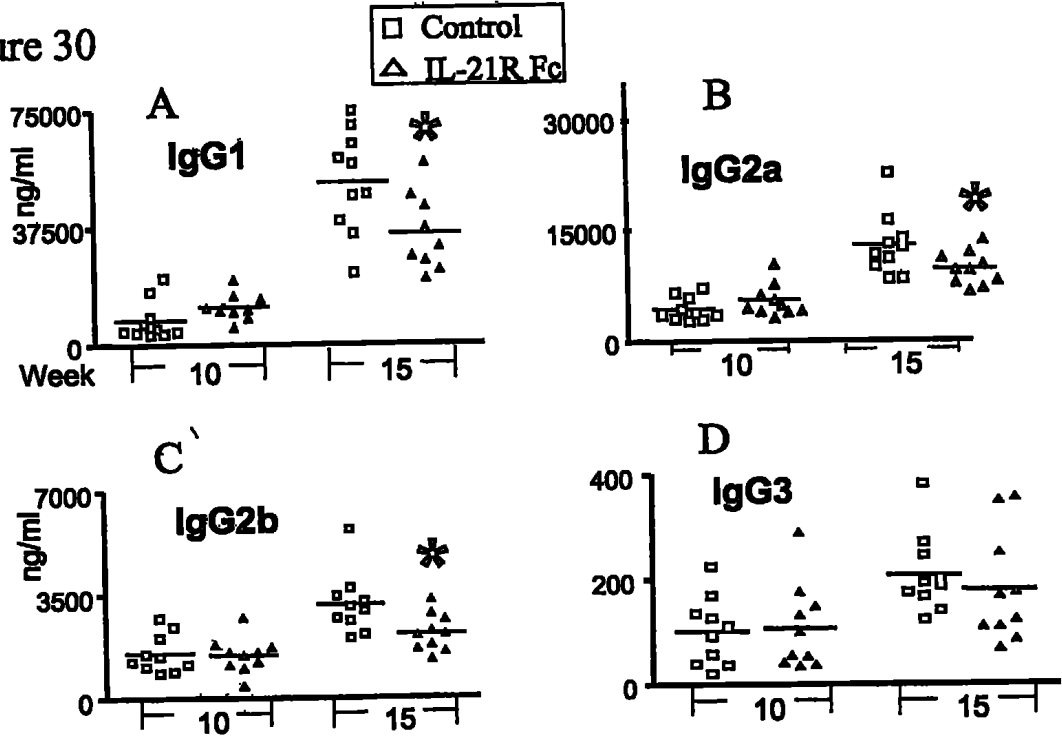


Figure 30



48 of 64

64 of 79

Figure 31

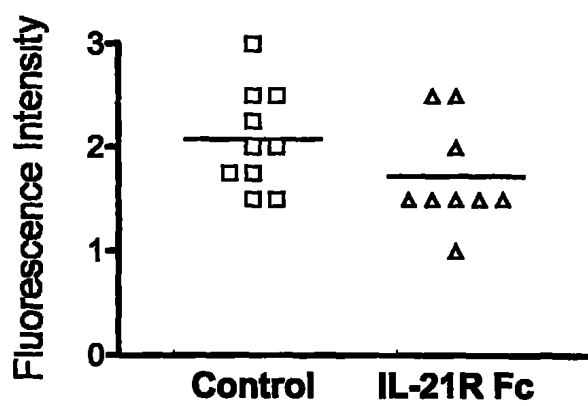
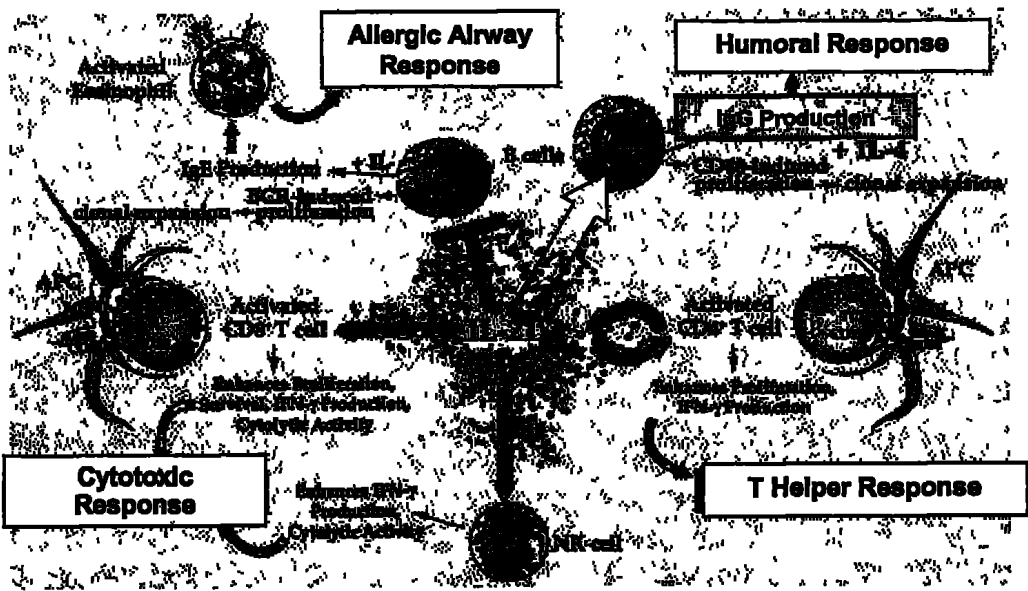


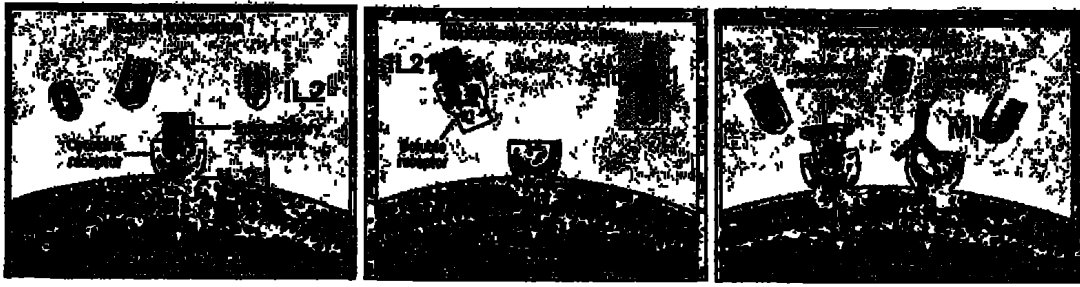
Figure 32



50 of 64

181

Figure 33

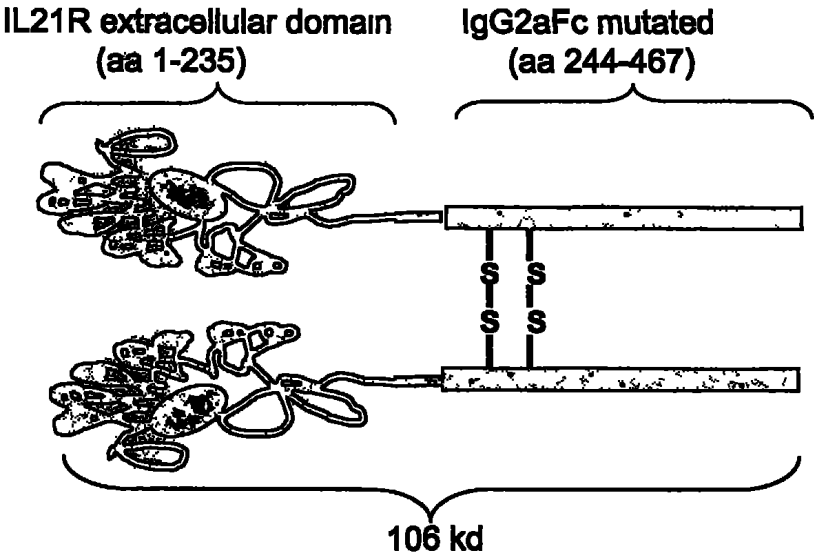


IL21 amplifies
inflammatory
response

IL21R-Fc Inhibits
binding of IL21 to
IL21 receptor
Anti-IL21 antibody
sequesters IL21
from IL21 receptor

Anti-IL21R
antibody blocks
binding of IL21 to
IL21 receptor

Figure 34



52 of 64

20193

Figure 35

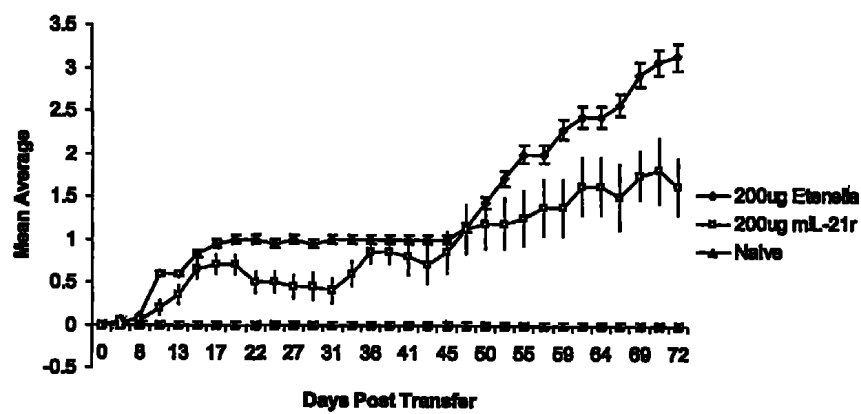
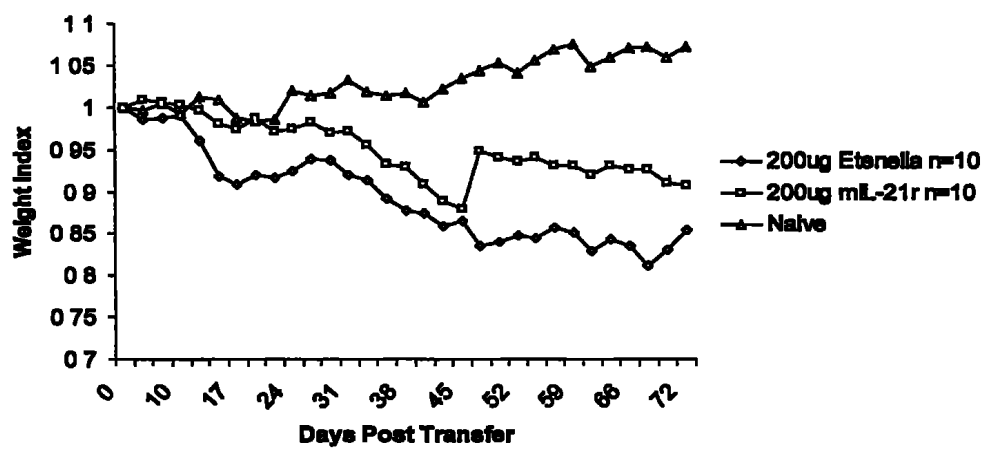


Figure 36

				Psoriasis	
Treatment	Incidence of Psoriasis	Avg Day Onset	Ttest	Avg Highest Score	Ttest
200ug Anti Etenella	9/10	13.3±3.28		2.72±1.09	
200ug mL-21r	9/10	30.67± 21.68	0.043	1.78±1.09	0.086

Figure 37



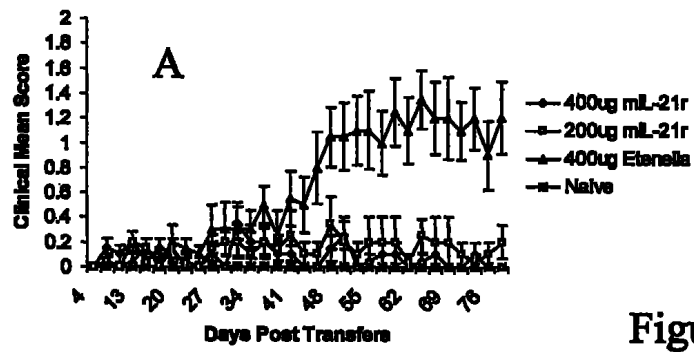


Figure 38

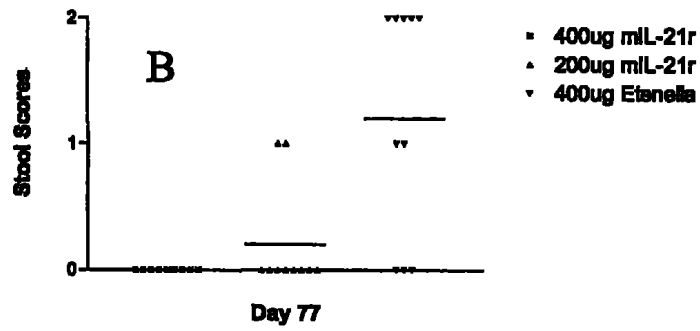


Figure 39

IBD#14 IBD(Stool)					
Treatment	Incidence of IBD	Avg Day Onset	Ttest	Avg Highest Score	Ttest
400ug Anti Etenella	9/10	38 22± 14 86		1 778±0.441	
200ug mL-21r	6/10	38 67±13 74	0 954	1 167±0.408	0 018
400ug mL-21r	8/10	45 5±17 485	0 261	1±0	7E-04

57 of 64

807777

Figure 40

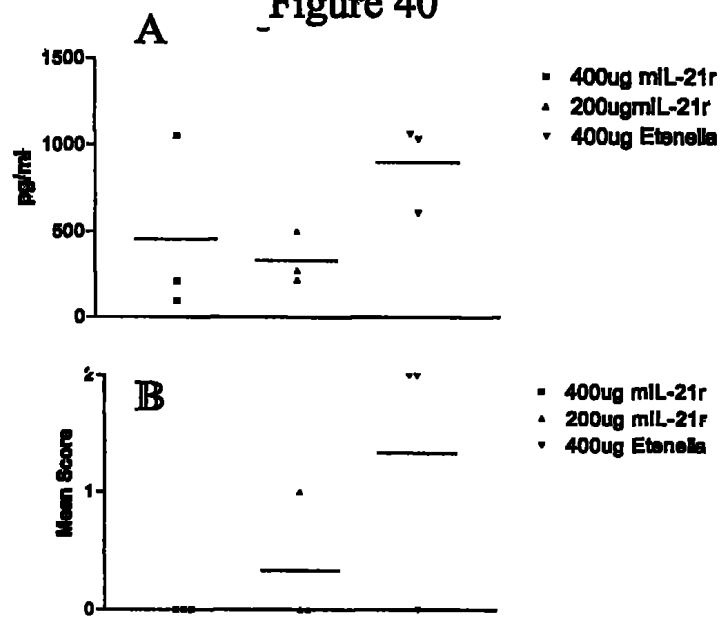
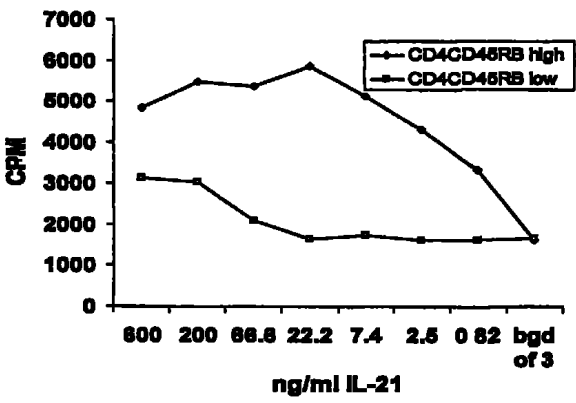


Figure 41



59 of 64

007100

Figure 42A

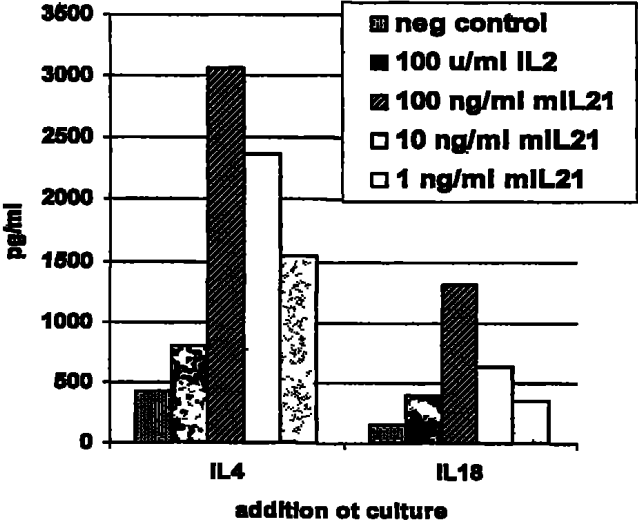


Figure 42B

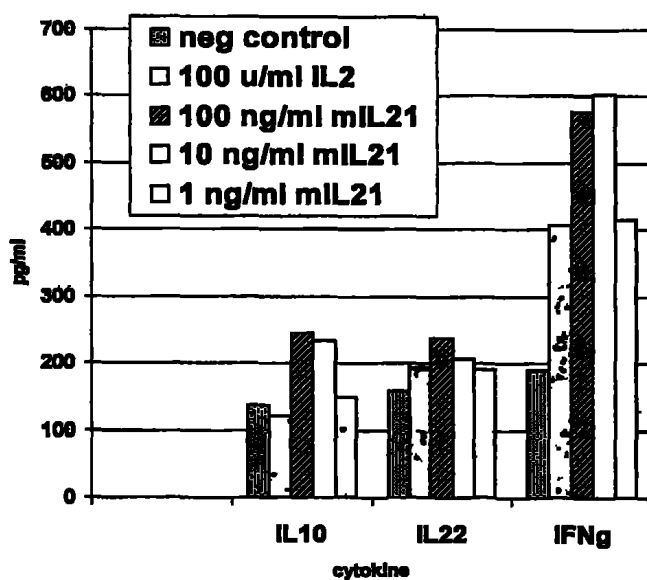
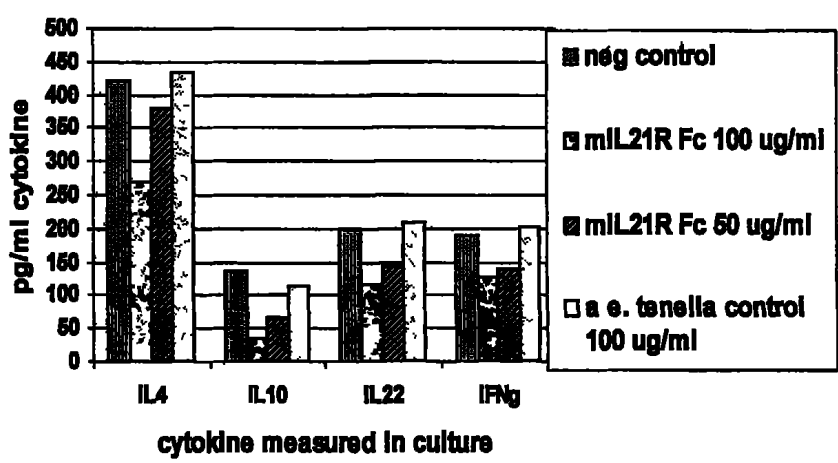


Figure 43



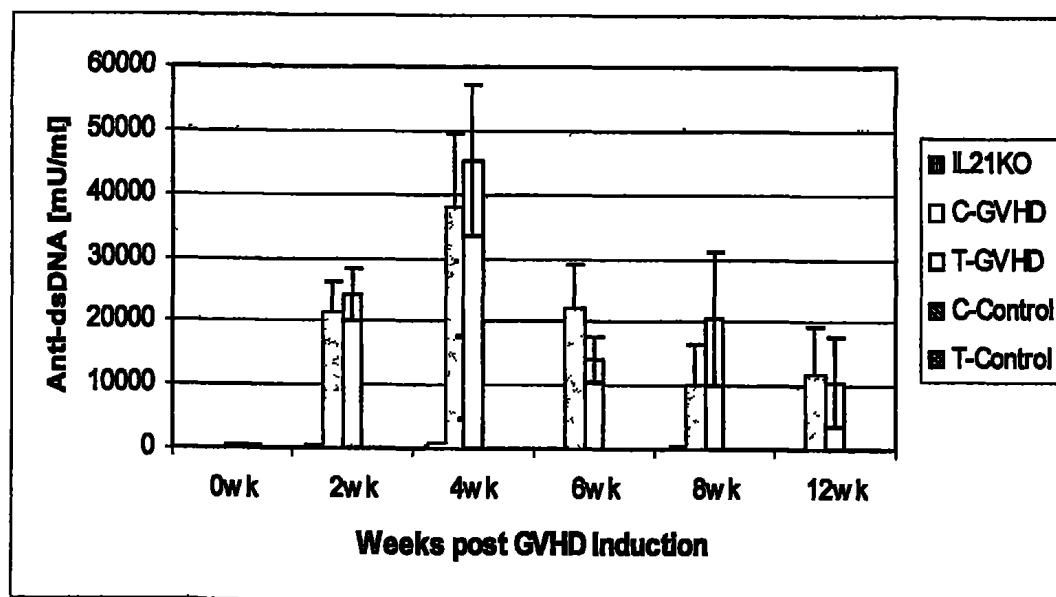


Figure 44A

64 of 64

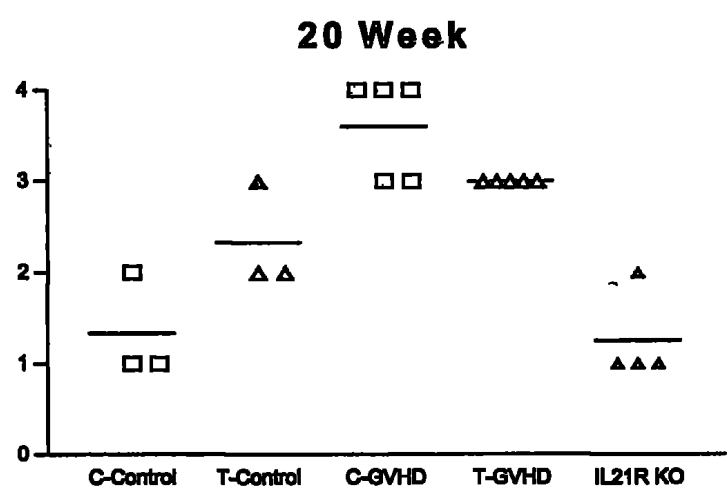


Figure 44B

DocNY_Main 516622v1

00105

ANTAGONISMO DE LA ACTIVIDAD DEL RECEPTOR DE INTERLEUQUINA

21

[0001] Esta solicitud reivindica el beneficio de la Solicitud Provisional de los EEUU con N° de Acta 60/599086, presentada el 5 de Agosto de 2004, y la Solicitud Provisional de los EEUU con N° de Acta 60/639176, presentada el 23 de Diciembre de 2004, ambas incorporadas por completo en la presente documentación a modo de referencia.

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

Campo de la invención

[0002] La presente invención se relaciona con métodos y composiciones para antagonizar, reducir y/o inhibir la actividad del receptor de Interleuquina-21 (IL-21)/IL-21 (MU-1) usando antagonistas de receptores IL-21. Los métodos y las composiciones descriptas en la presente documentación son útiles como agentes inmunoterapéuticos.

Antecedentes técnicos relacionados

[0003] La IL-21 humana es una citoquina que tiene homología de secuencia con IL-2, IL-4 e IL-15 (Parrish-Novak et al. (2000) *Nature* 408:57-63). A pesar de la homología de secuencia reducida entre las citoquinas tipo interleuquina, las citoquinas comparten un plegamiento común en una estructura de "haz de cuatro hélices" que es representativa de la familia. La mayor parte de las citoquinas se unen a receptores de citoquina clase I o clase II. Los receptores de citoquina clase II incluyen los receptores de IL-10 y los interferones, mientras que los receptores de citoquina clase I incluyen los receptores de IL-2 a IL-7, IL-9, IL-11, IL-12, IL-13 e IL-15, así como los factores de crecimiento hematopoyético, la leptina y la hormona de crecimiento (Cosman (1993)

Cytokine 5:95-106).

[0004] El receptor de IL-21 humano (IL-21R) es un receptor de citoquina clase I que se expresa en tejidos linfoides, en particular en células NK, B y T (Parrish-Novak et al. (2000) *supra*). Se describen las secuencias de nucleótidos y aminoácidos que codifican la interleuquina 21 (IL-21) humana y su receptor (IL-21R) en WO 00/53761; WO 01/85792; Parrish-Novak et al. (2000) *supra*; y Ozaki et al. (2000) *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 97:11439-44. IL-21R tiene la mayor homología de secuencia con la cadena β del receptor de IL-2 y la cadena α del receptor de IL-4 (Ozaki et al. (2000) *supra*). Al unirse el ligando, IL-21R se asocia con la cadena gamma común del receptor de citoquina (γ_c), que es compartida por los receptores de IL-2, IL-3, IL-4, IL-7, IL-9, IL-13 e IL-15 (Ozaki et al. (2000) *supra*; Asao et al. (2001) *J. Immunol.* 167:1-5). La distribución linfoides dispersa de IL-21R sugiere que IL-21 puede participar en la regulación inmune. Más aún, los estudios *in vitro* han demostrado que IL-21 modula significativamente la función de las células B, las células T CD4⁺ y CD8⁺, y las células NK (Parrish-Novak et al. (2000) *supra*; Kasaian et al. (2002) *Immunity.* 16:559-69). Aún así, la evidencia que apoya el efecto regulador de IL-21 *in vivo* es limitada.

RESUMEN DE LA INVENCION

[0005] Se describen métodos y composiciones para interferir con la actividad y/o la interacción entre la interleuquina-21 (IL-21) y un receptor de IL-21 (también conocido en la presente documentación como "IL-21R" o "MU-1"), por ejemplo, usando antagonistas de IL-21 o IL-21R (también conocidos en la presente documentación como "antagonistas de IL-21/IL-21R", "antagonistas" o "antagonistas de la vía de IL-21/IL-21R").

[0006] Por ejemplo, los solicitantes han demostrado que la reducción de la actividad de IL-21R usando un antagonista de IL-21, por ejemplo, una proteína de fusión que incluye el dominio extracelular de IL-21R fusionado a una región de inmunoglobulina Fc, mejora los síntomas inflamatorios en varios modelos animales diferentes, útiles para predecir razonablemente los trastornos inflamatorios y/o autoinmunes, tales como la enfermedad intestinal inflamatoria (IBD), la artritis reumatoide (RA), el rechazo de trasplantes/injertos, la enfermedad del injerto versus el huésped, el asma, el lupus eritematoso sistémico (SLE) (incluyendo una forma de glomerulonefritis), y la psoriasis (Ejemplos 7-14). La expresión del ARNm de IL-21R es regulada positivamente en las patas de ratones con artritis inducida por colágeno (CIA) (Ejemplo 8). Además, un ratón con deficiencia de IL-21R presentó una reducción de los síntomas en un modelo de asma (Ejemplo 12). Por consiguiente, pueden usarse antagonistas de la actividad de IL-21/IL-21R para inducir la supresión inmune *in vivo*, por ejemplo, para tratar o prevenir trastornos inflamatorios o autoinmunes. Estos antagonistas también pueden usarse para tratar o prevenir un trastorno inmune asociado a células, por ejemplo, un trastorno asociado con la actividad aberrante de una o más células T maduras (por ejemplo, células T CD8+ o CD4+ maduras), células NK maduras, células B, macrófagos y megacariocitos.

[0007] Por consiguiente, en un aspecto, la invención proporciona un método para tratar (por ejemplo, curar, suprimir, demorar), mejorar (por ejemplo, disminuir, aliviar, reducir, aminorar) y/o prevenir (por ejemplo, prevenir el inicio, prevenir la ocurrencia o el relapso) de un trastorno inflamatorio o autoinmune en un sujeto. El método incluye: administrar al sujeto un antagonista de IL-

21/IL-21R, por ejemplo, en una cantidad suficiente para tratar, mejorar o prevenir el trastorno, o en una cantidad suficiente para inhibir o reducir la actividad de las células inmunes y/o la cantidad de dichas células.

[0008] El antagonista de IL-21/IL-21R puede administrarse al sujeto solo o en combinaciones de antagonistas de IL-21/IL-21R, o en combinación con otras modalidades terapéuticas, como se describe en la presente documentación. Preferiblemente, el sujeto es un mamífero, por ejemplo, un ser humano, que sufre o está en riesgo de contraer un trastorno inflamatorio o autoinmune. Por ejemplo, puede usarse el método para tratar o prevenir un trastorno inflamatorio o autoinmune en un sujeto. Los ejemplos de estos trastornos incluyen, sin limitaciones, el rechazo de trasplantes/injertos; la diabetes mellitus (por ejemplo, de tipo I); la esclerosis múltiple; un trastorno artrítico (por ejemplo, artritis reumatoide (RA), la artritis reumatoide juvenil, la osteoartritis, la artritis psoriática, o la espondilitis anquilosante (preferiblemente la RA)); la miastenia gravis; la vasculitis; el lupus eritematoso sistémico (SLE); la glomerulonefritis; la tiroiditis autoinmune; un trastorno inflamatorio cutáneo (por ejemplo, la dermatitis (incluyendo la dermatitis atópica y la dermatitis eccematosa), el escleroderma, o la psoriasis); el lupus eritematoso; una fibrosis o un trastorno fibrótico (por ejemplo, la fibrosis pulmonar o la fibrosis hepática); un trastorno respiratorio (por ejemplo, el asma o la COPD); un trastorno atópico (por ejemplo, incluyendo la alergia); o un trastorno inflamatorio intestinal (por ejemplo, una IBD, por ejemplo, la enfermedad de Crohn o la colitis ulcerativa).

[0009] Se prefiere el tratamiento de un trastorno seleccionado entre el lupus eritematoso, un trastorno inflamatorio cutáneo (por ejemplo, la psoriasis), un trastorno inflamatorio intestinal (por ejemplo, la IBD, la enfermedad de Crohn,

la colitis ulcerativa), el rechazo de trasplantes/injertos, el asma, un trastorno atópico, o la artritis reumatoide, usando los antagonistas de IL-21 o IL-21R de la presente invención.

[0010] En una realización, el antagonista de IL-21/IL-21R interactúa, por ejemplo, se une a un IL-21 o un IL-21R, preferiblemente de mamífero, por ejemplo, un IL-21 o un IL-21R humano (conocido en la presente documentación como "antagonista de IL-21" y "antagonista de IL-21R", respectivamente), y reduce o inhibe una o más actividades de IL-21 y/o IL-21R. Los antagonistas preferidos se unen a IL-21 o IL-21R con gran afinidad, por ejemplo, con una afinidad constante de al menos aproximadamente 10^7 M^{-1} , preferiblemente aproximadamente 10^8 M^{-1} , y más preferiblemente aproximadamente entre 10^9 M^{-1} y 10^{10} M^{-1} o mayor.

[0011] Por ejemplo, un antagonista de IL-21/IL-21R puede reducir y/o inhibir la actividad de IL-21R neutralizando IL-21. En una realización, el antagonista puede ser una proteína de fusión que incluye un fragmento de un IL-21R fusionado a un fragmento que no pertenece a IL-21R, por ejemplo, una región de inmunoglobulina Fc. En otras realizaciones, el antagonista es un anticuerpo anti-IL-21R o anti-IL-21, o un fragmento de unión a antígeno de este, una forma soluble del receptor IL-21, un péptido o una pequeña molécula inhibidora.

[0012] En una realización, el antagonista de IL-21/IL-21R es un anticuerpo anti-IL-21R o anti-IL-21, o un fragmento de unión a antígeno de este; por ejemplo, el anticuerpo es un anticuerpo monoclonal o con una única especificidad que se une a un IL-21, por ejemplo, un IL-21, o un receptor de IL-21 humano, por ejemplo, un polipéptido de un receptor de IL-21 humano, o una porción de

unión a antígeno de éste (por ejemplo, Fab, F(ab')₂, Fv o un fragmento Fv de cadena simple). Preferiblemente, el anticuerpo es un anticuerpo humano, humanizado, quimérico o generado *in vitro* de un IL-21 humano o un polipéptido de un receptor de IL-21 humano. Preferiblemente, el anticuerpo es un anticuerpo neutralizador.

[0013] En otras realizaciones, el antagonista de IL-21/IL-21R incluye la totalidad o un fragmento de un polipéptido de IL-21, por ejemplo, un dominio inhibidor de la unión al receptor de IL-21 de un polipéptido de IL-21, por ejemplo, un polipéptido de IL-21 humano (por ejemplo, un polipéptido de IL-21 humano como se describe en la presente documentación que tiene una secuencia de aminoácidos indicada en SEQ ID N° 19), o una secuencia al menos 85%, 90%, 95%, 98% o más idéntica a ella; o codificado por una secuencia de nucleótidos correspondiente indicada en SEQ ID N° 18, o una secuencia al menos 85%, 90%, 95%, 98% o más idéntica a ella. Como alternativa, el antagonista incluye la totalidad (por ejemplo, aproximadamente entre los aminoácidos 1-538 o 20-538 de SEQ ID N° 2; o aproximadamente entre los aminoácidos 1-529 o 20-529 de SEQ ID N° 10), o un fragmento de un polipéptido de un receptor de IL-21, por ejemplo, un dominio de unión a IL-21 de un polipéptido de un receptor de IL-21, por ejemplo, un fragmento soluble de un IL-21R (por ejemplo, un fragmento de un IL-21R que comprende el dominio extracelular de un IL-21R murino o humano; por ejemplo, aproximadamente entre los aminoácidos 1-235, 1-236, 20-235, 20-236 de SEQ ID N° 2 (humano), o aproximadamente entre los aminoácidos 1-236, 20-236 de SEQ ID N° 10 (murino), o codificado por los nucleótidos correspondientes de SEQ ID N° 1 o 9, o una secuencia al menos 85%, 90%, 95%, 98% o más

idéntica a ella.

[0014] En una realización, el antagonista es una proteína de fusión que comprende los polipéptidos de IL-21 o el receptor de IL-21 mencionados, o fragmentos de éstos, por ejemplo, fusionados a una segunda porción, por ejemplo, un polipéptido (por ejemplo, una cadena de inmunoglobulina, una secuencia de un polipéptido GST, Lex-A o MBP). En una realización preferida, la proteína de fusión incluye al menos un fragmento de un polipéptido IL-21R capaz de unirse a IL-21, por ejemplo, un fragmento soluble de un IL-21R (por ejemplo, un fragmento de un IL-21R que comprende el dominio extracelular de IL-21R murino o humano, por ejemplo, aproximadamente entre los aminoácidos 1-235, 1-236, 20-235, 20-236 de SEQ ID N° 2 (humano), o aproximadamente entre los aminoácidos 1-236, 20-236 de SEQ ID N° 10 (murino), o codificado por los nucleótidos correspondientes de SEQ ID N° 1 o 9, o una secuencia al menos 85%, 90%, 95%, 98% o más idéntica a ella), por ejemplo, fusionado a una segunda porción, por ejemplo, un polipéptido (por ejemplo, una cadena de inmunoglobulina, un fragmento Fc, la región constante de la cadena pesada de varios isotipos, incluyendo IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgM, IgA1, IgA2, IgD e IgE). Por ejemplo, la proteína de fusión puede incluir el dominio extracelular de IL-21R humano, por ejemplo, aproximadamente entre los aminoácidos 1-235, 1-236, 20-235, 20-236 de SEQ ID N° 2, por ejemplo, fusionado a una cadena de inmunoglobulina Fc humana (por ejemplo, IgG humana, por ejemplo, IgG1 humana, por ejemplo, una IgG1 humana de ocurrencia natural o una forma mutada de IgG1 humana). En una realización, la secuencia Fc humana ha sido mutada en uno o más aminoácidos, por ejemplo, mutada en los residuos 254 y 257 de SEQ ID N° 28 a partir de la

secuencia de ocurrencia natural, para reducir la unión al receptor Fc. En otras realizaciones, la proteína de fusión puede incluir el dominio extracelular de un IL-21R murino, por ejemplo, aproximadamente entre los aminoácidos 1-236, 20-235 de SEQ ID N° 10 (murino), por ejemplo, fusionado a una cadena de inmunoglobulina Fc murina (por ejemplo, IgG murina, por ejemplo, IgG2a murina o una forma mutada de IgG2a murina).

[0015] Las proteínas de fusión también pueden incluir una secuencia conectora que une la primera porción, por ejemplo, un fragmento IL-21R, con la segunda porción, por ejemplo, el fragmento de Inmunoglobulina. En otras realizaciones, pueden agregarse secuencias de aminoácidos adicionales al extremo N o C de la proteína de fusión para facilitar la expresión, la flexibilidad estérica, la detección y/o el aislamiento o la purificación.

[0016] Se detallan ejemplos de proteínas antagonistas de fusión que pueden usarse en los métodos de la invención en las FIGS. 7-15. En una realización, la proteína de fusión incluye una secuencia de aminoácidos seleccionada, por ejemplo, entre SEQ ID N° 23, SEQ ID N° 25, SEQ ID N° 27, SEQ ID N° 29, SEQ ID N° 31, SEQ ID N° 33, SEQ ID N° 35, SEQ ID N° 37 o SEQ ID N° 39, o una secuencia al menos 85%, 90%, 95%, 98% o más idéntica a ella. En otras realizaciones, la proteína de fusión incluye una secuencia de aminoácidos codificada por una secuencia de nucleótidos seleccionada, por ejemplo, entre SEQ ID N° 22, SEQ ID N° 24, SEQ ID N° 26, SEQ ID N° 28, SEQ ID N° 30, SEQ ID N° 32, SEQ ID N° 34, SEQ ID N° 36 o SEQ ID N° 38, o una secuencia al menos 85%, 90%, 95%, 98% o más idéntica a ella. Las proteínas de fusión preferidas tienen la secuencia de aminoácidos indicada como SEQ ID N° 25 o SEQ ID N° 29 (FIGS. 8A-8C y 10A-10C, respectivamente), o una secuencia al

menos 85%, 90%, 95%, 98% o más idéntica a ella. En otras realizaciones, la proteína de fusión incluye una secuencia de aminoácidos codificada por una secuencia de nucleótidos seleccionada, por ejemplo, entre SEQ ID N° 24 o SEQ ID N° 28 (FIGS. 8A-8C y 10A-10C, respectivamente), o una secuencia al menos 85%, 90%, 95%, 98% o más idéntica a ella. Más preferiblemente, la proteína de fusión tiene la secuencia de aminoácidos indicada en SEQ ID N° 29, o tiene una secuencia de aminoácidos codificada por una secuencia de nucleótidos indicada en SEQ ID N° 28 (FIG. 10A-10C).

[0017] El antagonista de IL-21/IL-21R que se describe en la presente documentación, por ejemplo, la proteína de fusión descrita en la presente documentación, puede derivatizarse o unirse a otra molécula funcional, por ejemplo, otro péptido u otra proteína (por ejemplo, un fragmento Fab'). Por ejemplo, la proteína de fusión o un anticuerpo, o una porción de unión a antígenos, puede unirse en forma funcional (por ejemplo, por unión química, fusión genética, asociación no covalente u otros medios) con una o más entidades moleculares adicionales, tales como un anticuerpo (por ejemplo, un anticuerpo biespecífico o multispecífico), toxinas, radioisótopos, agentes citotóxicos o citostáticos, entre otros.

[0018] En una realización, el antagonista de IL-21/IL-21R que se describe en la presente documentación, por ejemplo, las composiciones farmacéuticas de éste, se administra en una terapia de combinación, es decir, combinado con otros agentes, por ejemplo, agentes terapéuticos útiles para tratar trastornos inflamatorios o autoinmunes, por ejemplo, un trastorno seleccionado entre uno o más de los siguientes: un trastorno artrítico (incluyendo la RA, la artritis reumatoide juvenil, la osteoartritis, la artritis psoriática o la espondilitis

anquilosante); la SLE; la glomerulonefritis; un trastorno inflamatorio cutáneo (por ejemplo, psoriasis); un trastorno respiratorio (por ejemplo, asma, COPD); un trastorno atópico; un trastorno fibrótico (por ejemplo, fibrosis pulmonar o fibrosis hepática); un trastorno inflamatorio intestinal (por ejemplo, una IBD, por ejemplo, la enfermedad de Crohn o la colitis ulcerativa); o el rechazo de trasplantes/injertos. Por ejemplo, la terapia de combinación puede incluir uno o más antagonistas de IL-21/IL-21R, por ejemplo, un anticuerpo anti-IL-21 o anti-IL-21R, o una porción de unión a antígeno de éste; una proteína de fusión IL-21R; un receptor IL-21R soluble; un inhibidor peptídico o una pequeña molécula inhibidora, coformulados con él, y/o coadministrados con él, uno o más agentes terapéuticos adicionales, por ejemplo, uno o más inhibidores de citoquinas y factores de crecimiento, inmunosupresores, agentes anti-inflamatorios, inhibidores metabólicos, inhibidores enzimáticos y/o agentes citotóxicos o citostáticos, como se describe en la presente documentación.

[0019] Los ejemplos de agentes terapéuticos adicionales preferidos que pueden coadministrarse y/o coformularse con uno o más antagonistas de IL-21/IL-21R incluyen, sin limitaciones, uno o más de los siguientes: antagonistas de TNF (por ejemplo, anticuerpos quiméricos, humanizados, humanos o generados *in vitro*, o fragmentos de unión a antígeno de éstos, que se unen a TNF; fragmentos solubles de un receptor de TNF, por ejemplo, el receptor de TNF p55 o p75 humano o derivados de éste, por ejemplo, 75 kDa TNFR-IgG (proteína de fusión de 75 kDa del receptor de TNF e IgG, ENBREL™), proteína de fusión del receptor de TNF p55 kDa e IgG; antagonistas enzimáticos de TNF, por ejemplo, inhibidores de la enzima convertidora de TNF α (TACE)); antagonistas de IL-6, IL-12, IL-15, IL-17, IL-18, IL-22; agentes debilitantes de

células T y B (por ejemplo, anticuerpos anti-CD4 o anti-CD22); pequeñas moléculas inhibidoras, por ejemplo, metotrexato y leflunomida; sirolimus (rapamicina) y análogos de éstas, por ejemplo, CCI-779; Cox-2 e Inhibidores de cPLA2; NSAID; inhibidores de p38, TPL-2, Mk-2 e inhibidores de NFPb; RAGE o RAGE soluble; P-selectina o inhibidores de PSGL-1 (por ejemplo, pequeñas moléculas inhibidoras, anticuerpos contra éstas, por ejemplo, anticuerpos contra P-selectina); agonistas del receptor de estrógeno beta (ERB) o antagonistas de ERB-NF κ b. Los agentes terapéuticos adicionales más preferidos que pueden coadministrarse y/o coformularse con uno o más antagonistas de IL-21/IL-21R incluyen uno o más de los siguientes: un fragmento soluble de un receptor de TNF, por ejemplo, un receptor de TNF humano p55 o p75, o derivados de éste, por ejemplo, 75 kDTNFR-IgG (proteína de fusión de 75 kDa del receptor de TNF e IgG, ENBREL™); metotrexato, leflunomida o un sirolimus (rapamicina) o un análogo de ésta, por ejemplo, CCI-779.

[0020] En otro aspecto, se proporciona un método para reducir la actividad de una célula inmune (por ejemplo, la actividad de una o más de las siguientes: una célula T madura (CD8⁺ madura, CD4⁺, célula T de nodo linfático, célula T de memoria), una célula NK madura, una célula B, una célula presentadora de antígenos (APC), por ejemplo, una célula dendrítica, un macrófago, un megacariocito o una población de células, por ejemplo, una población de células inmunes mixtas o sustancialmente purificadas. El método incluye poner en contacto la célula inmune con un antagonista de IL-21/IL-21R, por ejemplo, un antagonista como se describe en la presente documentación, en una cantidad suficiente para disminuir la actividad de la célula inmune.

[0021] En otro aspecto, la invención proporciona una proteína de fusión que incluye al menos un fragmento de un polipéptido IL-21R, que es capaz de unirse a un polipéptido de IL-21, por ejemplo, un fragmento soluble de un IL-21R (por ejemplo, un fragmento de un IL-21R que comprende el dominio extracelular de IL-21R murino o humano; por ejemplo, aproximadamente entre los aminoácidos 1-235, 1-236, 20-235, 20-236 de SEQ ID N° 2 (humano), o aproximadamente entre los aminoácidos 1-236, 20-236 de SEQ ID N° 10 (murino), o codificado por los nucleótidos correspondientes de SEQ ID N° 1 o SEQ ID N° 9, o una secuencia al menos 85%, 90%, 95%, 98% o más idéntica a ella), por ejemplo, fusionada a una segunda porción, por ejemplo, un polipéptido (por ejemplo, una cadena de inmunoglobulina, un fragmento Fc, una región constante de cadenas pesadas de varios isotipos, incluyendo IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgM, IgA1, IgA2, IgD, y IgE). Por ejemplo, la proteína de fusión puede incluir el dominio extracelular del IL-21R humano, por ejemplo, aproximadamente entre los aminoácidos 1-235, 1-236, 20-235, 20-236 de SEQ ID N° 2, por ejemplo, fusionado a una cadena de inmunoglobulina Fc humana (por ejemplo, IgG humana, por ejemplo, IgG1 humana o una forma mutada de la IgG1 humana). En una realización, se ha mutado la secuencia Fc humana en uno o más aminoácidos, por ejemplo, se la ha mutado en los residuos 254 y 257 de SEQ ID N° 28, respecto de la secuencia tipo salvaje, para reducir la unión al receptor Fc. En otras realizaciones, la proteína de fusión puede incluir el dominio extracelular del IL-21R murino, por ejemplo, aproximadamente entre los aminoácidos 1-236, 20-236 de SEQ ID N° 10 (murino), por ejemplo, fusionado a una cadena de inmunoglobulina Fc murina (por ejemplo, IgG murina, por ejemplo, IgG2a murina o una forma mutada de la IgG2a murina).

Las proteínas de fusión pueden incluir adicionalmente una secuencia conectora que una el fragmento IL-21R con la segunda porción. En otras realizaciones, pueden agregarse secuencias de aminoácidos adicionales a los extremos N o C de la proteína de fusión para facilitar la expresión, la detección y/o el aislamiento o la purificación.

[0022] La invención también proporciona secuencias de ácidos nucleicos que codifican las proteínas de fusión descritas en la presente documentación.

[0023] En otro aspecto, la invención proporciona células huésped y vectores que contienen los ácidos nucleicos de la invención. Preferiblemente, la célula huésped es una célula eucariota, por ejemplo, una célula de mamífero, una célula de insecto, o una célula de levadura, o una célula procarionte, por ejemplo, *E. coli*. Por ejemplo, la célula de mamífero puede ser una célula cultivada o una línea celular. Los ejemplos de células de mamíferos incluyen las líneas de células linfocíticas (por ejemplo, NSO), las células de ovario de hámster chino (CHO), las células COS, las células de oocitos y las células de un animal transgénico, por ejemplo, células epiteliales mamarias. Por ejemplo, los ácidos nucleicos que codifican las proteínas de fusión descritas en la presente documentación pueden expresarse en un animal transgénico. En una realización, se colocan los ácidos nucleicos bajo el control de un promotor con especificidad tisular (por ejemplo, un promotor con especificidad mamaria) y el anticuerpo se produce en un animal transgénico. Por ejemplo, la proteína de fusión se secreta en la leche del animal transgénico, tal como una vaca, un cerdo, un caballo, una oveja, una cabra o un roedor transgénico.

[0024] En otro aspecto, la invención provee un proceso para producir una proteína de fusión, por ejemplo, una proteína de fusión como se describe en la

presente documentación. El proceso comprende: (a) desarrollar un cultivo de la célula huésped de la presente invención en un medio de cultivo apropiado y (b) purificar la proteína de fusión a partir del cultivo. También se proporcionan las proteínas producidas de acuerdo con estos métodos.

[0025] En otro aspecto, la invención provee composiciones, por ejemplo, composiciones farmacéuticas, que incluyen un vehículo aceptable para el uso farmacéutico y al menos uno de los antagonistas de IL-21/IL-21R que se describen en la presente documentación (por ejemplo, una proteína de fusión descrita en la presente documentación). En una realización, las composiciones, por ejemplo, las composiciones farmacéuticas, comprenden una combinación de dos o más antagonistas de IL-21/IL-21R. Las combinaciones de los antagonistas de IL-21/IL-21R y una droga, por ejemplo, un agente terapéutico (por ejemplo, una o más citoquinas e inhibidores de factores de crecimiento, inmunosupresores, agentes antiinflamatorios, inhibidores metabólicos, inhibidores enzimáticos, y/o agentes citotóxicos o citostáticos, como se describe en la presente documentación) o un antígeno, por ejemplo, un péptido antigénico y/o una célula presentadora de antígenos, también están dentro del alcance de la invención.

[0026] En una realización, la composición farmacéutica incluye un antagonista de IL-21/IL-21R y al menos un agente terapéutico adicional en un vehículo aceptable para el uso farmacéutico. Los ejemplos de agentes terapéuticos adicionales preferidos que pueden coformularse en una composición, por ejemplo, una composición farmacéutica, con uno o más antagonistas de IL-21/IL-21R, incluyen, sin limitaciones, uno o más de los siguientes: antagonistas de TNF (por ejemplo, anticuerpos quiméricos, humanizados, humanos o

generados *in vitro*, o fragmentos de unión a antígeno de éstos, que se unen a TNF; fragmentos solubles de un receptor de TNF, por ejemplo, el receptor de TNF p55 o p75 humano o derivados de éste, por ejemplo, 75 kDTNFR-IgG (proteína de fusión de 75 kDa del receptor de TNF e IgG, ENBREL™), proteína de fusión del receptor de TNF p55 kDa e IgG; antagonistas enzimáticos de TNF, por ejemplo, inhibidores de la enzima convertidora de TNF α (TACE)); antagonistas de IL-6, IL-12, IL-15, IL-17, IL-18, IL-22; agentes debilitantes de células T y B (por ejemplo, anticuerpos anti-CD4 o anti-CD22); pequeñas moléculas inhibidoras, por ejemplo, metotrexato y leflunomida; sirolimus (rapamicina) y análogos de éstas, por ejemplo, CCI-779; Cox-2 e inhibidores de cPLA2; NSAID; inhibidores de p38, TPL-2, Mk-2 e inhibidores de NF κ B; RAGE o RAGE soluble; P-selectina o inhibidores de PSGL-1 (por ejemplo, pequeñas moléculas inhibidoras, anticuerpos contra éstas, por ejemplo, anticuerpos contra P-selectina); agonistas del receptor de estrógeno beta (ERB) o antagonistas de ERB-NF κ B. Los agentes terapéuticos adicionales más preferidos que pueden coadministrarse y/o coformularse con uno o más antagonistas de IL-21/IL-21R incluyen uno o más de los siguientes: un fragmento soluble de un receptor de TNF, por ejemplo, un receptor de TNF humano p55 o p75, o derivados de éste, por ejemplo, 75 kDTNFR-IgG (proteína de fusión de 75 kDa del receptor de TNF e IgG, ENBREL™); metotrexato, leflunomida o un sirolimus (rapamicina) o un análogo de ésta, por ejemplo, CCI-779.

[0027] En otro aspecto, la invención proporciona un método para tratar, mejorar o prevenir un trastorno atópico en un sujeto, por ejemplo, un mamífero, por ejemplo, un ser humano. El método incluye administrar al sujeto un

00231

antagonista de IL-21/IL-21R, por ejemplo, en una cantidad suficiente para tratar, mejorar o prevenir el trastorno, o en una cantidad suficiente para inhibir o reducir la actividad de las células inmunes y/o la cantidad de dichas células. En una realización, el trastorno atópico es asma alérgico. En otra realización, el trastorno atópico es dermatitis atópica, urticaria, eccema, rinitis alérgica o enterogastritis alérgica. En una realización, el antagonista de IL-21/IL-21R puede administrarse en combinación con otro agente terapéutico, por ejemplo, un inhibidor de citoquina, un inmunosupresor, un agente antiinflamatorio, un inhibidor enzimático, un antagonista de leucotrieno, un broncodilatador, un agonista del adrenoceptor beta 2, un antimuscarínico o un estabilizador de los mastocitos. Los ejemplos de agentes terapéuticos preferidos que pueden administrarse en combinación con un antagonista de IL-21/IL-21R para tratar, mejorar o prevenir un trastorno atópico incluyen, por ejemplo, antagonistas de TNF, antagonistas de IL-6, antagonistas de IL-12, antagonistas de IL-15, antagonistas de IL-17, antagonistas de IL-18, antagonistas de IL-22, agentes debilitantes de células T, agentes debilitantes de células B, metotrexato, leflunomida, sirolimus (rapamicina) o análogos de éstos, inhibidores de Cox-2, inhibidores de cPLA2, NSAID e inhibidores de p38.

[0028] En otro aspecto, la invención proporciona un método para tratar, mejorar o prevenir un trastorno autoinmune en un sujeto. El método incluye: administrar al sujeto un antagonista de IL-21/IL-21R, por ejemplo, en una cantidad suficiente para tratar, mejorar o prevenir el trastorno, o en una cantidad suficiente para inhibir o reducir la actividad de las células inmunes y/o la cantidad de dichas células. En una realización, el trastorno autoinmune es lupus, por ejemplo, SLE. En una realización, el antagonista de IL-21/IL-21R

puede administrarse en combinación con otro agente terapéutico, por ejemplo, un inhibidor de citoquina, un inhibidor de factores de crecimiento, un inmunosupresor, un agente antiinflamatorio, un inhibidor metabólico, un inhibidor enzimático, un agente citotóxico o un agente citostático. Los ejemplos de agentes terapéuticos preferidos que pueden administrarse en combinación con un antagonista de IL-21/IL-21R para tratar, mejorar o prevenir un trastorno autoinmune incluyen, por ejemplo, antagonistas de TNF, antagonistas de IL-6, antagonistas de IL-12, antagonistas de IL-15, antagonistas de IL-17, antagonistas de IL-18, antagonistas de IL-22, agentes debilitantes de células T, agentes debilitantes de células B, cloroquina, hidroxicloroquina, metotrexato, leflunomida, sirolimus (rapamicina) o análogos de éstos, inhibidores de Cox-2, inhibidores de cPLA2, NSAID e inhibidores de p38.

[0029] En otro aspecto, la invención proporciona un método para tratar, mejorar o prevenir un trastorno fibrótico en un sujeto. El método incluye: administrar al sujeto un antagonista de IL-21/IL-21R, por ejemplo, en una cantidad suficiente para tratar, mejorar o prevenir el trastorno, o en una cantidad suficiente para inhibir o reducir la actividad de las células inmunes y/o la cantidad de dichas células. Por ejemplo, el sujeto puede padecer o estar en riesgo de contraer fibrosis en un órgano interno (por ejemplo, fibrosis hepática, fibrosis renal o fibrosis pulmonar), un trastorno fibrótico dérmico o una condición fibrótica ocular.

[0030] En otro aspecto, la invención proporciona un método para transplantar o injertar órganos, tejidos o células a un sujeto. El método incluye administrar al sujeto un antagonista de IL-21/IL-21R, por ejemplo, antes, durante o después del trasplante o el injerto. Los órganos y tejidos transplantados/injertados

213
may

pueden incluir, sin limitaciones, por ejemplo, corazón, riñón, hígado, pulmón, páncreas, médula ósea, cartílago, córnea, tejido neuronal y células de éste. En una realización, el antagonista de IL-21/IL-21R se administra en combinación con otro agente terapéutico, por ejemplo, un inhibidor de citoquina, un inhibidor de factores de crecimiento, un inmunosupresor, un agente antinflamatorio, un inhibidor metabólico, un inhibidor enzimático, un agente citotóxico y un agente citostático. Los ejemplos de agentes terapéuticos preferidos que pueden administrarse en combinación con los antagonistas de IL-21/IL-21R incluyen, por ejemplo, rapamicina, ciclosporina, anticuerpos anti-CTLA-4, anticuerpos anti-CD40, anticuerpos anti-CD40L y anticuerpos anti-CD154.

[0031] En otro aspecto, la invención proporciona un método para evaluar y tratar los síntomas del rechazo de trasplantes/injertos, o un trastorno asociado con el rechazo de trasplantes/injertos, por ejemplo, la fibrosis o la enfermedad del injerto versus el huésped (GVHD), en un receptor de trasplantes/injertos. El método incluye identificar un sujeto con síntomas de rechazo de trasplantes/injertos y administrar un antagonista de IL-21/IL-21R, por ejemplo, en una cantidad suficiente para tratar o mejorar los síntomas del rechazo de trasplantes. Los síntomas del rechazo de trasplantes/injertos incluyen, por ejemplo, inflamación, función reducida de los órganos, biopsia anormal y fibrosis. En otra realización, la invención provee un método para prevenir (por ejemplo, reducir el riesgo) el rechazo de trasplantes/injertos, o un trastorno asociado con el rechazo de trasplantes/injertos, que comprende administrar un antagonista de IL-21/IL-21R.

[0032] En otro aspecto, la invención proporciona métodos para tratar, mejorar o prevenir el rechazo de trasplantes/injertos, o un trastorno asociado con el

rechazo de transplantes/injertos, en un sujeto. El método comprende administrar al sujeto un antagonista de IL-21/IL-21R en una cantidad suficiente para tratar, mejorar o prevenir (por ejemplo, reducir el riesgo) el rechazo, o en una cantidad suficiente para inhibir o reducir la actividad de las células inmunes y/o la cantidad de dichas células. Los órganos o los tejidos transplantados pueden incluir, por ejemplo, corazón, riñón, hígado, pulmón, páncreas y médula ósea. En una realización, el antagonista de IL-21/IL-21R puede administrarse en combinación con otro agente terapéutico, por ejemplo, un inhibidor de citoquina, un inhibidor de factores de crecimiento, un inmunosupresor, un agente antinflamatorio, un inhibidor metabólico, un inhibidor enzimático, un agente citotóxico o un agente citostático. Los ejemplos de agentes terapéuticos preferidos que pueden administrarse en combinación con los antagonistas de IL-21/IL-21R para tratar, mejorar o prevenir el rechazo de transplantes/injertos incluyen, por ejemplo, rapamicina, ciclosporina, anticuerpos anti-CTLA-4, anticuerpos anti-CD40, anticuerpos anti-CD40L y anticuerpos anti-CD154.

[0033] Los siguientes conjuntos de términos se usan indistintamente en la presente documentación: "MU-1" e "IL-21R", y péptidos, polipéptidos y proteínas.

[0034] A menos que se indique lo contrario, todos los términos técnicos y científicos usados en la presente documentación tienen el mismo significado que le dan aquellos entrenados en la técnica a los que concierne esta invención. Aunque pueden usarse métodos y materiales similares o equivalentes a aquellos descritos en la presente documentación en la práctica o la evaluación de la invención, más adelante se describen métodos y

materiales apropiados. Todas las publicaciones, las solicitudes de patentes, las patentes y otras referencias mencionadas en la presente documentación se incorporan por completo a modo de referencia. En caso de conflicto, se controlará la presente memoria descriptiva, incluyendo las definiciones. Además, los materiales, los métodos y los ejemplos son solamente ilustrativos y no pretenden limitar la invención.

[0035] Otras características y ventajas de la invención serán evidentes a partir de la siguiente descripción detallada y las reivindicaciones.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

[0036] En la FIG. 1 se ilustra la secuencia de ADNc completa de IL-21R/MU-1 murino. La secuencia de nucleótidos corresponde a los nucleótidos 1-2628 de SEQ ID N° 9.

[0037] En las FIGS. 2A-2B se ilustra la secuencia de aminoácidos de IL-21R/MU-1 murino y humano. En la FIG. 2A se ilustra la secuencia de aminoácidos de IL-21R/MU-1 murino (que corresponde a los aminoácidos 1-529 de SEQ ID N° 10). Hay una secuencia directriz predicha en los aminoácidos 1-19 (predicha por SPScan) con una puntuación de 10,1 (en **negrita**). Hay un dominio transmembrana predicho en los aminoácidos 237-253 de SEQ ID N° 10 (subrayado). Los motivos de señalización predichos incluyen las siguientes regiones: Box 1: aminoácidos 265-274 y Box 2: aminoácidos 310-324 (**en negrita y subrayado**); hay seis tirosinas en los aminoácidos en las posiciones 281, 319, 361, 368, 397 y 510, de SEQ ID N° 10. El motivo WSXWS (SEQ ID N° 8) está localizado entre el residuo de aminoácido 214 y el residuo de aminoácido 218 (**grande, en negrita**). Los sitios de anclaje STAT potenciales incluyen los aminoácidos 393-398 y los aminoácidos 510-513 de

SEQ ID N° 10. En la FIG. 2B se ilustra la secuencia de aminoácidos de MU-1 humano (que corresponde a SEQ ID N° 2). Se indica la localización de la secuencia señal predicha (aproximadamente los aminoácidos 1-19 de SEQ ID N° 2); el motivo WSXWS (aproximadamente los aminoácidos 213-217 de SEQ ID N° 2); y el dominio transmembrana (aproximadamente los aminoácidos 236-252, 236-253, 236-254 de SEQ ID N° 2 (subrayado)). También se indican los sitios de unión JAK potenciales, los motivos de señalización y los sitios de anclaje STAT. La localización aproximada de estos sitios está recuadrada.

[0038] En la FIG. 3 se ilustra la comparación GAP de secuencias de ADNc de MU-1 humano y murino (que corresponden a los ácidos nucleicos 1-2665 de SEQ ID N° 1 y los ácidos nucleicos 1-2628 de SEQ ID N° 9, respectivamente). HuMU-1 = MU-1 humano, murMU-1 = MU-1 murino. Parámetros de alineamiento GAP: Ponderación de falta de coincidencia = 50, Coincidencia promedio = 10,000, Ponderación de longitud = 3, Falta de coincidencia promedio = 0,000, Porcentaje de identidad = 66,116.

[0039] En la FIG. 4 se ilustra una comparación GAP de la proteína MU-1 humana (que corresponde a los aminoácidos de SEQ ID N° 2) y la proteína MU-1 murina (que corresponde a los aminoácidos de SEQ ID N° 10). El alineamiento se generó empleando la matriz de sustitución de aminoácidos BLOSUM62 (Henikoff y Henikoff (1992) *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 89:10915-19). Parámetros de alineamiento GAP = Ponderación de falta de coincidencia: 8, Coincidencia promedio = 2,912, Ponderación de longitud = 2; Falta de coincidencia promedio = -2,003; Porcentaje de identidad = 65,267.

[0040] En la FIG. 5 se ilustra un alineamiento de múltiples secuencias de los aminoácidos de MU-1 humano (que corresponde a SEQ ID N° 2), MU-1 murino

(que corresponde a SEQ ID N° 10) y la cadena de beta de la IL2 humana (N° de acceso GENBANK® M26062). Las directrices y los dominios transmembrana están subrayados. Se indican los motivos de los módulos de los receptores de citoquina conservados en negrita. Se indican las regiones de señalización potenciales subrayadas y en negrita.

[0041] En la FIG. 6 se ilustra la señalización a través de MU-1. MU-1 fosforila STAT 5 en el clon quimérico E7 EPO-MU-1. Bajo las condiciones especificadas en el Ejemplo 3, la señalización a través de MU-1 resulta en la fosforilación de STAT 5 en todos los puntos de tiempo evaluados. El tratamiento de los controles o las células BAF-3 quiméricas con IL-3 resultó en la fosforilación de STAT 3, pero no STAT 1 ó 5.

[0042] En las FIGS. 7A-7B se ilustra un alineamiento entre las secuencias de nucleótidos y aminoácidos del monómero de IL-21R (que corresponde a los aminoácidos 20-235 de SEQ ID N° 2), fusionado en el lado amino terminal con la secuencia directriz de la abeja melífera y las marcas His6 (aminoácidos 1-44 de SEQ ID N° 23). Se presentan las secuencias de nucleótidos y aminoácidos como SEQ ID N° 22 y SEQ ID N° 23, respectivamente.

[0043] En las FIGS. 8A-8C se ilustra un alineamiento entre las secuencias de nucleótidos y aminoácidos del dominio extracelular del IL-21R (que corresponde a los aminoácidos 1-235 de SEQ ID N° 2), fusionado en el extremo C a través de un conector (que corresponde a los aminoácidos 236-243 de SEQ ID N° 25) a la secuencia Fc de la inmunoglobulina G1 (IgG1) humana (que corresponde a los aminoácidos 244-467 de SEQ ID N° 25). Se indican las secuencias de nucleótidos y aminoácidos como SEQ ID N° 24 y SEQ ID N° 25, respectivamente.

[0044] En las FIGS. 9A-9C se ilustra un alineamiento de las secuencias de nucleótidos y aminoácidos del dominio extracelular de IL-21R humano (que corresponde a los aminoácidos 1-235 de SEQ ID N° 2) fusionado en el extremo C a través de un conector (que corresponde a los aminoácidos 236-243 de SEQ ID N° 27) a la secuencia Fc de la Inmunoglobulina humana G1 (IgG1) (que corresponde a los aminoácidos 244-467 de SEQ ID N° 27) y la marca de secuencia His₆ (que corresponde a los aminoácidos 468-492 de SEQ ID N° 27). Se indican las secuencias de nucleótidos y aminoácidos como SEQ ID N° 26 y SEQ ID N° 27, respectivamente.

[0045] En las FIGS. 10A-10C se ilustra un alineamiento de las secuencias de nucleótidos y aminoácidos del dominio extracelular de IL-21R humano (que corresponde a los aminoácidos 1-235 de SEQ ID N° 2) fusionado en el extremo C a través de un conector (que corresponde a los aminoácidos 236-243 de SEQ ID N° 29) a la secuencia Fc mutada de la Inmunoglobulina humana G1 (IgG1) (que corresponde a los aminoácidos 244-467 de SEQ ID N° 29). La secuencia Fc humana ha sido mutada en los residuos 254 y 257 respecto de la secuencia tipo salvaje para reducir la unión al receptor Fc. Se indican las secuencias de nucleótidos y aminoácidos como SEQ ID N° 28 y SEQ ID N° 29, respectivamente.

[0046] En las FIGS. 11A-11B se ilustra un alineamiento de las secuencias de nucleótidos y aminoácidos del dominio extracelular de IL-21R humano (que corresponde a los aminoácidos 1-235 de SEQ ID N° 2) fusionado en el extremo C a una secuencia de marca de rodopsina. Se indican las secuencias de nucleótidos y aminoácidos como SEQ ID N° 30 y SEQ ID N° 31, respectivamente.

[0047] En las FIGS. 12A-12C se ilustra un alineamiento de las secuencias de nucleótidos y aminoácidos del dominio extracelular de IL-21R humano (que corresponde a los aminoácidos 1-235 de SEQ ID N° 2) fusionado en el extremo C a un sitio de corte EK y una región IgG1 Fc mutada (que corresponde a los aminoácidos 236-470 de SEQ ID N° 33). Se indican las secuencias de nucleótidos y aminoácidos como SEQ ID N° 32 y SEQ ID N° 33, respectivamente.

[0048] En las FIGS. 13A-13B se ilustra un alineamiento de las secuencias de nucleótidos y aminoácidos del dominio extracelular de IL-21R murino fusionado en el extremo C a la inmunoglobulina G2a (IgG2a) de ratón. Se indican las secuencias de nucleótidos (genómicas) y aminoácidos como SEQ ID N° 34 y SEQ ID N° 35, respectivamente.

[0049] En las FIGS. 14A-14B se ilustra un alineamiento de las secuencias de nucleótidos y aminoácidos del dominio extracelular de IL-21R murino fusionado en el extremo C a secuencias de marca Flag e His₆. Se indican las secuencias de nucleótidos (genómicas) y aminoácidos como SEQ ID N° 36 y SEQ ID N° 37, respectivamente.

[0050] En las FIGS. 15A-15B se ilustra un alineamiento de las secuencias de nucleótidos y aminoácidos del dominio extracelular de IL-21R murino (directriz de abeja melífera) fusionado en el extremo C a secuencias de marca Flag e His₆. Se indican las secuencias de nucleótidos (genómicas) y aminoácidos como SEQ ID N° 38 y SEQ ID N° 39, respectivamente.

[0051] La FIG. 16 es una tabla que resume los cronogramas de tratamiento profiláctico, terapéutico y semi-terapéutico para los experimentos que usan modelos de artritis inducida por colágeno (CIA) en ratones.

[0052] La FIG. 17 es un gráfico que ilustra los efectos de MuIL-21RFc (200 μ g/ratón 3x/semana) sobre un ratón CIA semi-terapéutico en función de los días posteriores al tratamiento. Se usó Ig de ratón (200 μ g/ratón 3x/semana) como control.

[0053] Las FIGS. 18A-18B son fotografías que ilustran la expresión incrementada de ARNm de IL-21R en las patas artríticas de ratones con CIA (panel A) en comparación con controles negativos (panel B).

[0054] En las FIGS. 19 y 20 se ilustran gráficos lineales que presentan una reducción marcada en la calificación clínica de los síntomas tipo IBD en ratas tratadas con muIL-21RFc y mEnbrel, en comparación con la IgG control. En la FIG. 19, el panel lateral izquierdo es una fotografía que presenta la hibridización *in situ* del ARNm de MU-1 en los linfocitos y los nodos linfáticos del intestino humano normal.

[0055] La FIG. 21 es una tabla que resume una reducción en la calificación histológica de la severidad de la enfermedad en un modelo de IBD en rata después de administrar MuIL-21RFc.

[0056] La FIG. 22 es un gráfico lineal que presenta el porcentaje de supervivencia de injertos respecto de los días posteriores a la transferencia post-adoptiva, en ratones inyectados con células T transducidas por medios retrovirales que expresan IL-21, muIL-21RFc o un control (GFP).

[0057] La FIG. 23 es un gráfico lineal que presenta un mejoramiento en las calificaciones clínicas de lesiones psoriáticas en un modelo de transferencia adoptiva CD45Rb^{high}, después administrar MuIL-21RFc. En la FIG. 23, el lado izquierdo presenta fotografías de ratones antes y después del tratamiento con MuIL-21RFc.

[0058] La FIG. 24 es un gráfico lineal que ilustra los niveles de hiper-respuesta en las vías respiratorias (AHR) de ratones sensibilizados con ovoalbúmina (OVA) atacados con solución salina amortiguada con fosfato (PBS) u OVA. A los ratones se le administraron dosis crecientes consecutivas de metacolina. El cambio de Penh (pausa mejorada) es un indicador de la AHR.

[0059] Las FIGS. 25A-25D son gráficos de barras que ilustran la cantidad de células en fluido de lavado broncoalveolar (BALF) de ratones sensibilizados con OVA y atacados con PBS u OVA. En la FIG. 25A se ilustra la cantidad total de células en el BALF. En la FIG. 25B se ilustra la cantidad de eosinófilos en el BALF. En la FIG. 25C se ilustra la cantidad de linfocitos en el BALF. En la FIG. 25D se ilustra la cantidad de neutrófilos en el BALF. Las barras sin llenar indican los ratones WT atacados con PBS; las barras llenas indican los ratones WT atacados con OVA; las barras grises indican los ratones IL-21R $-/-$ atacados con PBS; las barras rayadas indican los ratones IL-21R $-/-$ atacados con OVA. * indica $p < 0,05$, determinado por medio de una prueba U de Mann-Whitney.

[0060] Las FIGS. 26 y 27 son gráficos que ilustran los niveles de citoquinas en el BALF de ratones sensibilizados con OVA y atacados con OVA. En la FIG. 26 se ilustran los niveles de $\text{TNF}\alpha$ e IL-5. En la FIG. 27 se ilustran los niveles de IL-13. Las barras sin llenar indican los ratones WT atacados con PBS; las barras llenas indican los ratones WT atacados con OVA; las barras grises indican los ratones IL-21R $-/-$ atacados con PBS; las barras rayadas indican los ratones IL-21R $-/-$ atacados con OVA. * Indica $p < 0,05$, determinado por medio de una prueba de U de Mann-Whitney.

[0061] Las FIGS. 28A-28B son gráficos de barras que ilustran los niveles de

IgE en suero en ratones sensibilizados con OVA y atacados con OVA o PBS. En la FIG. 28A se ilustran los niveles de IgE total en suero. En la FIG. 28B se ilustran los niveles de IgE específica anti-OVA. Las barras sin llenar indican los ratones WT atacados con PBS; las barras llenas indican los ratones WT atacados con OVA; las barras grises indican los ratones IL-21R $-/-$ atacados con PBS; las barras rayadas indican los ratones IL-21R $-/-$ atacados con OVA.

* Indica $p < 0,05$, determinado por medio de una prueba de U de Mann-Whitney.

[0062] Las FIGS. 29A-29D son gráficos que ilustran los niveles de dsADN de anticuerpos en circulación en ratones MRL-Fas^{hr} después de un tratamiento con MuIL-21RFc o control. En la FIG. 29A se ilustran los niveles de IgG1. En la FIG. 29B se ilustran los niveles de IgG2a. En la FIG. 29C se ilustran los niveles de IgG2b. En la FIG. 29D se ilustran los niveles de IgG3. * Indica $p < 0,05$, determinado por medio de una prueba de U de Mann-Whitney.

[0063] Las FIGS. 30A-30D son gráficos que ilustran la IgG total en circulación en ratones MRL-Fas^{hr} después de un tratamiento con MuIL-21RFc o control. En la FIG. 30A se ilustran los niveles de IgG1. En la FIG. 30B se ilustran los niveles de IgG2a. En la FIG. 30C se ilustran los niveles de IgG2b. En la FIG. 30D se ilustran los niveles de IgG3. * Indica $p < 0,05$, determinado por medio de una prueba de U de Mann-Whitney.

[0064] La FIG. 31 es un gráfico que ilustra niveles de fluorescencia en riñones de ratón coloreados con IgG-FITC anti-ratón de cabra.

[0065] La FIG. 32 es un diagrama esquemático que ilustra ejemplos de efectos de IL-21 sobre las respuestas inmunes.

[0066] La FIG. 33 es un diagrama esquemático que ilustra ejemplos de estrategias para inhibir la vía de IL-21/IL-21R.

[0067] La FIG. 34 es un diagrama esquemático que ilustra un ejemplo de proteína de fusión soluble del receptor IL-21RFc.

[0068] La FIG. 35 es un gráfico lineal que ilustra la calificación promedio para la psoriasis de grupos de ratones tratados con MuIL-21RFc y tratados con control estimulados con *E. tenella* ("Etenella").

[0069] La FIG. 36 es una tabla que resume la demora en el inicio y la reducción de los síntomas de psoriasis en ratones estimulados con *E. tenella* y tratados con MuIL-21RFc, en comparación con los ratones tratados con control.

[0070] La FIG. 37 es un gráfico lineal que ilustra una reducción en la pérdida de peso en ratones estimulados con *E. tenella* y tratados con MuIL-21RFc, en comparación con los ratones tratados con control. El índice de peso se define como la relación entre el peso medido y el peso inicial.

[0071] La FIG. 38A es un gráfico lineal que ilustra una reducción en la calificación fecal promedio en ratones estimulados con *E. tenella* y tratados con MuIL-21RFc, en comparación con los ratones tratados con control.

[0072] La FIG. 38B es un gráfico que ilustra las calificaciones fecales de ratones estimulados con *E. tenella* de cada grupo de tratamiento el día 77 después de la transferencia.

[0073] La FIG. 39 es una tabla que resume los datos ilustrados en la FIG. 38A.

[0074] La FIG. 40A es un gráfico que ilustra los niveles de IFN- γ en suero en ratones estimulados con *E. tenella* y tratados con MuIL-21RFc, en comparación con los ratones tratados con control.

[0075] La FIG. 40B es un gráfico que ilustra las calificaciones fecales para ratones estimulados con *E. tenella* y tratados con MuIL-21RFc, en comparación

con los ratones tratados con control.

[0076] La FIG. 41 es un gráfico lineal que ilustra la incorporación de ^3H -timidina en células $\text{CD45RB}^{\text{hi}}$ y $\text{CD45RB}^{\text{lo}}$ activadas después de un tratamiento con IL-21.

[0077] Las FIGS. 42A-B son gráficos de barras que ilustran un incremento en la secreción de las citoquinas por células $\text{CD45RB}^{\text{hi}}$ activadas después de un tratamiento con IL-21.

[0078] La FIG. 43 es un gráfico de barras que ilustra una reducción en la secreción de citoquinas por células $\text{CD45RB}^{\text{hi}}$ activadas después de un tratamiento con MuIL-21RFc.

[0079] Las FIG. 44A-B son gráficos de barras (A) y dispersión (B) que ilustran que, en el modelo de GVHD de SLE, los ratones con knockout de IL-21R injertados con células de bazo B6 bm12 no producen autoanticuerpos anti-dsADN (A), y que no se observan depósitos de IgG en los riñones de estos ratones (B).

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

[0080] Se describen métodos y composiciones para inhibir la actividad de la interleuquina-21 (IL-21)/el receptor de IL-21 (MU-1) usando antagonistas de IL-21 o del receptor de IL-21 ("IL-21R" o "MU-1"). Pueden usarse antagonistas de IL-21/IL-21R para inducir la supresión inmune *in vivo*, por ejemplo, para tratar o prevenir trastornos inflamatorios o autoinmunes. (por ejemplo, trastornos asociados con una actividad aberrante de una o más células T maduras (células T CD8^+ maduras, CD4^+ maduras), células NK maduras, células B, macrófagos y megacariocitos, incluyendo el rechazo de trasplantes/injertos, la psoriasis y trastornos autoinmunes tales como la artritis reumatoide y la IBD).

[0081] En una realización, los solicitantes han demostrado que una reducción en la actividad de IL-21R usando una proteína de fusión neutralizadora que incluye el dominio extracelular de IL-21R fusionado a una región de inmunoglobulina Fc mejora los síntomas de inflamación en animales modelo con artritis inducida por colágeno (CIA) (Ejemplo 7), así como en modelos animales de IBD (Ejemplos 9 y 11), rechazo de injertos (Ejemplo 10), psoriasis (Ejemplo 11) y lupus (Ejemplo 13). La expresión del ARNm de IL-21R es regulada positivamente en las patas de ratones con artritis inducida por colágeno (CIA) (Ejemplo 8). Los ratones con deficiencia de IL-21R presentan una reducción en la inflamación de las vías respiratorias inducida por colágeno (Ejemplo 12). Por consiguiente, pueden usarse agentes que se unen a IL-21R que antagonizan la actividad de IL-21/IL-21R para inducir la supresión inmune *in vivo*, por ejemplo, para tratar o prevenir trastornos inflamatorios o autoinmunes (por ejemplo, glomerulonefritis, rechazo de trasplantes/injertos, psoriasis, trastornos atópicos, asma, trastornos autoinmunes, tales como artritis reumatoide y SLE, e IBD (por ejemplo, enfermedad de Crohn, colitis ulcerativa)).

[0082] Con el fin de poder comprender mejor la presente invención, primero se definirán determinados términos. Se proporcionan definiciones adicionales en la descripción detallada.

[0083] Los términos "MU-1", "proteína MU-1", "receptor de Interleuquina-21" o "IL-21R", como se los usa en la presente documentación, designan un receptor de la familia de la citoquina clase I, también conocido como NLR (WO 01/85792; Parrish-Novak et al. (2000) *Nature* 408:57-63; Ozaki et al. (2000) *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 97:11439-444). MU-1 es homólogo a la cadena β

compartida por los receptores IL-2 e IL-15, e IL-4 α (Ozaki et al. (2000) *supra*). Al unirse el ligando, IL-21R/MU-1 es capaz de interactuar con una cadena de receptor de citoquina y en común (γc) (Asao et al. (2001) *J. Immunol.* 167:1-5) e inducir la fosforilación de STAT1 y STAT3 (Asao et al. (2001)) o STAT5 (Ozaki et al. (2000)). MU-1 presenta una distribución amplia en tejidos linfoides. El término "MU-1" designa un receptor (preferiblemente de mamífero, por ejemplo, de origen murino o humano) capaz de interactuar, por ejemplo, capaz de unirse a IL-21 (preferiblemente de mamífero, por ejemplo, IL-21 murino o humano), que tiene una de las siguientes características: (i) una secuencia de aminoácidos de un polipéptido MU-1 IL-21R/MU-1 de mamífero de ocurrencia natural, o un fragmento de ésta, por ejemplo, una secuencia de aminoácidos presentada en SEQ ID N° 2 (humana) o SEQ ID N° 10 (murina), o un fragmento de ésta; (ii) una secuencia de aminoácidos sustancialmente homóloga, por ejemplo, al menos 85%, 90%, 95%, 98% o 99% homóloga a una secuencia de aminoácidos presentada en SEQ ID N° 2 (humana) o SEQ ID N° 10 (murina), o un fragmento de ésta; (iii) una secuencia de aminoácidos codificada por una secuencia de nucleótidos de IL-21R/MU-1 de mamífero de ocurrencia natural, o un fragmento de ésta (por ejemplo, SEQ ID N° 1 (humana) o SEQ ID N° 9 (murina), o un fragmento de ésta); (iv) una secuencia de aminoácidos codificada por una secuencia de nucleótidos sustancialmente homóloga, por ejemplo, al menos 85%, 90%, 95%, 98%, 99% homóloga a una secuencia de nucleótidos indicada en SEQ ID N° 1 (humana) o SEQ ID N° 9 (murina), o un fragmento de ésta; (v) una secuencia de aminoácidos codificada por una secuencia de nucleótidos degenerada de una secuencia de IL-21R/MU-1 de ocurrencia natural, o un fragmento de ésta, por ejemplo, SEQ ID

Nº 1 (humana) o SEQ ID Nº 9 (murina), o un fragmento de ésta; o (vi) una secuencia de nucleótidos que hibridiza con una de las secuencias de nucleótidos anteriores bajo condiciones severas, por ejemplo, condiciones muy severas.

[0084] El IL-21R/MU-1 es de mamífero, preferiblemente de origen humano. Se indica la secuencia de nucleótidos y la secuencia de aminoácidos predicha de IL-21R/MU-1 en SEQ ID Nº 1 y SEQ ID Nº 2, respectivamente. El análisis de la secuencia de aminoácidos de IL-21R/MU-1 humano (SEQ ID Nº 2; FIG. 2B) reveló las siguientes características estructurales: una secuencia directriz (aproximadamente los aminoácidos 1-19 de SEQ ID Nº 2 (FIG. 2B)); un motivo WSXWS (aproximadamente los aminoácidos 213-217 de SEQ ID Nº 2); un dominio transmembrana (aproximadamente los aminoácidos 236-252 de SEQ ID Nº 2 (FIG. 2B)); un dominio extracelular aproximadamente entre los aminoácidos 1-235 de SEQ ID Nº 2; y un dominio intracelular aproximadamente entre 253-538 de SEQ ID Nº 2. Se cree que el IL-21R/MU-1 humano maduro tiene la secuencia de los aminoácidos 20-538 de SEQ ID Nº 2.

[0085] Se depositó el ADNc de IL-21R/MU-1 en la Colección Americana de Tipos de Cultivo el 10 de Marzo de 1998, bajo el número de acceso ATCC 98687.

[0086] Puede usarse cualquier forma de las proteínas IL-21R/MU-1 con una longitud menor que la completa en los métodos y las composiciones de la presente invención, siempre que retenga la capacidad de unirse a un polipéptido de IL-21. Pueden producirse proteínas de IL-21R/MU-1 con una longitud menor que la completa, por ejemplo, IL-21R soluble, expresando un

fragmento correspondiente del polinucleótido que codifica la proteína MU-1 completa en una célula huésped. Estos fragmentos de polinucleótidos correspondientes también son parte de la presente invención. Pueden prepararse polinucleótidos modificados como se describió previamente empleando procedimientos convencionales de biología molecular, incluyendo la construcción de mutantes de delección apropiadas deseadas, métodos de mutagénesis dirigida a sitios específicos o reacciones en cadena de la polimerasa usando oligonucleótidos cebadores apropiados.

[0087] Como se lo usa en la presente documentación, un "polipéptido IL-21R/MU-1 soluble" es un polipéptido IL-21R/MU-1 incapaz de anclarse en una membrana. Estos polipéptidos solubles incluyen, por ejemplo, polipéptidos MU-1 o IL-21R que carecen de una porción suficiente de su dominio transmembrana para anclarse al polipéptido, o que están modificados de modo tal que el dominio transmembrana no es funcional, por ejemplo, un fragmento soluble de un IL-21R (por ejemplo, un fragmento de un IL-21R que comprende el dominio extracelular de IL-21R murino o humano) incluye una secuencia de aminoácidos aproximadamente entre los aminoácidos 1-235, 1-236, 20-235, 20-236 de SEQ ID N° 2 (humano), o aproximadamente entre los aminoácidos 1-236, 20-236 de SEQ ID N° 10 (murino). Además, un polipéptido IL-21R/MU-1 soluble puede incluir, por ejemplo, puede estar fusionado a una segunda porción, por ejemplo, un polipéptido (por ejemplo, una cadena de inmunoglobulina, GST, Lex-A o una secuencia de polipéptido MBP). Por ejemplo, una proteína de fusión puede incluir al menos un fragmento de un polipéptido IL-21R capaz de unirse a IL-21, por ejemplo, un fragmento soluble de un IL-21R (por ejemplo, un fragmento de un IL-21R que comprende el

dominio extracelular de IL-21R murino o humano; por ejemplo, aproximadamente entre los aminoácidos 1-235, 1-236, 20-235, 20-236 de SEQ ID N° 2 (humano), o aproximadamente entre los aminoácidos 1-236, 20-236 de SEQ ID N° 10 (murino), fusionado a una segunda porción, por ejemplo, un polipéptido (por ejemplo, una cadena de inmunoglobulina, un fragmento Fc, una región constante de cadena pesada de los distintos isotipos, incluyendo: IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgM, IgA1, IgA2, IgD y IgE).

[0088] El término "interleuquina-21" o "IL-21" designa una citoquina que presenta homología de secuencia con IL-2, IL-4 e IL-15 (Parrish-Novak et al. (2000) *Nature* 408:57-63). A pesar de la baja homología de secuencia entre las interleuquinas de citoquina, las citoquinas comparten un pliegue común en una estructura de "haz de cuatro hélices" que es representativa de la familia. Se expresa primariamente en células T CD4+ activadas, y se ha informado que tiene efecto sobre las células NK, B y T (Parrish-Novak et al. (2000) *supra*; Kasaian et al. (2002) *supra*). IL-21 se une a IL-21R (también conocido en la presente documentación como MU-1 y NILR). Al unirse IL-21, la activación de IL-21R conduce a la señalización de STAT5 o STAT3 (Ozaki et al. (2000) *supra*). El término "IL-21" o "polipéptido IL-21" designa una proteína (preferiblemente de mamífero, por ejemplo, de origen murino o humano) que es capaz de interactuar, por ejemplo, unirse a IL-21R (preferiblemente de mamífero, por ejemplo, IL-21 murino o humano) y que tiene una de las siguientes características: (i) una secuencia de aminoácidos de un IL-21 de mamífero de ocurrencia natural, o un fragmento de ésta, por ejemplo, una secuencia de aminoácidos presentada en SEQ ID N° 19 (humano) o un fragmento de ésta; (ii) una secuencia de aminoácidos sustancialmente

homóloga, por ejemplo, al menos 85%, 90%, 95%, 98%, 99% homóloga a una secuencia de aminoácidos presentada en SEQ ID N° 19 (humano) o un fragmento de ésta; (iii) una secuencia de aminoácidos codificada por una secuencia de nucleótidos de un IL-21 de mamífero de ocurrencia natural, o un fragmento de ésta (por ejemplo, SEQ ID N° 18 (humano) o un fragmento de ésta); (iv) una secuencia de aminoácidos codificada por una secuencia de nucleótidos que es sustancialmente homóloga, por ejemplo, al menos 85%, 90%, 95%, 98%, 99% homóloga a una secuencia de nucleótidos indicada en SEQ ID N° 18 (humano), o un fragmento de ésta; (v) una secuencia de aminoácidos codificada por una secuencia de nucleótidos degenerada de una secuencia de nucleótidos de IL-21 de ocurrencia natural, o un fragmento de ésta, por ejemplo, SEQ ID N° 19 (humano) o un fragmento de ésta; o (vi) una secuencia de nucleótidos que hibridiza con una de las secuencias de nucleótidos anteriores bajo condiciones severas, por ejemplo, bajo condiciones muy severas.

[0089] La frase "una actividad biológica" de un polipéptido MU-1 o IL-21R designa una o más de las actividades biológicas de la proteína madura MU-1 correspondiente, incluyendo, sin limitaciones, (1) la interacción, por ejemplo, la unión con un polipéptido de IL-21 (por ejemplo, un polipéptido de IL-21 humano); (2) la asociación con moléculas de transducción de señales, por ejemplo, *yc*, JAK1; (3) la fosforilación y/o la activación estimuladora de proteínas STAT, por ejemplo, STAT5 y/o STAT3; y/o (4) la modulación, por ejemplo, la estimulación o la disminución, la proliferación, la diferenciación, la función de las células efectoras, la actividad citolítica, la secreción de citoquinas y/o la supervivencia de las células inmunes, por ejemplo, células T

(células T CD8+, CD4+), células NK, células B, macrófagos y megacariocitos).

[0090] Como se lo usa en la presente documentación, un "antagonista de IL-21/IL-21R" que es útil en el método de la invención designa un agente que reduce, inhibe o disminuye de otro modo una o más actividades biológicas de un polipéptido IL-21R/MU-1. En una realización preferida, el antagonista interactúa, por ejemplo, se une a un polipéptido IL-21R/MU-1. En otra realización preferida, el antagonista interactúa, por ejemplo, se une a un polipéptido de IL-21. El antagonismo usando un antagonista de IL-21/IL-21R no indica necesariamente una eliminación total de la actividad biológica del polipéptido IL-21R/MU-1 y/o el polipéptido IL-21.

[0091] Como se lo usa en la presente documentación, una "cantidad efectiva para el uso terapéutico" de un antagonista de IL-21/IL-21R designa una cantidad de un agente que es efectiva, al administrar una o múltiples dosis a un sujeto, por ejemplo, un paciente humano, para curar, reducir la severidad, mejorar o prevenir uno o más síntomas de un trastorno, o para prolongar la supervivencia del sujeto más allá de lo esperado en ausencia de dicho tratamiento.

[0092] Como se lo usa en la presente documentación, "una cantidad efectiva para el uso profiláctico" de un antagonista de IL-21/IL-21R designa una cantidad de un antagonista de IL-21/IL-21R que es efectiva, al administrar una o múltiples dosis a un sujeto, por ejemplo, un paciente humano, para prevenir o demorar la ocurrencia del inicio o la recurrencia de un trastorno, por ejemplo, un trastorno como se describe en la presente documentación.

[0093] Los términos "inducir", "inhibir", "potenciar", "elevar", "incrementar", "disminuir" o semejantes, por ejemplo, que denotan diferencias cuantitativas

entre dos estados, designan al menos diferencias de significación estadística entre los dos estados.

[0094] En este contexto, el término "en combinación" significa que los agentes se proporcionan en forma sustancialmente contemporánea, de manera simultánea o consecutiva. Si se los administra de manera consecutiva, al principio de la administración del segundo compuesto, el primero de los dos compuestos preferiblemente aún puede detectarse a concentraciones efectivas en el sitio del tratamiento o en el sujeto.

[0095] Como se lo usa en la presente documentación, una "proteína de fusión" designa una proteína que contiene dos o más porciones asociadas operativamente, por ejemplo, porciones conectadas, por ejemplo, porciones proteicas. Preferiblemente, las porciones están asociadas en forma covalente. Las porciones pueden estar asociadas directamente o pueden estar conectadas a través de un espaciador o un conector.

[0096] Como se lo usa en la presente documentación, el término "anticuerpo" designa una proteína que comprende al menos una y preferiblemente dos regiones de cadenas pesadas (H) variables (abreviadas en la presente documentación como VH), y al menos una y preferiblemente dos regiones de cadenas livianas (L) variables (abreviadas en la presente documentación como VL). Las regiones VH y VL pueden subdividirse adicionalmente en regiones de hipervariabilidad, denominadas "regiones determinantes de la complementariedad" ("CDR"), separadas por regiones que están más conservadas, denominadas "regiones de marco" (FR). La extensión de la región de marco y las CDR ha sido definida con precisión (véanse, por ejemplo, Kabat et al. (1991) *Sequences of Proteins of Immunological Interest*,

quinta edición, Departamento de Salud y Servicios Humanos de los EEUU, Publicación del INS N° 91-3242, y Chotia et al. (1987) J. Mol. Biol. 196:901-17, que se incorporan en la presente documentación a modo de referencia). Cada VH y VL está compuesta por tres CDR y cuatro FR dispuestos entre el extremo amino y el extremo carboxilo en el siguiente orden: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, FR4.

[0097] Además, el anticuerpo puede incluir una región constante en las cadenas pesada y liviana, para formar una cadena pesada y una cadena liviana de inmunoglobulina, respectivamente. En una realización, el anticuerpo es un tetrámero de dos cadenas de inmunoglobulina pesadas y dos cadenas de inmunoglobulina livianas, donde las cadenas de inmunoglobulina pesadas y livianas están interconectadas, por ejemplo, por enlaces disulfuro. La región constante de la cadena pesada está compuesta por tres dominios, CH1, CH2 y CH3. La región constante de la cadena liviana está compuesta por un dominio, CL. La región constante de las cadenas pesada y liviana contiene un dominio de unión que interactúa con un antígeno. Las regiones constantes de los anticuerpos típicamente median en la unión del anticuerpo con tejidos o factores del huésped, incluyendo varias células del sistema inmune (por ejemplo, células efectoras) y el primer componente (C1q) del sistema de complemento clásico.

[0098] Como se lo usa en la presente documentación, el término "inmunoglobulina" designa una proteína que consiste en uno o más polipéptidos sustancialmente codificados por genes de inmunoglobulina. Los genes de inmunoglobulina humana reconocidos incluyen los genes de las regiones constantes kappa, lambda, alfa (IgA1 y IgA2), gamma (IgG1, IgG2,

IgG3, IgG4), delta, épsilon y mu, así como los diversos genes de la región variable de la inmunoglobulina. Las "cadenas livianas" completas de las inmunoglobulinas (de aproximadamente 25 KDa o 214 aminoácidos) están codificadas por un gen de región variable en el extremo NH₂ (aproximadamente 110 aminoácidos) y un gen de región constante kappa o lambda en el extremo COOH. Del mismo modo, las "cadenas pesadas" de la Inmunoglobulina (de aproximadamente 50 kDa o 446 aminoácidos) están codificadas por un gen de región variable (de aproximadamente 116 aminoácidos) y uno de los genes de región constante mencionados previamente, por ejemplo, gamma (que codifica aproximadamente 330 aminoácidos).

[0099] Como se lo usa en la presente documentación, un "isotipo" designa la clase de anticuerpos (por ejemplo, IgM o IgG1) codificada por los genes de región constante de la cadena pesada.

[0100] El término "fragmento de unión a antígeno" de un anticuerpo (o simplemente la "porción del anticuerpo", o el "fragmento"), como se lo usa en la presente documentación, designa uno o más fragmentos de un anticuerpo completo que retienen la capacidad de unirse específicamente a un antígeno (por ejemplo, CD3). Los ejemplos de los fragmentos de unión comprendidos dentro del término "fragmento de unión a antígeno" de un anticuerpo incluyen (i) un fragmento Fab, un fragmento monovalente que consiste en los dominios VL, VH, CL y CH1; (ii) un fragmento F(ab')₂, un fragmento bivalente que comprende dos fragmentos Fab unidos por un enlace disulfuro en la región bisagra; (iii) un fragmento Fd que consiste en los dominios VH y CH1; (iv) un fragmento Fv que consiste en los dominios VL y VH de un único brazo de un anticuerpo, (v) un fragmento dAb (Ward et al., (1989) *Nature* 341:544-546), que

consiste en un dominio VH; y (vi) una región determinante de la complementariedad aislada (CDR). Además, aunque los dos dominios del fragmento Fv, VL y VH, están codificados por genes separados, pueden unirse, usando métodos de recombinación, a través de un conector sintético que les permite prepararlos como una proteína de cadena única, donde las regiones VL y VH se aparean para formar moléculas monovalentes (conocidas como Fv de cadena simple (scFv); véanse, por ejemplo, Bird et al. (1988) *Science* 242:423-26; y Huston et al. (1988) *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 85:5879-83). Estos anticuerpos de cadena simple también están abarcados en el término "fragmento de unión a antígeno" de un anticuerpo. Estos fragmentos de anticuerpos se obtienen usando procedimientos convencionales conocidos por aquellos entrenados en la técnica, y se analizan la utilidad de los fragmentos del mismo modo que para los anticuerpos intactos.

[0101] Las secuencias similares u homólogas (por ejemplo, con al menos aproximadamente 85% de identidad de secuencia) a las secuencias descritas en la presente documentación también son parte de esta memoria descriptiva. En algunas realizaciones, la identidad de secuencia puede ser de aproximadamente 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o mayor. Como alternativa, existe identidad sustancial cuando los segmentos de ácidos nucleicos hibridizan bajo condiciones de hibridización selectivas (por ejemplo, condiciones de hibridización muy severas) con el complemento de la cadena. Los ácidos nucleicos pueden estar presentes en células completas, en un lisado celular o en una forma parcialmente purificada o sustancialmente pura. °

[0102] Los cálculos de "homología" o "identidad de secuencia" entre dos

secuencias (los términos se usan indistintamente en la presente documentación) se realizan como se indica a continuación. Se alinean las secuencias con el objeto de realizar una comparación óptima (por ejemplo, pueden introducirse regiones de falta de coincidencia en una o ambas de una primera y una segunda secuencia de aminoácidos o ácidos nucleicos para obtener un alineamiento óptimo, y pueden descartarse las secuencias no homólogas para realizar la comparación). En una realización preferida, la longitud de una secuencia de referencia alineada para realizar la comparación es de al menos 30%, preferiblemente al menos 40%, más preferiblemente al menos 50%, aún más preferiblemente al menos 60%, y aún más preferiblemente al menos 70%, 80%, 90%, 100% de la longitud de la secuencia de referencia. Luego se comparan los residuos de aminoácidos o los nucleótidos en las posiciones de los aminoácidos o los nucleótidos correspondientes. Cuando una posición en la primera secuencia está ocupada por el mismo residuo de aminoácido o nucleótido que la posición correspondiente en la segunda secuencia, luego las moléculas son idénticas en dicha posición (como se la usa en la presente documentación, la "identidad" de aminoácidos o ácidos nucleicos es equivalente a la "homología" de aminoácidos o ácidos nucleicos). El porcentaje de identidad entre las dos secuencias es una función de la cantidad de posiciones idénticas compartidas por las secuencias, teniendo en cuenta la cantidad de faltas de coincidencia y la longitud de cada región de falta de coincidencia, que haya sido necesario introducir para obtener un alineamiento óptimo de las dos secuencias.

[0103] Puede efectuarse la comparación de las secuencias y la determinación del porcentaje de identidad entre dos secuencias usando un algoritmo

matemático. En una realización preferida, se determina el porcentaje de identidad entre dos secuencias de aminoácidos usando el algoritmo de Needleman y Wunsch ((1970) *J. Mol. Biol.* 48:444-53), que ha sido incorporado en el programa GAP del conjunto de software GCG (disponible en www.gcg.com), empleando una matriz BLOSUM 62 o una matriz PAM250, una ponderación de falta de coincidencia de 16, 14, 12, 10, 8, 6 ó 4, y una ponderación de longitud de 1, 2, 3, 4, 5 ó 6. En aún otra realización preferida, se determina el porcentaje de identidad entre dos secuencias de nucleótidos usando el programa GAP en el conjunto de software GCG (disponible en www.gcg.com), empleando una matriz NWSgapdna.CMP, una ponderación de falta de coincidencia de 40, 50, 60, 70 u 80 y una ponderación de longitud de 1, 2, 3, 4, 5 ó 6. Un conjunto de parámetros particularmente preferidos (y aquél que debería usar el encargado de la determinación, si no está seguro de qué parámetros deberían aplicarse si una molécula está dentro de las limitaciones de identidad de secuencia u homología de la invención) comprende una matriz de calificación BLOSUM 62 con una penalidad de falta de coincidencia de 12, una penalidad de extensión de falta de coincidencia de 4 y una penalidad de desplazamiento de marco de falta de coincidencia de 5. También puede determinarse el porcentaje de identidad entre dos secuencias de aminoácidos o nucleótidos usando el algoritmo de Meyers y Miller ((1989) *CABIOS*, 4:11-17), que ha sido incorporado en el programa ALIGN (versión 2.0), usando una tabla de Ponderación de residuos PAM120, una penalidad de longitud de falta de coincidencia de 12 y una penalidad de falta de coincidencia de 4.

[0104] Como se lo usa en la presente documentación, el término "hibridiza bajo condiciones severas" describe condiciones para la hibridización y el lavado.

Las condiciones severas son conocidas por aquellos entrenados en la técnica y pueden hallarse en *Current Protocols in Molecular Biology*, John Wiley & Sons, N.Y. (1989), 6.3.1-6.3.6. En esta referencia se describen métodos acuosos y no acuosos, y puede usarse cualquiera de ellos. Un ejemplo preferido de condiciones de hibridización severas son una hibridización en cloruro de sodio/citrato de sodio 6X (SSC) a aproximadamente 45°C, seguida por uno o más lavados en SSC 0,2X, 0,1% de SDS a 50°C. Otro ejemplo de condiciones de hibridización severas comprenden una hibridización en SSC 6X a aproximadamente 45°C, seguida por uno o más lavados en SSC 0,2X, 0,1% de SDS a 55°C. Otro ejemplo de condiciones de hibridización severas comprenden una hibridización en SSC 6X a aproximadamente 45°C, seguida por uno o más lavados en SSC 0,2X, 0,1% de SDS a 60°C. Preferiblemente, las condiciones de hibridización severas comprenden una hibridización en SSC 6X a aproximadamente 45°C; seguida por uno o más lavados en SSC 0,2X, 0,1% de SDS a 65°C. Las condiciones muy severas particularmente preferidas (y las condiciones que deberían usarse si el encargado de la hibridización no está seguro de qué condiciones deberían aplicarse para determinar si una molécula está dentro de un límite de hibridización de la invención) comprenden fosfato de sodio 0,5 M, 7% de SDS a 65°C, a lo que siguen uno o más lavados en SSC 0,2X, 1% SDS a 65°C. Los polinucleótidos aislados de la presente invención pueden usarse como sondas y cebadores de hibridización para identificar y aislar ácidos nucleicos con secuencias idénticas o similares a aquellos que codifican los polinucleótidos descritos. Los métodos de hibridización para identificar y aislar ácidos nucleicos incluyen la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), las hibridizaciones Southern, la hibridización *in*

situ y la hibridación Northern, y son bien conocidos por aquellos entrenados en la técnica. En la presente documentación se proporcionan descripciones adicionales de las condiciones y las reacciones de hibridación.

[0105] Las reacciones de hibridación pueden efectuarse bajo distintas condiciones de severidad. La severidad de una reacción de hibridación incluye la dificultad con la que hibridarán una con otra dos moléculas de ácidos nucleicos cualquiera. Preferiblemente, cada polinucleótido que hibrida lo hace con el polinucleótido correspondiente bajo condiciones de severidad reducida, más preferiblemente condiciones severas, y más preferiblemente condiciones muy severas. En la Tabla 1 a continuación se presentan ejemplos de condiciones de severidad: las condiciones muy severas son aquellas que son al menos tan severas, por ejemplo, como las condiciones A-F; las condiciones severas son al menos tan severas como, por ejemplo, las condiciones G-L; y las condiciones de severidad reducida son al menos tan severas como, por ejemplo, las condiciones M-R.

TABLA 1

Condición de severidad	Híbrido de polinucleótidos	Longitud del híbrido (bp) ¹	Temperatura y amortiguador de hibridación ²	Temperatura y amortiguador de lavado ²
A	ADN:ADN	> 50	65°C; SSC 1X o 42°C; SSC 1X, 50% de	65°C; SSC 0,3X

			formamida	
B	ADN:ADN	<50	T _B *; SSC 1X	T _B *; SSC 1X
C	ADN:ARN	> 50	67°C; SSC 1X o 45°C; SSC 1X, 50% de formamida	67°C; SSC 0,3X
D	ADN:ARN	<50	T _D *; SSC 1X	T _D *; SSC 1X
E	ARN:ARN	>50	70°C; SSC 1X o 50°C; SSC 1X, 50% de formamida	70°C; SSC 0,3X
F	ARN:ARN	<50	T _F *; SSC 1X	T _F *; SSC 1X
G	ADN:ADN	>50	65°C; SSC 4X o 42°C; SSC 4X, 50% de formamida	65°C; SSC 1X
H	ADN:ADN	<50	T _H *; SSC 4X	T _H *; SSC 4X
I	ADN:ARN	>50	67°C; SSC 4X o 45°C; SSC 4X, 50% de formamida	67°C; SSC 1X

J	ADN:ARN	<50	T _J *; SSC 4X	T _J *; SSC 4X
K	ARN:ARN	>50	70°C; SSC 4X o 50°C; SSC 4X, 50% de formamida	67°C; SSC 1X
L	ARN:ARN	<50	T _L *; SSC 2X	T _L *; SSC 2X
M	ADN:ADN	>50	50°C; SSC 4X o 40°C; SSC 6X, 50% de formamida	50°C; SSC 2X
N	ADN:ADN	<50	T _N *; SSC 6X	T _N *; SSC 6X
O	ADN:ARN	>50	55°C; SSC 4X o 42°C; SSC 6X, 50% de formamida	55°C; SSC 2X
P	ADN:ARN	<50	T _P *; SSC 6X	T _P *; SSC 6X
Q	ARN:ARN	>50	60°C; SSC 4X o 45°C; SSC 6X, 50% de formamida	60°C; SSC 2X
R	ARN:ARN	<50	T _R *; SSC 4X	T _R *; SSC 4X

¹La longitud del híbrido es aquella anticipada para las regiones hibridizadas de los polinucleótidos que hibridizan. Cuando se hace hibridizar un polinucleótido con un polinucleótido blanco de secuencia desconocida, se asume que la longitud del híbrido es aquella del polinucleótido que hibridiza. Cuando se hacen hibridizar polinucleótidos de secuencia conocida, puede determinarse la longitud del híbrido alineando las secuencias de los polinucleótidos e identificando la o las regiones con complementariedad de secuencia óptima.

²Puede reemplazarse el SSPE (SSPE 1X es NaCl 0,15 M, NaH₂PO₄ 10 mM, y EDTA 1,25 mM, pH 7,4) por SSC (SSC 1X es NaCl 0,15 M y citrato de sodio 15 mM) en los amortiguadores de hibridización y lavado; los lavados se realizan durante 15 minutos una vez completada la hibridización.

$T_B^* - T_R^*$: Se anticipa que la temperatura de hibridización de los híbridos con menos de 50 pares de bases de longitud es 5-10°C menor que la temperatura de fusión (T_m) del híbrido, donde T_m se determina de acuerdo con las siguientes ecuaciones. Para los híbridos con menos de 18 pares de bases de longitud, $T_m(^{\circ}\text{C}) = 2(\# \text{ de bases A} + \text{T}) + 4(\# \text{ de bases G} + \text{C})$. Para los híbridos de entre 18 y 49 pares de bases de longitud, $T_m(^{\circ}\text{C}) = 81,5 + 16,6(\log_{10} \text{Na}^+) + 0,41(\% \text{G} + \text{C}) - (600/\text{N})$, donde N es la cantidad de bases en el híbrido y Na^+ es la concentración de iones sodio en el amortiguador de hibridización (Na^+ para SSC 1X = 0,165 M).

Se proporcionan ejemplos adicionales de condiciones severas para hibridizar polinucleótidos en Sambrook et al., Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Capítulos 9 & 11, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY (1989), y Ausubel et al., editores, Current Protocols in Molecular Biology, Secciones 2.10 & 6.3-6.4, John Wiley & Sons, Inc. (1995), incorporados en la

presente documentación a modo de referencia.

[0106] Los polinucleótidos aislados de la presente invención pueden usarse como sondas y cebadores de hibridización para identificar y aislar ADN con secuencias que codifican variantes alélicas de los polinucleótidos descriptos. Las variantes alélicas son formas alternativas de ocurrencia natural de los polinucleótidos descriptos que codifican polipéptidos que son idénticos o tienen una similitud significativa respecto de los polipéptidos codificados por los polinucleótidos descriptos. Preferiblemente, las variantes alélicas tienen al menos 90% de identidad de secuencia (más preferiblemente al menos 95% de identidad; más preferiblemente al menos 99% de identidad) con los polinucleótidos descriptos.

[0107] Los polinucleótidos aislados de la presente invención también pueden usarse como sondas y cebadores de hibridización para identificar y aislar ADN con secuencias que codifican polipéptidos homólogos a los polinucleótidos descriptos. Estos homólogos son polinucleótidos y polipéptidos aislados a partir de una especie diferente de aquella que contiene los polipéptidos y los polinucleótidos descriptos, o son de la misma especie, pero presentan una similitud de secuencia significativa con los polinucleótidos y los polipéptidos descriptos. Preferiblemente, los polinucleótidos homólogos tienen al menos 50% de identidad de secuencia (más preferiblemente al menos 75% de identidad; más preferiblemente al menos 90% de identidad) con los polinucleótidos descriptos, mientras que los polipéptidos homólogos tienen al menos 30% de identidad de secuencia (más preferiblemente al menos 45% de identidad; más preferiblemente al menos 60% de identidad) con los polipéptidos descriptos. Preferiblemente, los homólogos de los polinucleótidos

y los polipéptidos descriptos son aquellos aislados a partir de especies de mamíferos.

[0108] Los polinucleótidos aislados de la presente invención también pueden usarse como sondas y cebadores de hibridización para identificar células y tejidos que expresan los polipéptidos de la presente invención, y las condiciones bajo las que se expresan.

[0109] Se interpreta que los antagonistas de IL-21/IL-21R de la presente invención pueden presentar sustituciones de aminoácidos adicionales conservativas o no esenciales, que no tengan efectos sustanciales sobre sus funciones. Una "sustitución de aminoácidos conservativa" es una donde se reemplaza el residuo de aminoácido por un residuo de aminoácido que tiene una cadena lateral similar. En la técnica se han definido familias de residuos de aminoácidos con cadenas laterales similares. Estas familias incluyen aminoácidos con cadenas laterales básicas (por ejemplo, lisina, arginina, histidina), cadenas laterales ácidas (por ejemplo, ácido aspártico, ácido glutámico), cadenas laterales polares no cargadas (por ejemplo, glicina, asparagina, glutamina, serina, treonina, tirosina, cisteína), cadenas laterales no polares (por ejemplo, alanina, valina, leucina, isoleucina, prolina, fenilalanina, metionina, triptofano), cadenas laterales con ramificaciones beta (por ejemplo, threonina, valina, isoleucina) y cadenas laterales aromáticas (por ejemplo, tirosina, fenilalanina, triptofano, histidina).

[0110] El término "célula huésped recombinante" (o simplemente "célula huésped"), como se lo usa en la presente documentación, designa una célula en la que se ha introducido un vector de expresión recombinante. Deberá comprenderse que estos términos no designan solamente la célula particular

en cuestión, sino también la progenie de dicha célula. Como pueden efectuarse determinadas modificaciones en las generaciones sucesivas debido a influencias mutacionales o ambientales, esta progenie, de hecho, puede no ser idéntica a la célula progenitora, pero aún puede incluirse en el alcance del término "célula huésped" como se lo usa en la presente documentación.

Antagonistas de IL-21/IL-21R

[0111] En una realización, puede fusionarse un polipéptido IL-21R/MU-1, o fragmentos activos de éste, con una segunda porción, por ejemplo, una inmunoglobulina o un fragmento de ésta (por ejemplo, un fragmento de unión a Fc de ésta). Por ejemplo, pueden fusionarse formas solubles de IL-21R/MU-1 a través de secuencias "conectoras" con la porción Fc de una inmunoglobulina. También pueden usarse otras proteínas de fusión, tales como aquellas con GST, Lex-A o MBP.

[0112] Las proteínas de fusión también pueden incluir una secuencia conectora para unir el fragmento de IL-21 o IL-21R con la segunda porción. Por ejemplo, la proteína de fusión puede incluir un conector peptídico, por ejemplo, un conector peptídico de entre 4 y 20, más preferiblemente entre 5 y 10 aminoácidos de longitud; en una realización, el conector peptídico tiene 8 aminoácidos de longitud. Cada uno de los aminoácidos en el conector peptídico se selecciona del grupo que consiste en Gly, Ser, Asn, Thr y Ala; en una realización, el conector peptídico incluye un elemento Gly-Ser. En otras realizaciones, la proteína de fusión incluye un conector peptídico y el conector peptídico incluye una secuencia con la fórmula (Ser-Gly-Gly-Gly-Gly)_y, donde y es 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 u 8.

[0113] En otras realizaciones, pueden agregarse secuencias de aminoácidos

adicionales en el extremo N o C de la proteína de fusión para facilitar la expresión, la detección y/o el aislamiento o la purificación. Por ejemplo, puede unirse la proteína de fusión IL-21/IL-21R a una o más porciones adicionales, por ejemplo, GST, una marca His₆, una marca FLAG. Por ejemplo, la proteína de fusión puede unirse adicionalmente a una proteína de fusión GST, donde se fusionen las secuencias de la proteína de fusión con el extremo C de secuencias GST (es decir, glutatión S-transferasa). Estas proteínas de fusión pueden facilitar la purificación de la proteína de fusión MU-1.

[0114] En otra realización, la proteína de fusión incluye una secuencia señal heteróloga (es decir, una secuencia de polipéptido que no está presente en un polipéptido codificado por un ácido nucleico de MU-1) en su extremo N. Por ejemplo, puede retirarse la secuencia señal nativa de MU-1 y puede reemplazársela por una secuencia señal de otra proteína. En determinadas células huésped (por ejemplo, células huésped de mamíferos), puede incrementarse la expresión y/o la secreción de MU-1 mediante el uso de una secuencia señal heteróloga.

[0115] Puede producirse una proteína quimérica o de fusión de la invención empleando procedimientos convencionales de ADN recombinante. Por ejemplo, se unen fragmentos de ADN que codifican las distintas secuencias de polipéptidos en marco de lectura de acuerdo con procedimientos convencionales, por ejemplo, empleando extremos romos o sesgados para la unión, digestión con enzimas de restricción para proporcionar los extremos apropiados, relleno con extremos cohesivos según sea apropiado, tratamiento con fosfatasa alcalina para evitar uniones indeseadas, y unión enzimática. En otra realización, puede sintetizarse el gen de fusión de acuerdo con

procedimientos convencionales, incluyendo sintetizadores de ADN automatizados. Como alternativa, puede efectuarse la amplificación por PCR de los fragmentos genéticos usando cebadores de anclaje que den lugar a salientes complementarias entre dos fragmentos genéticos consecutivos, que luego se alinearán y amplificarán nuevamente para generar una secuencia genética quimérica (véase, por ejemplo, Ausubel et al. (editores) Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley & Sons, 1992). Más aún, existen muchos vectores de expresión disponibles comercialmente que codifican una porción de fusión (por ejemplo, una región Fc de una cadena pesada de Inmunoglobulina). Puede clonarse un ácido nucleico que codifica MU-1 en uno de estos vectores de expresión, de modo que la porción de fusión quede unida en el marco de lectura con la proteína de Inmunoglobulina. En algunas realizaciones, los polipéptidos de fusión de MU-1 existen como oligómeros, tales como dímeros o trímeros. El primer polipéptido, y/o los ácidos nucleicos que codifican el primer polipéptido, puede construirse usando métodos conocidos en la técnica.

[0116] En algunas realizaciones, se proporciona el polipéptido MU-1 como una variante de un polipéptido MU-1 que tiene una mutación en la secuencia de MU-1 de ocurrencia natural (tipo salvaje) que resulta en una mayor afinidad (respecto de la secuencia no mutada) que une el polipéptido MU-1 con un IL-21.

[0117] En algunas realizaciones, la porción del polipéptido MU-1 se proporciona como una variante del MU-1 que tiene mutaciones en la secuencia de MU-1 de ocurrencia natural (tipo salvaje) que resulta en una secuencia de MU-1 más resistente a la proteólisis (respecto de la secuencia no mutada). En

algunas realizaciones, el primer polipéptido incluye un polipéptido MU-1 completo. Como alternativa, el primer polipéptido comprende menos que un polipéptido MU-1 completo.

[0118] Un péptido señal que puede incluirse en la proteína de fusión es MPLLLLLLLLLPSPLHP (SEQ ID N° 21). Si se lo desea, pueden insertarse adicionalmente uno o más aminoácidos entre la primera porción del polipéptido que comprende la porción MU-1 y la segunda porción del polipéptido.

[0119] El segundo polipéptido preferiblemente es soluble. En algunas realizaciones, el segundo polipéptido mejora la vida media, (por ejemplo, la vida media en suero) del polipéptido unido. En algunas realizaciones, el segundo polipéptido incluye una secuencia que facilita la asociación del polipéptido de fusión con un segundo polipéptido MU-1. En realizaciones preferidas, el segundo polipéptido incluye al menos una región de un polipéptido de inmunoglobulina. En la técnica se conocen polipéptidos de fusión de inmunoglobulina, y se los describe, por ejemplo, en las Patentes de los EEUU N° 5516964, 5225538, 5428130, 5514582, 5714147 y 5455165.

[0120] En algunas realizaciones, el segundo polipéptido comprende un polipéptido de inmunoglobulina completo. Como alternativa, el segundo polipéptido comprende menos que un polipéptido de inmunoglobulina completo, por ejemplo, una cadena pesada, una cadena liviana, Fab, Fab₂, Fv o Fc. Preferiblemente, el segundo polipéptido incluye la cadena pesada de un polipéptido de inmunoglobulina. Más preferiblemente, el segundo polipéptido incluye la región Fc de un polipéptido de inmunoglobulina.

[0121] En otro aspecto de la invención, el segundo polipéptido tiene una función efectora menor que la función efectora de una región Fc de una

cadena pesada de inmunoglobulina. La función efectora de Fc incluye, por ejemplo, la unión al receptor Fc, la fijación de complemento y la actividad de debilitamiento de células T (véase, por ejemplo, la Patente de los EEUU N° 6136310). En la técnica se conocen métodos evaluar la actividad de debilitamiento de células T, la función efectora de Fc y la estabilidad de los anticuerpos. En una realización, el segundo polipéptido tiene poca o ninguna afinidad por el receptor Fc. En una realización alternativa, el segundo polipéptido tiene poca o ninguna afinidad por la proteína de complemento C1q.

[0122] Una secuencia preferida para el segundo polipéptido incluye la secuencia de aminoácidos de SEQ ID N° 17. Esta secuencia incluye una región Fc. Los aminoácidos subrayados son aquellos que difieren de los aminoácidos hallados en la posición correspondiente de la secuencia de inmunoglobulina tipo salvaje:

HTCPPCPAPEALGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK
TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPVPIEKTISKARGQPREPQVYFLPP
SREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ
QGNVVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID N° 17)

[0123] En las FIGS. 7-15 se presentan ejemplos de proteínas de fusión antagonísticas que pueden usarse en los métodos de la invención. En una realización, la proteína de fusión incluye una secuencia de aminoácidos seleccionada, por ejemplo, entre SEQ ID N° 23, SEQ ID N° 25, SEQ ID N° 27, SEQ ID N° 29, SEQ ID N° 31, SEQ ID N° 33, SEQ ID N° 35, SEQ ID N° 37 o SEQ ID N° 39, o una secuencia al menos 85%, 90%, 95%, 98% o más idéntica a ella. En otras realizaciones, la proteína de fusión incluye una secuencia de aminoácidos codificada por una secuencia de nucleótidos seleccionada, por

ejemplo, entre SEQ ID N° 22, SEQ ID N° 24, SEQ ID N° 26, SEQ ID N° 28, SEQ ID N° 30, SEQ ID N° 32, SEQ ID N° 34, SEQ ID N° 36 o SEQ ID N° 38, o una secuencia al menos 85%, 90%, 95%, 98% o más idéntica a ella. Las proteínas de fusión preferidas tienen la secuencia de aminoácidos presentada en SEQ ID N° 25 o SEQ ID N° 29 (FIGS. 8A-8C y 10A-10C, respectivamente), o una secuencia al menos 85%, 90%, 95%, 98% o más idéntica a ella. En otras realizaciones, la proteína de fusión incluye una secuencia de aminoácidos codificada por una secuencia de nucleótidos seleccionada, por ejemplo, entre SEQ ID N° 24 o SEQ ID N° 28 (FIGS. 8A-8C y 10A-10C, respectivamente), o una secuencia al menos 85%, 90%, 95%, 98% o más idéntica a ella. Más preferiblemente, la proteína de fusión tiene la secuencia de aminoácidos presentada en SEQ ID N° 29, o tiene una secuencia de aminoácidos codificada por una secuencia de nucleótidos indicada en SEQ ID N° 28 (FIG. 10A-10C).

[0124] En otras realizaciones, los antagonistas de IL-21/IL-21R son anticuerpos o fragmentos de unión a antígeno de éstos, que se unen a IL-21 o IL-21R, preferiblemente, IL-21 o IL-21R de mamíferos (por ejemplo, humanos o murinos).

[0125] Las proteínas MU-1 de la invención también pueden usarse para inmunizar animales para obtener anticuerpos policlonales y monoclonales que reaccionen específicamente con la proteína MU-1, y que puedan inhibir la unión de ligandos al receptor. Estos anticuerpos pueden obtenerse usando MU-1 completo como inmunógeno, o usando fragmentos de MU-1. También pueden usarse fragmentos de MU-1 más pequeños para inmunizar los animales. Además, los péptidos inmunogénicos pueden contener un residuo de cisteína en el extremo carboxilo, y están conjugados con un hapteno, tal como

hemoclanina de cangrejo cacerola (KLH). Pueden generarse péptidos inmunogénicos adicionales reemplazando los residuos de tirosina por residuos de tirosina sulfatada. En la técnica se conocen métodos para sintetizar estos péptidos.

[0126] Los anticuerpos neutralizadores o no neutralizadores (preferiblemente anticuerpos monoclonales) que se unen a proteínas MU-1 también pueden ser útiles en el tratamiento de las condiciones descritas previamente. Estos anticuerpos monoclonales neutralizadores pueden ser capaces de bloquear la unión de ligandos a la cadena del receptor MU-1.

[0127] Además, la presente invención provee composiciones que comprenden un anticuerpo que reacciona específicamente con un IL-21 o un IL-21R.

[0128] Pueden generarse anticuerpos monoclonales (mAbs) humanos dirigidos contra IL-21 o IL-21R usando ratones transgénicos que contienen los genes de inmunoglobulina humana, en vez del sistema basado en ratón. Se usan esplenocitos de estos ratones transgénicos inmunizados con el antígeno de interés para producir hibridomas que secretan mAbs humanos con afinidades específicas por epítopes para una proteína humana (véanse, por ejemplo, Wood et al., Publicación Internacional WO 91/00906, Kuchelapati et al., Publicación Internacional WO 91/10741; Lonberg et al., Publicación Internacional WO 92/03918; Kay et al., Publicación Internacional WO 92/03917; Lonberg et al. (1994) *Nature* 368:856-59; Green et al. (1994) *Nat. Genet.* 7:13-21; Morrison et al. (1994) *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 81:6851-55; Bruggeman et al. (1993) *Year Immunol.* 7:33-40; Tuaillon et al. (1993) *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 90:3720-24; Bruggeman et al. (1991) *Eur. J. Immunol.* 21:1323-1326).

[0129] También pueden generarse anticuerpos monoclonales empleando otros métodos conocidos por aquellos entrenados en la técnica de la tecnología de ADN recombinante. Se ha desarrollado un método alternativo, conocido como el método de "presentación de anticuerpos de combinación", para identificar y aislar fragmentos de anticuerpos con una especificidad antigénica particular, y puede utilizárselos para producir anticuerpos monoclonales; este método es bien conocido en la técnica. Después de inmunizar un animal con un inmunógeno, se clona el repertorio de anticuerpos de la reserva de células B resultantes. En general, se conocen métodos para obtener la secuencia de ADN de las regiones variables de una población diversa de moléculas de inmunoglobulina usando una mezcla de oligómeros cebadores y PCR. Por ejemplo, pueden usarse oligonucleótidos cebadores mixtos que corresponden a secuencias directrices 5' (péptido señal) y/o secuencias de marco 1 (FR1), así como cebadores de una región conservada 3' constante, para realizar la amplificación por PCR de las regiones variables de las cadenas pesada y liviana a partir de una cantidad de anticuerpos murinos (Larrick et al. (1991) *Biotechniques* 11:152-56). También puede usarse un procedimiento similar para amplificar las regiones variables de las cadenas pesada y liviana a partir de anticuerpos humanos (Larrick et al. (1991) *Methods: Companion to Methods in Enzymology* 2:106-10).

[0130] Pueden producirse anticuerpos quiméricos, incluyendo cadenas de inmunoglobulina quiméricas, empleando procedimientos de ADN recombinante conocidos en la técnica. Por ejemplo, se digiere un gen que codifica la región Fc constante de una molécula de anticuerpo monoclonal murino (o de otra especie) con enzimas de restricción para remover la región que codifica la Fc

murina, y se sustituye la porción de un gen que codifica la región constante Fc humana (véanse, por ejemplo, Robinson et al., Publicación Internacional de Patente PCT/US86/02269; Akira et al., Publicación Europea de Patente 184187; Taniguchi, Publicación Europea de Patente 171496; Morrison et al., Publicación Europea de Patente 173494; Neuberger et al., Publicación Internacional WO 86/01533; Cabilly et al. Patente de los EEUU N° 4816567; Cabilly et al., Publicación Europea de Patente 125023; Better et al. (1988) *Science* 240:1041-43; Liu et al. (1987) *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 84:3439-43; Liu et al. (1987) *J. Immunol.* 139:3521-26; Sun et al. (1987) *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 84:214-18; Nishimura et al. (1987) *Canc. Res.* 47:999-1005; Wood et al. (1985) *Nature* 314:446-49; Shaw et al. (1988) *J. Natl. Cancer Inst.* 80:1553-59).

[0131] Puede humanizarse un anticuerpo o una cadena de Inmunoglobulina empleando métodos conocidos en la técnica. Pueden generarse anticuerpos humanizados, incluyendo cadenas de inmunoglobulina humanizadas, reemplazando secuencias de la región variable Fv que no participan directamente en la unión de antígenos por secuencias equivalentes de regiones variables Fv humanas. Se proporcionan métodos generales para generar anticuerpos humanizados en Morrison (1985) *Science* 229:1202-07; Oi et al. (1986) *BioTechniques* 4:214; y Queen et al., Patentes de los EEUU N° 5585089, 5693761 y 5693762, cuyos contenidos se incorporan en la presente documentación a modo de referencia. Estos métodos incluyen aislar, manipular y expresar las secuencias de ácidos nucleicos que codifican la totalidad o una parte de las regiones variables Fv de Inmunoglobulina de al menos una de las cadenas pesadas o livianas. Las fuentes de estos ácidos nucleicos son bien

conocidas por aquellos entrenados en la técnica, y pueden obtenerse, por ejemplo, a partir de un hibridoma que produce un anticuerpo contra un blanco predeterminado. Luego puede clonarse el ADN recombinante que codifica el anticuerpo humanizado, o un fragmento de éste, en un vector de expresión apropiado.

[0132] Pueden producirse moléculas de anticuerpos o inmunoglobulinas humanizadas o injertadas con CDR efectuando un injerto con CDR o una sustitución por CDR, donde pueden reemplazarse una, dos o todas las CDR de una cadena de inmunoglobulina (véanse, por ejemplo, la Patente de los EEUU N° 5225539; Jones et al. (1986) *Nature* 321:552-25; Verhoeyan et al. (1988) *Science* 239:1534; Beldler et al. (1988) *J. Immunol.* 141:4053-60; Winter, Patente de los EEUU N° 5225539, cuyos contenidos se incorporan en la presente documentación a modo de referencia. Winter describe un método de injerto de CDR que puede usarse para preparar los anticuerpos humanizados de la presente invención (Solicitud de Patente del Reino Unido GB 2188638A, presentada el 26 de Marzo de 1987; Winter, Patente de los EEUU N° 5225539, cuyos contenidos se incorporan en la presente documentación a modo de referencia). Pueden reemplazarse todas las CDR de un anticuerpo humano particular por al menos una porción de una CDR no humana, o pueden reemplazarse solamente algunas de las CDR por CDR no humanas. Solamente es necesario reemplazar la cantidad de CDR necesarias para unir el anticuerpo humanizado a un antígeno predeterminado.

[0133] Los anticuerpos monoclonales, quiméricos y humanizados que han sido modificados, por ejemplo, mediante la delección, la adición o la sustitución de otras porciones del anticuerpo, por ejemplo, la región constante, también están

dentro del alcance de la invención. Por ejemplo, puede modificarse un anticuerpo: (i) eliminando la región constante; (ii) reemplazando la región constante por otra región constante, por ejemplo, una región constante cuyo objeto es incrementar la vida media, la estabilidad o la afinidad del anticuerpo, o una región constante de otra especie o clase de anticuerpo; o (iii) modificando uno o más aminoácidos en la región constante para alterar, por ejemplo, la cantidad de sitios de glicosilación, la función de las células efectoras, la unión con receptores Fc (FcR) y la fijación de complementos, entre otros.

[0134] En la técnica se conocen métodos para alterar la región constante de un anticuerpo. Pueden producirse anticuerpos con una función alterada, por ejemplo, afinidad alterada por un ligando efector, tal como un FcR en una célula, o el componente C1 del complemento, reemplazando al menos un residuo de aminoácido en la porción constante del anticuerpo por un residuo diferente (véase, por ejemplo, E.P. 388151 A1, Patente de los EEUU N° 5624821 y Patente de los EEUU N° 5648260, cuyos contenidos se incorporan en la presente documentación a modo de referencia). Podrán describirse tipos de alteraciones similares que, de aplicarse a Inmunoglobulinas de especies murinas o diferentes, reducirán o eliminarán estas funciones.

[0135] Por ejemplo, es posible alterar la afinidad de una región Fc de un anticuerpo (por ejemplo, una IgG, tal como una IgG humana) por un FcR (por ejemplo, Fc gamma R1), o para la unión con C1q, reemplazando el/los residuo(s) específico(s) por uno o más residuos con una funcionalidad apropiada en su cadena lateral, o introduciendo un grupo funcional cargado, tal como glutamato o aspartato, o tal vez un residuo aromático no polar, tal como

fenilalanina, tirosina, triptofano o alanina (véase, por ejemplo, la Patente de los EEUU N° 5624821).

[0136] En el ámbito público se conocen las secuencias de aminoácidos de los polipéptidos IL-21. Por ejemplo, la secuencia de nucleótidos y aminoácidos de un IL-21 humano está disponible en GENBANK®, con el N° de Acceso X_011082. A continuación se presenta la secuencia del IL-21 descrito:

```

1 gctgaagtga aaacgagacc aaggtctagc tctactgttg gtacttatga gatccagtcc
61 tggcaacatg gagaggattg tcatctgtct gatggtcata ttcttgggga cactgggtcca
121 caaatcaagc tcccaaggtc aagatcgcca catgattaga atgcgtcaac ttatagatat
181 tgttgatcag ctgaaaaatt atgtgaatga cttggtcocct gaatttctgc cagctccaga
241 agatgtagag acaaaactgtg agtggtcagc tttttcctgc tttcagaagg cccaactaaa
301 gtcagcaaat acaggaaaca atgaaaggat aatcaatgta tcaattaaaa agctgaagag
361 gaaaccacct tccacaaatg cagggagaag acagaaacac agactaacat gcccttcctg
421 tgattcttat gagaaaaaac caccacaaga attcctagaa agattcaaat cacttctcca
481 aaagatgatt catcagcacc tgtcctctag aacacacgga agtgaagatt cctgaggatc
541 taacttgtag ttggacacta tgttacatac tctaataatag tagtgaaagt catttctttg
601 tattccaagt ggaggag (SEQ ID N° 18)

```

[0137] A continuación se presenta la secuencia de aminoácidos del polipéptido IL-21 humano descrito:

```

MRSSPGNMRIVICIMVIFLQTLVHKSSSQGQDRHMIRMRLIDIVDQLKNYVNDLVPEFLPAPEDVETN
CEWSAFSCFPQKAQLKSANTGNMERIINVSIIKLRKPPSTNAGRRQKHRLTCPSCDSEYKPKPKFLERF
KSLIQKMIHQHLSRTHGSEDS (SEQ ID N° 19)

```

[0138] La invención también comprende ácidos nucleicos que hibridizan con la secuencia de nucleótidos detallada en SEQ ID N° 1, SEQ ID N° 22, SEQ ID N° 24, SEQ ID N° 26, SEQ ID N° 28, SEQ ID N° 30, SEQ ID N° 32, SEQ ID N° 34,

SEQ ID N° 36 o SEQ ID N° 38, bajo condiciones muy severas (por ejemplo, SSC 0,1X a 65°C). Los polinucleótidos aislados que codifican proteínas o proteínas de fusión MU-1, pero que difieren de la secuencia de nucleótidos detallada en SEQ ID N° 1, SEQ ID N° 22, SEQ ID N° 24, SEQ ID N° 26, SEQ ID N° 28, SEQ ID N° 30, SEQ ID N° 32, SEQ ID N° 34, SEQ ID N° 36 o SEQ ID N° 38 en virtud de la degeneración del código genético, también están comprendidos por la presente invención. Las variaciones en la secuencia de nucleótidos detalladas en SEQ ID N° 1, SEQ ID N° 22, SEQ ID N° 24, SEQ ID N° 26, SEQ ID N° 28, SEQ ID N° 30, SEQ ID N° 32, SEQ ID N° 34, SEQ ID N° 36 o SEQ ID N° 38, causadas por mutaciones puntuales o por modificaciones inducidas, también están incluidas en la invención.

[0139] Los polinucleótidos aislados de la invención pueden unirse operativamente a una secuencia de control de la expresión, tal como los vectores de expresión pMT2 o pED descritos en Kaufman et al. (1991) *Nucleic Acids Res.* 19:4485-90, con el fin de producir la proteína MU-1 en forma recombinante. En la técnica se conocen muchas secuencias apropiadas para controlar la expresión. También se conocen métodos generales para expresar proteínas recombinantes, y se presentan ejemplos de éstos en Kaufman (1990) *Methods in Enzymology* 185:537-66. Como se lo define en la presente documentación, "unido operativamente" designa unido por medios enzimáticos o químicos para formar una unión covalente entre el polinucleótido aislado de la invención y la secuencia de control de la expresión, de modo tal que la proteína MU-1 se expresa en una célula huésped que ha sido transformada (transfectada) con el polinucleótido/la secuencia de control de la expresión unida.

[0140] El término "vector", como se lo usa en la presente documentación, hace referencia a una molécula de ácido nucleico capaz de transportar otro ácido nucleico al que está unida. Un tipo de vector es un "plásmido", que designa un rizo de ADN circular de cadena doble en el que pueden unirse segmentos de ADN adicionales. Otro tipo de vector es un vector viral, con el que pueden unirse segmentos de ADN adicionales en el genoma viral. Determinados vectores son capaces de replicarse en forma autónoma en una célula huésped en la que se introducen (por ejemplo, vectores bacterianos que tienen un origen de replicación bacteriano y vectores episomales de mamíferos). Otros vectores (por ejemplo, vectores no episomales de mamíferos) pueden integrarse en el genoma de una célula al introducirse en la célula huésped, y por consiguiente se replican junto con el genoma huésped. Más aún, determinados vectores son capaces de dirigir la expresión de los genes a los que están unidos operativamente. Estos vectores se conocen en la presente documentación como "vectores de expresión recombinantes" (o simplemente "vectores de expresión"). En general, los vectores de expresión útiles en los procedimientos de ADN recombinante comúnmente toman la forma de plásmidos. En la presente memoria descriptiva, puede usarse "plásmido" y "vector" en forma indistinta, ya que el plásmido es la forma de uso más común de un vector. Sin embargo, la invención incluye otras formas de vectores de expresión, tales como vectores virales (por ejemplo, retrovirus, adenovirus y virus adeno-asociados con replicación defectuosa), que tienen funciones equivalentes.

[0141] El término "secuencia reguladora" incluye promotores, potenciadores y otros elementos de control de la expresión (por ejemplo, señales de

poliadenilación) que controlan la transcripción o la traducción de los genes de las cadenas de anticuerpos. Estas secuencias reguladoras se describen, por ejemplo, en Goeddel (1990) *Gene Expression Technology: Methods in Enzymology* 185, Academic Press, San Diego, CA. Aquellos entrenados en la técnica podrán apreciar que el diseño del vector de expresión, incluyendo la selección de las secuencias reguladoras, puede depender de factores tales como la selección de la célula huésped que se desea transformar, el nivel de expresión deseado para la proteína, etcétera. Las secuencias reguladoras preferidas para efectuar la expresión en células huésped de mamíferos incluyen elementos virales que dirigen niveles de expresión proteica elevados en células de mamíferos, tales como los promotores y/o los potenciadores derivados del promotor FF-1a y la poli A de BGH, citomegalovirus (CMV) (tales como el promotor/potenciador de CMV), el virus de simio 40 (SV40) (tales como el promotor/potenciador de SV40), adenovirus, (por ejemplo, el promotor tardío mayor de adenovirus (AdMLP)) y poliomias. Para hallar descripciones adicionales de elementos reguladores virales, y secuencias de éstos, véanse, por ejemplo, las Patentes de los EEUU N° 5168062, 4510245, 4968615.

[0142] Los vectores de expresión recombinantes de la invención pueden contener secuencias adicionales, tales como secuencias que regulan la replicación del vector en las células huésped (por ejemplo, orígenes de replicación) y genes marcadores de selección. El gen marcador de selección facilita la selección de las células huésped en las que se lo ha introducido (véanse, por ejemplo, las Patentes de los EEUU N° 4399216, 4634665, 5179017). Por ejemplo, típicamente el gen marcador de selección confiere resistencia a drogas, tales como G418, higromicina o metotrexato, a una célula

huésped en la que se ha introducido el vector. Los genes marcadores de selección preferidos incluyen el gen de dihidrofolato reductasa (DHFR) (para usar en células huésped dhfr⁻ con selección/amplificación con metotrexato) y el gen *neo* (para efectuar una selección con G418).

[0143] Una cantidad de tipos de células pueden actuar como células huésped apropiadas para expresar la proteína o la proteína de fusión de MU-1. Puede usarse cualquier tipo de célula capaz de expresar proteínas MU-1 funcionales. Las células huésped de mamíferos apropiadas incluyen, por ejemplo, células COS de mono, células de ovario de hámster chino (CHO), células de riñón humano 293, células epidérmicas humanas A431, células Colo205 humanas, células 3T3, células CV-1, otras líneas de células de primates transformadas, células diploides normales, cepas de células derivadas de cultivos *in vitro* de tejidos primarios, explantes primarios, células HeLa, células L de ratón, células BHK, HL-60, U937, HaK, Rat2, BaF3, 32D, FDCP-1, PC12, M1x o C2C12.

[0144] También puede producirse la proteína o la proteína de fusión MU-1 uniendo operativamente el polinucleótido aislado de la invención con secuencias de control apropiadas en uno o más vectores de expresión de insectos, y empleando un sistema de expresión en insectos. Existen materiales y métodos relacionados con sistemas de expresión con baculovirus/células de insectos disponibles comercialmente, por ejemplo, en Invitrogen, San Diego, CA (por ejemplo, el conjunto de elementos MAXBAC[®]), y estos métodos son bien conocidos en la técnica, como se describe en Summers y Smith, Boletín de la Estación Agrícola Experimental de Texas N° 1555 (1987), incorporado en la presente documentación a modo de referencia. También pueden producirse formas solubles de la proteína MU-1 en células de insectos usando

polinucleótidos aislados apropiados, como se describió previamente.

[0145] Como alternativa, puede producirse la proteína o la proteína de fusión MU-1 en eucariotas inferiores, tales como levaduras, o en procariotas, tales como bacterias. Las cepas de levaduras apropiadas incluyen *Saccharomyces cerevisiae*, *Schizosaccharomyces pombe*, *Kluyveromyces strains*, *Candida* o cualquier cepa de levadura capaz de expresar proteínas heterólogas. Las cepas bacterianas apropiadas incluyen *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Salmonella typhimurium*, o cualquier cepa bacteriana capaz de expresar proteínas heterólogas.

[0146] La expresión en bacterias puede resultar en la formación de cuerpos de inclusión que incorporen la proteína recombinante. Por consiguiente, puede ser necesario plegar nuevamente la proteína recombinante para producir material activo o más activo. En la técnica se conocen varios métodos para obtener proteínas heterólogas plegadas correctamente a partir de cuerpos de inclusión bacterianos. Estos métodos comprenden generalmente solubilizar la proteína a partir de los cuerpos de inclusión, luego desnaturalizar la proteína por completo usando un agente caotrópico. Cuando hay residuos de cisteína presentes en la secuencia de aminoácidos primaria de la proteína, es comúnmente necesario efectuar el nuevo plegamiento en un ambiente que permita la formación correcta de puentes disulfuro (un sistema redox). Se describen métodos generales para efectuar este nuevo plegamiento en Kohno (1990) *Meth. Enzym.* 185:187-95; en E.P. 0433225 y la Patente de los EEUU N° 5399677 se describen otros métodos apropiados.

[0147] La proteína o la proteína de fusión MU-1 también puede expresarse como un producto de animales transgénicos, por ejemplo, como un

componente de la leche de vacas, cabras, cerdos u ovejas transgénicas, caracterizadas por la presencia de células somáticas o germinales que contienen una secuencia de polinucleótidos que codifica la proteína o la proteína de fusión MU-1.

[0148] Puede prepararse la proteína o la proteína de fusión MU-1 desarrollando un cultivo de células huésped transformadas bajo condiciones de cultivo necesarias para expresar la proteína deseada. Luego puede purificarse la proteína deseada expresada a partir del medio de cultivo o los extractos celulares. Pueden purificarse formas solubles de la proteína o la proteína de fusión MU-1 a partir de medios acondicionados. Pueden purificarse las formas unidas a membrana de la proteína MU-1 de la invención preparando una fracción total de membrana a partir de las células que presentan expresión, y extrayendo las membranas con un detergente no iónico, tal como TRITON® X-100.

[0149] Puede purificarse la proteína o la proteína de fusión MU-1 usando métodos conocidos por aquellos entrenados en la técnica. Por ejemplo, puede concentrarse la proteína MU-1 de la invención usando un filtro de concentración proteica disponible comercialmente, por ejemplo, una unidad de ultrafiltración AMICON® o PELLICON® (Millipore, Billerica, MA). Después del paso de concentración, puede aplicarse el concentrado a una matriz de purificación, tal como un medio de filtración en gel. Como alternativa, puede emplearse una resina de intercambio aniónico, por ejemplo, una matriz o un sustrato que tiene grupos dietilaminoetilo (DEAE) o polietilenimina (PEI) unidos. Las matrices pueden ser de acrilamida, agarosa, dextrano, celulosa o de otros tipos empleados comúnmente en la purificación de proteínas. Como

alternativa, puede emplearse un paso de intercambio catiónico. Los sistemas de intercambio catiónico apropiados incluyen varias matrices insolubles que comprenden grupos sulfopropilo o carboximetilo. Se prefieren los grupos sulfopropilo (por ejemplo, columnas S-SEPHAROSE®). La purificación de la proteína o la proteína de fusión MU-1 a partir de un sobrenadante de cultivo también puede incluir uno o más pasos en columna, sobre resinas de afinidad tales como concanavalina A-agarosa, heparina-TOYOPEARL® o azul Cibacron 3GA SEPHAROSE®; o de cromatografía de interacción hidrofóbica, usando resinas tales como fenil éter, butil éter o propil éter; o de cromatografía de inmunofinidad. Finalmente, puede emplearse uno o más pasos de cromatografía líquida de alto desempeño de fase inversa (RP-HPLC) con medios de RP-HPLC hidrofóbicos, por ejemplo, gel de sílice con grupos metilo u otros grupos alifáticos unidos, para purificar adicionalmente la proteína MU-1. También pueden usarse columnas de afinidad que incluyen anticuerpos contra la proteína MU-1 en la purificación, de acuerdo con métodos conocidos. También pueden usarse algunos o todos los métodos de purificación anteriores, en varias combinaciones o con otros métodos conocidos, para proporcionar una proteína recombinante sustancialmente purificada. Preferiblemente, la proteína MU-1 aislada se purifica de modo que esté sustancialmente libre de otras proteínas de mamíferos.

[0150] También pueden usarse las proteínas o las proteínas de fusión MU-1 de la invención para buscar agentes capaces de unirse a MU-1. Los ensayos de unión que usan una proteína de unión deseada, inmovilizada o no, son bien conocidos en la técnica y pueden usarse para este propósito con la proteína MU-1 de la invención. Pueden usarse ensayos de análisis basados en células

purificadas o basados en proteínas (libres de células) para identificar estos agentes. Por ejemplo, puede inmovilizarse la proteína MU-1 en forma purificada en un vehículo y puede medirse la unión de ligandos potenciales a la proteína MU-1 purificada.

Composiciones farmacéuticas

[0151] Los antagonistas de IL-21/IL-21R pueden usarse como una composición farmacéutica cuando se los combina con un vehículo aceptable para el uso farmacéutico. Esta composición puede contener, además de los antagonistas de IL-21/IL-21R y el vehículo, varios diluyentes, rellenos, sales, amortiguadores, estabilizadores, solubilizadores y otros materiales bien conocidos en la técnica. El término "aceptable para el uso farmacéutico" designa un material no tóxico que no interfiere con la efectividad de la actividad biológica de los ingredientes activos. Las características del vehículo dependerán de la ruta de administración.

[0152] La composición farmacéutica de la invención puede tomar la forma de un liposoma en el que se combinan uno o más antagonistas de IL-21/IL-21R, y otros vehículos aceptables para el uso farmacéutico, con agentes anfipáticos, tales como los lípidos que existen en forma agregada, tales como micelas, monocapas insolubles, cristales líquidos o capas lamelares en solución acuosa. Los lípidos apropiados para las formulaciones de liposomas incluyen, sin limitaciones, monoglicéridos, diglicéridos, sulfátidos, lisolecitina, fosfolípidos, saponina, ácidos biliares y semejantes. La preparación de estas formulaciones liposomales está dentro del nivel de aquellos entrenados en la técnica, como se describe, por ejemplo, en las Patente de los EEUU N° 4235871, 4501728, 4837028 y 4737323, todas incorporadas en la presente

documentación a modo de referencia.

[0153] Como se lo usa en la presente documentación, el término "cantidad efectiva para el uso terapéutico" designa la cantidad total de cada componente activo de la composición farmacéutica o el método que es suficiente para beneficiar significativamente al paciente, por ejemplo, para mejorar los síntomas, curar o incrementar la velocidad de curación de estas condiciones. Cuando se lo aplica a un ingrediente activo individual administrado solo, el término hace referencia a dicho ingrediente solo. Cuando se lo aplica a una combinación, el término hace referencia a las cantidades combinadas de los ingredientes activos que resultan en el efecto terapéutico, ya sea que se las administre en combinación, en serie o en forma simultánea.

[0154] Para poner en práctica el método de tratamiento o el uso de la presente invención, se administra una cantidad efectiva para el uso terapéutico de un antagonista de IL-21/IL-21R a un sujeto, por ejemplo, un mamífero (por ejemplo, un ser humano). Pueden administrarse uno o más antagonistas de IL-21/IL-21R de acuerdo con el método de la invención, solos o en combinación con otras terapias, como se describe con mayor detalle en la presente documentación. Cuando se lo coadministra con uno o más agentes, puede administrarse el antagonista de IL-21 y/o IL-21R en forma simultánea con el segundo agente, o en forma consecutiva. Si se lo administra en forma consecutiva, el médico a cargo decidirá la secuencia apropiada para administrar el o los antagonistas de IL-21/IL-21R en combinación con otros agentes.

[0155] La administración de un antagonista de IL-21/IL-21R usado en la composición farmacéutica o para poner en práctica el método de la presente

Invencción puede efectuarse de una variedad de formas convencionales, tales como ingestión oral, inhalación o inyección cutánea, subcutánea o intravenosa. Se prefiere la administración intravenosa al paciente.

[0156] Cuando se administra una cantidad efectiva para el uso terapéutico de un agonista o un antagonista de IL-21/IL-21R por vía oral, el agente aglutinante tomará la forma de una tableta, una cápsula, un polvo, una solución o un elídr. Cuando se la administre bajo la forma de una tableta, la composición farmacéutica de la invención podrá contener adicionalmente un vehículo sólido, tal como una gelatina o un coadyuvante. La tableta, la cápsula y el polvo pueden contener entre aproximadamente 5 y 95% de agente aglutinante, y preferiblemente entre aproximadamente 25 y 90% de agente aglutinante. Cuando se la administra como un líquido, puede agregarse un vehículo líquido, tal como agua, petróleo, aceites de origen animal o vegetal, tal como aceite de maní, aceite mineral, aceite de soja, aceite de sésamo o aceites sintéticos. Además, la forma líquida de la composición farmacéutica puede contener solución salina fisiológica, dextrosa u otra solución de sacáridos, o glicoles, tales como etilenglicol, propilenglicol o polietilenglicol. Cuando se la administra en forma líquida, la composición farmacéutica contiene entre aproximadamente 0,5 y 90% en peso del agente aglutinante, y preferiblemente entre aproximadamente 1 y 50% de agente aglutinante.

[0157] Cuando se administra una cantidad efectiva para el uso terapéutico de un antagonista de IL-21/IL-21R por inyección intravenosa, cutánea o subcutánea, el agente aglutinante tomará la forma de una solución acuosa libre de pirógeno aceptable para el uso parenteral. La preparación de estas soluciones proteicas aceptables para el uso parenteral, que tienen el pH, la

isotonicidad, la estabilidad y factores semejantes apropiados, está dentro del alcance de aquellos entrenados en la técnica. Una composición farmacéutica preferida para una inyección intravenosa, cutánea o subcutánea deberá contener, además de un agente aglutinante, un vehículo isotónico, tal como una inyección de cloruro de sodio, una inyección de Ringer, una inyección de dextrosa, una inyección de dextrosa y cloruro de sodio, una inyección de Ringer lactada u otros vehículos conocidos en la técnica. La composición farmacéutica de la presente invención también puede contener estabilizadores, preservantes, amortiguadores, antioxidantes u otros aditivos conocidos por aquellos entrenados en la técnica.

[0158] La cantidad de un antagonista de IL-21/IL-21R en la composición farmacéutica de la presente invención dependerá de la naturaleza y la severidad de la condición a tratar, y de la naturaleza de los tratamientos previos a los que haya sido sometido el paciente. Finalmente, el médico a cargo decidirá la cantidad de agente aglutinante con la cual tratará a cada paciente individual. Inicialmente, el médico a cargo administrará dosis bajas de agente aglutinante y observará la respuesta del paciente. Podrán administrarse dosis mayores de agente aglutinante hasta obtener el efecto terapéutico óptimo para el paciente, y en este punto generalmente no se incrementará más la dosificación. Se contempla que las distintas composiciones farmacéuticas usadas para poner en práctica el método de la presente invención deberán contener entre aproximadamente 0,1 μ g y aproximadamente 100 mg de antagonista de IL-21/IL-21R por kg de peso corporal.

[0159] La duración de la terapia intravenosa usando la composición farmacéutica de la presente invención variará dependiendo de la severidad de

la enfermedad y la condición a tratar, y de la respuesta idiosincrática potencial de cada paciente individual. Se contempla que la duración de cada aplicación del antagonista de IL-21/IL-21R estará en el rango de entre 12 y 24 horas administración intravenosa continua. Finalmente, el médico a cargo decidirá la duración apropiada de la terapia intravenosa usando la composición farmacéutica de la presente invención.

[0160] Se espera que los polinucleótidos y las proteínas de la presente invención presentarán uno o más de los usos o las actividades biológicas (incluyendo aquellas asociadas con los ensayos citados en la presente documentación) identificadas en la presente documentación. Los usos o las actividades descritas para las proteínas de la presente invención pueden proporcionarse administrando o usando estas proteínas, o administrando o usando los polinucleótidos que codifican estas proteínas (tales como, por ejemplo, en terapia génica o en vectores apropiados para introducir el ADN).

Usos de los antagonistas de IL-21/IL-21R para reducir la actividad de las células inmunes

[0161] En aún otro aspecto, la invención proporciona un método para inhibir la actividad de una célula inmune, por ejemplo, células T maduras (células T CD8⁺ maduras, células T CD4⁺ maduras), células NK maduras, células B, macrófagos y megacariocitos, o una población de éstas, que comprende poner en contacto una población de células T con un antagonista de IL-21/IL-21R, en una cantidad suficiente para inhibir la actividad de la célula inmune o la población de células inmunes. Los antagonistas de IL-21 y/o IL-21R (por ejemplo, una proteína de fusión o un anticuerpo neutralizador, como se describe en la presente documentación) también pueden administrarse a los

sujetos en los que se desee inhibir una respuesta inmune. Estas condiciones o trastornos incluyen, por ejemplo, trastornos autoinmunes (por ejemplo, trastornos artríticos, RA, IBD), SLE, asma, glomerulonefritis, psoriasis, o transplantes de injertos/órganos (y el rechazo relacionado con éstos).

[0162] Los solicitantes han demostrado que una reducción de la actividad de IL-21R mediante el uso de una proteína de fusión neutralizadora, que incluye el dominio extracelular de IL-21R fusionado a una región Fc de inmunoglobulina, mejora los síntomas de inflamación en modelos animales de artritis inducida por colágeno (CIA) (Ejemplo 7), así como en modelos animales de la enfermedad de Crohn, la colitis ulcerativa y la IBD (Ejemplos 9 y 11), rechazo de injertos (Ejemplo 10), psoriasis (Ejemplo 11) y lupus (Ejemplo 13). La expresión del ARNm de IL-21R está regulada positivamente en las patas de ratones con CIA (Ejemplo 8). Los ratones con deficiencias de IL-21R presentan una reducción en la inflamación de las vías respiratorias inducida por antígenos (Ejemplo 12). Por consiguiente, pueden usarse agentes aglutinantes de IL-21R que antagonizan la actividad de IL-21/IL-21R para inducir la supresión inmune *in vivo*, por ejemplo, para tratar o prevenir las patologías asociadas con las células inmunes, incluyendo los trastornos autoinmunes (por ejemplo, trastornos artríticos, RA, IBD), SLE, glomerulonefritis, asma, psoriasis, o transplante de injertos/órganos.

[0163] El mapa del ADN de IL-21R también presenta el locus cromosómico de la enfermedad de Crohn, por lo que proporciona un soporte adicional para el uso de antagonistas de IL-21/IL-21R en el tratamiento de la enfermedad de Crohn y otras enfermedades intestinales inflamatorias.

[0164] Este método también puede usarse para modular (por ejemplo, inhibir)

la actividad, por ejemplo, la proliferación, la diferenciación, la supervivencia de una célula inmune, y por consiguiente puede usarse para tratar o prevenir una variedad de trastornos inmune. Los ejemplos no limitantes de los trastornos que pueden tratarse o prevenirse incluyen, sin limitaciones, el rechazo de trasplantes, las enfermedades autoinmunes (incluyendo, por ejemplo, diabetes mellitus, artritis (incluyendo RA, RA juvenil, osteoartritis (OA), artritis psoriática), esclerosis múltiple, encefalomiелitis, miastenia gravis, SLE, glomerulonefritis, tiroiditis autoinmune, dermatitis (incluyendo dermatitis atópica y dermatitis eccematosa), psoriasis y condiciones cutáneas relacionadas (por ejemplo, condiciones asociadas con el daño provocado por los rayos UV, por ejemplo, fotoenvejecimiento, dermatitis atópica, linfoma de células T cutáneas; tales como micosis fungoides, dermatitis de contacto alérgica e irritante, liquen plano, alopecia areata, vitiligo, pénfigoide en cicatrices oculares y urticaria), síndrome de Sjögren, enfermedad de Crohn, úlcera aftosa, lrtis, colitis ulcerativa, espondiloartropatía, espondilitis anquilosante, asma intrínseco, asma alérgico, enfermedad obstructiva pulmonar crónica (COPD), fibrosis pulmonar intersticial, lupus eritematoso cutáneo, escleroderma, erupciones relacionadas con drogas, uveítis autoinmune, encefalomiелitis alérgica, granulomatosis de Wegener, hepatitis, síndrome de Stevens-Johnson, erupciones idiopáticas, enfermedad de Graves, sarcoidosis, fibrosis hepática, cirrosis biliar primaria, uveítis posterior, enfermedad del injerto versus el huésped, y alergia, tal como alergia atópica. Los trastornos preferidos que pueden tratarse usando los antagonistas de IL-21/IL-21R incluyen los trastornos artríticos (por ejemplo, RA, RA juvenil, OA, artritis psoriática y espondilitis anquilosante (preferiblemente, artritis reumatoide)), esclerosis

múltiple, diabetes tipo I, lupus (SLE), IBD (enfermedad de Crohn, colitis ulcerativa), asma, vasculitis, alergia, escleroderma, glomerulonefritis y psoriasis.

[0165] En otra realización, pueden usarse los antagonistas de IL-21/IL-21R, solos o en combinación con otros agentes terapéuticos como los que se describen en la presente documentación (por ejemplo, antagonistas de TNF), para tratar el mieloma múltiple y los tumores linfocíticos malignos B relacionados (Brenne et al. (2002) *Blood* 99(10):3756-62).

[0166] Usando los antagonistas de IL-21/IL-21R, es posible modular las respuestas inmunes de una cantidad de formas. La regulación negativa puede tomar la forma de la inhibición o el bloqueo de una respuesta inmune que ya está en progreso, o puede comprender la inducción de una respuesta inmune. Pueden inhibirse las funciones de las células T activadas suprimiendo las respuestas de las células T o induciendo tolerancia específica en células T, o ambas. La inmunosupresión de las respuestas de las células T es generalmente un proceso activo, sin especificidad antigénica, que requiere de la exposición continua de las células T al agente supresor. La tolerancia, que comprende la inducción de la ausencia de respuesta o la anergia en las células T, se distingue de la inmunosupresión porque generalmente presenta especificidad antigénica y persiste después de que ha terminado la exposición al agente generador de tolerancia. En términos operativos, puede demostrarse la tolerancia a través de la ausencia de una respuesta de las células T al provocar una nueva exposición a un antígeno específico en ausencia del agente generador de tolerancia.

[0167] La regulación negativa o la prevención de las funciones inmunes, por

ejemplo, usando antagonistas de IL-21/IL-21R, será útil en situaciones de trasplante de tejidos, piel y órganos, y en la enfermedad del injerto versus el huésped (GVHD). Por ejemplo, la inhibición de la función de las células T reducirá la destrucción de los tejidos en el trasplante de tejidos. Típicamente, en los trasplantes de tejidos, el rechazo del trasplante comenzará con el reconocimiento de éste como extraño por las células T, a lo que seguirá una reacción inmune que destruirá el trasplante. La administración de un antagonista de IL-21/IL-21R, solo o en combinación con una molécula que inhiba o bloquee la interacción con otros efectores inmunes, antes, durante o después del trasplante, podrá servir para reducir las respuestas inmunes.

[0168] Podrá evaluarse la eficacia de los antagonistas de IL-21/IL-21R en la prevención del rechazo de trasplantes de órganos o la GVHD usando modelos en animales que puedan predecir la eficacia y la dosificación en seres humanos. Los ejemplos de sistemas apropiados que pueden usarse incluyen injertos cardíacos alogénicos en ratas e injertos xenogénicos de islotes pancreáticos en ratones, ambos usados para examinar los efectos de inmunosupresión de las proteínas de fusión CTLA4 Ig *in vivo*, como se describe en Lenschow et al. (1992) *Science* 257:789-92 y Turka et al. (1992) *Proc. Natl. Acad. Sci U.S.A.*, 89:11102-05. También pueden evaluarse los antagonistas de IL-21/IL-21R en otros modelos animales, por ejemplo, en modelos murinos de aloinjertos cardíacos vascularizados, y aloinjertos cutáneos de grosor completo. El modelo puede servir para evaluar el rechazo de tejidos con faltas de coincidencias de MHC competas, y puede combinar el bloqueo de IL-21 con la transfusión de linfocitos específicos para el donante. Además, pueden usarse modelos murinos de GVHD (véase, por ejemplo, Paul

ed., *Fundamental Immunology*, Raven Press, Nueva York (1989) pp. 846-47) para determinar el efecto de los antagonistas de IL-21/IL-21R *in vivo* sobre el desarrollo de GVHD o SLE. También puede evaluarse la eficacia de los antagonistas de IL-21/IL-21R en la prevención del rechazo de trasplantes de órganos o la GVHD en combinación con otros agentes terapéuticos, por ejemplo, un inmunosupresor, tal como rapamicina, ciclosporina o CTLA4Ig.

[0169] Los antagonistas de IL-21/IL-21R también pueden tener utilidad terapéutica en el tratamiento de enfermedades autoinmunes. Muchos trastornos autoinmunes son el resultado de la activación inapropiada de las células T, las cuales reaccionan contra los tejidos del huésped y promueven la producción de citoquinas y autoanticuerpos que participan en la patología de las enfermedades. La prevención de la activación de las células T autorreactivas puede reducir o eliminar los síntomas de enfermedad. Puede usarse la administración de antagonistas de IL-21/IL-21R, solos o en combinación con otros agentes (por ejemplo, como se describe en la presente documentación), para inhibir la activación de las células T y prevenir la producción de autoanticuerpos o citoquinas derivadas de células T que participen en el proceso de enfermedad. Adicionalmente, los antagonistas de IL-21/IL-21R, solos o en combinación con otros agentes (por ejemplo, como se describe en la presente documentación), incrementa la tolerancia con especificidad antigénica de las células T autorreactivas y conduce a un alivio a largo plazo de la enfermedad. Puede determinarse la eficacia de estos agentes en la prevención o el alivio de los trastornos autoinmunes usando una cantidad de modelos animales bien caracterizados de enfermedades autoinmunes humanas. Los ejemplos incluyen encefalitis autoinmune murina experimental,

lupus eritematoso sistémico en ratones MRL/lpr/lpr o ratones híbridos NZB, artritis autoinmune inducida por colágeno en ratones, diabetes mellitus en ratones NOD y ratas BB, y miastenia gravis murina experimental (véase, por ejemplo, Paul editor, *Fundamental Immunology*, Raven Press, Nueva York (1989) pp. 840-56).

[0170] En una realización, se administran los antagonistas de IL-21/IL-21R, por ejemplo, composiciones farmacéuticas de éstos, en una terapia de combinación, es decir, combinados con otros agentes, por ejemplo, agentes terapéuticos útiles para tratar condiciones o trastornos patológicos, tales como trastornos inmunes e inflamatorios. En este contexto, el término "en combinación" denota que los agentes se administran en forma sustancialmente contemporánea, ya sea en forma simultánea o consecutiva. Si se los administra en forma consecutiva, al inicio de la administración del segundo compuesto, el primero de los dos compuestos preferiblemente aún podrá detectarse en concentraciones efectivas en el sitio de tratamiento o en el sujeto.

[0171] Por ejemplo, la terapia de combinación puede incluir uno o más antagonistas de IL-21/IL-21R, por ejemplo, un anticuerpo o una porción de unión a antígeno de éste (por ejemplo, un anticuerpo quimérico, humanizado, humano o generado *in vitro*, o un fragmento de unión a antígeno de éste) contra IL-21 o un receptor de IL-21, una proteína de fusión de IL-21, un receptor IL-21 soluble, un inhibidor peptídico o una pequeña molécula inhibidora), coformulado y/o coadministrado con uno o más agentes terapéuticos adicionales, por ejemplo, una o más citoquinas e inhibidores de factores de crecimiento, inmunosupresores, agentes antiinflamatorios,

inhibidores metabólicos, Inhibidores enzimáticos y/o agentes citotóxicos o citostáticos, como se describe con mayor detalle en la presente documentación. Además, puede usarse uno o más antagonistas de IL-21/IL-21R descriptos en la presente documentación en combinación con dos o más de los agentes terapéuticos descriptos en la presente documentación. Estas terapias de combinación pueden utilizar ventajosamente dosificaciones menores de los agentes terapéuticos administrados, por lo que se evitan las toxicidades o las complicaciones posibles asociadas con las distintas monoterapias. Más aún, los agentes terapéuticos descriptos en la presente documentación actúan sobre vías que difieren de la vía del receptor IL-21/IL-21R, y por consiguiente se espera que mejoren y/o presenten sinergismo con los efectos de los antagonistas de IL-21/IL-21R.

[0172] Los agentes terapéuticos preferidos usados en combinación con un antagonista de IL-21/IL-21R son aquellos agentes que interfieren en distintas etapas en la respuesta autoinmune e inflamatoria subsiguiente. En una realización, puede coformularse y/o coadministrarse uno o más antagonistas de IL-21/IL-21R descriptos en la presente documentación con uno o más agentes adicionales, tales como otras citoquinas u otros antagonistas de factores de crecimiento (por ejemplo, receptores solubles, inhibidores peptídicos, pequeñas moléculas, fusiones de ligandos); o anticuerpos o fragmentos de unión a antígeno de éstos que se unan a otros blancos (por ejemplo, anticuerpos que se unan a otras citoquinas o factores de crecimiento, sus receptores u otras moléculas en la superficie de las células); y citoquinas antiinflamatorias o agonistas de éstas. Los ejemplos no limitantes de agentes que pueden usarse en combinación con el antagonista de IL-21/IL-21R

descrito en la presente documentación incluyen, sin limitaciones, antagonistas de una o más interleuquinas (IL) o sus receptores, por ejemplo, antagonistas de IL-1, IL-2, IL-6, IL-7, IL-8, IL-12, IL-13, IL-15, IL-16, IL-18 e IL-22; antagonistas de citoquinas o factores de crecimiento o sus receptores, tal como el factor de necrosis tumoral (TNF), LT, EMAP-II, GM-CSF, FGF y PDGF. También pueden combinarse los antagonistas de IL-21/IL-21R con inhibidores, por ejemplo, con anticuerpos contra moléculas de la superficie celular, tales como CD2, CD3, CD4, CD8, CD25, CD28, CD30, CD40, CD45, CD69, CD80 (B7.1), CD86 (B7.2), CD90 o sus ligandos, incluyendo CD154 (gp39 o CD40L), o LFA-1/ICAM-1 y VLA-4/VCAM-1 (Yusuf-Makagiansar et al. (2002) *Med. Res. Rev.* 22(2):146-67). Los antagonistas preferidos que pueden usarse en combinación con los antagonistas de IL-21/IL-21R descritos en la presente documentación incluyen antagonistas de IL-1, IL-6, IL-12, TNF α , IL-15, IL-17, IL-18 e IL-22.

[0173] Los ejemplos de aquellos agentes incluyen antagonistas de IL-12, tales como anticuerpos quiméricos, humanizados, humanos o generados *in vitro* (o fragmentos de unión a antígeno de éstos) que se unen a IL-12 (preferiblemente IL-12 humano), por ejemplo, el anticuerpo descrito en WO 00/58772, Genetics Institute/BASF); inhibidores del receptor de IL-12, por ejemplo, anticuerpos contra el receptor de IL-12 humano; y fragmentos solubles del receptor de IL-12, por ejemplo, el receptor de IL-12 humano. Los ejemplos de antagonistas de IL-6 incluyen anticuerpos (o fragmentos de unión a antígeno de éstos) contra IL-6 o su receptor, por ejemplo, anticuerpos quiméricos, humanizados, humanos o generados *in vitro* contra IL-6 humano o su receptor, fragmentos solubles del receptor de IL-6, y proteínas de unión a IL-6. Los

ejemplos de antagonistas de IL-15 incluyen anticuerpos (o fragmentos de unión a antígeno de éstos) contra IL-15 o su receptor, por ejemplo, anticuerpos quiméricos, humanizados, humanos o generados in vitro contra IL-15 humano o su receptor, fragmentos solubles del receptor IL-15 y proteínas de unión a IL-15. Los ejemplos de antagonistas de IL-18 incluyen anticuerpos, por ejemplo, anticuerpos quiméricos, humanizados, humanos o generados in vitro (o fragmentos de unión a antígeno de éstos), contra IL-18 humano, fragmentos solubles del receptor IL-18 y proteínas de unión a IL-18 (IL-18BP, Mallat et al. (2001) *Circ. Res.* 89:e41-45). Los ejemplos de antagonistas de IL-1 incluyen inhibidores de la enzima convertidora de interleuquina-1 (ICE), tales como Vx740, antagonistas de IL-1, por ejemplo, IL-1RA (ANIKINRA™, Amgen), sIL1RII (Inmunex), y anticuerpos contra el receptor de IL-1 (o fragmentos de unión a antígeno de éstos).

[0174] Los ejemplos de antagonistas de TNF incluyen anticuerpos quiméricos, humanizados, humanos o generados in vitro (o fragmentos de unión a antígeno de éstos) contra TNF (por ejemplo, TNF α humano), tales como D2E7, (anticuerpo contra TNF α humano, Patente de los EEUU N° 6258562; BASF), CDP-571/CDP-870/BAY-10-3356 (anticuerpo anti-TNF α humanizado; Celltech/Pharmacia), cA2 (anticuerpo anti-TNF α quimérico; REMICADE™, Centocor); fragmentos de anticuerpos anti-TNF (por ejemplo, CPD870); fragmentos solubles de receptores de TNF, por ejemplo, receptores de TNF humanos p55 o p75, o derivados de éstos, por ejemplo, 75 kdTNFR-IgG (proteína de fusión de 75 kDa del receptor de TNF e IgG, ENBREL™; Inmunex; véase, por ejemplo, *Arthritis & Rheumatism* (1994) Vol. 37, S295; *J. Invest. Med.* (1996) Vol. 44, 235A), p55 kdTNFR-IgG (proteína de fusión de 55 kDa del

receptor de TNF e IgG (Lenercept)); antagonistas enzimáticos, por ejemplo, inhibidores de la enzima convertidora de TNF α (TACE) (por ejemplo, un derivado de ácido alfa-sulfonil hidroxámico, WO 01/55112, y el inhibidor TACE de N-hidroxiformamida GW 3333, -005, o -022); y TNF-bp/s-TNFR (proteína de unión a TNF soluble; véase, por ejemplo, *Arthritis & Rheumatism* (1996) Vol. 39, Nº 9 (suplemento), S284; *Amer. J. Physiol. - Heart and Circulatory Physiology* (1995) Vol. 268, pp. 37-42). Los antagonistas de TNF preferidos son fragmentos solubles de los receptores de TNF, por ejemplo, receptores de TNF humanos p55 o p75, o derivados de éstos, por ejemplo, 75 kD TNFR-IgG, e inhibidores de la enzima convertidora de TNF α (TACE).

[0175] En otras realizaciones, puede administrarse el antagonista de IL-21-/IL-21R descrito en la presente documentación en combinación con uno o más de los siguientes: antagonistas de IL-13, por ejemplo, receptores de IL-13 solubles (sIL-13) y/o anticuerpos contra IL-13; antagonistas de IL-2, por ejemplo, DAB 486-IL-2 y/o DAB 389-IL-2 (proteínas de fusión IL-2; Seragen; véase, por ejemplo, *Arthritis & Rheumatism* (1993) Vol. 36, 1223), y/o anticuerpos contra IL-2R, por ejemplo, anti-Tac (anti-IL-2R humanizados; Protein Design Labs, *Cancer Res.* (1990) Mar 1; 50(5):1495-502). Aún otra combinación incluye antagonistas de IL-21 en combinación con inhibidores anti-CD4 no debilitantes (IDEC-CE9.1/SB 210396 (anticuerpo para primates anti-CD4 no debilitante; IDEC/SmithKline)). Aún otras combinaciones preferidas incluyen los antagonistas de la vía coestimuladora CD80 (B7.1) o CD86 (B7.2), incluyendo anticuerpos, receptores solubles o ligandos antagonísticos; así como ligandos glicoproteicos de p-selectina (PSGL), citoquinas anti-inflamatorias, por ejemplo, IL-4 (DNAX/Schering); IL-10 (SCH

00279

52000; IL-10 recombinante DNAX/Schering); IL-13 y TGF, y agonistas de éstos (por ejemplo, anticuerpos agonistas).

[0176] En otras realizaciones, puede coformularse y/o coadministrarse uno o más antagonistas de IL-21/IL-21R con una o más drogas antiinflamatorias, inmunosupresores o inhibidores metabólicos o enzimáticos. Los ejemplos no limitantes de las drogas o los inhibidores que pueden usarse en combinación con el antagonista de IL-21 descrito en la presente documentación incluyen, sin limitaciones, uno o más de los siguientes: drogas antiinflamatorias no esteroidales (NSAID), por ejemplo, ibuprofeno, tenidap (véase, por ejemplo, *Arthritis & Rheumatism* (1996) Vol. 39, N° 9 (suplemento), S280), naproxeno (véase, por ejemplo, *Neuro Report* (1996) Vol. 7, pp. 1209-1213), meloxicam, piroxicam, diclofenac e indometacina; sulfasalazina (véase, por ejemplo, *Arthritis & Rheumatism* (1996) Vol. 39, N° 9 (suplemento), S281); corticosteroides, tales como prednisona; drogas antiinflamatorias supresoras de citoquina (CSAID); inhibidores de la biosíntesis de nucleótidos, por ejemplo, inhibidores de la biosíntesis de purinas, antagonistas de folato (por ejemplo, metotrexato de ácido (N-[4-[(2,4-diamino-6-pteridinil)metil]metilamino]benzoil]-L-glutámico); e inhibidores de la biosíntesis de pirimidina, por ejemplo, inhibidores de dihidroorotato deshidrogenasa (DHODH) (por ejemplo, leflunomida (véase, por ejemplo, *Arthritis & Rheumatism* (1996) Vol. 39, N° 9 (suplemento), S131; *Inflammation Research* (1996) Vol. 45, pp. 103-107). Los agentes terapéuticos preferidos para usar en combinación con los antagonistas de IL-21/IL-21R incluyen NSAID, CSAID, inhibidores de (DHODH) (por ejemplo, leflunomida) y antagonistas de folato (por ejemplo, metotrexato).

[0177] Los ejemplos de inhibidores adicionales incluyen uno o más de los

siguientes: corticosteroides (orales, Inhalados e Inyectados en forma local); inmunosupresores, por ejemplo, ciclosporina, tacrolimus (FK-506); e inhibidores de mTOR, por ejemplo, sirolimus (rapamicina) o derivados de rapamicina, por ejemplo, derivados de rapamicina solubles (por ejemplo, derivados de éster de rapamicina, por ejemplo, CCI-779 (Elit (2002) *Current Opinion Investig. Drugs* 3(8):1249-53; Huang et al.. (2002) *Current Opinion Investig. Drugs* 3(2):295-304); agentes que interfieren con la señalización por proinflamatorias, tales como TNF α o IL-1 (por ejemplo, Inhibidores de IRAK, NIK, IKK, p38 o MAP quinasa); Inhibidores de COX2, por ejemplo, celecoxib y variantes de éste, MK-966, véase, por ejemplo, *Arthritis & Rheumatism* (1996) Vol. 39, Nº 9 (suplemento), S81); Inhibidores de fosfodiesterasa, por ejemplo, R973401 (inhibidor de fosfodiesterasa tipo IV; véase, por ejemplo, *Arthritis & Rheumatism* (1996) Vol. 39, Nº 9 (suplemento), S282)); inhibidores de fosfolipasa, por ejemplo, inhibidores de la fosfolipasa citosólica 2 (cPLA2) (por ejemplo, análogos de trifluorometil cetona (Patente de los EEUU Nº 6350892)); Inhibidores del factor de crecimiento de las células del endotelio vascular o del receptor del factor de crecimiento, por ejemplo, Inhibidores de VEGF y/o Inhibidores de VEGF-R; Inhibidores de la angiogénesis. Los agentes terapéuticos preferidos para usar en combinación con los antagonistas de IL-21/IL-21R incluyen inmunosupresores, por ejemplo, ciclosporina, tacrolimus (FK-506); e inhibidores de mTOR, por ejemplo, sirolimus (rapamicina) o derivados de rapamicina, por ejemplo, derivados de rapamicina solubles (por ejemplo, derivados de éster de rapamicina, por ejemplo, CCI-779; inhibidores de COX2, por ejemplo, celecoxib y variantes de éste; e Inhibidores de fosfolipasa, por ejemplo, inhibidores de la fosfolipasa citosólica 2 (cPLA2) (por

ejemplo, análogos de trifluorometil cetona).

[0178] Otros ejemplos de agentes terapéuticos que pueden combinarse con un antagonista de IL-21/IL-21R incluyen uno o más de los siguientes: 6-mercaptopurinas (6-MP); azatioprina sulfasalazina; mesalazina; olsalazina cloroquina/hidroxcloroquina; pencilamina; aurotiomalato (intramuscular y oral); azatioprina; colchicina; agonistas del adrenorreceptor beta-2 (salbutamol, terbutalina, salmeteral); xantinas (teofilina, aminofilina); cromoglicato; nedocromil; cetotifeno; ipratropio y oxitropio; micofenolato mofetil; agonistas de adenosina; agentes antitrombótico; inhibidores del complemento; y agentes adrenérgicos.

[0179] El uso de los antagonistas de IL-21/IL-21R descritos en la presente documentación, en combinación con otros agentes terapéuticos, para tratar o prevenir trastornos inmunes específicos, se describe con mayor detalle en la presente documentación.

[0180] Los ejemplos no limitantes de agentes para tratar o prevenir trastornos artríticos (por ejemplo, RA, artritis inflamatoria, RA juvenil OA y artritis psoriática) con los que puede combinarse un antagonista de IL-21/IL-21R incluyen uno o más de los siguientes: antagonistas de IL-12 como se describe en la presente documentación, NSAID; CSAID; TNF, por ejemplo, antagonistas de $TNF\alpha$ como se describe en la presente documentación; anticuerpos anti-CD4 no exhaustivos como se describe en la presente documentación; antagonistas de IL-2 como se describe en la presente documentación; citoquinas antiinflamatorias, por ejemplo, IL-4, IL-10, IL-13 y $TGF\alpha$, o agonistas de éstos; antagonistas del receptor de IL-1 o IL-1, como se describe en la presente documentación; inhibidores de fosfodiesterasa como se describe en

la presente documentación; inhibidores de COX-2 como se describe en la presente documentación; iloprost (véase, por ejemplo, Arthritis & Rheumatism (1996) Vol. 39, Nº 9 (suplemento), S82); metotrexato; talidomida (véase, por ejemplo, Arthritis & Rheumatism (1996) Vol. 39, Nº 9 (suplemento), S282) y drogas relacionadas con la talidomida (por ejemplo, Celgen); leflunomida; inhibidores de la activación del plasminógeno, por ejemplo, ácido tranexámico (véase, por ejemplo, Arthritis & Rheumatism (1996) Vol. 39, Nº 9 (suplemento), S284); inhibidores de citoquina, por ejemplo, T-614; véase, por ejemplo, Arthritis & Rheumatism (1996) Vol. 39, Nº 9 (suplemento), S282); prostaglandina E1 (véase, por ejemplo, Arthritis & Rheumatism (1996) Vol. 39, Nº 9 (suplemento), S282); azatioprina (véase, por ejemplo, Arthritis & Rheumatism (1996) Vol. 39, Nº 9 (suplemento), S281); un inhibidor de la enzima convertidora de interleuquina-1 (ICE); zap-70 y/o un inhibidor lck (inhibidor de la tirosin quinasa zap-70 o lck); un inhibidor del receptor del factor de crecimiento de las células del endotelio vascular como se describe en la presente documentación; un inhibidor de la angiogénesis como se describe en la presente documentación; drogas corticosteroidales antiinflamatorias (por ejemplo, SB203580); inhibidores de TNF-conversata; interleuquina-11 (véase, por ejemplo, Arthritis & Rheumatism (1996) Vol. 39, Nº 9 (suplemento), S296); IL-13 (véase, por ejemplo, Arthritis & Rheumatism (1996) Vol. 39, Nº 9 (suplemento), S308); inhibidores de IL-17 (véase, por ejemplo, Arthritis & Rheumatism (1996) Vol. 39, Nº 9 (suplemento), S120); oro; penicilamina; cloroquina; hidroxiclороquina; clorambucil; ciclofosfamida; ciclosporina; irradiación linfóide total; globulina anti-timocitos; toxinas CD5; péptidos de administración oral y colágeno; lobenzarit disodio; Agentes Reguladores de

Citoquina (CRA) HP228 y HP466 (Houghten Pharmaceuticals, Inc.); oligonucleótidos de fosforotioato antisentido ICAM-1 (ISIS 2302; Isis Pharmaceuticals, Inc.); receptores de complemento solubles 1 (TP10; T Cell Sciences, Inc.); prednisona; orgoteína; polisulfato de glicosaminoglicano; minociclina; anticuerpos anti-IL-2R; lípidos marinos y botánicos (ácidos grasos de peces y semillas de plantas; véase, por ejemplo, DeLuca et al. (1995) *Rheum. Dis. Clin. North Am.* 21:759-777); auranofina; fenilbutazona; ácido meclofenámico; ácido flufenámico; globulina Inmune Intravenosa; zileuton; ácido micofenólico (RS-61443); tacrolimus (FK-506); sirolimus (rapamicina); amiprilosa (terafectina); cladribina (2-clorodeoxiadenosina); y azaribina. Las combinaciones preferidas incluyen uno o más antagonistas de IL-21 en combinación con metotrexato o leflunomida, y en casos de artritis moderada o severa, ciclosporina.

[0181] Los ejemplos preferidos de inhibidores para usar en combinación con los antagonistas de IL-21/IL-21R en el tratamiento de trastornos artríticos incluyen antagonistas de TNF (por ejemplo, anticuerpos quiméricos, humanizados, humanos o generados in vitro, o fragmentos de unión a antígeno de éstos, que se unen a TNF; fragmentos solubles de un receptor de TNF, por ejemplo, el receptor de TNF humano p55 o p75, o derivados de éste, por ejemplo, 75 kDTNFR-IgG (proteína de fusión de 75 kDa del receptor de TNF e IgG, ENBREL™), proteína de fusión de 55 kDa del receptor de TNF e IgG; antagonistas enzimáticos de TNF, por ejemplo, inhibidores de la enzima convertidora de TNF α (TACE)); antagonistas de IL-6, IL-12, IL-15, IL-17, IL-18, IL-22; agentes debilitantes de células T y células B (por ejemplo, anticuerpos anti-CD4 o anti-CD22); pequeñas moléculas inhibidoras, por ejemplo,

metotrexato y leflunomida; sirolimus (rapamicina) y análogos de ésta, por ejemplo, CCI-779; Cox-2 e inhibidores de cPLA2; NSAID; inhibidores de p38, inhibidores de TPL-2, Mκ-2 y NFκb; RAGE o RAGE soluble; P-selectina o inhibidores de PSGL-1 (por ejemplo, pequeñas moléculas inhibidoras, anticuerpos contra éstas, por ejemplo, anticuerpos contra P-selectina); agonistas del receptor de estrógeno beta (ERB) o antagonistas de ERB-NFκb. Los agentes terapéuticos adicionales más preferidos que pueden coadministrarse y/o coformularse con uno o más antagonistas de IL-21/IL-21R incluyen uno o más de los siguientes: un fragmento soluble de a receptor de TNF, por ejemplo, receptor de TNF humano p55 o p75, o derivados de éste, por ejemplo, 75 kDTNFR-IgG (proteína de fusión de 75 kDa del receptor de TNF e IgG, ENBREL™); metotrexato, leflunomida, o un sirolimus (rapamicina) o un análogo de éste, por ejemplo, CCI-779.

[0182] Los ejemplos no limitantes de agentes para tratar o prevenir la esclerosis múltiple con los cuales puede combinarse un antagonista de IL-21/IL-21R incluyen los siguientes: interferones, por ejemplo, interferón-alfa1a (por ejemplo, AVONEX™; Biogen) e interferón-1b (BETASERON™; Chiron/Berlex); Copolímero 1 (Cop-1; COPAXONE™; Teva Pharmaceutical Industries, Inc.); oxígeno hiperbárico; inmunoglobulina intravenosa; clabribina; antagonistas de TNF como se describe en la presente documentación; corticosteroides; prednisolona; metilprednisolona; azatioprina; ciclofosfamida; ciclosporina; metotrexato; 4-aminopiridina; y tizanidina. Otros antagonistas que pueden usarse en combinación con IL-21 incluyen anticuerpos o antagonistas de otras citoquinas o factores de crecimiento humanos, por ejemplo, TNF, LT, IL- 1, IL- 2, IL-6, IL-7, IL-8, IL-12 IL-15, IL-16, IL-18, EMAP-11, GM-CSF, FGF y PDGF.

Pueden combinarse los antagonistas de IL-21 descritos en la presente documentación con anticuerpos contra moléculas de la superficie celular, tales como CD2, CD3, CD4, CD8, CD25, CD28, CD30, CD40, CD45, CD89, CD80, CD86, CD90 o sus ligandos. Los antagonistas de IL-21 también pueden combinarse con agentes, tales como metotrexato, ciclosporina, FK506, rapamicina, micofenolato mofetil, leflunomida, NSAID, por ejemplo, ibuprofeno, corticosteroides, tales como prednisolona, inhibidores de fosfodiesterasa, agonistas de adenosina, agentes antitrombóticos, inhibidores del complemento, agentes adrenérgicos, agentes que interfieren con la señalización por citoquinas proinflamatorias, como se describe en la presente documentación, inhibidores de las enzimas convertidoras de IL-1b (por ejemplo, Vx740), anti-P7s, PSGL, inhibidores de TACE, inhibidores de la señalización por células T, tales como inhibidores de quinasas, inhibidores de metaloproteínasa, sulfasalazina, azatioprina, 6-mercaptopurinas, inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina, receptores de citoquina solubles y derivados de éstos, como se describe en la presente documentación, y citoquinas antiinflamatorias (por ejemplo IL-4, IL-10, IL-13 y TGF).

[0183] Los ejemplos de agentes terapéuticos preferidos para tratar la esclerosis múltiple con los cuales pueden combinarse los antagonistas de IL-21 incluyen interferón-b, por ejemplo, IFN β -1a y IFN β -1b; copaxona, corticosteroides, inhibidores de IL-1, inhibidores de TNF, anticuerpos contra los ligandos CD40 y CD80, antagonistas de IL-12.

[0184] Los ejemplos no limitantes de agentes para tratar o prevenir la enfermedad intestinal inflamatoria (enfermedad de Crohn; colitis ulcerativa) con los cuales puede combinarse un antagonista de IL-21/IL-21R incluyen los

siguientes: budesónido; factor de crecimiento epidérmico; corticosteroides; ciclosporina, sulfasalazina; aminosalicilatos; 6-mercaptopurina; azatioprina; metronidazol; inhibidores de lipoxigenasa; mesalamina; olsalazina; balsalazida; antioxidantes; inhibidores de tromboxano; antagonistas de receptor de IL-1; anticuerpos monoclonales anti-IL-1; anticuerpos monoclonales anti-IL-8; factores de crecimiento; inhibidores de elastasa; compuestos de piridinilimidazol; antagonistas de TNF como se describe en la presente documentación; citoquinas IL-4, IL-10, IL-13 y/o TGF β , o agonistas de éstas (por ejemplo, anticuerpos agonistas); IL-11; prodrogas de prednisona conjugadas con glucurónido o dextrano, dexametasona o budesonida; oligonucleótidos de fosforotioato antisentido ICAM-1 (ISIS 2302; Isis Pharmaceuticals, Inc.); receptor de complemento soluble 1 (TP10; T Cell Sciences, Inc.); mesalazina de liberación lenta; metotrexato; antagonistas del factor de activación de plaquetas (PAF); ciprofloxacina; y lignocaina.

[0185] En una realización, puede usarse un antagonista de IL-21/IL-21R en combinación con uno o más anticuerpos dirigidos contra otros blancos que participan en la regulación de las respuestas inmunes, por ejemplo, en el rechazo de trasplantes, la enfermedad del injerto versus el huésped u otros trastornos relacionados con la respuesta inmune. Los ejemplos no limitantes de agentes para tratar o prevenir las respuestas inmunes con los cuales puede combinarse un antagonista de IL-21/IL-21R de la invención incluyen los siguientes: anticuerpos contra moléculas de la superficie celular o sus ligandos, incluyendo, sin limitaciones, CD25 (IL-2 receptor- α), CD11a (LFA-1), CD54 (ICAM-1), CD4, CD40, CD40L, CD45, CD28/CTLA4, CD80 (B7-1) y/o CD86 (B7-2). En aún otra realización, puede usarse un antagonista de IL-21/IL-21R

en combinación con corticosteroides; sirolimus (rapamicina) y análogos de éstos, por ejemplo, CCI-779; ciclosporina A; FK506; FTY720; azatioprina; ciclofosfamida; metotrexato; anticuerpos anti-IL-2R, por ejemplo, basiliximab, daclizumab; cA2 (anticuerpo anti-TNF α quimérico; REMICADE™, Centocor); anticuerpos anti-CD3 (por ejemplo, muromonab-CD3); Copolímero 1 (Cop-1; COPAXONE™; Teva Pharmaceutical Industries, Inc.); desoxispergualina; y micofenolato mofetil.

[0186] Los ejemplos no limitantes de agentes para tratar o prevenir la psoriasis y otras condiciones cutáneas con los cuales puede combinarse un antagonista de IL-21/IL-21R incluyen uno o más de los siguientes: inhibidores de CD2 o de las interacciones de LFA-3 (por ejemplo, polipéptidos CD2 o LFA solubles, tales como fusiones Fc, o anticuerpos contra CD2 o LFA-3), ciclosporina A, prednisona, FK506, metotrexato, PUVA, luz UV, esteroides, retinoides, interferón o mostaza de nitrógeno. Los ejemplos de agentes preferidos que pueden usarse en combinación con un antagonista de IL-21/IL-21R incluyen ciclosporina A y metotrexato.

[0187] Los ejemplos no limitantes de agentes para tratar o prevenir el asma con los cuales puede combinarse un antagonista de IL-21/IL-21R incluyen uno o más de los siguientes: broncodilatadores inhalados, por ejemplo, pirbuterol, bitolterol, metaproterenol; agonistas del adrenoceptor beta 2, por ejemplo, albuterol, terbutalina, salmeterol, formoterol; antimuscarínicos, por ejemplo, ipratropio, oxitropio; corticosteroides sistémicos, por ejemplo, prednisona, prednisolona, dexametasona; corticosteroides inhalados, por ejemplo, fluticasona, budesonida, beclometasona, mometasona; antagonistas de leucotrieno, por ejemplo, montelukast sodio, zafirlukast; estabilizadores de

mastocitos, por ejemplo, cromolin sodio, nedocromil; omalizumab (XOLAIR™; Genentech/Novartis); o inhibidores de COX-2, como se describe en la presente documentación.

[0188] Los ejemplos no limitantes de agentes para tratar o prevenir el lupus (por ejemplo, el SLE) con los cuales puede combinarse un antagonista de IL-21/IL-21R incluyen uno o más de los siguientes: antagonistas de IL-6/IL-6R, por ejemplo, anticuerpos anti-IL-6 o anti-IL-6R; NSAID; corticosteroides, por ejemplo, dexametasona, hidrocortisona, metilprednisolona, prednisolona, prednisona; azatioprina, ciclofosfamida, hidroxicloroquina o cloroquina.

[0189] Por consiguiente, otro aspecto de la presente invención se relaciona con conjuntos de elementos para llevar a cabo la administración combinada de los antagonistas de IL-21/IL-21R con otros compuestos terapéuticos. En una realización, el conjunto de elementos comprende uno o más agentes aglutinantes formulados en un vehículo farmacéutico, y al menos un agente, por ejemplo, un agente terapéutico, formulado según sea apropiado, en una o más preparaciones farmacéuticas separadas.

Ejemplos de trastornos

[0190] La artritis reumatoide es una enfermedad inflamatoria autoinmune que provoca dolor, hinchazón, rigidez y pérdida de función en las articulaciones. La artritis reumatoide comúnmente se presenta en un patrón simétrico. La enfermedad puede afectar las articulaciones de las muñecas y los dedos en la porción más próxima a la mano. También puede afectar otras partes del cuerpo, además de las articulaciones. Además, la gente con artritis reumatoide puede sufrir de fatiga, fiebre ocasional y un malestar general. Los factores positivos para la diagnosis de la artritis reumatoide incluyen el anticuerpo en

sangre del "factor reumatoide" y los anticuerpos contra citrulina. Los antagonistas de IL-21/IL-21R pueden ser útiles para tratar, prevenir o aliviar la artritis reumatoide, o uno o más síntomas de la artritis reumatoide.

[0191] El lupus eritematoso sistémico (SLE) es un trastorno autoinmune que conduce a la inflamación y el daño de varios tejidos corporales. El SLE puede estar mediado por autoanticuerpos dirigidos contra el ADN propio. El lupus puede afectar muchas partes del cuerpo, incluyendo las articulaciones, la piel, los riñones, el corazón, los pulmones, los vasos sanguíneos y el cerebro. Aunque puede haber varios síntomas presentes, algunos de los más comunes incluyen la fatiga extrema, las articulaciones con dolor o hinchazón (artritis), la fiebre sin explicación, las erupciones cutáneas y los problemas renales (por ejemplo, la glomerulonefritis). Los ejemplos de síntomas del lupus incluyen las articulaciones con dolor o hinchazón, la fiebre sin explicación y la fatiga extrema. Puede aparecer una erupción cutánea rojiza en la nariz y las mejillas. También puede haber erupciones en la cara y las orejas; la parte superior de los brazos, los hombros, el pecho y las manos. Otros síntomas del lupus incluyen dolor en el pecho, pérdida de peso, anemia, úlceras bucales y dedos de las manos o los pies pálidos o púrpuras en situaciones de frío o estrés. Algunas personas también experimentan cefaleas, mareos, depresión, confusión o convulsiones. Los factores positivos para la diagnosis del SLE incluyen los anticuerpos anti-nucleares en circulación, los anticuerpos anti-DNA y los anticuerpos anti-Sm. Los antagonistas de IL-21/IL-21R pueden ser útiles para tratar, mejorar (aliviar), o prevenir el SLE o uno o más síntomas del SLE.

[0192] La espondilitis anquilosante es un trastorno autoinmune que no solamente afecta solamente la columna, sino que también afecta las caderas,

los hombros y las rodillas, ya que se inflaman los tendones y los ligamentos alrededor de los huesos y las articulaciones, lo que resulta en dolor y rigidez. La espondilitis anquilosante tiende a afectar la gente en la adolescencia tardía o la adultez temprana. Los antagonistas de IL-21/IL-21R pueden ser útiles para tratar, prevenir o aliviar la espondilitis anquilosante, o uno o más síntomas de ésta.

[0193] La enfermedad Intestinal inflamatoria (IBD) es el nombre general de las enfermedades que provocan la inflamación del intestino. Dos ejemplos de enfermedades intestinales inflamatorias son la enfermedad de Crohn y la colitis ulcerativa. Los antagonistas de IL-21/IL-21R pueden ser útiles para tratar, prevenir o aliviar la enfermedad intestinal inflamatoria o uno o más síntomas de la enfermedad intestinal inflamatoria.

[0194] La enfermedad de Crohn provoca la inflamación del intestino delgado. La enfermedad de Crohn comúnmente ocurre en la porción inferior del intestino delgado (el íleon), pero puede afectar cualquier parte del tracto digestivo, desde la boca hasta el ano. La inflamación puede extenderse hasta el recubrimiento profundo del órgano afectado, lo que provoca dolor y hace que los intestinos se evacúen frecuentemente, lo que resulta en diarrea. Los síntomas más comunes de la enfermedad de Crohn son el dolor abdominal, comúnmente en el área inferior derecha, y diarrea. También puede haber hemorragia rectal, pérdida de peso y fiebre. La hemorragia puede ser seria y persistente, lo que conduce a anemia. La visualización directa del intestino puede ser útil para determinar la extensión de la inflamación.

[0195] La colitis ulcerativa es una enfermedad que provoca inflamación y lesiones, provocadas úlceras, en el recubrimiento del intestino grueso. La

inflamación ocurre comúnmente en el recto y la parte inferior del colon, pero puede afectar el colon completo. La colitis ulcerativa raramente afecta el intestino delgado, excepto por la sección final, denominada ilion terminal. La inflamación hace que el colon se evacue con frecuencia, lo que provoca diarrea. Las úlceras se forman en lugares donde la inflamación ha matado las células que recubren el colon; estas úlceras sangran y producen pus. Los síntomas más comunes de la colitis ulcerativa son el dolor abdominal y la diarrea con hemorragia. Los pacientes también pueden experimentar fatiga, pérdida de peso, pérdida de apetito, hemorragia rectal y pérdida de fluidos corporales y nutrientes. Aproximadamente la mitad de los pacientes tienen síntomas leves. Otros sufren de fiebre frecuente, diarrea con hemorragia, náuseas y calambres abdominales severos. La colitis ulcerativa también puede causar problemas tales como artritis, inflamación ocular, enfermedad hepática (hepatitis, cirrosis y colangitis esclerosante primaria), osteoporosis, erupciones cutáneas y anemia. La diagnosis de colitis ulcerativa típicamente depende de la identificación de sangre en las heces y la visualización directa del colon.

[0196] La psoriasis es una enfermedad cutánea crónica que comprende descamación e inflamación. La psoriasis ocurre cuando las células cutáneas surgen rápidamente desde su origen debajo de la superficie de la piel y se agrupan en la superficie antes de que tengan la oportunidad de madurar. Comúnmente, este movimiento (también denominado recambio) ocurre en aproximadamente un mes, pero en la psoriasis puede ocurrir solamente en unos pocos días. En su forma típica, la psoriasis se presenta como parches de piel inflamada cubierta con escamas plateadas. Estos parches, que algunas veces se conocen como placas, comúnmente pican o duelen. Comúnmente

aparecen en los codos, las rodillas, otras partes de las piernas, el cuero cabelludo, la parte inferior de la espalda, la cara, las palmas y las suelas de los pies, pero pueden aparecer en la piel de otras partes del cuerpo. La diagnosis de la psoriasis se basa principalmente en estos síntomas característicos. Una biopsia de piel puede ser útil en la diagnosis. Los antagonistas de IL-21/ IL-21R pueden ser útiles para tratar, prevenir o aliviar la psoriasis, o uno o más síntomas de psoriasis. La artritis psoriática ocurre en algunos pacientes con psoriasis, un trastorno de descamación de la piel. La artritis psoriática comúnmente afecta las articulaciones en los extremos de los dedos de las manos y los pies, y se ve acompañada por cambios en las uñas de los dedos de las manos y los pies. Puede ocurrir dolor en la espalda si se ve afectada la columna. Los antagonistas de IL-21/IL-21R pueden ser útiles para tratar, prevenir o aliviar la psoriasis, o uno o más síntomas de la psoriasis o la artritis psoriática.

[0197] Las enfermedades glomerulares incluyen trastornos proliferativos y no proliferativos. La glomerulonefritis es un trastorno que se manifiesta a través de inflamación intraglomerular y proliferación celular (véase, por ejemplo, Hricik et al. (1998) *New Eng. J. Med.* 339:888-99). Las glomerulopatías no proliferativas y esclerosantes incluyen la glomerulopatía membranosa, la nefropatía diabética, la glomeruloesclerosis focal segmentada, la enfermedad de la membrana basal delgada, la amiloidosis, la nefropatía de cadenas livianas, la nefropatía relacionada con VIH, el síndrome de Alport, las glomerulopatías inducidas por drogas y las enfermedades de cambios mínimos. La inflamación que acompaña la enfermedad glomerular surge en gran medida debido a las lesiones glomerulares mediadas por anticuerpos que son el resultado de la

autoinmunidad. La activación de la inmunidad humoral puede conducir a la producción de anticuerpos contra la superficie de las células glomerulares (por ejemplo, membranas basales), y se depositan complejos de antígenos-anticuerpos en circulación en el glomérulo, lo que, según se informa, contribuye a la patología de la glomerulonefritis. Por consiguiente, las lesiones glomerulares y la glomerulonefritis comúnmente resultan en trastornos autoinmunes sistémicos mayores, tales como, por ejemplo, SLE, hepatitis y trastornos fibróticos. La glomerulonefritis también puede asociarse con la nefropatía de IgA, la púrpura de Henoch-Schonlein, la infección (causada, por ejemplo, por bacterias, virus, protozoos), vasculítidos, crioglobulinemia, nefritis hereditaria, granulomatosis (por ejemplo, granulomatosis de Wegener, poliangeítis microscópica y síndrome de Churg-Strauss), enfermedad de las membranas basales glomerulares, síndrome de Goodpasture, síndrome nefrítico (como ocurre, por ejemplo, con la diabetes mellitus, el lupus (por ejemplo, el SLE), la amiloidosis, el uso de drogas, el cáncer y la infección), lipodistrofia, enfermedad de células en hoz, deficiencias de complemento, glomerulonefritis proliferativa de membrana, nefritis relacionada con lupus, y nefropatía membranosa relacionada con lupus. Los antagonistas de IL-21/IL-21R pueden ser útiles para tratar, mejorar o prevenir la glomerulonefritis, o uno o más síntomas de la glomerulonefritis, y otras enfermedades glomerulares.

[0198] Pueden usarse antagonistas de IL-21/IL-21R para prevenir o tratar el rechazo de tejidos/injertos, o los síntomas asociados con el rechazo, por ejemplo, antes, durante o después del trasplante de un órgano, un tejido o células, por ejemplo, trasplante de corazón, pulmón, hígado, riñón, páncreas o médula ósea. El rechazo de trasplantes/injertos ocurre cuando el sistema

inmune del organismo huésped provoca una respuesta inmune contra antígenos distintos de los propios en el tejido transplantado, por ejemplo, tejido singenético, alogénico o xenogénico. El rechazo puede ser mediado, por ejemplo, por anticuerpos, linfocitos o ambos, y puede manifestarse de una variedad de formas, incluyendo, por ejemplo, el rechazo hiperagudo (por ejemplo, durante el período post-transplante temprano), el rechazo agudo y el rechazo crónico (generalmente, un proceso de desarrollo lento que provoca una declinación progresiva en la función del injerto). El rechazo comúnmente es acompañado por inflamación, y puede resultar en daños y/o fallas en el tejido o el órgano transplantado, por ejemplo, vasculopatía, fibrosis o pérdida de función del órgano. Durante el rechazo, el huésped puede experimentar malestar general, dolor o hinchazón en el área del transplante, y/o fiebre. Pueden monitorearse los trasplantes de órganos y tejidos para determinar el rechazo, por ejemplo, examinando biopsias en busca de signos de rechazo, o evaluando la función de los órganos. Las señales histopatológicas de rechazo incluyen, por ejemplo, una mayor expresión de antígenos HLA clase II, por ejemplo, en las células tubulares renales después de un transplante de riñón. Puede evaluarse la función hepática, por ejemplo, midiendo los niveles de bilirrubina y enzimas hepáticas en suero, por ejemplo, fosfatasa alcalina; puede evaluarse la función renal, por ejemplo, midiendo los niveles de creatina en suero.

[0199] La osteoartritis (OA) se caracteriza por la degradación del cartílago en las articulaciones. Esto permite que los huesos bajo el cartílago se rocen unos con otros, lo que provoca dolor, hinchazón y pérdida de movilidad en las articulaciones. Con el correr del tiempo, la articulación puede perder su forma

normal, y pueden desarrollarse espuelas óseas u osteofitos en los bordes de la articulación. Adicionalmente, pueden desprenderse trozos de hueso o cartílago y flotar en el interior del espacio de la articulación, lo que provoca más dolor y daño. La gente que sufre OA típicamente tiene dolor articular y movimiento limitado. A diferencia de otras formas de artritis, la OA afecta solamente las articulaciones y no los órganos internos. Los factores positivos para la diagnosis de la OA incluyen la pérdida de cartílago observada por rayos X. Los antagonistas de IL-21/IL-21R pueden ser útiles para tratar, prevenir o aliviar la OA, o uno o más síntomas de OA.

Trastornos respiratorios

[0200] Pueden usarse antagonistas de IL-21/IL-21R para tratar trastornos respiratorios, incluyendo, sin limitaciones, asma (por ejemplo, asma alérgico y no alérgico); bronquitis (por ejemplo, bronquitis crónica); enfermedad obstructiva pulmonar crónica (COPD) (por ejemplo, enfisema, por ejemplo, el enfisema inducido por el cigarrillo); condiciones que comprenden inflamaciones en las vías respiratorias, eosinofilia, fibrosis y producción excesiva de mucus, por ejemplo, fibrosis quística, fibrosis pulmonar y rinitis alérgica.

[0201] Los antagonistas de IL-21/IL-21R para tratar o prevenir el asma incluyen aquellos empleados para el asma extrínseco (también conocido como asma alérgico o asma atópico), el asma intrínseco (también conocido como asma no alérgico o asma no atópicos) o combinaciones de ambos, lo que se conoce como asma mixto. El asma extrínseco o intrínseco incluye incidentes causados o asociados, por ejemplo, con alérgenos, tales como polen, esporas, pastos o malezas, escamas dérmicas originadas en mascotas, polvo, ácaros, etcétera. Como los alérgenos y otros irritantes se presentan en varios momentos durante

el año, este tipo de incidentes también se conocen como asma estacional. En el grupo del asma extrínseco también se incluye el asma bronquial y la aspergilosis broncopulmonar alérgica.

[0202] El asma que puede tratarse o aliviarse empleando los métodos de la presente invención incluye aquél causado por agentes infecciosos, tales como virus (por ejemplo, virus de resfriado y gripe, virus respiratorio sincicial (RSV), paramixovirus, rinovirus y virus de influenza). Las infecciones de RSV, rinovirus y virus de influenza son comunes en los niños, y la infección viral es una causa principal de enfermedades en el tracto respiratorio en niños pequeños y jóvenes. Los niños con bronquiolitis viral pueden desarrollar silbido crónico y asma, lo que puede tratarse usando los métodos de la invención. También se incluyen las condiciones asmáticas que pueden ser provocadas en algunos asmáticos por el ejercicio y/o el aire frío. Los métodos son útiles para los tipos de asma asociados con la exposición al humo (por ejemplo, el humo inducido por el cigarrillo e industrial), así como las exposiciones industriales y ocupacionales, tales como humo; ozono; gases nocivos; dióxido de azufre; óxido nítrico; vapores, incluyendo isocianatos, de pintura, plásticos, poliuretanos, barnices, etcétera; polvos de madera, plantas o otros polvos orgánicos; etcétera. Los métodos también son útiles para los incidentes asmáticos asociados con los aditivos para alimentos, los preservantes u otros agentes farmacológicos. También se incluyen los métodos para tratar, inhibir o aliviar los tipos de asma conocidos como asma silencioso, o variantes de asma con tos.

[0203] Los métodos descritos en la presente documentación también son útiles para tratar y aliviar el asma asociado con el reflujo gastroesofágico

(GERD), que puede estimular la broncoconstricción. El GERD, junto con las secreciones corporales retenidas, la tos suprimida y la exposición a alérgenos e irritantes en el dormitorio, pueden contribuir a las condiciones asmáticas, y se han conocido comúnmente como asma de noche o asma nocturno. En los métodos de tratamiento, inhibición o alivio del asma asociado con el GERD, puede usarse una cantidad efectiva para el uso farmacéutico del antagonista de IL-21/IL-21R descrito en la presente documentación, en combinación con una cantidad efectiva para el uso farmacéutico de un agente para tratar el GERD. Estos agentes incluyen, sin limitaciones, los agentes que inhiben bombas de protones, tales como las tabletas de pantoprazol sodio de liberación demorada de marca PROTONIX®, las cápsulas de omeprazol de liberación demorada de marca PRILOSEC®, las tabletas de rebepirazol sodio de liberación demorada de marca ACIPHEX®, o las cápsulas de lansoprazol de liberación demorada de marca PREVACID®.

Trastornos atópicos y síntomas de éstos

[0204] "Atópicas" designa un grupo de enfermedades donde comúnmente hay una tendencia hereditaria al desarrollo de una reacción alérgica. Los ejemplos de trastornos atópicos incluyen alergia, rinitis alérgicas, dermatitis atópica y fiebre de heno. Puede administrarse un antagonista de la vía de IL-21/IL-21R para mejorar un trastorno atópico, o uno o más síntomas de éste.

[0205] Los síntomas de la rinitis alérgica (fiebre de heno) incluyen narices con picazón, exceso de flujo, estornudos o mucosidad, y picazón en los ojos. Puede administrarse un antagonista de la vía de IL-21/IL-21R para mejorar uno o más de estos síntomas.

[0206] La dermatitis atópica es una enfermedad crónica que afecta la piel. Hay

información sobre dermatitis atópica disponible, por ejemplo, en la Publicación del INS N° 03-4272. En la dermatitis atópica, la piel puede desarrollar una picazón extrema, lo que puede conducir al enrojecimiento, la hinchazón, el quiebre, la exudación de fluido transparente y finalmente el descascaramiento y la caída de mas. En muchos casos, hay períodos de tiempo en los que la enfermedad empeora (denominados exacerbaciones o picos) seguidos por períodos donde la piel mejora o se aclara por completo (denominados remisiones). La dermatitis atópica comúnmente se conoce como "eccema", que es un término general para varios tipos de inflamaciones cutáneas. La dermatitis atópica es el tipo de eccema más común. Los ejemplos de dermatitis atópica incluyen: eccema o dermatitis de contacto alérgica (por ejemplo, que se manifiesta algunas veces como una reacción de enrojecimiento, picazón y exudación cuando la piel entra en contacto con una sustancia extraña, tal como una hiedra o determinados preservantes en cremas y lociones); el eccema de contacto (por ejemplo, una reacción localizada que incluye enrojecimiento, picazón y quemadura cuando la piel entra en contacto con un alérgeno o un irritante, tal como un ácido, un agente limpiador u otra sustancia química); el eccema dishidrótico (por ejemplo, una irritación de la piel que afecta las palmas de las manos y las suelas de los pies caracterizada por ampollas transparentes y profundas que pican y queman); la neurodermatitis (por ejemplo, parches escamosos de la piel sobre la cabeza, la parte inferior de las piernas, las muñecas o los antebrazos causados por una picazón localizada (tal como una picadura de insecto) que se irritan intensamente cuando se los rasca); el eccema numular (por ejemplo, que se manifiesta como parches con forma de moneda de piel irritada, más comúnmente sobre los brazos, la

espalda, la cola y la parte inferior de las piernas, que pueden descascararse, presentar escamas y picazón); el eccema seborreico (por ejemplo, que se manifiesta como parches de piel amarillenta, aceitosa, escamosa en el cuero cabelludo, la cara y ocasionalmente otras partes del cuerpo). Otros síntomas particulares adicionales incluyen la dermatitis de estasis, el pliegue atópico (por ejemplo, el pliegue de Dennie-Morgan), la queilitis, las palmas hiperlineales, los párpados hiperpigmentados: párpados que presentan un color más oscuro debido a inflamaciones o fiebre de heno, ictiosis, queratosis pilosa, liquenificación, pápulas y urticaria. Puede administrarse un antagonista de la vía de IL-21/IL-21R para mejorar uno o más de estos síntomas.

Trastornos fibróticos

[0207] Aunque la producción de colágeno es un proceso muy regulado, su alteración puede resultar en el desarrollo de fibrosis tisular. La acumulación anormal de materiales fibrosos puede conducir finalmente a la falla de órganos (Border et al. (1994) *New Engl. J. Med.* 331:1286-92). Las lesiones en los órganos conducen a una respuesta fisiológica estereotípica: hemostasis inducida por plaquetas, a lo que sigue un influjo de células inflamatorias y fibroblastos activados. Las citoquinas derivadas de estos tipos celulares dirigen la formación de nueva matriz extracelular y vasos sanguíneos (tejido de granulación). La generación de tejido de granulación es un programa orquestado cuidadosamente en el que se regula positivamente la expresión de los inhibidores de proteasas y las proteínas de la matriz extracelular, y se reduce la expresión de las proteasas, lo que conduce a la acumulación de matriz extracelular.

[0208] El desarrollo de condiciones fibróticas, inducidas o espontáneas, es

provocado al menos en parte por la estimulación de la actividad de los fibroblastos. El influjo de células inflamatorias y fibroblastos activados en el órgano lesionado depende de la capacidad de estos tipos de células de interactuar con la matriz intersticial, que contiene primariamente colágeno. Muchas de las enfermedades asociadas con la proliferación de tejido fibroso son crónicas y comúnmente debilitantes, incluyendo, por ejemplo, enfermedades cutáneas, tales como el escleroderma. Algunas, incluyendo la fibrosis pulmonar, pueden ser fatales, debido en parte al hecho de que los tratamientos actualmente disponibles para esta enfermedad tienen efectos colaterales significativos y generalmente no son eficaces para desacelerar o detener la progresión de la fibrosis (Nagler et al. (1996) *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 154:1082-86).

[0209] Los trastornos fibróticos incluyen trastornos caracterizados por fibrosis, por ejemplo, fibrosis de un órgano interno, un trastorno fibrótico dérmico y condiciones fibróticas oculares. La fibrosis de los órganos internos (por ejemplo, el hígado, el pulmón, el riñón, los vasos sanguíneos del corazón, el tracto gastrointestinal) ocurre en trastornos tales como la fibrosis pulmonar, la mielofibrosis, la cirrosis hepática, la glomerulonefritis mesangial proliferativa, la glomerulonefritis crescética, la nefropatía diabética, la fibrosis renal intersticial, la fibrosis renal en pacientes que reciben ciclosporina, y la nefropatía asociada con VIH.

[0210] Los trastornos fibróticos cutáneos incluyen, por ejemplo, escleroderma, morfea, queloides, cicatrices hipertróficas, colagenoma cutáneo familiar y nevi de tejido conectivo tipo colágeno. Las condiciones fibróticas oculares incluyen condiciones tales como retinopatía diabética, cicatrización post-quirúrgica (por

ejemplo, después de cirugía de glaucoma y después de cirugía de estrabismo), y vitreoretinopatía proliferativa.

[0211] Otras condiciones fibróticas que pueden tratarse con los métodos de la presente invención incluyen: artritis reumatoide, enfermedades asociadas con dolor articular prolongado y lesiones deterioradas, esclerosis sistémica (Incluyendo esclerosis sistémica progresiva), polimiositis, dermatomiositis, fascitis eosinofílica, morfea (escleroderma localizado), síndrome de Raynaud y poliposis nasal.

[0212] Puede administrarse un antagonista de la vía de IL-21/IL-21R para tratar o prevenir trastornos fibróticos, o para mejorar uno o más de los síntomas de estos trastornos.

Ensayos para medir la actividad de antagonistas de IL-21/IL-21R como moduladores de la producción de citoquinas y la proliferación/diferenciación celular

[0213] Puede evaluarse la actividad de los antagonistas de IL-21/IL-21R como moduladores de la producción de citoquinas y la proliferación/diferenciación celular usando cualquiera de una cantidad de ensayos de proliferación celular convencionales dependientes de factores para líneas celulares, incluyendo, sin limitaciones, 32D, DA2, DA1G, T10, B9, B9/11, BaF3, MC9/G, M+(preB M+), 2E8, RB5, DA1, 123, T1165, HT2, CTLL2, TF-1, Mo7e y CMK.

[0214] Los ensayos para la proliferación de células T o timocitos incluyen, sin limitaciones, aquellos descritos en *Current Protocols In Immunology*, editado por J. E. Coligan, A. M. Kruisbeek, D. H. Margulies, E. M. Shevach, W Strober, publicado por Greene Publishing Associates y Wiley-Interscience (Capítulo 3, *In vitro* assays for Mouse Lymphocyte Function 3.1-3.19; Capítulo 7,

Immunologic studies in Humans); Takai et al. (1986) *J. Immunol.* 137:3494-500; Bertagnoli et al. (1990) *J. Immunol.* 145:1706-12; Bertagnoli et al. (1991) *Cellular Immunology* 133:327-41; Bertagnoli et al. (1992) *J. Immunol.* 149:3778-83; Bowman et al. (1994) *J. Immunol.* 152:1756-61. Los ensayos para la producción de citoquinas y/o la proliferación de células de bazo, células de nodos linfáticos o timocitos incluyen, sin limitaciones, aquellos descritos en Polyclonal T cell stimulation, Krulsbeek, A. M. y Shevach, E. M. en *Current Protocols in Immunology*. J. E.e.a. Coligan editores. Vol 1 pp. 3.12.1-3.12.14, John Wiley and Sons, Toronto. 1994; y Measurement of mouse and human Interferon gamma, Schreiber, R. D. en *Current Protocols in Immunology*. J. E.e.a. Coligan editores. Vol 1 pp. 6.8.1-6.8.8, John Wiley and Sons, Toronto. 1994.

[0215] Los ensayos para la proliferación y la diferenciación de células hematopoyéticas y linfopoyéticas incluyen, sin limitaciones, aquellos descritos en Measurement of Human and Murine Interleukin 2 and Interleukin 4, Bottomly, K., Davis, L. S. y Lipsky, P. E. en *Current Protocols in Immunology*. J. E.e.a. Coligan editores. Vol 1 pp. 6.3.1-6.3.12, John Wiley and Sons, Toronto. 1991; deVries et al. (1991) *J. Exp. Med.* 173:1205-11; Moreau et al. (1988) *Nature* 336:690-92; Greenberger et al. (1983) *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 80:2931-38; Measurement of mouse and human interleukin 6, Nordan, R. en *Current Protocols in Immunology*. J. E.e.a. Coligan editores. Vol 1 pp. 6.6.1-6.6.5, John Wiley and Sons, Toronto. 1991; Smith et al. (1986) *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 83:1857-61; Measurement of human Interleukin 11, Bennett, F., Giannotti, J., Clark, S. C. y Turner, K. J. en *Current Protocols in Immunology*. J. E.e.a. Coligan editores. Vol 1 pp. 6.15.1 John Wiley and Sons, Toronto.

1991; Measurement of mouse and human Interleukin 9, Ciarletta, A., Giannotti, J., Clark, S. C. y Turner, K. J. en *Current Protocols in Immunology*. J. E.e.a. Colligan editores. Vol 1 pp. 6.13.1, John Wiley and Sons, Toronto. 1991.

[0216] Los ensayos para las respuestas de células T clonadas a antígenos (que identificarán, entre otros, proteínas que afecten las interacciones entre las células APC-T y los efectos directos de las células T mediante la medición de la proliferación y la producción de citoquina) incluyen, sin limitaciones, aquellos descritos en *Current Protocols in Immunology*, editado por J. E. Coligan, A. M. Kruisbeek, D. H. Margulies, E. M. Shevach, W Strober, publicado por Greene Publishing Associates y Wiley-Interscience (Capítulo 3, *In vitro* assays for Mouse Lymphocyte Function; Capítulo 6, Cytokines and their cellular receptors; Capítulo 7, Immunologic studies in Humans); Weinberger et al. (1980) *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 77:6091-95; Weinberger et al. (1981) *Eur. J. Immun.* 11:405-11; Takai et al. (1986) *J. Immunol.* 137:3494-500; Takai et al. (1988) *J. Immunol.* 140:508-12.

EJEMPLOS

[0217] La invención se ilustrará adicionalmente en los siguientes ejemplos no limitantes.

Ejemplo 1: Aislamiento y caracterización de ADNc de MU-1 murino

[0218] Se aisló un fragmento parcial del homólogo murino del receptor MU-1 por PCR, usando oligonucleótidos derivados de las secuencias humanas. Se preparó ADNc a partir de ARN aislado de timos murinos de 17 días de edad, y a partir de la línea de células T murinas 2D6. Se amplificó un fragmento de ADN de aproximadamente 300 nucleótidos a partir del ADNc por PCR con los siguientes oligonucleótidos, que corresponden a las regiones 584-603 y 876-

896, respectivamente, de la secuencia de ADNc humano de la FIG. 1 (que corresponde a SEQ ID N° 1):

AGCATCAAGCCGGCTCCCC (5p)(SEQ ID N° 11)

CTCCATTCACTCCAGGTCCC (3p) (SEQ ID N° 12)

Se efectuó la amplificación usando polimerasa Taq en amortiguador Taq 1X que contenía 1,5 mM de cloruro de magnesio por 30 ciclos a 94°C por un minuto, 50°C por 1 minuto, y 72°C por un minuto. Se determinó la secuencia de ADN de este fragmento, y se obtuvieron los dos oligonucleótidos a partir de una porción interna de este fragmento, con las siguientes secuencias:

TTGAACGTGACTGCGGCCTT (5P) (SEQ ID N° 13)

TGAATGAAGTGCCTGGCTGA (3P) (SEQ ID N° 14)

[0219] Se usaron los oligonucleótidos para amplificar un fragmento interno de 262 nucleótidos del producto de PCR original (que corresponde a los nucleótidos 781-1043 en la secuencia de ADNc murino de FIG. 1, y SEQ ID N° 9), que se usó como sonda de hibridización para analizar una biblioteca de ADNc aislada a partir de la línea de células T 2D6. Se hibridizaron los filtros a 65°C usando condiciones de hibridización convencionales con SSC 5X, y se lavó en SSC a 65°C. Se aislaron veinte clones que hibridizaron con la sonda en un análisis de 426000 clones. Se determinó la secuencia de ADN de dos clones independiente. La secuencia completa del clon #6 confirmó que era el homólogo murino completo de MU-1 humano (SEQ ID N° 9).

[0220] Se detalla la secuencia de nucleótidos completa de MU-1 murino en la FIG. 1 (que corresponde a SEQ ID N° 9). La secuencia de nucleótidos tiene una secuencia directriz predicha en los nucleótidos 407-464, la secuencia codificante en los nucleótidos 407-1993, el codón de terminación en los

303
100005

nucleótidos 1994-1996. Los nucleótidos 1-406 corresponden a la región 5' no traducida, y los nucleótidos 1997-2628 corresponden a la región 3' no traducida (SEQ ID N° 9).

[0221] Se detalla la secuencia proteica predicha para MU-1 murino en la FIG. 2 (que corresponde a SEQ ID N° 10). Esta proteína MU-1 murina contiene una secuencia directriz predicha determinada por SPScan (calificación = 10,1) (que corresponde a los aminoácidos 1-19 de SEQ ID N° 10), y un dominio transmembrana predicho (que corresponde a los aminoácidos 237-253 de SEQ ID N° 10). Los motivos de señalización predichos incluyen las siguientes regiones en FIG. 2B: Recuadro 1: aminoácidos 265-274 de SEQ ID N° 10; Recuadro 2: aminoácidos 310-324 de SEQ ID N° 10, seis residuos de tirosina en las posiciones 281, 319, 361, 368, 397 y 510 de SEQ ID N° 10. Los sitios de anclaje STAT potenciales incluyen STAT5: EDDGYPA (SEQ ID N° 20); STAT3: YLQR.

Ejemplo 2: Comparación entre MU-1 humano y murino

[0222] Se usó el algoritmo GAP para comparar los aminoácidos de MU-1 humano y murino. Se clonó MU-1 humano usando una región de 70 aminoácidos del receptor de IL-5 humano (SEQ ID N° 3) para efectuar una búsqueda en una base de datos GenBank, así como los cebadores para PCR (SEQ ID N° 4 y 5), y oligonucleótidos de hibridización (SEQ ID N° 6 y 7). Se presenta una comparación de las secuencias de las proteínas murinas y humanas predichas en la FIG. 4. los aminoácidos fueron 65,267% idénticos usando el algoritmo GAP. Se generó el alineamiento usando la matriz de sustitución de aminoácidos BLOSUM62 (Henikoff y Henikoff (1992) *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 89: 10915-19). Parámetros de alineamiento GAP =

Ponderación de falta de coincidencia: 8, Coincidencia promedio = 2,912, Ponderación de longitud = 2, Falta de coincidencia promedio = -2,003; Porcentaje de similitud = 69,466.

[0223] Se ilustra una comparación de las secuencias de nucleótidos de ADN humano y murino en la FIG. 3. Las secuencias de ADN son 66,116% idénticas cuando se las alinea usando el algoritmo GAP. Parámetros de alineamiento GAP: Ponderación de falta de coincidencia = 50, Coincidencia promedio 10,000, Ponderación de longitud = 3, Falta de coincidencia promedio = 0,000, Porcentaje de similitud = 66,198.

[0224] Las proteínas MU-1 humanas y de ratón son miembros de la superfamilia de receptores de citoquina tipo 1. La evaluación de la secuencia de MU-1 murino y humano revela la presencia de motivos de señalización Box-1 y Box-2 potenciales. Hay seis residuos de tirosina presentes en el dominio citoplasmático, los cuales también podrían ser importantes para señalizar las funciones de MU-1. La comparación de las secuencias de MU-1 con otros miembros de la familia sugirió la presencia de sitios de unión potenciales para STAT 5 y STAT 3.

Ejemplo 3: Determinación de las vías de señalización STAT usadas por MU-1 humano

[0225] Se modificaron células BAF-3 para que expresaran un receptor de citoquina quimérico, que consistió en el dominio extracelular del receptor EPO humano y el dominio intracelular del receptor MU-1. Las células BAF-3 que expresaron los receptores huEPORJMU-1(cyto) quiméricos proliferaron en respuesta a EPO humano soluble. Se analizaron estas células para determinar cuáles moléculas STAT se fosforilaban como respuesta a la señalización EPO.

Brevemente, se dejaron reposar células progenitoras BAF-3 no modificadas de control y células BAF-3 quiméricas EPOR/MU en un medio que contenía IL-3, y se las estimuló nuevamente con IL-3 o EPO por 0, 15, 30 y 60 minutos. Las células se precipitaron y se suspendieron nuevamente en amortiguador de lisis helado que contenía ortovanadato para preservar las tirosinas fosforiladas. Se sometieron cantidades iguales de lisados celulares a electroforesis por SDS-PAGE, y se las transfirió a membranas de nitrocelulosa para efectuar un análisis de Western. Se colorearon las transferencias por duplicado para hallar las formas fosforiladas y nofosforiladas de STAT 1, 3, 5 y 6, usando anticuerpos específicos para cada forma de la molécula STAT. Se usaron células HELA, no activadas y activadas Interferón alfa, como controles positivos.

[0226] Estos resultados indicaron que, bajo estas condiciones específicas, la señalización a través de MU-1 resulta en la fosforilación de STAT 5 en todos los puntos de tiempo evaluados ($T = 0$, $T = 15'$, $T = 30'$, $T = 60'$). El tratamiento de los controles o las células BAF-3 quiméricas con IL-3 resultó en la fosforilación de STAT 3, pero no STAT 1 ó 5.

Ejemplo 4: Expresión tisular de MU-1 murino y humano

Ejemplo 4.1: Análisis de Northern

[0227] Se efectuaron Northern blots de ARN poliA+ de varios tejidos (Clontech, Palo Alto, CA) según lo recomienda el fabricante. Para las transferencias murinas, se usó un fragmento de 262 nucleótidos, que correspondía a los nucleótidos 781-1043 de FIG. 1 y SEQ ID N° 9, para la hibridización.

[0228] Se detectó un único transcripto de MU-1 murino en tejido de bazo,

pulmón y corazón murino adulto. El transcripto más grande observado en tejidos humanos no se observó en tejidos de ratón.

[0229] Se detectaron dos transcriptos de MU-1 humano en tejidos linfoides de humanos adultos, PBL, timo, bazo y nódulos linfáticos, y en pulmones fetales.

Ejemplo 4.2: Hibridización in situ

[0230] Los estudios de hibridización in situ fueron realizados por Phylogency Inc., de Columbus, OH (de acuerdo con el método de Lyons et al. (1990) *J. Cell. Biol.* 111:2427-36). Brevemente, se desparafinaron secciones en parafina seriadas de 5-7 micrones, se las fijó, se digirió con proteinasa K, se las trató con tri-etanolamina y se deshidrató. Se prepararon los ARNc a partir de moldes de ADNc para generar sondas en el sentido del marco de lectura y antisentido. Se sintetizaron los transcriptos de ARNc de acuerdo con las condiciones del fabricante (Ambion) y se marcó con ^{35}S -UTP. Se sometieron las secciones a hibridización durante la noche, se lavó bajo condiciones severas, se trató con ARNasa A, se las sumergió en emulsión de rastreo y se las expuso por 2-3 semanas. Luego se hibridizaron secciones de control con sondas en el sentido del marco de lectura para indicar el nivel de fondo del procedimiento. La sonda murina consistió en un fragmento de 186 bp que correspondió a los nucleótidos 860-1064 (SEQ ID N° 9). La sonda humana fue un producto de PCR de 23 bp generado a partir de ADN de MU-1 humano.

[0231] Se observó la expresión de MU-1 murino en los nodos linfáticos del intestino delgado de los adultos en los centros germinales. Los nodos linfáticos especializados y los parches de Peyer también presentaron expresión de MU-1 murino.

[0232] Se detectó la expresión de MU-1 humano en los centros germinales de

los nódulos linfáticos en la corteza. La médula, que contiene macrófagos, no presentó MU-1 humano. En bazo humano, se detectó la expresión de MU-1 humano en las regiones de pulpa blanca, pero no en la pulpa negra.

Ejemplo 5: Expresión de MU-1 humano en células y líneas de células

[0233] Se realizaron análisis de protección de ARNasa sobre células T humanas y líneas de células B humanas en reposo y activadas, Raji y RPMI 8866, y en la línea de células T. Se activaron las células T humanas con anti-CD3 y anti-CD28. Se activaron las líneas celulares con éster de forbol e ionomicina. Se construyó el plásmido productor de ribosondas MU-1 insertando un producto de PCR de 23 bp (se efectuó la PCR usando el cebador 5' CACAAAGCTTCAGTATGAGCTGCAGTACAGGAACCGGGGA (SEQ ID N° 15) y el cebador 3' CACAGGATCCCTTTAACTCCTCTGACTGGGTCTGAAAGAT (SEQ ID N° 16) en los sitios BamHI y HindIII del vector pGEM3zf(-) (Promega, Madison, WI)). Para preparar la ribosonda, se linealizó el plásmido productor de ribosondas con HindIII. El ADN resultante se extrajo con fenol/cloroformo y se precipitó con etanol. Se usó ARN polimerasa T7 para preparar la ribosonda de acuerdo con el protocolo sugerido por el proveedor (PharMingen, San Diego, CA). Se realizó el ensayo de protección de ARNasa usando el sistema de ensayo de protección de ribonucleasa con sondas múltiples RIBOQUANT™ de PharMingen. Se incluyeron 2,0 µg de ARN total en cada reacción de RPA. Después de digerir con ARNasa, se analizaron las ribosondas en un sistema de separación rápida de ácidos nucleicos QUICKPOINT™ (Novex, San Diego, CA). Los geles se secaron y se expusieron de acuerdo con la sugerencia del proveedor.

[0234] El ARN de MU-1 humano está regulado positivamente en células CD3+

humanas purificadas y estimuladas con anti-CD3 + anti-CD28, en comparación con las poblaciones sin estimulación. MU-1 también está regulado positivamente en poblaciones de células T estimuladas en forma sesgada con Th1 y Th2. Las líneas de células B RPMI 8866 y Raji expresaron MU-1 en forma constitutiva, al tiempo que la línea de células T Jurkat no lo hizo.

Ejemplo 6: Unión de MU-1 humano a citoquinas conocidas

[0235] Se construyeron proteínas de fusión de Ig humana y murina, y se las inmovilizó en chips Biacore con el objeto de identificar el ligando de MU-1. Se evaluó la unión a MU-1 en una variedad de medios acondicionados, así como en un panel de citoquinas conocidas. También se evaluaron algunas citoquinas en combinación con otras cadenas receptoras en la familia para considerar la posibilidad de que MU-1 pudiera requerir una segunda cadena receptora para unirse al ligando. Se evaluaron las siguientes citoquinas, y se descubrió que no se unían a MU-1: mIL-2, hIL-2, hIL-15, mIL-7, TSLP, TSLP + IL-7, TSLP + IL-7R, TSLP + IL-7g, TSLP + IL-2, TSLP + IL-2 + IL-2Rbeta, IL2-Rbeta, IL-2Rgamma, IL-7R, IL-2 + IL-2Rbeta, IL-2 + IL-2Rgamma, IL-15 + IL-2Rbeta, IL-15 + IL-2Rgamma, IL-7 + IL-2Rgamma, IL-2 + IL-7R, IL-15 + IL-7R, IL-7 + IL-7R. También se inmovilizaron receptores conocidos, y se evaluó la unión a MUFc con resultados negativos. IL-15 se une a IL-2Rb, pero no a IL-2Rg o MUFc.

Ejemplo 7: La inhibición de la actividad de IL-21/IL-21R mejora la severidad de los síntomas en ratones con artritis inducida por colágeno (CIA)

[0236] Este ejemplo demuestra que los antagonistas IL-21R, por ejemplo, las proteínas de fusión IL-21R-Ig (proteína IL-21RFc murina o "mIL-21RFc") o los

anticuerpos anti-IL-21R, mejoran los síntomas en el modelo de CIA murina.

[0237] Se usaron ratones DBA/1 (Jackson Laboratories, Bar Harbor, ME) macho en todos los experimentos. Se indujo artritis usando colágeno tipo II bovino (Chondrex, Redmond, WA). Se disolvió el colágeno tipo II bovino (Chondrex) en ácido acético 0,1 M y se emulsificó en un volumen igual de coadyuvante completo de Freund (Sigma) que contenía 1 mg/ml de *Mycobacterium tuberculosis* (cepa H37RA). Se inyectaron 100 µg de colágeno bovino por vía subcutánea en la base de la cola el día 0. El día 21, se inyectaron los ratones por vía subcutánea, en la base de la cola, con una solución que contenía 100 µg de colágeno bovino en ácido acético 0,1 M que había sido mezclado con un volumen igual de coadyuvante incompleto de Freund (Sigma). Los animales sin tratamiento recibieron el mismo conjunto de inyecciones, menos colágeno. Se indica el protocolo de dosificación en forma esquemática en la FIG. 16. Se administró MuIL-21RFc con propósitos profilácticos o terapéuticos a ratones DBA. En el régimen terapéutico, se inició el tratamiento cuando se observó la enfermedad por dos días consecutivos en un ratón.

[0238] Se monitoreó la progresión de la enfermedad en los ratones al menos tres veces por semana. Se asignó una calificación clínica a los miembros individuales sobre la base del siguiente índice: 0 = normal, sin hinchazón; 1 = eritema visible acompañado por 1-2 dígitos hinchados, o hinchazón leve en el tobillo; 2 = eritema pronunciado, caracterizado por una hinchazón moderada de la pata y/o dos dígitos hinchados; 3 = hinchazón extensa de la pata entera, es decir, extensión hacia la articulación del tobillo o la muñeca; 4 = resolución de la hinchazón, anquilosis de la pata; dificultad en el uso del miembro o rigidez

en la articulación. Por consiguiente, la suma de todas las calificaciones de los miembros para cualquier ratón proporcionó una calificación corporal total de 16.

[0239] En varias etapas de la enfermedad, se sacrificaron los animales, se cosecharon los tejidos y se fijaron las patas en formalina al 10% para analizar la histología, o paraformaldehído al 4%, pH 7,47, se descalcificó en EDTA al 20% (pH 8,0), y se embebó parafina para la hibridización *in situ*. Usando microscopía óptica, se calificaron las patas con un método de calificación de 5 grados (0-4) para caracterizar la intensidad y la extensión de la artritis. Se usaron infiltrados inflamatorios para la calificación, además de otros cambios relacionados con la inflamación, tal como la formación de pannus, la presencia de fibras en la membrana sinovial, la erosión del cartílago articular y/o el hueso subcondral. Se determinaron los grados de histología usando lecturas de patas individuales: NAD = 0 o sin anomalías descubiertas; 1 = ligera a moderada; 2 = leve a moderada; 3 = marcada; y 4 = masiva.

[0240] Se observó una reducción en la severidad de los síntomas después del tratamiento profiláctico de los ratones CIA usando mull-21RFc (100 µg o 200 µg) administrado por vía intraperitoneal (IP) día por medio, comenzando el primer día posterior a la inyección de colágeno (datos no indicados).

[0241] Se ilustran los efectos de mull-21RFc (200 µg/ratón 3x/semana) sobre un ratón con CIA semi-terapéutico en función de los días posteriores al tratamiento en la FIG. 17. Se usó Ig de ratón (200 µg/ratón 3x/semana) como control. Se observa una reducción en la calificación de severidad a partir del día 7 posterior al tratamiento.

[0242] Estos experimentos demuestran que la administración de un

antagonista de IL-21R, por ejemplo, proteínas de fusión IL-21R-Fc, a ratones CIA, con fines profilácticos o semi-terapéuticos, mejora significativamente los síntomas de artritis.

Ejemplo 8: Hibridización *in situ* de transcritos de IL-21R

[0243] Se determinó la expresión de ARNm de IL-21R de ratones con CIA. Se usaron ribosondas de IL-21R murino antisentido (FIG. 18A); se usaron sondas en el sentido del marco de lectura como controles negativos (FIG. 18B). Se prepararon sondas marcadas con digoxigenina con el uso de una mezcla de marca de ADN DIG (Roche Diagnostics, Mannheim, Alemania), como lo describe el fabricante. Se detectó la expresión de ARNm del receptor de IL-21 en macrófagos, neutrófilos, fibroblastos, una subpoblación de linfocitos, sinoviocitos y epidermis (FIG. 18A). Se observó una coloración menor en las patas control o con sondas en el sentido del marco de lectura (FIG. 18B). Las células con expresión positiva de ARNm de mL-21R fueron los neutrófilos (N) y los macrófagos (M). La hibridización *in situ* demostró la expresión mejorada de IL-21R en las patas de ratones artríticos.

Ejemplo 9: La inhibición de la actividad de IL-21/IL-21R mejora la severidad de los síntomas tipo IBD en el modelo en rata HLA-B27

[0244] Este ejemplo demuestra que los antagonistas de IL-21R, por ejemplo, las proteínas de fusión IL-21R-Ig (proteína IL-21RFc murina o "mIL-21RFc") o los anticuerpos anti-IL-21R, mejoran los síntomas tipo IBD en el modelo en rata HLA-B27.

[0245] Se generó un polipéptido de fusión del receptor de IL-21 murino y Fc (MuIL-21RFc) como se describió en la presente documentación, y se evaluó su capacidad de aliviar la inflamación intestinal en el modelo en rata HLA-B27. Se

ha usado extensamente el modelo en rata HLA-B27 para evaluar terapias IBD, ya que el modelo de inflamación intestinal observado en el modelo comparte varias características clínicas, histológicas e inmunológicas con la IBD en seres humanos (revisado, por ejemplo, en Elson et al. (1995) *Gastroenterology*, 109:1344-67; Blanchard et al. (2001) *European Cytokine Network* 12:111-18; Kim et al. (1999) *Arch. Pharm. Res.* 22:354-60). Por ejemplo, HLA-B27 de rata sobreexpresa el alelo B27 del complejo de histocompatibilidad mayor humano I y los productos genéticos de B2-microglobulina. Estos productos genéticos están asociados con el desarrollo de enfermedades inflamatorias crónicas, tales como la IBD.

[0246] Las ratas utilizadas en el estudio habían desarrollado una inflamación crónica del tracto gastrointestinal (GI), como lo evidenciaron las señales clínicas de diarrea persistente. Se le asignó una calificación clínica (0-3) a las heces sobre la base del siguiente: 0 = normal con pellets de heces formados; 1 = suave, con pellets de heces formados; 2 = blando, sin formación de pellets de heces; y 3 = diarrea acuosa (véase la FIG. 19). Se monitorearon las ratas por 18 días, durante lo cual se analizaron las heces para determinar la progresión de la enfermedad. Una calificación clínica de 3 indica diarrea persistente (indicada en el control de IgG). Se administró MuLL-21RFc (6 mg/kg IP, 3X semana) a cinco ratas HLA-B27 transgénicas/grupo por un período de 18 días. A otro grupo se le administraron 6 mg/ml de mEnbrel (fusión de receptor de TNF y Fc soluble), un control positivo. A un tercer grupo, que consistió en una cantidad igual de ratones, se le administró IgG como un control, del mismo modo y con la misma dosificación.

[0247] Se detectó una reducción marcada de la calificación clínica en los

grupos tratados con MuIL-21RFc y mEnbrel, en comparación con el control con IgG (véanse las FIGS. 19 y 20). La administración de MuIL-21RFc demostró una eficacia similar a mEnbrel en el mejoramiento de los síntomas tipo IBD. Los resultados de este estudio demuestran que la administración de MuIL-21RFc disminuye la inflamación intestinal con una eficacia similar a la de mEnbrel en un modelo HLA-B27 en rata, en comparación con las ratas a las que se había administrado IgG control (véanse las FIGS. 19 y 20).

[0248] Se confirmó el alivio de los síntomas, expresado en términos de calificación fecal mejorada, a través de análisis histológicos. Las ratas tratadas con MuIL-21RFc presentaron una calificación de severidad de la enfermedad significativamente menor que aquellas tratadas con el control, IgG, en lo referente a la ulceración, la inflamación, la profundidad de las lesiones y la fibrosis (véase la FIG. 21). Al análisis histológico se le asignó una calificación clínica de 0-2 ó 0-3, como se indicó, donde una mayor calificación indica una mayor severidad en el modelo de IBD en rata. Se detectó una disminución significativa de la inflamación en el intestino en todas las categorías examinadas en grupos tratados con MuIL-21RFc y mEnbrel, respecto del control. MuIL-21RFc presentó una eficacia similar a la de mEnbrel en el mejoramiento de las señales histológicas de severidad de la enfermedad. Para apoyar una extensión de los resultados presentados previamente a seres humanos, en la FIG. 19 (panel del lado derecho) se presenta la hibridización *in situ* de ARNm de MU-1 en los linfocitos y los nodos linfáticos del intestino humano normal, lo que indica la expresión de ARNm de MU-1 en el órgano relevante para la enfermedad.

Ejemplo 10: La inhibición de la actividad de IL-21/IL-21R demora el

rechazo de injertos de piel alogénicos en ratones

[0249] Este ejemplo demuestra que los antagonistas de IL-21R, por ejemplo, las proteínas de fusión IL-21R-Ig (proteína IL-21RFc murina o "muIL-21RFc") o los anticuerpos anti-IL-21R, demoran el rechazo de injertos de piel alogénicos en ratones, por lo que prolongan la supervivencia del injerto.

[0250] Se demostró que la administración de MuIL-21RFc demoraba el rechazo de injertos de piel alogénicos en ratones Inyectados con células T transducidas por medios retrovirales. En la FIG. 22 se ilustra un gráfico que presenta el porcentaje de supervivencia del injerto respecto de los días transcurridos después de la transferencia adoptiva. En este modelo, los ratones desnudos presentan injertos de piel alogénicos curados, debido a que no se detectan células T en ellos. Cuando se inyectaron células T B6 activadas, que habían sido modificadas en forma retroviral para secretar GFP control o IL-21, en ratones desnudos, se rechazaron los injertos (véase la FIG. 22). Se habían modificado las células T para secretar MuIL-21RFc (del que se esperaba que neutralizara la IL-21 secretada por estas células), los injertos sobrevivían por intervalos de tiempo más largos, como se indica en la FIG. 22 (indicado por IL-21R-Fc, en comparación con los controles de GFP y IL-21). Se usaron diez ratones para GFP y MuIL-21RFc, respectivamente; se usaron quince ratones para los controles de IL-21. Estos resultados demuestran la participación de los antagonistas de IL-21R en la prolongación de la supervivencia de los injertos.

Ejemplo 11: La inhibición de la actividad de IL-21/IL-21R reduce los síntomas de enfermedad en un modelo de transferencia adoptiva CD45RB^{hi}

[0251] Este ejemplo demuestra que los antagonistas de IL-21R, por ejemplo, las proteínas de fusión IL-21R-Ig (proteína de IL-21RFc murina o "mull-21RFc") o los anticuerpos anti-IL-21R, mejoran los síntomas en un modelo de psoriasis y enfermedad intestinal inflamatoria (IBD) en ratón.

[0252] La transferencia de células T CD4⁺ CD45RB^{hi} no expuestas en ratones con inmunodeficiencia combinada severa (SCID) resultó en colitis y/o lesiones cutáneas similares a la psoriasis, dependiendo de las condiciones de alojamiento en las jaulas. Se separaron las células T CD4⁺ BALBc CD45RB^{hi} (población no expuestas) de las células de bazo primero mediante una selección negativa en columnas para las células T CD4⁺, y luego se las separó por citometría de flujo, con una selección por expresión elevada de CD45. Se transfirieron 4×10^5 células de esta población a ratones C.B-17 SCID hembra, y se evaluaron las señales de psoriasis e IBD en los ratones durante varias semanas. Los ratones alojados en jaulas bajo condiciones estáticas desarrollaron la enfermedad intestinal inflamatoria; ratones alojados bajo condiciones regulares con cambios de flujo de aire también desarrollaron psoriasis. Se analizó la psoriasis en los ratones en una escala de 1-6: 1 = leve, eritema moderado (usualmente en los párpados y las orejas) en <2% del cuerpo; 2 = presencia leve de escamas y eritema ente moderado y severo (usualmente en las orejas y la cara) en 2-10% del cuerpo; 3 = eritema severo y presencia de escamas (en las orejas, la cara y el tronco) en 10-20% del cuerpo; 4 = eritema muy severo en 20-40% del cuerpo; 5 = eritema muy severo en 40-60% del cuerpo; 6 = eritema muy severo en 60-100% del cuerpo. Se analizó la IBD en los ratones a través de la pérdida de peso y la calificación fecal: 0 = normal; 1 = suave; 2 = diarrea; 3 = diarrea con sangre y mucus.

[0253] El tratamiento con mull-21RFc fue efectivo para mejorar los síntomas semejantes a la psoriasis. En los ratones que desarrollaron inflamaciones cutáneas, el tratamiento con una inyección intraperitoneal de 200 μ g de mull-21RFc 3x por semana, comenzado ocho semanas después de la transferencia de células CD45RB^{hi}, resultó en la reducción del eritema, la formación de escamas y la pérdida de cabello, en comparación con los ratones control tratados con Ig anti-*E. tenella* (FIG. 23). El tratamiento de los ratones receptores de CD45RB^{hi} con 200 μ g de mull-21RFc 3x por semana en el momento de la transferencia celular resultó en el inicio demorado de la psoriasis y en una enfermedad con menor severidad clínica, en comparación con los controles con el correr del experimento (FIG. 35). Se resumen los resultados del experimento en la FIG. 36.

[0254] El tratamiento usando mull-21RFc también fue efectivo para mejorar los síntomas de inflamación intestinal. El tratamiento de ratones de receptores de CD45RB^{hi} con 200 μ g o 400 μ g de mull-21RFc tres veces por semana en el momento de la transferencia de las células resultó en una reducción significativa de las señales clínicas de colitis, determinadas a través de la pérdida de peso corporal (FIG. 37) y la calificación fecal (FIG. 38), en comparación con los ratones tratados con Ig control. Se resumen los resultados en la FIG. 39. La evaluación macroscópica de los cólores de ratones receptores de CD45RB^{hi} demostró un espesamiento y una hinchazón severa, que casi fue suprimida casi por completo en los ratones tratados con mull-21RFc. En términos microscópicos, los ratones tratados con control también presentaron un grado mayor de hiperplasia epitelial e infiltración leucocitaria en la lámina propia/la submucosa, en comparación con los ratones

tratados con mull-21RFc. Adicionalmente, se midieron las citoquinas en suero en los ratones tratados con control y los ratones tratados con mull-21RFc. De las distintas citoquinas medidas, solamente se detectó interferón gamma (IFN- γ) en suero. El tratamiento con dosis de 200 μ g o 400 μ g de mull-21RFc resultó en niveles en suero significativamente reducidos de IFN- γ , en comparación con los ratones tratados con Ig control (FIG. 40). Puede usarse IFN- γ como marcador biológico de la eficacia de los antagonistas de IL-21R sobre la IBD.

[0255] Se evaluó la respuesta a IL-21 de subconjuntos CD45RB^{hi} (no expuestas) y CD45RB^{lo} (de memoria) en un ensayo de proliferación. En el modelo de transferencia de IBD, solamente las células no expuestas provocaron la enfermedad, y esta enfermedad pudo suprimirse agregando la población de memoria. En este ensayo, se estimularon poblaciones purificadas con anti-CD3 unido a placa, y se evaluó la incorporación de ³H-timidina en respuesta a IL-21. La población no expuesta presentó una respuesta significativamente incrementada a IL-21 en comparación con la población de memoria (FIG. 41). Esto sugiere que IL-21 es una citoquina importante para la expansión de esta población in vivo.

[0256] La adición de IL-21 a células CD4⁺ CD45RB^{hi} activadas en cultivo indujo la secreción de múltiples citoquinas. Se trataron las células T CD45RB^{hi} CD4⁺ estimuladas con anti-CD3 con 100 unidades/ml de IL-2 o 1 ng/ml, 10 ng/ml o 100 ng/ml de IL-21. En respuesta a IL-21, las células CD45RB^{hi} secretaron mayores niveles de IL-2, IL-4, IL-10, IL-17, IL-18, IL-22, IFN- γ y TNF α (FIG. 42). El bloqueo de la IL-21 endógena mediante la adición de 50 μ g/ml o 100 μ g/ml de mull-21RFc resultó en menores niveles de citoquinas en estos

cultivos, en comparación con los cultivos tratados con una Ig control (FIG. 43).

[0257] Tomados en conjunto, estos resultados indican que IL-21 es un participante potencial potente en las respuestas inflamatorias en este modelo, y que puede obtenerse un beneficio terapéutico de los antagonistas IL-21R en las enfermedades mediadas por Th1, tales como la enfermedad de Crohn y la psoriasis.

Ejemplo 12: Los ratones que carecen de IL-21R presentan una reducción en la inflamación de las vías respiratorias inducida por antígenos

[0258] Este ejemplo demuestra que los ratones transgénicos que carecen del receptor IL-21 (IL-21R $-/-$) presentan una respuesta significativamente reducida a la inflamación de las vías respiratorias inducida por antígenos y la hiper-respuesta de las vías respiratorias.

[0259] Se inmunizaron ratones C57BL/6 IL-21R $-/-$ y tipo salvaje (WT $+/+$) (de 8-12 semanas de edad) empleando una inyección intraperitoneal de 20 μ g de OVA emulsificado en 2,25 mg de alumbre (Alum Inject; Pierce) los días 0 y 14. Los días 26, 27 y 28, se atacaron las vías respiratorias con un aerosol de 5% de OVA en PBS por 30 minutos. Cuarenta y ocho horas después del último ataque con OVA, se evaluaron los cambios en la resistencia pulmonar de los animales y la respuesta dinámica a metacolina aerosolizada. La sensibilización y el ataque con OVA resultaron en un incremento significativo en la hiper-respuesta de las vías respiratorias después de aplicar metacolina en aerosol en ratones WT $+/+$, en comparación con los ratones WT $+/+$ sensibilizados con OVA y atacados con PBS (FIG. 24). Sin embargo, no hubo diferencia en la hiper-respuesta de las vías respiratorias en ratones IL-21R $-/-$ sensibilizados con OVA/atacados con OVA ante la metacolina aerosolizada para el rango de

dosificación completo, en comparación con los ratones WT +/+ sensibilizados con OVA/atacados con OVA (FIG. 24).

[0260] Luego se sacrificaron los animales y se recolectó sangre y fluido de lavado broncoalveolar (BALF) para analizar la inflamación pulmonar, los niveles de citoquina y las titulaciones de IgE total y anti-OVA. Se recolectó BALF a partir del lavado broncoalveolar con 3x 0,7 ml de PBS. La cantidad de células totales en BALF aumentó aproximadamente 36 veces después del ataque con OVA en ratones WT +/+, en comparación con los controles atacados con PBS, en contraste con un incremento de 3 veces respecto de los controles atacados con PBS en animales IL-21R -/- (FIG. 25A). Además, la cantidad total de células en BALF de los ratones IL-21R -/- sensibilizados con OVA/atacados con OVA fue significativamente menor que aquella observada en los animales WT +/+ sensibilizados con OVA/atacados con OVA. No hubo diferencia en la cantidad total de células en BALF entre los ratones IL-21R -/- y WT +/+ sensibilizados con OVA/atacados con PBS (FIG. 25A). El ataque con OVA resultó en un incremento significativo en los eosinófilos en BALF en ratones WT +/+ e IL-21R -/-, en comparación con los controles sensibilizados del mismo modo pero atacados con PBS. Las cantidades absolutas de eosinófilos en BALF estuvieron significativamente atenuadas en los animales IL-21 -/-, en comparación con aquellas observadas en los animales WT +/+ sensibilizados con OVA/atacados con OVA (FIG. 25B). La eliminación de IL-21R también atenuó significativamente el incremento en la cantidad de linfocitos (FIG. 25C) y neutrófilos (FIG. 25D) en BALF después del ataque con OVA.

[0261] Los niveles de IL-5, IL-13 y TNF α en BALF aumentaron significativamente en los ratones WT +/+ sensibilizados con OVA/atacados con

OVA, en comparación con los controles atacados con PBS (FIGS. 26 y 27). En contraste, la sensibilización y el ataque con OVA indujeron un incremento muy modesto en los niveles de estas citoquinas en BALF de ratones IL-21R $-/-$, en comparación con los controles atacados con PBS, los niveles fueron significativamente menores que aquellos observados en los animales WT sensibilizados con OVA/atacados con OVA (FIGS. 26 y 27). Se cuantificaron los niveles de TNF α e IL-5 en BALF usando un conjunto de elementos que comprendía un conjunto de esferas citométricas (Th1/Th2 de ratón, Cytokine CBA, BD Biosciences, San Diego, CA). Se cuantificaron los niveles de IL-13 en BALF por ELISA.

[0262] Como se muestra en las FIGS. 28A-B, los niveles de IgE total e IgE anti-OVA después de la sensibilización con OVA/el ataque con OVA en IL-21R $-/-$ fueron mucho menores en comparación con aquellos en los ratones WT $+/+$ tratados en forma idéntica. Sin embargo, no hubo diferencias significativas en los ratones IL-21R $-/-$ y WT $+/+$ cuando se compararon los niveles de IgE totales o específicas para OVA después de un ataque con PBS.

[0263] Estos resultados sugieren que la inhibición de las respuestas mediadas por IL-21 puede proporcionar un valor terapéutico en el tratamiento de la alergia y el asma.

Ejemplo 13: La inhibición de la actividad de IL-21/IL-21R mejora la severidad de los síntomas en un modelo de lupus MRL-FAS^{pr}

[0264] Este ejemplo demuestra que los antagonistas de IL-21R, por ejemplo, las proteínas de fusión IL-21R-Ig (proteína IL-21RFc murina o "muIL-21RFc") o los anticuerpos anti-IL-21R, mejoran síntomas semejantes a los del lupus eritematoso sistémico (SLE) en un modelo en ratón MRL-Fas^{pr}.

[0265] Se usaron ratones MRL-*Fas^{hr}* macho para todos los experimentos. Estos ratones presentaban múltiples síntomas similares a los del SLE humano, incluyendo ADN de autoanticuerpos, la destrucción de múltiples tejidos y glomerulonefritis de complejos Inmunes. Se inyectaron 400 μ g de MuIL-21RFc o un isotipo control por vía Intraperitoneal tres veces por semana, comenzando a las 10 semanas de edad, y se analizó la progresión de la enfermedad en los ratones en forma semanal. A las 15 semanas, se sacrificaron los ratones para continuar el análisis. Cada grupo de tratamiento contenía 10 ratones.

[0266] El tratamiento con MuIL-21RFc redujo significativamente los niveles de autoanticuerpos anti-dsADN en circulación (FIG. 29) e IgG total en suero (FIG. 30) en ratones MRL-*Fas^{hr}*, determinados por ELISA. Brevemente, para medir los autoanticuerpos anti-dsADN, se aplicó dsADN sobre una placa de titulación, se agregaron anticuerpos en suero y se detectaron los anticuerpos usando un anticuerpo secundario anti-ratón. Para medir la IgG total, se adhirió suero a una placa de titulación, a lo que siguió una detección usando un anticuerpo secundario anti-ratón.

[0267] El tratamiento con MuIL-21RFc también redujo la acumulación de depósitos de IgG en riñones de ratones MRL-*Fas^{hr}*. A las 15 semanas, se sacrificaron los ratones y se colorearon secciones de riñón congeladas (5 μ m) con IgG-FITC de cabra anti-ratón. Se calificó la intensidad de la fluorescencia en una escala de entre 0 y 3. En la FIG. 31 se muestra la intensidad total de la fluorescencia medida en secciones de riñón de ratones tratados y de control.

[0268] Estos resultados demuestran que el tratamiento terapéutico con un antagonista de IL-21R puede aliviar los síntomas semejantes a los del lupus.

Ejemplo 14: Modelo animal de lupus y GVHD: Ausencia de formación de

autoanticuerpos y depósito de IgG en los riñones de ratones con deficiencia de IL-21R Injertados con células de bazo B6 bm12

[0269] Se realizaron experimentos para investigar la respuesta de ratones con knockout (KO) de IL-21R en el modelo de enfermedad crónica de injerto versus huésped (GVHD) de lupus eritematoso sistémico (SLE) (Chen et al. (1998) *J. Immunol.* 161:5880-85). Este modelo comprende aspectos representativos de SLE y GVHD.

[0270] Los animales usados fueron ratones B6.C-H2<bm12>/KhEG (bm12), Jackson Labs (células de bazo); IL-21R-2 KO, Charles River Labs (CRL); ratones tipo salvaje C57/B6 (WT), Charles River Labs; y ratones tipo salvaje C57/B6, Taconic (TAC) (Germantown, NY).

[0271] Se sacrificaron los ratones donantes apropiados el día de la inducción de la enfermedad por exposición a CO₂. Se cosecharon los bazos y se los molió. Se lisaron las células rojas de la sangre usando NH₄Cl 0,16 M: TrisCl 0,17 M (9:1) en 1 ml de solución de lisis por bazo, por un total de 5 minutos con mezcla ocasional. Se contaron las suspensiones celulares usando azul tripán, y se ajustó hasta una concentración final de 2×10^8 células/ml usando solución salina estéril amortiguada con fosfato. Luego se inyectaron 0,5 ml de la suspensión celular apropiada por vía intraperitoneal en el ratón receptor apropiado (como se indica en la Tabla 2 a continuación). Luego se monitorearon las proteínas en la orina y la pérdida/ganancia de peso en los ratones receptores en los ratones receptores en forma semanal. Cada dos semanas, se exsangüinó cada ratón a través del seno retro-orbital, y se almacenó el suero para realizar análisis adicionales. Se efectuaron ensayos de ELISA en todo el suero recolectado en cada uno de los puntos de tiempo

(como se describe en Zouali y Stollar (1986) *J. Immunol. Methods* 90:105-10) para detectar los autoanticuerpos contra ADN de cadena doble.

[0272] 12 semanas después de inducir la enfermedad, se sacrificó la mitad de los animales de cada grupo y se recolectaron los bazo y los riñones. Se preservó el riñón izquierdo (intacto) en formalina no amortiguada al 10% y se coloreó con H&E. Se realizó la calificación de la coloración de acuerdo con el método de Chen et al., *supra*. Los parámetros de calificación incluyeron: infiltración linfocítica perivascular, infiltración linfocítica intersticial, hiperplasia y engrosamiento de la membrana basal. El riñón derecho se cortó en forma longitudinal y se embebió cada mitad, con el lado cortado hacia abajo, en un cassette de bloque de tejido. Se analizó el riñón derecho usando técnicas inmunohistoquímicas para determinar la presencia de depósitos inmunes, específicamente IgG, IgM y C3.

Tabla 2

	Grupo	Donante	Receptor	n
1	IL-21R KO	bm12	CRL IL-21R KO	8
2	CRL-GVHD (C-GVHD)	bm12	CRL B6	10
3	TAC-GVHD (T-GVHD)	bm12	TAC B6	10
4	CRL-Control (C-Control)	CRL B6	CRL B6	5
5	TAC-Control (T-Control)	TAC B6	TAC B6	5

[0273] Se muestran los resultados de estos experimentos en la FIG. 44. No se detectaron anti-dsADN autoanticuerpos en ninguno de los ratones con knockout de IL-21R en ningún punto de tiempo (FIG. 44A). Además, en la FIG. 44B se ilustra que no se observan depósitos de IgG en los riñones de ratones con deficiencia de IL-21R veinte semanas después de inducir la enfermedad,

en comparación con los ratones con GVHD. Por consiguiente, los ratones con deficiencia de IL-21R no generan autoanticuerpos en el modelo de GVHD-SLE ni forman depósitos de IgG en los riñones. Por consiguiente, el tratamiento de los individuos con antagonistas de IL-21/IL-21R puede proporcionar una terapia efectiva para el SLE y la GVHD.

[0274] Los contenidos de todas las referencias, las solicitudes de patentes pendientes (incluyendo 60/599086, presentada el 5 de Agosto de 2004 y 60/639176, presentada el 23 de Diciembre de 2004), las solicitudes de patentes publicadas (incluyendo 2003/0108549, presentada el 4 de Octubre de 2002), y las patentes publicadas citadas en esta solicitud se incorporan en la presente documentación a modo de referencia.

Equivalentes

[0275] Aquellos entrenados en la técnica reconocerán o podrán evaluar, sin usar más que experimentación de rutina, muchos equivalentes de las realizaciones específicas de la invención descritas en la presente documentación. Estos equivalentes están abarcados por las siguientes reivindicaciones.

LISTADO DE SECUENCIAS

<110> Wyeth
 <120> Antagonismo de la actividad del receptor de interleuquina 21
 <130> 01997.043400
 <150> US 60/599,086
 <151> 2004-08-05
 <150> US 60/639,176
 <151> 2004-12-23
 <160> 39
 <170> PatentIn version 3.1
 <210> 1
 <211> 2665
 <212> ADN
 <213> Humano
 <400> 1
 gtcgactgga ggcccagctg cccgtcatca gaggacagc tcttatgaca gcctgattgg
 60
 tgactcgggc tgggtgtgga ttctcaccac aggcctctgc ctgctttctc agaccctcat
 120
 ctgtcaccac caagctgaac ccagctgcca cccccagaag cccatcagac tgcccccagc
 180
 acacggaatg gattttctgag aaagaagccg aaacagaagg cccgtgggag tcagcatgcc
 240
 gcgtggctgg gccgccccct tgctcctgct gctgctccag ggaggctggg gctgccccga
 300
 cctogtctgc tacaccgatt acctccagac ggtcatctgc atcctggaaa tgtggaacct
 360
 ccaccccagc acgctcaccac ttacctggca agaccagtat gaagagctga aggacgaggc
 420
 cacctcctgc agcctccaca ggtcggccca caatgccacg catgccacct acacctgcca
 480
 catggatgta ttccacttca tggccgacga cattttcagt gtcaacatca cagaccagtc
 540
 tggcaactac tcccaggagt gtggcagctt tctcctggct gagagcatca agccggctcc
 600
 ccctttcaac gtgactgtga ccttctcagg acagtataat atctcctggc gctcagatta
 660
 cgaagaccct gccttctaca tgctgaaggc caagcttcag tatgagctgc agtacaggaa
 720

ccggggagac ccctgggctg tgagtccgag gagaaagctg atctcagtgg actcaagaag
780

tgtctccctc ctccccctgg agttccgcaa agactcgagc tatgagctgc aggtgcgggc
840

agggcccatg cctggctcct cctaccaggg gacctggagt gaatggagtg acccggtcac
900

ctttcagacc cagtcagagg agttaaagga aggctggaac cctcacctgc tgcttctcct
960

cctgcttgtc atagtcttca ttctgcctt ctggagcctg aagaccatc cattgtggag
1020

gctatggaag aagatatggg ccgtcccag ccctgagcgg ttcttcatgc ccctgtacaa
1080

gggctgcagc ggagacttca agaatgggt gggcgacccc ttcactggct ccagcctgga
1140

gctgggaccc tggagcccag aggtgccctc caccctggag gtgtacagct gccacccacc
1200

acggagcccg gccaaagaggc tgcagctcac ggagctacaa gaaccagcag agctgggtgga
1260

gtctgacggc gtgcccagc ccagcttctg gccgacagcc cagaactcgg ggggctcagc
1320

ttacagtgag gagagggatc ggccatacgg cctgggtgtc attgacacag tgactgtgct
1380

agatgcagag gggccatgca cctggccctg cagctgtgag gatgacggct acccagccct
1440

ggacctggat gctggcctgg agcccagccc aggcctagag gacccactct tggatgcagg
1500

gaccacagtc ctgtcctgtg gctgtgtctc agctggcagc cctgggctag gaggggccct
1560

gggaagcctc ctggacagac taaagccacc ccttgagat ggggaggact gggctggggg
1620

actgccctgg ggtggccggt cacctggagg ggtctcagag agtgaggcgg gctcaccct
1680

ggccggcctg gatatggaca cgtttgacag tggctttgtg ggctctgact gcagcagccc
1740

tgtggagtgt gacttcacca gcccggggg cgaaggaccc ccccgagct acctcccca
1800

gtgggtggc attcctccgc cactttcgag ccctggaccc caggccagct aatgaggctg
1860

actggatgtc cagagctggc caggccactg ggccctgagc cagagacaag gtcacctggg

1920

ctgtgatgtg aagacacctg cagcctttgg tctcctggat gggcctttga gcctgatgtt
1980

tacagtgtct gtgtgtgtgt gtgcatatgt gtgtgtgtgc atatgcatgt gtgtgtgtgt
2040

gtgtgtctta ggtgcgcagt ggcattgtcca cgtgtgtgtg tgattgcacg tgccgtgtggg
2100

cctgggataa tgcccatggt actccatgca ttcacctgcc ctgtgcatgt ctggactcac
2160

ggagctcacc catgtgcaca agtgtgcaca gtaaactgtt ttgtgggtcaa cagatgacaa
2220

cagccgtcct ccctcctagg gtcttgtgtt gcaagttggt ccacagcatc tccggggcctt
2280

tgtgggatca gggcattgcc tgtgactgag ggggagccca gccctccagc gtctgcctcc
2340

aggagctgca agaagtccat attgttcctt atcacctgcc aacaggaagc gaaaggggat
2400

ggagttagcc catggtgacc tcgggaatgg caattttttg ggcggccctt ggacgaaggt
2460

ctgaatcccg actctgatac cttctggctg tgetacctga gccaaagtcgc ctccccctctc
2520

tgggctagag tttccttacc cagacagtgg ggaaggcatg acacacctgg gggaaattgg
2580

cgatgtcacc cgtgtacggt acgcagccca gagcagaccc tcaataaacg tcagcttcct
2640

tcaaaaaaaaa aaaaaaaaaat ctaga
2665

<210> 2

<211> 538

<212> PRT

<213> Humano

<400> 2

Met Pro Arg Gly Trp Ala Ala Pro Leu Leu Leu Leu Leu Leu Gln Gly
1 5 10 15

Gly Trp Gly Cys Pro Asp Leu Val Cys Tyr Thr Asp Tyr Leu Gln Thr
20 25 30

Val Ile Cys Ile Leu Glu Met Trp Asn Leu His Pro Ser Thr Leu Thr
35 40 45

Leu Thr Trp Gln Asp Gln Tyr Glu Glu Leu Lys Asp Glu Ala Thr Ser

50	55	60
Cys Ser Leu His Arg 65	Ser Ala His Asn Ala 70	Thr His Ala Thr Tyr Thr 75 80
Cys His Met Asp Val 85	Phe His Phe Met 90	Ala Asp Asp Ile Phe Ser Val 95
Asn Ile Thr Asp Gln Ser 100	Gly Asn Tyr Ser 105	Gln Glu Cys Gly Ser Phe 110
Leu Leu Ala Glu Ser Ile 115	Lys Pro Ala Pro 120	Phe Asn Val Thr Val 125
Thr Phe Ser Gly Gln Tyr 130	Asn Ile Ser Trp 135	Arg Ser Asp Tyr Glu Asp 140
Pro Ala Phe Tyr Met 145	Leu Lys Gly Lys 150	Leu Gln Tyr Glu Leu Gln Tyr 155 160
Arg Asn Arg Gly Asp 165	Pro Trp Ala Val 170	Ser Pro Arg Arg Lys Leu Ile 175
Ser Val Asp Ser Arg Ser 180	Val Ser Leu Leu 185	Pro Leu Glu Phe Arg Lys 190
Asp Ser Ser Tyr Glu Leu 195	Gln Val Arg Ala 200	Gly Pro Met Pro Gly Ser 205
Ser Tyr Gln Gly Thr Trp 210	Ser Glu Trp Ser 215	Asp Pro Val Ile Phe Gln 220
Thr Gln Ser Glu Glu Leu 225	Lys Glu Gly Trp 230	Asn Pro His Leu Leu Leu 235 240
Leu Leu Leu Leu Val 245	Ile Val Phe Ile 250	Pro Ala Phe Trp Ser Leu Lys 255
Thr His Pro Leu Trp Arg 260	Leu Trp Lys Lys 265	Ile Trp Ala Val Pro Ser 270
Pro Glu Arg Phe Phe Met 275	Pro Leu Tyr Lys 280	Gly Cys Ser Gly Asp Phe 285
Lys Lys Trp Val Gly Ala 290	Pro Phe Thr Gly 295	Ser Ser Leu Glu Leu Gly 300
Pro Trp Ser Pro Glu Val 305	Pro Ser Thr Leu 310	Glu Val Tyr Ser Cys His 315 320
Pro Pro Arg Ser Pro Ala 325	Lys Arg Leu Gln 330	Leu Thr Glu Leu Gln Glu 335
Pro Ala Glu Leu Val Glu 340	Ser Asp Gly Val 345	Pro Lys Pro Ser Phe Trp 350
Pro Thr Ala Gln Asn Ser 355	Gly Gly Ser Ala 360	Tyr Ser Glu Glu Arg Asp 365

Arg Pro Tyr Gly Leu Val Ser Ile Asp Thr Val Thr Val Leu Asp Ala
 370 375 380
 Glu Gly Pro Cys Thr Trp Pro Cys Ser Cys Glu Asp Asp Gly Tyr Pro
 385 390 395 400
 Ala Leu Asp Leu Asp Ala Gly Leu Glu Pro Ser Pro Gly Leu Glu Asp
 405 410 415
 Pro Leu Leu Asp Ala Gly Thr Thr Val Leu Ser Cys Gly Cys Val Ser
 420 425 430
 Ala Gly Ser Pro Gly Leu Gly Gly Pro Leu Gly Ser Leu Leu Asp Arg
 435 440 445
 Leu Lys Pro Pro Leu Ala Asp Gly Glu Asp Trp Ala Gly Gly Leu Pro
 450 455 460
 Trp Gly Gly Arg Ser Pro Gly Gly Val Ser Glu Ser Glu Ala Gly Ser
 465 470 475 480
 Pro Leu Ala Gly Leu Asp Met Asp Thr Phe Asp Ser Gly Phe Val Gly
 485 490 495
 Ser Asp Cys Ser Ser Pro Val Glu Cys Asp Phe Thr Ser Pro Gly Asp
 500 505 510
 Glu Gly Pro Pro Arg Ser Tyr Leu Arg Gln Trp Val Val Ile Pro Pro
 515 520 525
 Pro Leu Ser Ser Pro Gly Pro Gln Ala Ser
 530 535

<210> 3
 <211> 70
 <212> FRT
 <213> Humano

<400> 3

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

<210> 4
 <211> 25

<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Descripción de la secuencia artificial: cebador de PCR

<400> 4
gagtccgagg agaaagctga tctca
25

<210> 5
<211> 24
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Descripción de la secuencia artificial: cebador de PCR

<400> 5
gaaagatgac cgggtcactc catt
24

<210> 6
<211> 29
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Descripción de la secuencia artificial: oligonucleótido de
hibridización marcado

<400> 6
actcgagcta tgagctgcag gtgcgggca
29

<210> 7
<211> 29
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Descripción de la secuencia artificial: oligonucleótido de
hibridización marcado NN14-1b (MU-1)

<400> 7
actcgagcta tgagctgcag gtgcgggca
29

<210> 8
<211> 5
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Descripción de la secuencia artificial: motivo característico

de la familia de receptores de hematopoyetina

<220>
 <221> CARACTERÍSTICA_MISC
 <222> (3)..(3)
 <223> Donde Xaa es cualquier aminoácido.

<400> 8

Trp Ser Xaa Trp Ser
 1 5

<210> 9
 <211> 2628
 <212> ADN
 <213> Ratón

<400> 9
 gtcgacgogg cggtaaccagc tgtctgccca cttctcctgt ggtgtgcctc acggtcactt
 60
 gcttgtctga ccgcaagtct gcccatccct ggggcagcca actggcctca gcccgtagcc
 120
 caggcgtagc ctgtctctgt ctggctgcc cagccctact gtcttcctct gtgtaggctc
 180
 tgcccagatg cccggctggt cctcagcctc aggactatct cagcagtgac tcccctgatt
 240
 ctggacttgc acctgactga actcctgccc acctcaaacc ttcacctccc accaccacca
 300
 ctcpagagtc cgctgtgact cccacgccc ggagaccacc caagtgtccc agcctaaaga
 360
 atggctttct gagaaagacc ctgaaggagt aggtctggga cacagcatgc cccggggccc
 420
 actggctgcc ttactcctgc tgattctcca tggagcttgg agctgcctgg acctcacttg
 480
 ctacactgac tacctctgga ccatcacctg tgcctggag acacggagcc ccaaccccag
 540
 catactcagt ctcacctggc aagatgaata tgaggaactt caggaccaag agaccttctg
 600
 cagcctacac aggtctggcc acaacaccac acatatatgg tacacgtgcc atatgcgctt
 660
 gtctcaattc ctgtccgatg aagttttcat tgtcaatgtg acggaccagt ctggcaacaa
 720
 ctcccaagag tgtggcagct ttgtcctggc tgagagcatc aaaccagctc ccccttgaa
 780

cgtgactgtg gccttctcag gacgctatga tatctcctgg gactcagctt atgacgaacc
840

ctccaactac gtgctgaggg gcaagctaca atatgagctg cagtatcgga acctcagaga
900

cccctatgct gtgaggccgg tgaccaagct gatctcagtg gactcaagaa acgtctctct
960

tctccctgaa gagttccaca aagattctag ctaccagctg caggtgctgg cagcgctca
1020

gccaggcact tcattcaggg ggacctggag tgagtggagt gaccccgta tctttcagac
1080

ccaggctggg gagcccgagg caggetggga cctcacatg ctgctgctcc tggctgtctt
1140

gatcattgtc ctggttttca tgggtctgaa gatccacctg ccttgagggc tatggaaaaa
1200

gatatgggca ccagtggcca cccctgagag tttcttccag cccctgtaca gggagcacag
1260

cgggaacttc aagaaatggg ttaatacccc ttccacggcc tccagcatag agttggtgcc
1320

acagagttcc acaacaacat cagccttaca tctgtcattg tatccagcca aggagaagaa
1380

gttccccggg ctgccgggtc tggaaagaca actggagtgt gatggaatgt ctgagcctgg
1440

tcactgggtc ataatcccc tggcagctgg ccaagcggtc tcagcctaca gtgaggagag
1500

agaccggcca tatggtctgg tgtccattga cacagtgact gtgggagatg cagagggcct
1560

gtgtgtctgg ccctgtagct gtgaggatga tggctatcca gccatgaacc tggatgctgg
1620

ccgagagtct ggccctaatt cagaggatct gctcttggtc acagaccctg cttttctgtc
1680

ttgcggctgt gtctcaggta gtggtctcag gcttggaggc tcccaggca gcctactgga
1740

caggttgagg ctgtcatttg caaaggaagg ggactggaca gcagacccaa cctggagaac
1800

tgggtcccca ggagggggct ctgagagtga agcaggttcc cccctgggtc tggacatgga
1860

cacatttgac agtggctttg caggttcaga ctgtggcagc cccgtggaga ctgatgaagg
1920

acccctcga agctatctcc gccagtgggt ggtcaggacc cctccacctg tggacagtgg
1980

agccagagc agctagcata taataaccag ctatagttag aagaggcctc tgagcctggc
2040

atttacagtg tgaacatgta ggggtgtgtg tgtgtgtgtg tgtgtgtgtg tgtgtgtgtg
2100

tgtgtgtgtg tgtgtgtgtg tgtcttgggt tgtgtgttag cacatccatg ttgggatttg
2160

gtctgttgc atgtattgta atgctaaatt ctctacccaa agttctaggc ctacgagtga
2220

attctcatgt ttacaaactt gctgtgttaa ccttgttcct taatttaata ccattgggta
2280

aataaaattg gctgcaacca attactggag ggattagagg tagggggcctt ttgagttacc
2340

tgtttgagga tggagaagga gagaggagag accaagagga gaaggaggaa ggagaggaga
2400

ggagaggaga ggagaggaga ggagaggaga ggagaggaga ggagaggaga ggctgccgtg
2460

aggggagagg gaccatgagc ctgtggccag gagaacacag aagtatctgg ggtacactgg
2520

tgaggaggtg gccaggccag cagttagaag agtagattag gggtgacctc cagtatttgc
2580

caaagccaat taaaataaca aaaaaaaaaa aaagcgggcc gctctaga
2628

<210> 10
<211> 529
<212> PRT
<213> Ratón

<400> 10

Met Pro Arg Gly Pro Val Ala Ala Leu Leu Leu Leu Ile Leu His Gly
1 5 10 15

Ala Trp Ser Cys Leu Asp Leu Thr Cys Tyr Thr Asp Tyr Leu Trp Thr
20 25 30

Ile Thr Cys Val Leu Glu Thr Arg Ser Pro Asn Pro Ser Ile Leu Ser
35 40 45

Leu Thr Trp Gln Asp Glu Tyr Glu Glu Leu Gln Asp Gln Glu Thr Phe
50 55 60

Cys Ser Leu His Arg Ser Gly His Asn Thr Thr His Ile Trp Tyr Thr
65 70 75 80

Cys His Met Arg Leu Ser Gln Phe Leu Ser Asp Glu Val Phe Ile Val
85 90 95

Asn Val Thr Asp Gln Ser Gly Asn Asn Ser Gln Glu Cys Gly Ser Phe
 100 105 110
 Val Leu Ala Glu Ser Ile Lys Pro Ala Pro Pro Leu Asn Val Thr Val
 115 120 125
 Ala Phe Ser Gly Arg Tyr Asp Ile Ser Trp Asp Ser Ala Tyr Asp Glu
 130 135 140
 Pro Ser Asn Tyr Val Leu Arg Gly Lys Leu Gln Tyr Glu Leu Gln Tyr
 145 150 155 160
 Arg Asn Leu Arg Asp Pro Tyr Ala Val Arg Pro Val Thr Lys Leu Ile
 165 170 175
 Ser Val Asp Ser Arg Asn Val Ser Leu Leu Pro Glu Glu Phe His Lys
 180 185 190
 Asp Ser Ser Tyr Gln Leu Gln Val Arg Ala Ala Pro Gln Pro Gly Thr
 195 200 205
 Ser Phe Arg Gly Thr Trp Ser Glu Trp Ser Asp Pro Val Ile Phe Gln
 210 215 220
 Thr Gln Ala Gly Glu Pro Glu Ala Gly Trp Asp Pro His Met Leu Leu
 225 230 235 240
 Leu Leu Ala Val Leu Ile Ile Val Leu Val Phe Met Gly Leu Lys Ile
 245 250 255
 His Leu Pro Trp Arg Leu Trp Lys Lys Ile Trp Ala Pro Val Pro Thr
 260 265 270
 Pro Glu Ser Phe Phe Gln Pro Leu Tyr Arg Glu His Ser Gly Asn Phe
 275 280 285
 Lys Lys Trp Val Asn Thr Pro Phe Thr Ala Ser Ser Ile Glu Leu Val
 290 295 300
 Pro Gln Ser Ser Thr Thr Thr Ser Ala Leu His Leu Ser Leu Tyr Pro
 305 310 315 320
 Ala Lys Glu Lys Lys Phe Pro Gly Leu Pro Gly Leu Glu Glu Gln Leu
 325 330 335
 Glu Cys Asp Gly Met Ser Glu Pro Gly His Trp Cys Ile Ile Pro Leu
 340 345 350
 Ala Ala Gly Gln Ala Val Ser Ala Tyr Ser Glu Glu Arg Asp Arg Pro
 355 360 365
 Tyr Gly Leu Val Ser Ile Asp Thr Val Thr Val Gly Asp Ala Glu Gly
 370 375 380
 Leu Cys Val Trp Pro Cys Ser Cys Glu Asp Asp Gly Tyr Pro Ala Met
 385 390 395 400
 Asn Leu Asp Ala Gly Arg Glu Ser Gly Pro Asn Ser Glu Asp Leu Leu

405	410	415
Leu Val Thr Asp Pro Ala Phe Leu Ser Cys Gly Cys Val Ser Gly Ser		
420	425	430
Gly Leu Arg Leu Gly Gly Ser Pro Gly Ser Leu Leu Asp Arg Leu Arg		
435	440	445
Leu Ser Phe Ala Lys Glu Gly Asp Trp Thr Ala Asp Pro Thr Trp Arg		
450	455	460
Thr Gly Ser Pro Gly Gly Gly Ser Glu Ser Glu Ala Gly Ser Pro Pro		
465	470	475
Gly Leu Asp Met Asp Thr Phe Asp Ser Gly Phe Ala Gly Ser Asp Cys		
485	490	495
Gly Ser Pro Val Glu Thr Asp Glu Gly Pro Pro Arg Ser Tyr Leu Arg		
500	505	510
Gln Trp Val Val Arg Thr Pro Pro Pro Val Asp Ser Gly Ala Gln Ser		
515	520	525

Ser

<210> 11
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: cebador de PCR

<400> 11
 agcatcaagc cggctcccc
 20

<210> 12
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Artificial Primer

<220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: cebador de PCR

<400> 12
 ctccattcac tccaggtccc
 20

<210> 13
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de la secuencia artificial: cebador de PCR

<400> 13
ttgaacgtga ctgrggcctt
20

<210> 14
<211> 20
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Descripción de la secuencia artificial: oligonucleótido interno de ADNc de MU-1 murino

<400> 14
tgaatgaagt gcctggctga
20

<210> 15
<211> 40
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Descripción de la secuencia artificial: cebador de PCR 5'

<400> 15
caciaagctt cagtatgagc tgcagtacag gaaccgggga
40

<210> 16
<211> 40
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Descripción de la secuencia artificial: cebador de PCR 3'

<400> 16
cacaggatcc ctttaactcc tctgactggg tctgaaagat
40

<210> 17
<211> 224
<212> PRT
<213> Organismo no determinado

<220>
<221> Organismo no determinado
<222> (1)..(224)
<223> Descripción del organismo no determinado: segundo polipéptido que comprende una región Fc

magg

<400> 17

His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Leu Gly Ala Pro Ser
 1 5 10 15
 Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg
 20 25 30
 Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro
 35 40 45
 Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala
 50 55 60
 Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val
 65 70 75 80
 Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr
 85 90 95
 Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Val Pro Ile Glu Lys Thr
 100 105 110
 Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu
 115 120 125
 Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys
 130 135 140
 Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser
 145 150 155 160
 Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp
 165 170 175
 Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser
 180 185 190
 Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala
 195 200 205
 Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 210 215 220

<210> 18

<211> 617

<212> ADN

<213> Humano

<400> 18

gctgaagtga aaacgagacc aaggtctagc tctactgttg gtacttatga gatccagtc
 60

tggcaacatg gagaggattg tcatctgtct gatggtcac ttcttgggga cactgggtcca
 120

caaatcaagc tcccaagggtc aagatcgcca catgattaga atgcgtcaac ttatagatat
 180

tggtgatcag ctgaaaaatt atgtgaatga cttgggtccct gaattttctgc cagctccaga
240

agatgtagag acaaaactgtg agtgggtcagc tttttcctgc tttcagaagg cccaactaaa
300

gtcagcaaat acaggaacaa atgaaaggat aatcaatgta tcaattaaaa agctgaagag
360

gaaaccacct tccacaaatg cagggagaag acagaaacac agactaacat gcccttcatg
420

tgattcttat gagaaaaaac caccacaaga attcctagaa agattcaaat cactttctcca
480

aaagatgatt catcagcatc tgtcctctag aacacacgga agtgaagatt cctgaggatc
540

taacttgtag ttggacacta tgttacatac tctaatatag tagtgaaagt cattttctttg
600

tattccaagt ggaggag
617

<210> 19
<211> 162
<212> FRT
<213> Humano

<400> 19

Met Arg Ser Ser Pro Gly Asn Met Glu Arg Ile Val Ile Cys Leu Met
1 5 10 15

Val Ile Phe Leu Gly Thr Leu Val His Lys Ser Ser Ser Gln Gly Gln
20 25 30

Asp Arg His Met Ile Arg Met Arg Gln Leu Ile Asp Ile Val Asp Gln
35 40 45

Leu Lys Asn Tyr Val Asn Asp Leu Val Pro Glu Phe Leu Pro Ala Pro
50 55 60

Glu Asp Val Glu Thr Asn Cys Glu Trp Ser Ala Phe Ser Cys Phe Gln
65 70 75 80

Lys Ala Gln Leu Lys Ser Ala Asn Thr Gly Asn Asn Glu Arg Ile Ile
85 90 95

Asn Val Ser Ile Lys Lys Leu Lys Arg Lys Pro Pro Ser Thr Asn Ala
100 105 110

Gly Arg Arg Gln Lys His Arg Leu Thr Cys Pro Ser Cys Asp Ser Tyr
115 120 125

Glu Lys Lys Pro Pro Lys Glu Phe Leu Glu Arg Phe Lys Ser Leu Leu
130 135 140

Gln Lys Met Ile His Gln His Leu Ser Ser Arg Thr His Gly Ser Glu
 145 150 155 160

Asp Ser

<210> 20
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Humano

<400> 20

Glu Asp Asp Gly Tyr Pro Ala
 1 5

<210> 21
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Humano

<400> 21

Met Pro Leu Leu Leu Leu Leu Leu Leu Pro Ser Pro Leu His Pro
 1 5 10 15

<210> 22
 <211> 786
 <212> ADN
 <213> Humano

<400> 22
 atgaaattct tagtcaacgt tgccttggtt tttatgggtcg tgtacatttc ttacatctat
 60

gccggcagcg gacaccacca tcataccacc ggtagcggcg actataaaga cgatgacgat
 120

aagggttccg gatgccccga cctcgtctgc tacaccgatt acctccagac ggtcatctgc
 180

atcctggaaa tgtggaacct ccacccagc acgtcaccc ttacctggca agaccagtat
 240

gaagagctga aggacgaggc cacctcctgc agcctccaca ggtcggccca caatgccacg
 300

catgccacct acacctgcca catggatgta ttccacttca tggccgacga cattttcagt
 360

gtcaacatca cagaccagtc tggcaactac tcccaggagt gtggcagctt tctcctggct
 420

gagagcatca agccgggtcc ccttttcaac gtgactgtga ccttctcagg acagtataat
 480

atctcctggc gctcagatta cgaagaccct gccttctaca tgctgaaggg caagcttcag
540

tatgagctgc agtacaggaa ccggggagac ccctgggctg tgagtccgag gagaaagctg
600

atctcagtggt actcaagaag tgtctccctc cccccctgg agttccgcaa agactcgagc
660

tatgagctgc aggtgcgggc agggcccatg cctggctcct cctaccaggg gacctggagt
720

gaatggagtg acccggtcat ctttcagacc cagtcagagg agttaaagga aggctggaac
780

taatga
786

<210> 23
<211> 260
<212> PRT
<213> Humano

<400> 23

Met Lys Phe Leu Val Asn Val Ala Leu Val Phe Met Val Val Tyr Ile
1 5 10 15

Ser Tyr Ile Tyr Ala Gly Ser Gly His His His His His His Gly Ser
20 25 30

Gly Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys Gly Ser Gly Cys Pro Asp Leu
35 40 45

Val Cys Tyr Thr Asp Tyr Leu Gln Thr Val Ile Cys Ile Leu Glu Met
50 55 60

Trp Asn Leu His Pro Ser Thr Leu Thr Leu Thr Trp Gln Asp Gln Tyr
65 70 75 80

Glu Glu Leu Lys Asp Glu Ala Thr Ser Cys Ser Leu His Arg Ser Ala
85 90 95

His Asn Ala Thr His Ala Thr Tyr Thr Cys His Met Asp Val Phe His
100 105 110

Phe Met Ala Asp Asp Ile Phe Ser Val Asn Ile Thr Asp Gln Ser Gly
115 120 125

Asn Tyr Ser Gln Glu Cys Gly Ser Phe Leu Leu Ala Glu Ser Ile Lys
130 135 140

Pro Ala Pro Pro Phe Asn Val Thr Val Thr Phe Ser Gly Gln Tyr Asn
145 150 155 160

Ile Ser Trp Arg Ser Asp Tyr Glu Asp Pro Ala Phe Tyr Met Leu Lys
165 170 175

Gly Lys Leu Gln Tyr Glu Leu Gln Tyr Arg Asn Arg Gly Asp Pro Trp
180 185 190
Ala Val Ser Pro Arg Arg Lys Leu Ile Ser Val Asp Ser Arg Ser Val
195 200 205
Ser Leu Leu Pro Leu Glu Phe Arg Lys Asp Ser Ser Tyr Glu Leu Gln
210 215 220
Val Arg Ala Gly Pro Met Pro Gly Ser Ser Tyr Gln Gly Thr Trp Ser
225 230 235 240
Glu Trp Ser Asp Pro Val Ile Phe Gln Thr Gln Ser Glu Glu Leu Lys
245 250 255
Glu Gly Trp Asn
260

<210> 24
<211> 1426
<212> ADN
<213> Humano

<400> 24
gcggccgcac caccatgccg cgtggctggg ccgccccctt gctcctgctg ctgctccagg
60
gaggctgggg ctgccccgac ctcgtctgct acaccgatta cctccagacg gtcattctgca
120
tcctggaaat gtggaacctc cccccagca cgctcacctt tacctggcaa gaccagtatg
180
aagagctgaa ggacgaggcc acctcctgca gcctccacag gtcggccac aatgccacgc
240
atgccacctc cacctgccac atggatgtat tccacttcac gcccgacgac attttcagtg
300
tcaacatcac agaccagtct ggcaactact ccaggagtg tggcagcttt ctctggctg
360
agagcatcaa gccggctccc cttttcaacg tgactgtgac cttctcagga cagtataata
420
tctcctggcg ctcagattac gaagacctg cttctacat gctgaagggc aagcttcagt
480
atgagctgca gtacaggaac cggggagacc cctgggctgt gagtcgagg agaaagctga
540
tctcagtgga ctcaagaagt gtctccctcc tccccctgga gttccgcaaa gactcgagct
600
atgagctgca ggtgcgggca gggcccatgc ctggctcctc ctaccagggg acctggagtg
660

aatggagtga cccgggtcatc ttccagaccc agtcagagga gttaaaggaa ggctggaacg
720

gctccggctc tagagacaaa actcacacat gccaccgtg cccagcacct gaactcctgg
780

ggggaccgtc agtcttctc ttcccccaa aacccaagga caccctcatg atctcccgga
840

cccctgaggt cacatgcgtg gtggtggacg tgagccacga agaccctgag gtcaagttca
900

actggtacgt ggacggcgtg gaggtgcata atgccaaagc aaagccgcgg gaggagcagt
960

acaacagcac gtaccgtgtg gtcagcgtcc tcaccgtcct gcaccaggac tggctgaatg
1020

gcaaggagta caagtgcagg gtctccaaca aagccctccc agtccccatc gagaaaacca
1080

tctccaaagc caaagggcag ccccgagaac cacaggtgta caccctgcc ccatccccgg
1140

aggagatgac caagaaccag gtcagcctga cctgcctggc caaaggcttc tatcccagcg
1200

acatcgccgt ggagtgggag agcaatgggc agccggagaa caactacaag accacgcctc
1260

ccgtgctgga ctccgacggc tccttcttcc tctatagcaa gtcaccgtg gacaagagca
1320

ggtggcagca ggggaacgtc ttctcatgct ccgtgatgca tgaggctctg cacaaccact
1380

acacgcagaa gagcctctcc ctgtccccgg gtaaagtgt gaattc
1426

<210> 25
<211> 467
<212> PRT
<213> Humano

<400> 25

Met Pro Arg Gly Trp Ala Ala Pro Leu Leu Leu Leu Leu Leu Gln Gly
1 5 10 15

Gly Trp Gly Cys Pro Asp Leu Val Cys Tyr Thr Asp Tyr Leu Gln Thr
20 25 30

Val Ile Cys Ile Leu Glu Met Trp Asn Leu His Pro Ser Thr Leu Thr
35 40 45

Leu Thr Trp Gln Asp Gln Tyr Glu Glu Leu Lys Asp Glu Ala Thr Ser
50 55 60

845

" nnnnn

Cys Ser Leu His Arg Ser Ala His Asn Ala Thr His Ala Thr Tyr Thr
65 70 75 80

Cys His Met Asp Val Phe His Phe Met Ala Asp Asp Ile Phe Ser Val
85 90 95

Asn Ile Thr Asp Gln Ser Gly Asn Tyr Ser Gln Glu Cys Gly Ser Phe
100 105 110

Leu Leu Ala Glu Ser Ile Lys Pro Ala Pro Pro Phe Asn Val Thr Val
115 120 125

Thr Phe Ser Gly Gln Tyr Asn Ile Ser Trp Arg Ser Asp Tyr Glu Asp
130 135 140

Pro Ala Phe Tyr Met Leu Lys Gly Lys Leu Gln Tyr Glu Leu Gln Tyr
145 150 155 160

Arg Asn Arg Gly Asp Pro Trp Ala Val Ser Pro Arg Arg Lys Leu Ile
165 170 175

Ser Val Asp Ser Arg Ser Val Ser Leu Leu Pro Leu Glu Phe Arg Lys
180 185 190

Asp Ser Ser Tyr Glu Leu Gln Val Arg Ala Gly Pro Met Pro Gly Ser
195 200 205

Ser Tyr Gln Gly Thr Trp Ser Glu Trp Ser Asp Pro Val Ile Phe Gln
210 215 220

Thr Gln Ser Glu Glu Leu Lys Glu Gly Trp Asn Gly Ser Gly Ser Arg
225 230 235 240

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
245 250 255

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
260 265 270

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
275 280 285

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
290 295 300

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
305 310 315 320

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
325 330 335

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Val Pro Ile
340 345 350

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
355 360 365

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser
370 375 380

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
385 390 395 400

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
405 410 415

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
420 425 430

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
435 440 445

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
450 455 460

Pro Gly Lys
465

<210> 26
<211> 1499
<212> ADN
<213> Humano

<400> 26
gcggccgcac caccatgccg cgtggctggg cgcgccctt gctcctgctg ctgctccagg
60

gaggctgggg ctgccccgac ctcgctctgct acaccgatta cctccagacg gtcctctgca
120

tcctggaaat gtggaacctc caccocagca cgtccacctt tacctggcaa gaccagtatg
180

aagagctgaa ggacgaggcc acctcctgca gcctccacag gtcggccac aatgccacgc
240

atgccacctc caccctgccac atggatgtat tccacttcat ggccgacgac attttcagt
300

tcaacatcac agaccagtct ggcaactact ccaggagtg tggcagcttt ctctggctg
360

agagcatcaa gccggctccc cctttcaacg tgactgtgac cttctcagga cagtataata
420

tctcctggcg ctgagattac gaagacctg ccttctacat gctgaagggc aagcttcagt
480

atgagctgca gtacaggaac cggggagacc cctgggctgt gactccgagg agaaagctga
540

tctcagtggg ctcaagaagt gtctccctcc tccccctgga gttccgcaaa gactcgagct
600

atgagctgca ggtgcgggca gggcccatgc ctggctcctc ctaccagggg acctggagtg
660

aatggagtga cccgggtcatc ttccagaccc agtcagagga gttaaaggaa ggctggaacg
720

gctccggctc tagagacaaa actcacacat gccaccgtg cccagcacct gaactcctgg
780

ggggaccgtc agtcttctc tccccccaa aaccgaagga caccctcatg atctcccgga
840

cccctgaggt cacatgcgtg gtgggtggacg tgagccacga agaccctgag gtcaagttca
900

actggtacgt ggacggcgtg gaggtgcata atgccaagac aaagccgcgg gagggagcgt
960

acaacagcac gtaccgtgtg gtcagcgtcc tcaccgtcct gcaccaggac tggctgaatg
1020

gcaaggagta caagtgcag gtctccaaca aagcctccc agtcccatc gagaaaacca
1080

tctccaaagc caaagggcag ccccgagaac cacaggtgta caccctgccc ccatcccggy
1140

aggagatgac caagaaccag gtcagcctga cctgectggt caaaggcttc tatcccagcg
1200

acatgcctgt ggagtgggag agcaatgggc agccggagaa caactacaag accacgcctc
1260

ccgtgctgga ctccgacggc tccttcttcc tctatagca gtcaccgtg gacaagagca
1320

gggtggcagca ggggaacgtc ttctcatgct ccgtgatgca tgaggctctg cacaaccact
1380

acacgcagaa gagcctctcc ctgtccccgg gtaaatcagg aatggcatca atgacaggag
1440

gtcaacaaat ggggttctgga tctcatcatc atcatcatca ttctggaggt tgagaattc
1499

<210> 27
<211> 492
<212> PRT
<213> Humano

<400> 27

Met Pro Arg Gly Trp Ala Ala Pro Leu Leu Leu Leu Leu Leu Gln Gly
1 5 10 15

Gly Trp Gly Cys Pro Asp Leu Val Cys Tyr Thr Asp Tyr Leu Gln Thr
20 25 30

Val Ile Cys Ile Leu Glu Met Trp Asn Leu His Pro Ser Thr Leu Thr
35 40 45

Leu Thr Trp Gln Asp Gln Tyr Glu Glu Leu Lys Asp Glu Ala Thr Ser
 50 55 60
 Cys Ser Leu His Arg Ser Ala His Asn Ala Thr His Ala Thr Tyr Thr
 65 70 75 80
 Cys His Met Asp Val Phe His Phe Met Ala Asp Asp Ile Phe Ser Val
 85 90 95
 Asn Ile Thr Asp Gln Ser Gly Asn Tyr Ser Gln Glu Cys Gly Ser Phe
 100 105 110
 Leu Leu Ala Glu Ser Ile Lys Pro Ala Pro Pro Phe Asn Val Thr Val
 115 120 125
 Thr Phe Ser Gly Gln Tyr Asn Ile Ser Trp Arg Ser Asp Tyr Glu Asp
 130 135 140
 Pro Ala Phe Tyr Met Leu Lys Gly Lys Leu Gln Tyr Glu Leu Gln Tyr
 145 150 155 160
 Arg Asn Arg Gly Asp Pro Trp Ala Val Ser Pro Arg Arg Lys Leu Ile
 165 170 175
 Ser Val Asp Ser Arg Ser Val Ser Leu Leu Pro Leu Glu Phe Arg Lys
 180 185 190
 Asp Ser Ser Tyr Glu Leu Gln Val Arg Ala Gly Pro Met Pro Gly Ser
 195 200 205
 Ser Tyr Gln Gly Thr Trp Ser Glu Trp Ser Asp Pro Val Ile Phe Gln
 210 215 220
 Thr Gln Ser Glu Glu Leu Lys Glu Gly Trp Asn Gly Ser Gly Ser Arg
 225 230 235 240
 Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
 245 250 255
 Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
 260 265 270
 Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
 275 280 285
 Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
 290 295 300
 His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
 305 310 315 320
 Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
 325 330 335
 Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Val Pro Ile
 340 345 350
 Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
 355 360 365

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser
 370 375 380
 Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
 385 390 395 400
 Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
 405 410 415
 Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
 420 425 430
 Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
 435 440 445
 His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
 450 455 460
 Pro Gly Lys Ser Gly Met Ala Ser Met Thr Gly Gly Gln Gln Met Gly
 465 470 475 480
 Ser Gly Ser His His His His His His Ser Gly Gly
 485 490

<210> 28
 <211> 1426
 <212> ADN
 <213> Humano

<400> 28
 gcggccgcac caccatgccg cgtggctggg ccgccccctt gctcctgctg ctgetccagg
 60
 gaggtgggg ctgccccgac ctcgtctgct acaccgatta cctccagacg gtcattctgca
 120
 tcctggaaat gtggaacctc caccacagca cgctcaccct tacctggcaa gaccagtatg
 180
 aagagctgaa ggacgaggcc acctcctgca gctccacag gtcggccac aatgccacgc
 240
 atgccacctc cacctgccac atggatgtat tccattcat ggccgacgac attttcagt
 300
 tcaacatcac agaccagtct ggcaactact ccaggagtg tggcagcttt ctctggctg
 360
 agagcatcaa gccggctccc cttttcaacg tgactgtgac cttctcagga cagtataata
 420
 tctcctggcg ctcagattac gaagaccctg cttctacat gctgaagggc aagcttcagt
 480
 atgagctgca gtacaggaac cggggagacc cctgggctgt gactccgagg agaaagctga
 540

tctcagtggg ctcaagaagt gtctccctcc tccccctgga gttccgcaa gactcgagct
600
atgagctgca ggtgcgggca gggcccatgc ctggctcctc ctaccagggg acctggagtg
660
aatggagtga cccggtcctc ttccagacc agtcagagga gttaaaggaa ggctggaacg
720
gtcccggtc tagagacaaa actcacacat gccacccgtg cccagcacct gaagccctgg
780
gggcaccgtc agtcttcctc ttcccccaa aaccaagga caccctcatg atctcccgga
840
cccctgaggt cacatgcgtg gtggtggacg tgagccacga agaccctgag gtcaagttca
900
actggtacgt ggacggcgtg gaggtgcata atgccaagac aaagccgcgg gaggagcagt
960
acaacagcac gtaccgtgtg gtcagcgtcc tcaccgtcct gcaccaggac tggctgaatg
1020
gcaaggagta caagtgcag gtctccaaca aagccctccc agccccatc gagaanaacca
1080
tctccaaagc caaagggcag ccccgagaac cacaggtgta caccctgccc ccatcccggt
1140
aggagatgac caagaaccag gtcagcctga cctgcctggg caaaggcttc tatcccagcg
1200
acatgccgtt ggagtgggag agcaatgggc agccggagaa caactacaag accacgcctc
1260
ccgtgctgga ctccgacggc tccttcttcc tctatagcaa gtcaccgtg gacaagagca
1320
ggtggcagca ggggaacgtc ttctcatgct ccgtgatgca tgaggctctg cacaaccact
1380
acacgcagaa gagcctctcc ctgtccccgg gtaaattgag gaattc
1426

<210> 29
<211> 467
<212> PRT
<213> Humano

<400> 29

Met	Pro	Arg	Gly	Trp	Ala	Ala	Pro	Leu	Leu	Leu	Leu	Leu	Gln	Gly	
1				5				10					15		
Gly	Trp	Gly	Cys	Pro	Asp	Leu	Val	Cys	Tyr	Thr	Asp	Tyr	Leu	Gln	Thr
			20					25					30		

Val Ile Cys Ile Leu Glu Met Trp Asn Leu His Pro Ser Thr Leu Thr
 35 40 45
 Leu Thr Trp Gln Asp Gln Tyr Glu Glu Leu Lys Asp Glu Ala Thr Ser
 50 55 60
 Cys Ser Leu His Arg Ser Ala His Asn Ala Thr His Ala Thr Tyr Thr
 65 70 75 80
 Cys His Met Asp Val Phe His Phe Met Ala Asp Asp Ile Phe Ser Val
 85 90 95
 Asn Ile Thr Asp Gln Ser Gly Asn Tyr Ser Gln Glu Cys Gly Ser Phe
 100 105 110
 Leu Leu Ala Glu Ser Ile Lys Pro Ala Pro Pro Phe Asn Val Thr Val
 115 120 125
 Thr Phe Ser Gly Gln Tyr Asn Ile Ser Trp Arg Ser Asp Tyr Glu Asp
 130 135 140
 Pro Ala Phe Tyr Met Leu Lys Gly Lys Leu Gln Tyr Glu Leu Gln Tyr
 145 150 155 160
 Arg Asn Arg Gly Asp Pro Trp Ala Val Ser Pro Arg Arg Lys Leu Ile
 165 170 175
 Ser Val Asp Ser Arg Ser Val Ser Leu Leu Pro Leu Glu Phe Arg Lys
 180 185 190
 Asp Ser Ser Tyr Glu Leu Gln Val Arg Ala Gly Pro Met Pro Gly Ser
 195 200 205
 Ser Tyr Gln Gly Thr Trp Ser Glu Trp Ser Asp Pro Val Ile Phe Gln
 210 215 220
 Thr Gln Ser Glu Glu Leu Lys Glu Gly Trp Asn Gly Ser Gly Ser Arg
 225 230 235 240
 Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Leu Gly
 245 250 255
 Ala Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
 260 265 270
 Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
 275 280 285
 Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
 290 295 300
 His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
 305 310 315 320
 Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
 325 330 335
 Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
 340 345 350

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
 355 360 365
 Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser
 370 375 380
 Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
 385 390 395 400
 Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
 405 410 415
 Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
 420 425 430
 Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
 435 440 445
 His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
 450 455 460
 Pro Gly Lys
 465

<210> 30
 <211> 741
 <212> ADN
 <213> Humano

<400> 30
 atgccgcgtg gctggggccgc ccccttgcctc ctgctgctgc tccagggagg ctgggggtgc
 60
 cccgacctcg tctgctacac cgattacctc cagacgggtca tctgcatcct ggaaatgtgg
 120
 aacctccacc ccagcacgct cacccttacc tggcaagacc agtatgaaga gctgaaggac
 180
 gagggcacct cctgcagcct ccacaggctg gccacaaatg ccacgcatgc cacctacacc
 240
 tgccacatgg atgtattcca cttcatgggc gacgacattt tcagtgtcaa catcacagac
 300
 cagtctggca actactccca ggagtgtggc agctttctcc tggctgagag catcaagccg
 360
 gctccccctt tcaacgtgac tgtgacctc tcaggacagt ataatatctc ctggcgctca
 420
 gattacgaag accctgcctt ctacatgctg aagggcaagc ttcagtatga gctgcagtac
 480
 aggaaccggg gagaccctg ggctgtgagt ccgaggagaa agctgatctc agtggactca
 540

agaagtgtct cctcctccc cctggagttc cgcaaagact cgagctatga gctgcaggtg
600

cgggcagggc ccatgcctgg ctcctcctac caggggacct ggagtgaatg gactgacccg
660

gtcatctttc agaccagtc agaggagtta aaggaaggct ggaacaaac cgaacacctc
720

caggttgctc cggcataatg a
741

<210> 31
<211> 245
<212> PRT
<213> Humano

<400> 31

Met Pro Arg Gly Trp Ala Ala Pro Leu Leu Leu Leu Leu Gln Gly
1 5 10 15

Gly Trp Gly Cys Pro Asp Leu Val Cys Tyr Thr Asp Tyr Leu Gln Thr
20 25 30

Val Ile Cys Ile Leu Glu Met Trp Asn Leu His Pro Ser Thr Leu Thr
35 40 45

Leu Thr Trp Gln Asp Gln Tyr Glu Glu Leu Lys Asp Glu Ala Thr Ser
50 55 60

Cys Ser Leu His Arg Ser Ala His Asn Ala Thr His Ala Thr Tyr Thr
65 70 75 80

Cys His Met Asp Val Phe His Phe Met Ala Asp Asp Ile Phe Ser Val
85 90 95

Asn Ile Thr Asp Gln Ser Gly Asn Tyr Ser Gln Glu Cys Gly Ser Phe
100 105 110

Leu Leu Ala Glu Ser Ile Lys Pro Ala Pro Pro Phe Asn Val Thr Val
115 120 125

Thr Phe Ser Gly Gln Tyr Asn Ile Ser Trp Arg Ser Asp Tyr Glu Asp
130 135 140

Pro Ala Phe Tyr Met Leu Lys Gly Lys Leu Gln Tyr Glu Leu Gln Tyr
145 150 155 160

Arg Asn Arg Gly Asp Pro Trp Ala Val Ser Pro Arg Arg Lys Leu Ile
165 170 175

Ser Val Asp Ser Arg Ser Val Ser Leu Leu Pro Leu Glu Phe Arg Lys
180 185 190

Asp Ser Ser Tyr Glu Leu Gln Val Arg Ala Gly Pro Met Pro Gly Ser
195 200 205

Ser Tyr Gln Gly Thr Trp Ser Glu Trp Ser Asp Pro Val Ile Phe Gln
210 215 220

Thr Gln Ser Glu Glu Leu Lys Glu Gly Trp Asn Lys Thr Glu Thr Ser
225 230 235 240

Gln Val Ala Pro Ala
245

<210> 32
<211> 1413
<212> ADN
<213> Humano

<400> 32
atgccgcgtg gctgggcccgc ccccttgctc ctgctgctgc tccagggagg ctggggctgc
60

cccgacctcg tctgctacac cgattacctc cagacgggtca tctgcatcct ggaaatgtgg
120

aacctccacc ccagcacgct cacccttacc tggcaagacc agtatgaaga gctgaaggac
180

gaggccacct cctgcagcct ccacaggtcg gccacaaatg ccacgcatgc cacctacacc
240

tgccacatgg atgtattcca ctctatggcc gaagacattt tcagtgtcaa catcacagac
300

cagtctggca actactccca ggagtgtggc agctttctcc tggctgagag catcaagccg
360

gctccccctt tcaacgtgac tgtgaccttc tcaggacagt ataatatctc ctggcgctca
420

gattacgaag accctgcctt ctacatgctg aagggaagc ttcagtatga gctgcagtac
480

aggaaccggg gagacccctg ggctgtgagt ccgaggagaa agctgatctc agtggactca
540

agaagtgtct cctcctccc cctggagttc cgcaaagact cgagctatga gctgcagggtg
600

cgggcagggc ccatgcctgg ctctcctac caggggacct ggagtgaatg gagtgaacctg
660

gtcatctttc agaccagtc agaggagtta aagggaaggct ggaacgatga cgatgacaag
720

ggctccggcg acaaaactca cacatgcca ccgtgcccag cacctgaagc cctgggggca
780

ccgtcagttc tcctcttccc ccaaaaaccc aaggacaccc tcatgatctc ccggacctct
840

gaggtcacat gcgtgggtgt ggacgtgagc cacgaagacc ctgaggtcaa gttcaactgg

900

tacgtggacg gcgtggaggt gcataatgcc aagacaaagc cgcgggagga gcagtacaac
960

agcacgtacc gtgtggtcag cgtcctcacc gtcctgcacc aggactggct gaatggcaag
1020

gagtacaagt gcaaggcttc caacaaagcc ctcccagccc ccatcgagaa aaccactctc
1080

aaagccaaag ggcagccccg agaaccacag gtgtacaccc tgcccccatc ccgggaggag
1140

atgaccaaga accaggctcag cctgacctgc ctgggtcaaag gcttctatcc cagcgacatc
1200

gccgtggagt gggagagcaa tgggcagccg gagaacaact acaagaccac gcctcccgtg
1260

ctggactccg acggctcctt ctctctctat agcaagctca ccgtggacaa gagcagggtg
1320

cagcagggga acgtcttctc atgctccgtg atgcatgagg ctctgcacaa ccactacacg
1380

cagaagagcc tctccctgtc cccgggtaaa tga
1413

<210> 33
<211> 470
<212> PRT
<213> Humano

<400> 33

Met Pro Arg Gly Trp Ala Ala Pro Leu Leu Leu Leu Leu Leu Gln Gly
1 5 10 15

Gly Trp Gly Cys Pro Asp Leu Val Cys Tyr Thr Asp Tyr Leu Gln Thr
20 25 30

Val Ile Cys Ile Leu Glu Met Trp Asn Leu His Pro Ser Thr Leu Thr
35 40 45

Leu Thr Trp Gln Asp Gln Tyr Glu Glu Leu Lys Asp Glu Ala Thr Ser
50 55 60

Cys Ser Leu His Arg Ser Ala His Asn Ala Thr His Ala Thr Tyr Thr
65 70 75 80

Cys His Met Asp Val Phe His Phe Met Ala Asp Asp Ile Phe Ser Val
85 90 95

Asn Ile Thr Asp Gln Ser Gly Asn Tyr Ser Gln Glu Cys Gly Ser Phe
100 105 110

Leu Leu Ala Glu Ser Ile Lys Pro Ala Pro Pro Phe Asn Val Thr Val

115					120					125					
Thr	Phe	Ser	Gly	Gln	Tyr	Asn	Ile	Ser	Trp	Arg	Ser	Asp	Tyr	Glu	Asp
130						135					140				
Pro	Ala	Phe	Tyr	Met	Leu	Lys	Gly	Lys	Leu	Gln	Tyr	Glu	Leu	Gln	Tyr
145					150					155					160
Arg	Asn	Arg	Gly	Asp	Pro	Trp	Ala	Val	Ser	Pro	Arg	Arg	Lys	Leu	Ile
				165					170					175	
Ser	Val	Asp	Ser	Arg	Ser	Val	Ser	Leu	Leu	Pro	Leu	Glu	Phe	Arg	Lys
				180				185					190		
Asp	Ser	Ser	Tyr	Glu	Leu	Gln	Val	Arg	Ala	Gly	Pro	Met	Pro	Gly	Ser
				195			200					205			
Ser	Tyr	Gln	Gly	Thr	Trp	Ser	Glu	Trp	Ser	Asp	Pro	Val	Ile	Phe	Gln
				210			215				220				
Thr	Gln	Ser	Glu	Glu	Leu	Lys	Glu	Gly	Trp	Asn	Asp	Asp	Asp	Asp	Lys
225					230					235					240
Gly	Ser	Gly	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu
				245					250					255	
Ala	Leu	Gly	Ala	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp
				260				265					270		
Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp
				275			280					285			
Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly
				290			295				300				
Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn
305				310					315					320	
Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp
				325				330					335		
Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro
				340				345					350		
Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu
				355			360					365			
Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Glu	Glu	Met	Thr	Lys	Asn
				370			375				380				
Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile
385				390					395					400	
Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr
				405				410					415		
Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys
				420				425					430		

357
no 257

Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys
435 440 445

Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
450 455 460

Ser Leu Ser Pro Gly Lys
465 470

<210> 34
<211> 1754
<212> ADN
<213> Ratón

<400> 34
atgccccggg gccagtggc tgccttactc ctgctgattc tccatggagc ttggagctgc
60

ctggacctca cttgctacac tgactacctc tggaccatca cctgtgtcct ggagacacgg
120

agccccaacc ccagcatact cagtctcacc tggcaagatg aatatgagga acttcaggac
180

caagagacct tctgcagcct acacaggtct ggccacaaca ccacacatat atggtacacg
240

tgccatatgc gcttgtctca attcctgtcc gatgaagttt tcattgtcaa tgtgacggac
300

cagtctggca acaactccca agagtgtggc agctttgtcc tggctgagag catcaaacca
360

gtccccccct tgaacgtgac tgtggccttc tcaggacgct atgatatctc ctgggactca
420

gcttatgacg aaccctccaa ctacgtgctg aggggcaagc tacaatatga gctgcagtat
480

cggaacctca gagaccccta tgcctgtgagg ccggtgacca agctgatctc agtggactca
540

agaaacgtct ctcttctccc tgaagagttc cacaaagatt ctagctacca gctgcaggtg
600

cgggcagcgc ctcagccagg cacttcattc agggggacct ggagtgagtg gagtgaćccc
660

gtcatctttc agaccaggc tggggagccc gaggcaggct gggacggctc cggctctaga
720

gagccccgcg gaccgacaat caagccctgt cctccatgca aatgcccagg taagtacta
780

gaccagagct ccactcccgg gagaatggta agtgctataa acatccctgc actagaggat
840

aagccatgta cagatccatt tccatctctc ctcatcagca cctaacctcg agggtggaac

900

atccgtcttc atcttccttc caaagatcaa ggatgtactc atgatctccc tgagcccat
960

agtcacatgt gtggtggtgg atgtgagcga ggatgaccca gatgtccaga tcagctggtt
1020

tgtgaacaac gtggaagtac acacagctca gacacaaacc catagagagg attacaacag
1080

tactctcgg gtggtcagtg ccctcccat ccagcaccag gactggatga gtggcaaggc
1140

tttcgcatgc gccgtcaaca acaagacct cccagcgccc atcgagagaa ccatctcaa
1200

acccaaagggt gagagctgca gcctgactgc atgggggctg ggatgggcat aaggataaag
1260

gtctgtgtgg acagccttct gcttcagcca tgacctttgt gtatgtttct accctcacag
1320

ggtcagtaag agctccacag gtatatgtct tgcctccacc agaagaagag atgactaaga
1380

aacaggtcac tctgacctgc atggtcacag acttcatgcc tgaagacatt tacgtggagt
1440

ggaccaacaa cgggaaaaca gagctaaact acaagaacac tgaaccagtc ctggactctg
1500

atggttctta cttcatgtac agcaagctga gagtggaaaa gaagaactgg gtggaaagaa
1560

atagctactc ctgttcagtg gtccacgagg gtctgcacaa tcaccacacg actaagagct
1620

tctcccgga cccgggtaaa tgagctcagc acccacaaaa ctctcaggtc caaagagaca
1680

cccacactca tctccatgct tcccttgat aaataaagca cccagcaatg cctgggacca
1740

tgtaatagga attc
1754

<210> 35
<211> 240
<212> PRT
<213> Ratón

<400> 35

Met Pro Arg Gly Pro Val Ala Ala Leu Leu Leu Leu Ile Leu His Gly
1 5 10 15

Ala Trp Ser Cys Leu Asp Leu Thr Cys Tyr Thr Asp Tyr Leu Trp Thr

20										25					30				
Ile	Thr	Cys	Val	Leu	Glu	Thr	Arg	Ser	Pro	Asn	Pro	Ser	Ile	Leu	Ser				
		35					40					45							
Leu	Thr	Trp	Gln	Asp	Glu	Tyr	Glu	Glu	Leu	Gln	Asp	Gln	Glu	Thr	Phe				
		50				55					60								
Cys	Ser	Leu	His	Arg	Ser	Gly	His	Asn	Thr	Thr	His	Ile	Trp	Tyr	Thr				
		65			70				75					80					
Cys	His	Met	Arg	Leu	Ser	Gln	Phe	Leu	Ser	Asp	Glu	Val	Phe	Ile	Val				
				85					90					95					
Asn	Val	Thr	Asp	Gln	Ser	Gly	Asn	Asn	Ser	Gln	Glu	Cys	Gly	Ser	Phe				
			100				105						110						
Val	Leu	Ala	Glu	Ser	Ile	Lys	Pro	Ala	Pro	Pro	Leu	Asn	Val	Thr	Val				
		115					120					125							
Ala	Phe	Ser	Gly	Arg	Tyr	Asp	Ile	Ser	Trp	Asp	Ser	Ala	Tyr	Asp	Glu				
		130				135					140								
Pro	Ser	Asn	Tyr	Val	Leu	Arg	Gly	Lys	Leu	Gln	Tyr	Glu	Leu	Gln	Tyr				
		145			150				155					160					
Arg	Asn	Leu	Arg	Asp	Pro	Tyr	Ala	Val	Arg	Pro	Val	Thr	Lys	Leu	Ile				
			165						170					175					
Ser	Val	Asp	Ser	Arg	Asn	Val	Ser	Leu	Leu	Pro	Glu	Glu	Phe	His	Lys				
		180					185						190						
Asp	Ser	Ser	Tyr	Gln	Leu	Gln	Val	Arg	Ala	Ala	Pro	Gln	Pro	Gly	Thr				
		195					200					205							
Ser	Phe	Arg	Gly	Thr	Trp	Ser	Glu	Trp	Ser	Asp	Pro	Val	Ile	Phe	Gln				
		210				215					220								
Thr	Gln	Ala	Gly	Glu	Pro	Glu	Ala	Gly	Trp	Asp	Gly	Ser	Gly	Ser	Arg				
		225			230				235					240					

<210> 36
 <211> 795
 <212> ADN
 <213> Ratón

<400> 36
 ctgcaggtcg acaccaccat gccccggggc ccagtggtcg ccttactcct gctgattctc
 60
 catggagctt ggagctgcct ggacctcact tgctacactg actacctctg gaccatcacc
 120
 tgtgtccttg agacacggag ccccaacccc agcatactca gtctcacctg gcaagatgaa
 180
 tatgaggaac ttcaggacca agagacottc tgcagcctac acaggtcttg ccacaacacc
 240

acacatatat ggtacacgtg ccatatgcgc ttgtctcaat tctgtccga tgaagttttc
300

attgtcaatg tgacggacca gtctggcaac aactcccaag agtgtggcag ctttgtcctg
360

gctgagagca tcaaaccagc tcccccttg aacgtgactg tggccttctc aggacgctat
420

gatatctcct gggactcagc ttatgacga cctccaact acgtgctgag gggcaagcta
480

caatatgagc tgcagtatcg gaacctcaga gaccctatg ctgtgaggcc ggtgaccaag
540

ctgatctcag tggactcaag aaacgtctct cttctccctg aagagttcca caaagattct
600

agctaccagc tgcaggtgcg ggcagcgct cagccaggca cttcattcag ggggaacctgg
660

agtgagtgga gtgaccccggt catctttcag acccaggctg gggagcccga ggcaggctgg
720

gacggcagcg gacaccacca tcatcaccac ggtagcggcg actataaaga cgatgacgat
780

aagtagtgag aattc
795

<210> 37
<211> 255
<212> PRT
<213> Ratón

<400> 37

Met Pro Arg Gly Pro Val Ala Ala Leu Leu Leu Leu Ile Leu His Gly
1 5 10 15

Ala Trp Ser Cys Leu Asp Leu Thr Cys Tyr Thr Asp Tyr Leu Trp Thr
20 25 30

Ile Thr Cys Val Leu Glu Thr Arg Ser Pro Asn Pro Ser Ile Leu Ser
35 40 45

Leu Thr Trp Gln Asp Glu Tyr Glu Glu Leu Gln Asp Gln Glu Thr Phe
50 55 60

Cys Ser Leu His Arg Ser Gly His Asn Thr Thr His Ile Trp Tyr Thr
65 70 75 80

Cys His Met Arg Leu Ser Gln Phe Leu Ser Asp Glu Val Phe Ile Val
85 90 95

Asn Val Thr Asp Gln Ser Gly Asn Asn Ser Gln Glu Cys Gly Ser Phe
100 105 110

Val Leu Ala Glu Ser Ile Lys Pro Ala Pro Pro Leu Asn Val Thr Val
 115 120 125
 Ala Phe Ser Gly Arg Tyr Asp Ile Ser Trp Asp Ser Ala Tyr Asp Glu
 130 135 140
 Pro Ser Asn Tyr Val Leu Arg Gly Lys Leu Gln Tyr Glu Leu Gln Tyr
 145 150 155 160
 Arg Asn Leu Arg Asp Pro Tyr Ala Val Arg Pro Val Thr Lys Leu Ile
 165 170 175
 Ser Val Asp Ser Arg Asn Val Ser Leu Leu Pro Glu Glu Phe His Lys
 180 185 190
 Asp Ser Ser Tyr Gln Leu Gln Val Arg Ala Ala Pro Gln Pro Gly Thr
 195 200 205
 Ser Phe Arg Gly Thr Trp Ser Glu Trp Ser Asp Pro Val Ile Phe Gln
 210 215 220
 Thr Gln Ala Gly Glu Pro Glu Ala Gly Trp Asp Gly Ser Gly His His
 225 230 235 240
 His His His His Gly Ser Gly Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys
 245 250 255

<210> 38
 <211> 792
 <212> ADN
 <213> Ratón

<400> 38
 atgaaattct tagtcaacgt tgcccttggt tttatgggtcg tgtacatttc ttacatctat
 60
 gccggcagcg gacaccacca tcatcaccac ggtagcggcg actataaaga cgatgaogat
 120
 aagggttccg gatgcctgga cctcaattgc tacactgact acctctggac catcacctgt
 180
 gtcctggaga cacggagccc caaccccagc atactcagtc tcacctggca agatgaatat
 240
 gaggaacttc aggaccaaga gaccttctgc agcotacaca ggtctggcca caacaccaca
 300
 catatatggt acacgtgcc aatgcgcttg tctcaattcc tgtccgatga agttttcatt
 360
 gtcaatgtga cggaccagtc tggcaacaac tcccaagagt gtggcagctt tgccttggt
 420
 gagagcatca aaccagctcc ccccttgaac gtgactgtgg ccttctcagg acgctatgat
 480

atctcctggg actcagctta tgacgaaccc tccaactacg tgctgagggg caagctacaa
540

tatgagctgc agtatcggaa cctcagagac ccctatgctg tgaggccggt gaccaagctg
600

atctcagtggt actcaagaaa cgtctctctt ctccctgaag agttccacaa agattctagc
660

taccagctgc aggtgcgggc agcgcctcag ccaggcactt cattcagggg gacctggagt
720

gagtggagtg accccgtcat ctttcagacc caggctgggg agcccgaggc aggctgggac
780

tagtgagaat tc
792

<210> 39
<211> 260
<212> PRT
<213> Ratón

<400> 39

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

Gly Lys Leu Gln Tyr Glu Leu Gln Tyr Arg Asn Leu Arg Asp Pro Tyr
180 185 190

Ala Val Arg Pro Val Thr Lys Leu Ile Ser Val Asp Ser Arg Asn Val
195 200 205

Ser Leu Leu Pro Glu Glu Phe His Lys Asp Ser Ser Tyr Gln Leu Gln
210 215 220

Val Arg Ala Ala Pro Gln Pro Gly Thr Ser Phe Arg Gly Thr Trp Ser
225 230 235 240

Glu Trp Ser Asp Pro Val Ile Phe Gln Thr Gln Ala Gly Glu Pro Glu
245 250 255

Ala Gly Trp Asp
260

REIVINDICACIONES:

1. Un método para tratar, mejorar o prevenir un trastorno autoinmune o inflamatorio en un sujeto mamífero, que comprende administrar al sujeto un antagonista de IL-21/IL-21R seleccionado del grupo que consiste en un anticuerpo anti-IL-21R, un anticuerpo anti-IL-21, una porción de unión a antígeno de un anticuerpo anti-IL-21R, una porción de unión a antígeno de un anticuerpo anti-IL-21 y un fragmento soluble de IL-21R, en una cantidad suficiente para tratar, mejorar o prevenir el trastorno.
2. Un método para tratar, mejorar o prevenir un trastorno seleccionado del grupo que consiste en un trastorno artrítico, un trastorno atópico, un trastorno respiratorio, un trastorno inflamatorio cutáneo, un trastorno inflamatorio intestinal, un trastorno fibrótico, lupus eritematoso sistémico, rechazo de trasplantes/injertos y un trastorno asociado con el rechazo de trasplantes/injertos, en un sujeto mamífero, que comprende administrar al sujeto un antagonista de IL-21/IL-21R seleccionado del grupo que consiste en un anticuerpo anti-IL-21R, un anticuerpo anti-IL-21, una porción de unión a antígeno de un anticuerpo anti-IL-21R, una porción de unión a antígeno de un anticuerpo anti-IL-21 y un fragmento soluble de IL-21R, en una cantidad suficiente para tratar, mejorar o prevenir el trastorno.
3. El método de la reivindicación 2, donde el anticuerpo anti-IL-21R es capaz de unirse a un IL-21R compuesto por una secuencia de aminoácidos al menos 90% idéntica a la secuencia detallada en SEQ ID N° 2, y donde el IL-21R es capaz de unirse a un IL-21.

4. El método de la reivindicación 3, donde el trastorno artrítico se selecciona del grupo que consiste en artritis reumatoide, artritis reumatoide juvenil, osteoartritis, artritis psoriática y espondilitis anquilosante.
5. El método de la reivindicación 4, donde el trastorno artrítico es artritis reumatoide.
6. El método de la reivindicación 3, donde el trastorno respiratorio es asma o enfermedad obstructiva pulmonar crónica.
7. El método de la reivindicación 3, donde el trastorno fibrótico se selecciona del grupo que consiste en fibrosis de un órgano interno, un trastorno fibrótico dérmico, una condición fibrótica ocular, esclerosis sistémica, polimiositis, dermatomiositis, fascitis eosinofílica, síndrome de Raynaud, glomerulonefritis y poliposis nasal.
8. El método de la reivindicación 3, donde el trastorno inflamatorio intestinal se selecciona del grupo que consiste en enfermedad intestinal inflamatoria, colitis ulcerativa y enfermedad de Crohn.
9. El método de la reivindicación 3, donde el trastorno inflamatorio cutáneo es psoriasis.
10. El método de la reivindicación 3, donde el trastorno atópico se selecciona del grupo que consiste en asma alérgico, dermatitis atópica, urticaria, eccema, rinitis alérgica y enterogastritis alérgica.
11. El método de la reivindicación 10, donde el trastorno atópico es asma alérgico.
12. El método de la reivindicación 3, donde el trastorno asociado con el rechazo de trasplantes/injertos es la enfermedad del injerto versus el huésped.

13. El método de la reivindicación 3, donde el trastorno es rechazo de trasplantes/injertos.
14. El método de la reivindicación 3, donde el trastorno es lupus-eritematoso sistémico.
15. El método de la reivindicación 2, donde el sujeto mamífero es un ser humano.
16. El método de la reivindicación 2, donde el fragmento soluble de IL-21R está compuesto por un dominio extracelular de IL-21R y un fragmento de inmunoglobulina Fc.
17. El método de la reivindicación 16, donde el dominio extracelular de IL-21R comprende aproximadamente los aminoácidos 1-235 de SEQ ID N° 2.
18. El método de la reivindicación 2, donde el fragmento soluble de IL-21R está compuesto por una secuencia de aminoácidos al menos 90% idéntica a la secuencia detallada en SEQ ID N° 29.
19. El método de la reivindicación 2, donde el antagonista de IL-21/IL-21R es un anticuerpo anti-IL-21R, o una porción de unión a antígeno de éste.
20. El método de la reivindicación 2, donde el antagonista de IL-21/IL-21R es un anticuerpo anti-IL-21, o una porción de unión a antígeno de éste.
21. Una proteína de fusión que está compuesta por un dominio extracelular de un IL-21R y un fragmento de Inmunoglobulina Fc, donde el IL-21R tiene una secuencia de aminoácidos al menos 90% idéntica a la secuencia detallada en SEQ ID N° 2, y donde la proteína de fusión es capaz de unirse a IL-21.
22. La proteína de fusión de la reivindicación 21, que está compuesta por una secuencia de aminoácidos al menos 90% idéntica a la secuencia detallada en SEQ ID N° 29.

23. Un vector que tiene una secuencia de nucleótidos que codifica la proteína de fusión de la reivindicación 21.
24. Una célula huésped recombinante que comprende el vector de la reivindicación 23.
25. Un método para producir una proteína de fusión que comprende:
- (a) cultivar la célula huésped recombinante de la reivindicación 24 bajo condiciones que permiten la expresión de la proteína de fusión; y
 - (b) recuperar la proteína de fusión.
26. Una composición farmacéutica que comprende un antagonista de IL-21/IL-21R y un vehículo aceptable para el uso farmacéutico.
27. La composición farmacéutica de la reivindicación 26, donde el antagonista de IL-21/IL-21R se selecciona del grupo que consiste en un anticuerpo anti-IL-21R, un anticuerpo anti-IL-21, una porción de unión a antígeno de un anticuerpo anti-IL-21R, una porción de unión a antígeno de un anticuerpo anti-IL-21 y un fragmento soluble de IL-21R.
28. La composición farmacéutica de la reivindicación 27, donde el fragmento soluble de IL-21R está compuesto por un dominio extracelular de un IL-21R y un fragmento de inmunoglobulina Fc.
29. Un método para transplantar/injertar un órgano, un tejido, una célula o un grupo de células a un sujeto mamífero, que comprende los pasos de:
- (a) administrar al sujeto un antagonista de IL-21/IL-21R seleccionado del grupo que consiste en un anticuerpo anti-IL-21R, un anticuerpo anti-IL-21, una porción de unión a antígeno de un anticuerpo anti-IL-21R, una porción de unión a antígeno de un anticuerpo anti-IL-21 y un fragmento soluble de IL-21R, en

una cantidad suficiente para reducir el riesgo de rechazo de trasplantes/injertos; y

(b) transplantar/injertar un órgano, un tejido, una célula o un grupo de células al sujeto,

donde el paso de trasplante/injerto (b) ocurre antes, durante o después del paso de administración (a).

30. El método de la reivindicación 29, donde el órgano, el tejido, la célula o el grupo de células transplantadas/injertadas se selecciona del grupo que consiste en corazón, riñón, hígado, pulmón, páncreas, médula ósea, cartilago, córnea, tejido neuronal y células de éstos.

31. Un método para tratar, prevenir o mejorar el rechazo de trasplantes/injertos en un mamífero receptor de un trasplante/injerto, que comprende:

(a) detectar un síntoma de rechazo de trasplantes/injertos en un receptor de trasplantes/injertos; y

(b) administrar al receptor de trasplantes/injertos un antagonista de IL-21/IL-21R seleccionado del grupo que consiste en un anticuerpo anti-IL-21R, un anticuerpo anti-IL-21, una porción de unión a antígeno de un anticuerpo anti-IL-21R, una porción de unión a antígeno de un anticuerpo anti-IL-21 y un fragmento soluble de IL-21R.

32. El método de la reivindicación 31, donde el síntoma del rechazo de trasplantes/injertos se selecciona del grupo que consiste en inflamación, función reducida de los órganos, señales de rechazo en biopsia y fibrosis.

ANTAGONISMO DE LA ACTIVIDAD DEL RECEPTOR DE INTERLEUQUINA**21****RESUMEN**

Se describen métodos y composiciones para inhibir la actividad de la interleuquina-21 (IL-21)/el receptor de IL-21 (MU-1) usando antagonistas de IL-21 o del receptor IL-21 ("IL-21R" o "MU-1"). Los antagonistas de IL-21/IL-21R pueden usarse para inducir la supresión inmune *in vivo*, por ejemplo, para tratar, mejorar o prevenir los trastornos autoinmunes o inflamatorios, incluyendo, por ejemplo, la enfermedad Intestinal Inflamatoria (IBD), la artritis reumatoide (RA), el rechazo de trasplantes/injertos, la psoriasis, el asma, la fibrosis y el lupus eritematoso sistémico (SLE).

FIG.1

1 GTGACCGCG CGTAGCAGC TGTCTGCEA CTCTCCCTGT GGTGTGCTE
 51 ACGGTCACTT GCTTGTCTGA CCGCAAGTCT GCCCATCCCT GGGGACGCA
 101 ACTGGCTCA GCCCGTGCC CAGGCGTGCC CTGTCTCTGT CTGGTGGCC
 151 CAGCCCTACT GTCTTCTCT GTGTAGCTC TCCCGAGATG CCGGCTGGT
 201 CCTCAGCTC AGGACTATCT CAGCACTGAC TCCCTGATT CTGACTTGC
 251 ACTGAGTGA ACTCTGCCC ACCTCAACC TTACTCTCC ACACACCA
 301 CTCCTAGTCC CGCTGTGACT CCAAGGCGCA GAGACCAAC CAGTGGCCC
 351 AGCTAAGGA ATGGCTTCT GAGAAAGACC CTGAAGGAGT AGGTCTGGG
 401 CACAGCATGC CCGGGGGCC AGTGGCTGCC TTACTCTGC TGAATCTCA
 451 TGGAGCTTG AGTGGCTGC ACCTCACTG CTACACTGAC TACCTCTGA
 501 CCACTACCTG TGTCTGAG ACACGAGCC CCAACCCAG CATACTAGT
 551 CTACCTGAC AGATGATA TGAAGACTT CAGGACCAAG AGACTTCTG
 601 CAGCTACAC AGTCTGCCC ACAACACAC ACATATATG TACAGTGCC
 651 ATATGCGCT GTCTCAATC CTGTCCGATG AGTTTTCAT TGTCAATGT
 701 ACGGACCAAT CTGCAACAA CTCCCAAGAG TGTGAGCT TTCTCTGC
 751 TGAAGCATC AACCACTC CCCCCTTGA CGTACTGTG GCTTCTCAG
 801 GAGCTATGA TATCTCTG GACTAGCTT ATGCGAAC CTCCACTAC
 851 GTCTGAGCG GCAAGCTACA ATATGAGCTG CAGTATGGA ACTCAGAG
 901 CCCCATGCT GTGAGGCGG TGAACAACT GATCTAGTG GACTCAGAA
 951 ACGTCTCTT TCTCCCTGA GATTCACA AAGTCTTAG CTACAGCTG
 1001 CAGTGGCG CAGGCTCA GCGAGCACT TCATTAGGG GAGCTGAG
 1051 TGAATGAGT GAGCCGCTA TCTTTCAG CAGGCTGG GAGCCGAG
 1101 CAGCTGGA CCTCAGAT CTGCTGCTC TGGTGTCTT GATCATTGT
 1151 CTGTTTTCA TGGTCTGA GATCAGCTG CTTGGAGGC TATGGAAA
 1201 GATATGGCA CAGTGCCCA CCCCAGAG TTTCTTCCAG CCCCCTACA
 1251 GGGAGCACAG CCGAAGCTT AAGAAATGG TTAATACCC TTTCAGGCC
 1301 TCCAGCATAG AGTTGCTGC ACAGAGTCC ACACACAT CAGCTTACA
 1351 TCTGTATTG TATCAGCCA AGGAGAGAA GTTCCCGGG CTGCGGGTC
 1401 TGGAGAGCA ACTGGAGTG CATGGAATG CTGAGCTG TCACTGCTC

FIG.1(continuación)

1451 ATAAATCCCT TGCAGCTCG CCAGCGGTG TCAGCCTACA GTGAGAGAG
1501 AGACCGGCCA TATGCTCTCG TGTCCATGA CACAGTACT GTGCGCATG
1551 CAGAGCGGCT GTGCTCTCG CCTGTACT GTAGAGTGA TGGCTATCA
1601 GGCATGACC TGAATCTCG CCGAGTCT GCGCTAAT CAGAGATCT
1651 GCTCTGCTC ACAGACCTG CTTTCTCTC TTGCGCTGT GTCTCAGTA
1701 GTGCTCTAG GCTTGGAGC TCCCAAGCA GCTACTGA CAGGTTGAG
1751 CTGTATTG CAGAGAGAG GACTGACA GAGAGCCAA CTTGAGAG
1801 TGGTCCCCA GAGCGGCT CTGAGTGA AGCAGTTC CCCCCTGCT
1851 TGAATGGA CACATTGAG AGTGGCTTG CAGGTTGAG CTGTGAGC
1901 CCGTGGAGA CTGATGAG AGCCCTGGA AGCTATCTC GCGAGTGGT
1951 GGTCAAGAC CTTCACTG TGAAGTGG AGCCAGAGC AGCTAGATA
2001 TAAATACCA CTATAGTGA AAGAGCTC TGAAGCTGC ATTGAGT
2051 TGAATGTA GGGTGTGT TGTGTGTG TGTGTGTG TGTGTGTG
2101 TGTGTGTG TGTGTGTG TGTGTGTG TGTGTGTG CACATCATG
2151 TGGGATTG GTCTGTTCT ATGATTGA ATGCTAAT CTCTACCAA
2201 AGTTCTAGC CTAGAGTGA ATTCTATG TTACAACTT GTGTGTAA
2251 CCTGTGCT TAAATTAA CATTGTTA AATAAATG GTGCAACA
2301 ATTACTGAG GATTAGAG TAGGGGCT TTGATTAC TTTTGGAG
2351 TGAAGAGCA GAGAGAGAG ACCAGAGCA GAGAGAGCA GAGAGAGCA
2401 GAGAGAGCA GAGAGAGCA GAGAGAGCA GAGAGAGCA GAGAGAGCA
2451 GGTGCGCT AGGAGAGAG GACTAGAG CTGTGCGAG GAGAGAGC
2501 AAGTATCTG GGTACTG TGAAGAGT GCTAGAGC CAGTTAGAG
2551 AGTAGATTAG GGTGAGCT CAGTATTGT CAGAGCAAT TAAATACCA
2601 AAAAAAAAA AAGAGAGAG GCTCTAGA

FIG.2A

1 HPRGPVAALL ELLEKEMWBC LDTCTOYL HTTQVLETR SPNPSILSLT
 51 HQDEYEELQD QETTCSLNKS GNTTHIHIT CDRLSQFLS DEVTIVNVTQ
 101 QSGHNSQECG SFVLACSINP APPQNTVAF SGHTDISNQS ATQEPNHYL
 151 RGNLOTELOY RHLRDPYAVR FVTKLISVDS RHWSLPEEF RNDSTOLQV
 201 RAAPOFGTST RGTWSEWSDP VITOTONGEP EAGNDPHELL LAVALIIVLV
 251 FHEKIRLPM RLAQNTMAFP PTTSTFPQPL TRKSGNFKK WWTPTTASS
 301 IELVQSSTT TRALRLSLP NEKIFPGLP GLEDOLECOG HSEFGNCL
 351 PLANGQVSA YSEEDRPYS LYSTDTVTG DAGELCYVPC SCIDGGYPM
 401 NLDAGRESGP HSEDLIVTD PAFLECCVYS GSELRLOGSP GSLDRLALS
 451 FAKEGWTAQ PTNRIGSPGC GSESEAGSP GLDHPTDSG FAGSOGSPV
 501 ETDEGPPRSY LAQNVVTFP PVDGCAQSE

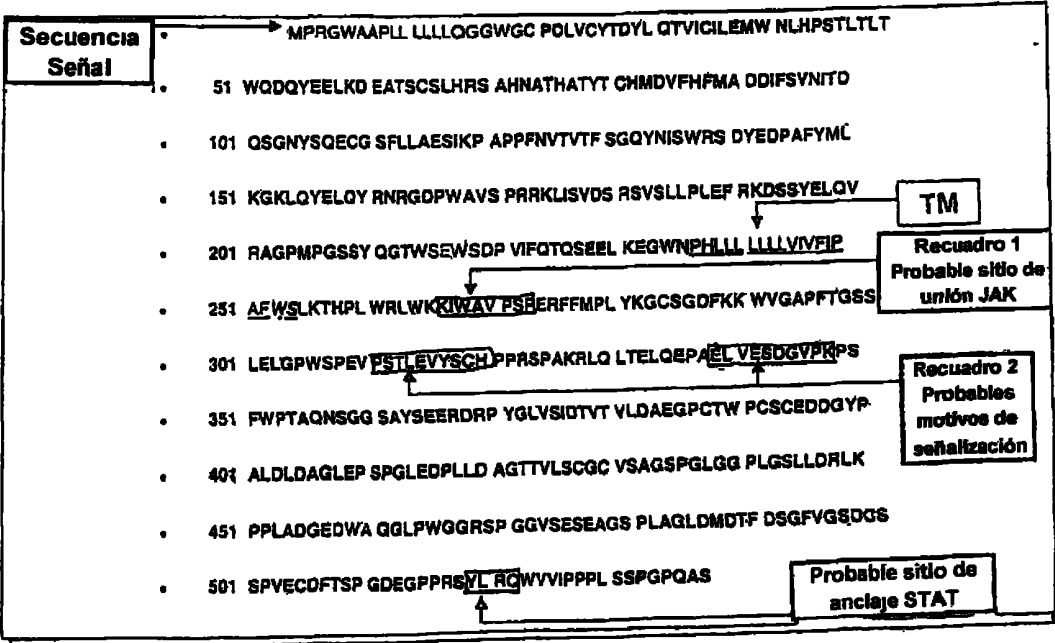


Figura 2B

10243

FIG.3 (continuación)

hu1MU-1 11111111 11111 11 11111 111111 1111 11 1111
 CTCAGGAAAGCTCTCTCTCTCTCCCTGAGAGTTCACAAAGATTCTAGCT 992
 hu1MU-1 ATGAGCTGAGGTGCGGCGAGGCGCCATGCGCTGCTCTCTCTACCAAGGG 073
 111111111111111111 111 111 111 11 11 1111
 mo1MU-1 ACCAGCTGAGGTGCGGCGAGGCGCCATGCGCTGCTCTCTACCAAGGG 1042
 hu1MU-1 ACCTGAGTGAATGAGTGAATGAGTGAATGAGTGAATGAGTGAATGAGTGAAT 373
 1111111111 1111111111 1111111111111111 11 11 111
 mo1MU-1 ACCTGAGTGAATGAGTGAATGAGTGAATGAGTGAATGAGTGAATGAGTGAAT 1092
 hu1MU-1 GTTAAGGAGAGGCTGAGAGGCTGAGAGGCTGAGAGGCTGAGAGGCTGAGAGGCT 973
 1111111111 11111111 11111111 1111 11 11111 1111
 mo1MU-1 GCGGAGGAGAGGCTGAGAGGCTGAGAGGCTGAGAGGCTGAGAGGCTGAGAGGCT 1130
 hu1MU-1 TATCTTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCT 1073
 11111111 11111111 11111111 11111111 1111 11111111
 mo1MU-1 TATCTTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCT 1109
 hu1MU-1 CTATGAGAGAGATATGAG...CCCTCCCTCCCTCCCTCCCTCCCTCCCTCCCT 1070
 11111111 1111111111 11111111 11111111 11111111 11111111
 mo1MU-1 CTATGAGAGAGATATGAG...CCCTCCCTCCCTCCCTCCCTCCCTCCCTCCCT 1229
 hu1MU-1 GCGGCTGAGAGGCTGAGAGGCTGAGAGGCTGAGAGGCTGAGAGGCTGAGAGGCT 1220
 1111111111 11111111 11111111 1111111111111111 11111111
 mo1MU-1 GCGGCTGAGAGGCTGAGAGGCTGAGAGGCTGAGAGGCTGAGAGGCTGAGAGGCT 1209
 hu1MU-1 CCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCT 1170
 11111111 11111111 11111111 11111111 11111111 11111111
 mo1MU-1 CCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCT 1130
 hu1MU-1 TCCAGGCTGAGAGGCTGAGAGGCTGAGAGGCTGAGAGGCTGAGAGGCTGAGAGGCT 1220
 11111111 11111111 11111111 11111111 11111111 11111111
 mo1MU-1 TCCAGGCTGAGAGGCTGAGAGGCTGAGAGGCTGAGAGGCTGAGAGGCTGAGAGGCT 1274
 hu1MU-1 GCTGAGGCTGAGAGGCTGAGAGGCTGAGAGGCTGAGAGGCTGAGAGGCTGAGAGGCT 1270
 11111111 11111111 11111111 11111111 11111111 11111111
 mo1MU-1 GAGAGAGGCTGAGAGGCTGAGAGGCTGAGAGGCTGAGAGGCTGAGAGGCTGAGAGGCT 1024
 hu1MU-1 GTGTGAGAGGCTGAGAGGCTGAGAGGCTGAGAGGCTGAGAGGCTGAGAGGCTGAGAGGCT 1332
 11111111 11111111 11111111 11111111 11111111 11111111
 mo1MU-1 GAGTGTGAGAGGCTGAGAGGCTGAGAGGCTGAGAGGCTGAGAGGCTGAGAGGCTGAGAGGCT 1474
 hu1MU-1 GCGGCTGAGAGGCTGAGAGGCTGAGAGGCTGAGAGGCTGAGAGGCTGAGAGGCTGAGAGGCT 1362
 11111111 11111111 11111111 11111111 11111111 11111111
 mo1MU-1 GCGGCTGAGAGGCTGAGAGGCTGAGAGGCTGAGAGGCTGAGAGGCTGAGAGGCTGAGAGGCT 1424
 hu1MU-1 CATTGAGAGGCTGAGAGGCTGAGAGGCTGAGAGGCTGAGAGGCTGAGAGGCTGAGAGGCT 1422
 11111111111111111111 111111111111 11111111 11111111
 mo1MU-1 CATTGAGAGGCTGAGAGGCTGAGAGGCTGAGAGGCTGAGAGGCTGAGAGGCTGAGAGGCT 1574
 hu1MU-1 GAGGCTGAGAGGCTGAGAGGCTGAGAGGCTGAGAGGCTGAGAGGCTGAGAGGCTGAGAGGCT 1482
 1111111111111111 11111111 11111111 1111111111111111
 mo1MU-1 GAGGCTGAGAGGCTGAGAGGCTGAGAGGCTGAGAGGCTGAGAGGCTGAGAGGCTGAGAGGCT 1674
 hu1MU-1 GAGGCTGAGAGGCTGAGAGGCTGAGAGGCTGAGAGGCTGAGAGGCTGAGAGGCTGAGAGGCT 1532
 11111111 11111111 11111111 11111111 11111111 11111111
 mo1MU-1 GAGGCTGAGAGGCTGAGAGGCTGAGAGGCTGAGAGGCTGAGAGGCTGAGAGGCTGAGAGGCT 1674
 hu1MU-1 CCTGTCTGTGTGTGTGTGTGTGTGTGTGTGTGTGTGTGTGTGTGTGTGTGTGTGTGTGT 1562
 11111111 1111111111111111 11111111 11111111 11111111 11111111
 mo1MU-1 TCTGTCTGTGTGTGTGTGTGTGTGTGTGTGTGTGTGTGTGTGTGTGTGTGTGTGTGTGTGT 1724
 hu1MU-1 TGGAGAGGCTGAGAGGCTGAGAGGCTGAGAGGCTGAGAGGCTGAGAGGCTGAGAGGCTGAGAGGCT 1612
 11111111 11111111 11111111 11111111 11111111 11111111
 mo1MU-1 CAGGAGGCTGAGAGGCTGAGAGGCTGAGAGGCTGAGAGGCTGAGAGGCTGAGAGGCTGAGAGGCT 1774
 hu1MU-1 TGGGCTGAGAGGCTGAGAGGCTGAGAGGCTGAGAGGCTGAGAGGCTGAGAGGCTGAGAGGCT 1842

FIG.3 (continuación)

111 11 11 11111 11 1111 11 111111 111 11
 hnu1H9-1 TGGACGCTGACCCCACTGAGAGCTGGCTCCCAAGAGGCGGCTCTGA 1874
 hnu1H9-1 GAGTGAAGCGGCTACCCCTGGCGGCTGGATATGACAGCTTTGACA 1711
 hnu1H9-1 GAGTGAAGCAGCTTCCCCC...CTGGCTGGACATGACACATTTGACA 1871
 hnu1H9-1 GTGGCTTTGTGGGCTCTGACTGCAGAGCCCTGTGGAGTGTGACTTCACC 1741
 hnu1H9-1 GTGGCTTTGACAGCTTCAACTGTGGAGCCCGCTGAGACT..... 1912
 hnu1H9-1 AGCCCCGGGAGCAGAGAGCCCGCTGAGCTTACCTGCCCGAGTGGTGGT 1811
 hnu1H9-1 GATGAAGAGCCCGCTGAGAGCTTATCTGCCAGATGGTGGT 1923
 hnu1H9-1 CATTCCTCCGCACTTTGAGCCCTGAGAGCCCGAGCTAATGAGCT 1861
 hnu1H9-1 CAGAGCCCTCCAGCTGTGAGAGCTGAGAGCCCGAGCTA..... 1995
 hnu1H9-1 GACTGATGTCCAGAGCTGAGAGCCCGAGCTGAGCCCTGAGAGAGCAG 1911
 hnu1H9-1 GCATATATAGAGCTATATGAGAGAGCCCTGAGAGC..... 2036
 hnu1H9-1 TGGGCTTTGAGCCCTGATGTTTACAGTGTGTGTGTGTGTGTGTGTGTGT 2011
 hnu1H9-1 TGGCATTTACAGTGTGAGAGCTGTAGGAGGTGTGTGTGTGTGTGTGTGTGT 2086
 hnu1H9-1 TGTGTGTGTGTGTGTGTGTGTGTGTGTGTGTGTGTGTGTGTGTGTGTGTGT 2041
 hnu1H9-1 TGTGTGTGTGTGTGTGTGTGTGTGTGTGTGTGTGTGTGTGTGTGTGTGTGT 2131
 hnu1H9-1 GAGAGCTACCCATGTGAGAGCTGTGAGAGCTGTGAGAGCTGTGTGTGTGTGT 2111
 hnu1H9-1 GTTACAGAGCTGTGTGTGTGTGTGTGTGTGTGTGTGTGTGTGTGTGTGTGT 2171
 hnu1H9-1 AGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAG 2161
 hnu1H9-1 TGTATTTATATGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAG 2271
 hnu1H9-1 TCCAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAG 2211
 hnu1H9-1 TTTCTATGTTTACAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAG 2268
 hnu1H9-1 GAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAG 2241
 hnu1H9-1 TACCATTTGATTAATTAATTTGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAG 2318
 hnu1H9-1 TATTE.....TTCTTATCAGCTGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAG 2306
 hnu1H9-1 GGTAGGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAG 2388
 hnu1H9-1 TACCCATGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAG 2334
 hnu1H9-1 AGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAG 2318
 hnu1H9-1 GAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAG 2406
 hnu1H9-1 GAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAG 2467
 hnu1H9-1 AETCCCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCT 2456
 hnu1H9-1 AGGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAG 2503
 hnu1H9-1 GGCATGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAG 2506
 hnu1H9-1 TCTGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAG 2553
 hnu1H9-1 AGCCAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAG 2556

FIG.3(continuación)

```

              11  12 1 111 12 11 1111 1 1 1111 11 1111
ms277U-1  AGATTACGGGTGACCTCCGTATTGTCAAGGCCAATTAAATATACAAA 2603
ms277U-2  AAAATCTAGA..... 2567
              (111) 1 1
ms277U-3  AAAAAAAAAAGCGGCGCTCTAGA 2628

```

FIG.4

Human MU-1	MPGMAAPLILLLOSGGCPGLVCTTDTLQTVICILNWHLPSTLTLT 30
MurineMU-1	MPGCPVAALLLL)LGENVACLDLTCTTDTLNTITCVLETSFHPSTLALT 30
Human MU-1	WQGYCELLEDEATSCILHRSARHATHATTTCHNDVFATHADDITGYN)TD 100
MurineMU-1	WQGYCELLEDEATSCILHRSARHATHATTTCHNDVFATHADDITGYN)TD 100
Human MU-1	OSGNYSCCCSFLAESIKTAPPTMTVPTFSQDTHISWSDTECPATYHL 150
MurineMU-1	OSGNYSCCCSFLAESIKTAPPTMTVPTFSQDTHISWSDTECPATYHL 150
Human MU-1	NGKLOTLEOTKRGCPHNSPRAKLI)SDERASVLLPLEFRAGOSYELQV 200
MurineMU-1	NGKLOTLEOTKRGCPHNSPRAKLI)SDERASVLLPLEFRAGOSYELQV 200
Human MU-1	RAKPHGSSYQGVTSQVSDPVI)FOTGSEELKEDWHPHLLALLLVIPFP 250
MurineMU-1	RAKPHGSSYQGVTSQVSDPVI)FOTGSEELKEDWHPHLLALLLVIPFP 250
Human MU-1	ATNSLHTPLNRLNKLNA.VPPEATMFLYNGCSDGKHWGAPPTGS 299
MurineMU-1	ATNSLHTPLNRLNKLNA.VPPEATMFLYNGCSDGKHWGAPPTGS 299
Human MU-1	SLGLWSPFVPTLEVTSCTPTSPAKILOLTELQFALVESGCVKAP 349
MurineMU-1	SLGLWSPFVPTLEVTSCTPTSPAKILOLTELQFALVESGCVKAP 349
Human MU-1	STN...PTAGNGCSAYSEEDSPTLVSI)DTVTVLNKSPTNTPCACE 396
MurineMU-1	STN...PTAGNGCSAYSEEDSPTLVSI)DTVTVLNKSPTNTPCACE 396
Human MU-1	DGYFALDLNAGLEPSPLESDPLLDAGTTVLSCGCVNGSPGLGFLGSL 446
MurineMU-1	DGYFALDLNAGLEPSPLESDPLLDAGTTVLSCGCVNGSPGLGFLGSL 446
Human MU-1	DLKHPFLADGELNAGELPGERSPGVNDSKESFLAGLNDHTTDSGVC 496
MurineMU-1	DLKHPFLADGELNAGELPGERSPGVNDSKESFLAGLNDHTTDSGVC 496
Human MU-1	SDCSFVCDFTSPGEGPPTSLAGPVV.3PTFLASPGFQAS 539
MurineMU-1	SDCSFVCDFTSPGEGPPTSLAGPVV.3PTFLASPGFQAS 539

FIG.5.

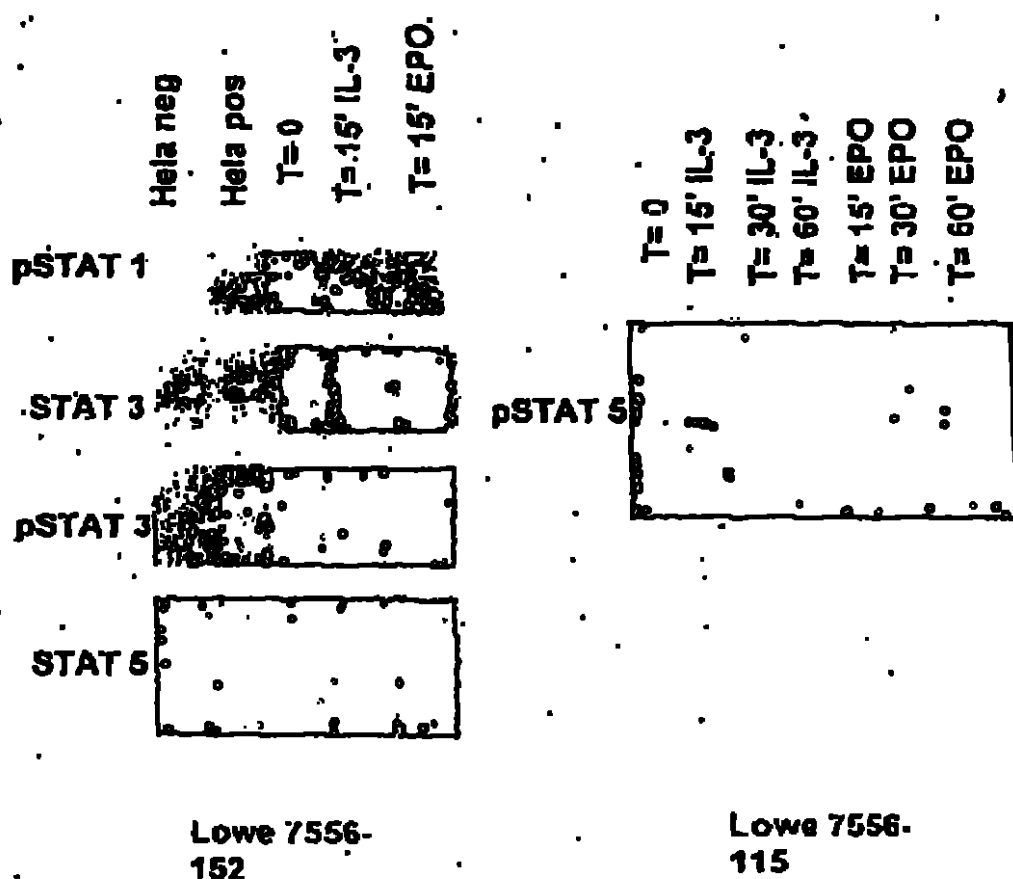
```

1                                     30
humu ---HTPGHAA FLILL...LO GMS..... CTOLVETTVY ZQVTCLEH.
mousemu ---HPRFVA ALILL...IN GMS..... CLQCTCTTVY LNTTCVLET..
hum12:bc HAAPALEVEL FLILL...LA TADRAWNG TSOTCTCTVY BANTSCVYBO
31
humu WM..LHPSTL TLTHODOTCE LKCATSCSL KASJUNTHA TTTCH....
mousemu AS..MPFEL SLTHODOTCE LQOCTTCESL KASJUNTHA TTTCH....
hum12:bc OGALQUTSCO-VHAPDR...RAYMOTCEL...LPVBOA SNACALIGA:
101
humu .OVTHPADD IFSVHTDOS GN..TSCOE SLLASIEP APFVTVTV
mousemu .ALSOFLEDE VFIWVTHOS GN..NSCECE SYVLAESIEP APFVTVTV
hum12:bc FOSOLTTVD IVTLVLCNE GVHVVHID OFVPTCHLAL HAFISLOVVE
151
humu ..SGVNHISV ASDYEDPAFY HUKALLOYEL OYHNSCPHA VSPHOLJTV
mousemu ..SGVNHISV ASDYEDPAFY HUKALLOYEL OYHNSCPHA VSPHOLJTV
hum12:bc VETNCHISV E..ISQSTY FER.HLEFLA ATLECHTNE XAP...LITL
201
humu OSRSVELLP EFHNSSTYL OVNASPPOS SYOCHNERS DPVIFOTON.
mousemu OSRSVELLP EFHNSSTYL OVNASPPOS SYOCHNERS DPVIFOTON.
hum12:bc ECHNCHILE TLTPTOTVYF OVHNPLOC F..TTHSPH OPLATYHFA
251
humu ..ELUKGWH PHILL...LVIVFTRAY HUKTHPLAR LAKCHNVP
mousemu ..CEPACHO PHILL...AYLIVL.VF HUKTHPLAR LAKCHNVP
hum12:bc ALCHOTYFAL CHANVLESA FETILVYLL JNCANTCH. LKVLKCHT
301
humu EPFPTFPLI KCCGOFKIM VCAPTCSL ELCHPSTEV STLEVTSCHE
mousemu TPSTYTOPLI KCHNCHKIM VPTPTASSI ELVPOSTTY SAS...EL
hum12:bc DPSTFOLS SENGGOVOM LESTPTSSP SPGLAPEIS FLEVLEKIV
351
humu PREPANDLOL TELCEM...E LVEGCVPEP SW...PTNO KCCGOFKIM
mousemu SLTPASKEKE FGLGLE...E GLECHNCHP CHNCIPLAR CONVSATSE
hum12:bc TOLLLOOKV FEPALASHH SLTSCFTNOS YITTHLPAL EYACOTYIT
401
humu ABPTELVS) DVTVLBAG PC...TUPCS CEDOGYFALD LKCHLEPAP
mousemu FCHPTELVS) DVTVLBAG LC...VUPCS CEDOGYFALD LKCHLEPAP
hum12:bc YD.PTSEEDP DECVNCAPTG SSPOLPLS CEDOYCTT. ....PS
451
humu LEPILLRST TVLSCCVSA GSPGLCPLO SLLALHPL AD..GCHNCH
mousemu SEDLLYTOP AFLSCCVSA GGLNLCASP SLLALHPL AR..EGCHTA
hum12:bc RDOLLTS.P ALL..CEPSF PSTAPOG.S AGCHNPPAL OLVYFCHND
501
humu GLPACGSPG GYSESEAGP LAGLONDTG SOYVCHCS PYECOTTSPO
mousemu OPTVNTGSPG GYSESEAGP .PGLONDTG AGFAGSCCS PVET.....
hum12:bc Q.PLEPTTPG VPBLVOTFF P...ELVLE AGLEVPAO. PNE.DYSTTH
551
humu DECPASTYL (DVTV)PTPL SPOTAS--- ----P---
mousemu DECPASTYL (DVTV)PTPL SPOTAS--- ----P---
hum12:bc .SRPGOCEFR ALHARPLNT DAYLSLELO GQOPTHV

```


Figura 6

Señalización a través de MU-1



atg aaa ttc tta gtc aac gtt gcc ctt gtt ttt atg gtc gtc tat att Met Lys Phe Leu Val Asn Val Ala Leu Val Phe Met Val Val Tyr Ile 1 5 10 15	48
tct tac atc tat gcc ggc agc gga cac cac cat cat cac cac ggt agc Ser Tyr Ile Tyr Ala Gly Ser Gly His His His His His Gly Ser 20 25 30	96
ggc gac tat aaa gac gat gac gat aag ggt tcc gga tgc ccc gac ctc Gly Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Lys Gly Ser Gly Cys Pro Asp Leu 35 40 45	144
gtc tgc tac acc gat tac ctt cag acg gtc atc tgc atc ctg gaa atg Val Cys Tyr Thr Asp Tyr Leu Gln Thr Val Ile Cys Ile Leu Glu Met 50 55 60	192
tgg gac ctc cac ccc agc acg ctc acc ctt acc tgg cam gac cag tat Trp Asn Leu His Pro Ser Thr Leu Thr Leu Thr Trp Gln Asp Gln Tyr 65 70 75 80	240
gaa gag ctg aag gac gag gcc acc tcc tgc agc ctc cac agg tgc gcc Glu Glu Leu Lys Asp Glu Ala Thr Ser Cys Ser Leu His Arg Ser Ala 85 90 95	288
cac aat gcc acg cat gcc acc tac acc tgc cac atg gat gta ttc cac His Asn Ala Thr His Ala Thr Tyr Thr Cys His Met Asp Val Phe His 100 105 110	336
ttc atg gcc gac gat att ttc agt gtc aac atc aca gac cag tct gcc Phe Met Ala Asp Asp Ile Phe Ser Val Asn Ile Thr Asp Gln Ser Gly 115 120 125	384
aac tac tcc cag gag tgt gcc agc ttt ctc ctg gct gag agc atc aag Asn Tyr Ser Gln Glu Cys Gly Ser Phe Leu Leu Ala Glu Ser Ile Lys 130 135 140	432
ccg gct ccc cct ttc aac gtc act gtc acc ttc tca gga cag tat aat Pro Ala Pro Pro Phe Asn Val Thr Val Thr Phe Ser Gly Gln Tyr Asn 145 150 155 160	480
atc tcc tgg cgc tca gat tac gaa gac cct gcc ttc tac atg ctg aag Ile Ser Trp Arg Ser Asp Tyr Glu Asp Pro Ala Phe Tyr Met Leu Lys 165 170 175	528
ggc aag ctt cag tat gag ctg cag tac agg aac cgg gga gac ccc tgg Gly Lys Leu Gln Tyr Glu Leu Gln Tyr Arg Asn Arg Gly Asp Pro Trp 180 185 190	576
gct gtc agt ccg agg aga aag ctg atc tca gtc gac tca aga agt gtc Ala Val Ser Pro Arg Arg Lys Leu Ile Ser Val Asp Ser Arg Ser Val 195 200 205	624
tcc ctc ctc ccc ctg gag ttc cgc aaa gac tcc agc tat gag ctg cag Ser Leu Leu Pro Leu Glu Phe Arg Lys Asp Ser Ser Tyr Glu Leu Gln 210 215 220	672

Fig. 7A

gtg	cgg	gca	ggg	ccc	atg	cct	ggc	tcc	tcc	tac	cag	ggg	acc	tgg	agt	720
Val	Arg	Ala	Gly	Pro	Met	Pro	Gly	Ser	Ser	Tyr	Gln	Gly	Thr	Trp	Ser	
225					230					235					240	
gaa	tgg	agt	gac	ccg	gtc	atc	tct	cag	acc	cag	tca	gag	gag	tta	aag	768
Glu	Trp	Ser	Asp	Pro	Val	Ile	Phe	Gln	Thr	Gln	Ser	Glu	Glu	Leu	Lys	
			245					250						255		
gaa	ggc	tgg	aac	taa	tga	SEQ ID NO: 22										786
Glu	Gly	Trp	Asn	SEQ ID NO: 23												
	260															

gcggccgcac cacc atg ccg cgt ggc tgg gcc gcc ccc ttg ctc ctg ctg	50
Met Pro Arg Gly Trp Ala Ala Pro Leu Leu Leu	
1 5 10	
ctg ctc cag gga ggc tgg ggc tgc ccc gac ctc gtc tgc tac acc gat	98
Leu Leu Gln Gly Gly Trp Gly Cys Pro Asp Leu Val Cys Tyr Thr Asp	
15 20 25	
tac ctc cag acg gtc atc tgc atc ctg gaa atg tgg aac ctc cac ccc	146
Tyr Leu Gln Thr Val Ile Cys Ile Leu Glu Met Trp Asn Leu His Pro	
30 35 40	
agc acg ctc acc ctt acc tgg caa gac cag tat gaa gag ctg aag gac	194
Ser Thr Leu Thr Leu Trp Trp Gln Asp Gln Tyr Glu Glu Leu Lys Asp	
45 50 55 60	
gag gcc acc tcc tgc agc ctc cac agg tgc gcc cac aat gcc acg cat	242
Glu Ala Thr Ser Cys Ser Leu His Arg Ser Ala His Asn Ala Thr His	
65 70 75	
gcc acc tac acc tgc cac atg gat gta ttc cac ttc atg gcc gac gac	290
Ala Thr Tyr Thr Cys His Met Asp Val Phe His Phe Met Ala Asp Asp	
80 85 90	
att ttc agt gtc aac atc acg gac cag tct ggc aac tac tcc cag gag	338
Ile Phe Ser Val Asn Ile Thr Asp Gln Ser Gly Asn Tyr Ser Gln Glu	
95 100 105	
tgt ggc agc ttt ctc ctg gct gag agc atc aag ccg gct ccc cct ttc	386
Cys Gly Ser Phe Leu Leu Ala Glu Ser Ile Lys Pro Ala Pro Pro Phe	
110 115 120	
aac gtg act gtg acc ttc tca gga cag tat aat atc ttc tgg cgc tca	434
Asn Val Thr Val Thr Phe Ser Gly Gln Tyr Asn Ile Ser Trp Arg Ser	
125 130 135 140	
gat tac gaa gac cct gcc ttc tac atg ctg aag ggc aag ctt cag tat	482
Asp Tyr Glu Asp Pro Ala Phe Tyr Met Leu Lys Gly Lys Leu Gln Tyr	
145 150 155	
gag ctg cag tac agg aac cgg gga gac tcc tgg gct gtg agt ccg agg	530
Glu-Leu Gln Tyr Arg Asn Arg Gly Asp Pro Trp Ala Val Ser Pro Arg	
160 165 170	
aga aag ctg atc tca gtg gac tca aga agt gtc tcc ctc ctc ccc ctg	578
Arg Lys Leu Ile Ser Val Asp Ser Arg Ser Val Ser Leu Leu Pro Leu	
175 180 185	
gag ttc cgc aaa gac tgc agc tat gag ctg cag gtg cgg gca gga ccc	626
Glu Phe Arg Lys Asp Ser Ser Tyr Glu Leu Gln Val Arg Ala Gly Pro	
190 195 200	
atg cct ggc tcc tcc tac cag ggg acc tgg agt gaa tgg agt gac ccg	674
Met Pro Gly Ser Ser Tyr Gln Gly Thr Trp Ser Glu Trp Ser Asp Pro	
205 210 215 220	

Fig. 8A

gtc atc ttc cag acc cag tca gag gag tta aag gaa ggc tgg aac ggc Val Ile Phe Gln Thr Gln Ser Glu Glu Leu Lys Glu Gly Trp Asn Gly 225 230 235	722.
tcc ggc tct aga gac aaa act cac aca tgc cca ccg tgc cca gca cct Ser Gly Ser Arg Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro 240 245 250	770
gaa ttc ctg ggg gga ccg tca gtc ttc ctc ttc ccc cca aaa ccc aag Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys 255 260 265	818
gac acc ctc atg atc tcc cgg acc cct gag gtc aca tgc gtc gtc gtc Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val 270 275 280	866
gac gtc agc cac gaa gac cct gag gtc aag ttc aac tgg tac gtc gac Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp 285 290 295 300	914
ggc gtc gag gtc cat aat gcc aag aca aag ccg cgg gag gag cag tac Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr 305 310 315	962.
aac agc acg tac cgt gtc gtc agc gtc ctc acc gtc ctg cac cag gac Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp 320 325 330	1010
tgg ctg aat ggc aag gag tac aag tgc aag gtc tcc aac aaa gcc ctc Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu 335 340 345	1058
cca gtc tcc atc gag aaa acc atc tcc aaa gcc aaa ggg cag ccc cga Pro Val Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg 350 355 360	1106
gaa cca cag gtc tac acc ctg ccc cca tcc cgg gag gag atg acc aag Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys 365 370 375 380	1154
aac cag gtc agc ctg acc tgc ctg gtc aaa ggc ttc tat ccc agc gac Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp 385 390 395	1202
atc gcc gtc gag tgg gag agc aat ggg cag ccg gag aac aac tac aag Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys 400 405 410	1250
acc acg cct ccc gtc ctg gac tcc gac ggc tcc ttc ttc ctc tat agc Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser 415 420 425	1298
aag ctc acc gtc gac aag agc agg tgg cag cag ggg aac gtc ttc tca Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser 430 435 440	1346

Fig. 8B

tgc	tcc	gtg	atg	cat	gag	gct	ctg	cac	aac	cac	tac	acg	cbg	acg	agc	1394
Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	
445					450					455					460	

ctc	tcc	ctg	tcc	ccg	ggt	aaa	tgagtgaatt	c	SEQ ID NO: 24	1426
Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Lys			SEQ ID NO: 25	
				465						

Fig. 8C

q 10 no:26	gagggccgac cacc atg cct cgt ggc tgg gcc gcc ccc ttg ctc ctg ctg	50
q 10 no:27	Met Pro Arg Gly Trp Ala Ala Pro Leu Leu Leu	
	1 5 10	
	ctg ctc cag gga ggc tgg ggc tgc ccc gac ctc gtc tgc tac acc gat	98
	Leu Leu Gln Gly Gly Trp Gly Cys Pro Asp Leu Val Cys Tyr Thr Asp	
	15 20 25	
	tac ctc cag acg gtc atc tgc atc ctg gaa atg tgg aac ctc cgc ccc	146
	Tyr Leu Gln Thr Val Ile Cys Ile Leu Glu Met Trp Asn Leu His Pro	
	30 35 40	
	agc acg ctc acc ctt acc tgg caa gac cag tat gaa gag ctg aag gac	194
	Ser Thr Leu Thr Leu Thr Trp Gln Asp Gln Tyr Glu Glu Leu Lys Asp	
	45 50 55 60	
	gag gcc acc tcc tgc agc ctc cac agg tgg gcc cac aat gcc acg cat	242
	Glu Ala Thr Ser Cys Ser Leu His Arg Ser Ala His Asn Ala Thr His	
	65 70 75	
	gcc acc tac acc tgc cac atg gat gta ttc cac ttc atg gcc gac gac	290
	Ala Thr Tyr Thr Cys His Met Asp Val Phe His Phe Met Ala Asp Asp	
	80 85 90	
	att ttc agt gtc aac atc acn gac cag tct gcc aac tac tcc tag gag	338
	Ile Phe Ser Val Asn Ile Thr Asp Gln Ser Gly Asn Tyr Ser Gln Glu	
	95 100 105	
	tgt gcc agc ttc ctc ctg gct gag agc atc aag ccg gct ccc cct ttc	386
	Cys Gly Ser Phe Leu Leu Ala Glu Ser Ile Lys Pro Ala Pro Pro Phe	
	110 115 120	
	aac gtg act gtg acc ttc tca gaa cag tat aat atc tcc tgg cgc tca	434
	Asn Val Thr Val Thr Phe Ser Gly Gln Tyr Asn Ile Ser Trp Arg Ser	
	125 130 135 140	
	gat tac gaa gac cct gcc ttc tac atg ctg aag gcc aag ctt cag tat	482
	Asp Tyr Glu Asp Pro Ala Phe Tyr Met Leu Lys Gly Lys Leu Gln Tyr	
	145 150 155	
	gag ctg cag tac agg aac cgg gga gac ccc tgg gct gtg agt ccg agg	530
	Glu Leu Gln Tyr Arg Asn Arg Gly Asp Pro Trp Ala Val Ser Pro Arg	
	160 165 170	
	aga aag ctg atc tca gtg gac tca aga agt gtc tcc ctc ctc ccc ctg	578
	Arg Lys Leu Ile Ser Val Asp Ser Arg Ser Val Ser Leu Leu Pro Leu	
	175 180 185	
	gag ttc cgc aag gac tgc agc tat gag ctg cag gtg cgg gca ggg ccc	626
	Glu Phe Arg Lys Asp Ser Ser Tyr Glu Leu Gln Val Arg Ala Gly Pro	
	190 195 200	
	atg cct gcc tcc tcc tac cag ggg acc tgg agt gaa tgg agt gac ccg	674
	Met Pro Gly Ser Ser Tyr Gln Gly Thr Trp Ser Glu Trp Ser Asp Pro	
	205 210 215 220	

Fig. 2A

gtc att ttt cag acc cag tca gag gag tta aag gaa ggc tgg aac ggc Val Ile Phe Gln Thr Gln Ser Glu Glu Leu Lys Glu Gly Trp Asn Gly	722
tcc ggc tct aga gac aaa act cac aca tgc cca ccg tgc cca gca cct Ser Gly Ser Arg Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro	770
gaa ctc ctg ggg gga ccg tca gtc ttc ctc ttc ccc cca aaa ccc aag Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys	818
gac acc ctc atg atc tcc cgg acc cct gag gtc aca tgc gtg gtg gtg Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val	866
gac gtg agc cac gaa gac cct gag gtc aag ttc aac tgg tac gtg gac Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp	914
ggc gtg gag gtg cat aat gcc aag aca aag ccg cgg gag gag cag tac Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr	962
aac agc acg tac cgt gtg gtc agc gtc ctc acc gtc ctg cac cag gac Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val His Gln Asp	1010
tgg ctg aat ggc aag gag tac aag tgc aag gtc tcc aac aaa gcc ctc Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu	1058
cca gtc ccc atc gag aaa acc atc tcc aaa gcc aaa ggg cag ccc cga Pro Val Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg	1106
gaa cca cag gtg tac acc ctg ccc cca tcc cgg gag gag atg acc aag Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys	1154
aac cag gtc agc ctg acc tgc ctg gtc aaa ggc ttc tat ccc agc gac Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp	1202
atc gcc gtg gag tgg gag agc aat ggg cag ccg gag aac aac tac aag Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys	1250
acc acg cct ccc gtg ctg gac tcc gac ggc tcc ttc ttc ctc tat agc Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser	1298
aag ctc acc gtg gac aag agc agg tgg cag cag ggg aac gtc ttc tca Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser	1346

Fig. 9B

tgc tcc gtg atg cat gag gct ctg cac aac cac tac acg cag aag agc	1394
Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser	
445 450 455 460	
ctc tcc ctg tcc ccg ggt aaa tca gga atg gca tca atg aca gga ggt	1442
Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys Ser Gly Met Ala Ser Met Thr Gly Gly	
465 470 475	
caa caa atg ggt tct gga tct cat cat cat cat cat cat tct gga ggt	1490
Gln Gln Met Gly Ser Gly Ser His His His His His His Ser Gly Gly	
480 485 490	
tgagaattc	1499

Fig. 9C

gcggcgccac cacc atg ccg cgt ggc tgg gcc gcc ccc ttg ctc ctg ctg	30
Met Pro Arg Gly Trp Ala Ala Pro Leu Leu Leu	
1 5 10	
ctg ctc cag gga ggc tgg ggc tgc ccc gac ctc gtc tgc tac acc gat	98
Leu Leu Gln Gly Gly Trp Gly Cys Pro Asp Leu Val Cys Tyr Thr Asp	
15 20 25	
tac ctc cag acg gtc atc tgc atc ctg gaa atg tgg aac ctc cac ccc	146
Tyr Leu Gln Thr Val Ile Cys Ile Leu Glu Met Trp Asn Leu His Pro	
30 35 40	
agc acg ctc acc ctt acc tgg caa gac cag tat gaa gag ctg aag gac	194
Ser Thr Leu Thr Leu Thr Trp Gln Asp Gln Tyr Glu Glu Leu Lys Asp	
45 50 55 60	
gag gcc acc tcc tgc agc ctc cac agg tgg gcc cac aat gct acg cat	242
Glu Ala Thr Ser Cys Ser Leu His Arg Ser Ala His Asn Ala Thr His	
65 70 75	
gcc acc tac acc tgc cac atg gat gta ttc cac ttc atg gcc gac gac	290
Ala Thr Tyr Thr Cys His Met Asp Val Phe His Phe Met Ala Asp Asp	
80 85 90	
att ttc agt gtc aac atc aca gac cag tct ggc aac tac tcc cag gag	338
Ile Phe Ser Val Asn Ile Thr Asp Gln Ser Gly Asn Tyr Ser Gln Glu	
95 100 105	
tgt ggc agc ttt ctc ctg gct gag agc atc aag ccg gct ccc cct ttc	386
Cys Gly Ser Phe Leu Leu Ala Glu Ser Ile Lys Pro Ala Pro Pro Phe	
110 115 120	
aac gtg act gtg acc ttc tca gaa cag tat aat atc tcc tgg cgc tca	434
Asn Val Thr Val Thr Phe Ser Gly Gln Tyr Asn Ile Ser Trp Arg Ser	
125 130 135 140	
gat tac gaa gac cct gcc ttc tac atg ctg aag ggc aag ctt cag tat	482
Asp Tyr Glu Asp Pro Ala Phe Tyr Met Leu Lys Gly Lys Leu Gln Tyr	
145 150 155	
gag ctg cag tac agg aac cgg gga gac ccc tgg gct gtg agt ccg agg	530
Glu Leu Gln Tyr Arg Asn Arg Gly Asp Pro Trp Ala Val Ser Pro Arg	
160 165 170	
aga aag ctg atc tca gtg gac tca aga agt gtc tcc ctc ctc ccc ctg	578
Arg Lys Leu Ile Ser Val Asp Ser Arg Ser Val Ser Leu Leu Pro Leu	
175 180 185	
gag ttc cgc aaa gac tgg agc tat gag ctg cag gtg cgg gca ggg ccc	626
Glu Phe Arg Lys Asp Ser Ser Tyr Glu Leu Gln Val Arg Ala Gly Pro	
190 195 200	
atg cct ggc tcc tcc tac cag ggg acc tgg agt gaa tgg agt gac ccg	674
Met Pro Gly Ser Ser Tyr Gln Gly Thr Trp Ser Glu Trp Ser Asp Pro	
205 210 215 220	

Fig. 10A

gtc atc ttt cag acc cag tca gag gag tta aag gaa ggc tgg aac ggc Val Ile Phe Gln Thr Gln Ser Glu Glu Leu Lys Glu Gly Trp Asn Gly	722
225 230 235	
tcc ggc tct aga gac aaa act cac aca tgc cca ccg tgc cca gca cct Ser Gly Ser Arg Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro	770
240 245 250	
gaa gcc ctg ggg gca ccg tca gtc ttc ctc ttc ccc cca aaa ccc aag Glu Ala Leu Gly Ala Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys	818
255 260 265	
gac acc ctc atg atc tcc cgg acc cct gag gtc aca tgc gtc gtc gtc Asp Thr Leu Met Ile Ser Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val	866
270 275 280	
gac gtc agc cac gaa gac cct gag gtc aag ttc aac tgg tac gtc gac Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp	914
285 290 295 300	
ggc gtc gag gtc cat aat gcc aag aca aag ccg cgg gag gag cag tac Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr	962
305 310 315	
aac agc acg tac cgt gtc gtc agc gtc ctc acc gtc ctg cac cag gac Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp	1010
320 325 330	
tgg ctg aat ggc aag gag tac aag tgc aag gtc tcc aac aaa gcc ctc Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu	1058
335 340 345	
cca gcc ccc atc gag aaa acc atc tcc aaa gcc aaa ggg cag ccc cga Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg	1106
350 355 360	
gaa cca cgg gtc tac acc ctg ccc cta tcc cgg gag gag atg acc aag Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys	1154
365 370 375 380	
aac cag gtc agc ctg acc tgc ctg gtc aaa ggc ttc tat ccc agc gac Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp	1202
385 390 395	
atc gcc gtc gag tgg gag agc aat ggg cag ccg gag aac aac tac aag Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys	1250
400 405 410	
acc acg cct ccc gtc ctg gac tcc gac ggc tcc ttc ttc ctc tat agc Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser	1291
415 420 425	
aag ctc acc gtc gac aag agc aag tgg cag cag ggg aac gtc ttc tca Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser	134
430 435 440	

Figure 10B

tgc tcc gtc atg cat gag gct ctg cac aac cac tac acg cag aag agc . 1394
Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
445 450 455 460

ctc tcc ctg tcc ccg gct aac tga gta att c' seq ID NO: 28 1426
Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys seq ID NO: 29
465

atg ccg cgt ggc tgg gcc gcc ccc ttg ctc ctg ctg ctg ctc cag gga	48
Met Pro Arg Gly Trp Ala Ala Pro Leu Leu Leu Leu Leu Gln Gly	
1 5 10 15	
ggc tgg ggc tgc ccc gac ctc gtc tgc tac acc gat tac ctc cag acg	96
Gly Trp Gly Cys Pro Asp Leu Val Cys Tyr Thr Asp Tyr Leu Gln Thr	
20 25 30	
gtc atc tgc atc ctg gaa atg tgg aac ctc cac ccc agc atg ctc acc	144
Val Ile Cys Ile Leu Glu Met Trp Asn Leu His Pro Ser Thr Leu Thr	
35 40 45	
ctt acc tgg caa gac cag tat gaa gag ctg aag gac gag gcc acc tcc	192
Leu Thr Trp Gln Asp Gln Tyr Glu Glu Leu Lys Asp Glu Ala Thr Ser	
50 55 60	
tgc agc ctc cac agg tgc gcc cac aat gcc acg cat gcc acc tac acc	240
Cys Ser Leu His Arg Ser Ala His Asn Ala Thr His Ala Thr Tyr Thr	
65 70 75 80	
tgc cac atg gat gta ttc cac ttc atg gcc gac gac att ttc agt gtc	288
Cys His Met Asp Val Phe His Phe Met Ala Asp Asp Ile Phe Ser Val	
85 90 95	
aac atc acn gac cag tct ggc aac tac tcc cag gag tgt gcc agc ttt	336
Asn Ile Thr Asp Gln Ser Gly Asn Tyr Ser Gln Glu Cys Gly Ser Phe	
100 105 110	
ctc ctg gct gag agc atc aag ccg gct ccc cct ttc aac gtg act gtg	384
Leu Leu Ala Glu Ser Ile Lys Pro Ala Pro Pro Phe Asn Val Thr Val	
115 120 125	
acc ttc tca gga cag tat aat atc tcc tgg cgc tca gat tac gaa gac	432
Thr Phe Ser Gly Gln Tyr Asn Ile Ser Trp Arg Ser Asp Tyr Glu Asp	
130 135 140	
cct gcc ttc tac atg ctg aag ggc aag ctt cag tat gag ctg cag tac	480
Pro Ala Phe Tyr Met Leu Lys Gly Lys Leu Gln Tyr Glu Leu Gln Tyr	
145 150 155 160	
agg aac cgg gga gac ccc tgg gct gtg agt ccg agg aga aag ctg atc	528
Arg Asn Arg Gly Asp Pro Trp Ala Val Ser Pro Arg Arg Lys Leu Ile	
165 170 175	
tca gtg gac tca aga agt gtc tcc ctc ctc ccc ctg gag ttc cgc aaa	576
Ser Val Asp Ser Arg Ser Val Ser Leu Leu Pro Leu Glu Phe Arg Lys	
180 185 190	
gac tgc agc tat gag ctg cag gtc cgg gca ggg ccc atg cct ggc tcc	624
Asp Ser Ser Tyr Glu Leu Gln Val Arg Ala Gly Pro Met Pro Gly Ser	
195 200 205	
tcc tac cag ggg acc tgg agt gaa tgg agt gac ccg gtc atc ttt cag	672
Ser Tyr Gln Gly Thr Trp Ser Glu Trp Ser Asp Pro Val Ile Phe Gln	
210 215 220	

Figure 11A

acc	cag	tca	gag	gag	tta	aag	gaa	ggt	tgg	aac	aaa	acc	gaa	acc	tcc	720
Thr	Gln	Ser	Glu	Glu	Leu	Lys	Glu	Gly	Trp	Asn	Lys	Thr	Glu	Thr	Ser	
225					230					235					240	

cag	gtt	gct	ccg	gca	tca	tca	SEQ	10	NO:	30	741
Gln	Val	Ala	Pro	Ala	SEQ	10	NO:	31			
				245							

atg cct cgt ggc tgg gcc gcc ccc ttg ctc ctg ctg ctg ctc cag gga Met Pro Arg Gly Trp Ala Ala Pro Leu Leu Leu Leu Leu Leu Gln Gly 1 5 10 15	48
ggc tgg ggc tgc ccc gac ctc gtc tgc tac acc gat tac ctc cag acg Gly Trp Gly Cys Pro Asp Leu Val Cys Tyr Thr Asp Tyr Leu Gln Thr 20 25 30	96
gtc atc tgc atc ctg gaa atg tgg aac ctc cac ccc agc acg ctc acc Val Ile Cys Ile Leu Glu Met Tyr Asn Leu His Pro Ser Thr Leu Thr 35 40 45	144
ctt acc tgg caa gac cag tat gaa gag ctg aag gac gag gcc acc tcc Leu Thr Trp Gln Asp Gln Tyr Glu Glu Leu Lys Asp Glu Ala Thr Ser 50 55 60	192
tgc agc ctc cac agg tgg gcc cac aat gcc acg cat gcc acc tac acc Cys Ser Leu His Arg Ser Ala His Asn Ala Thr His Ala Thr Tyr Thr 65 70 75 80	240
tgc cac atg gat gta ttc cac ttc atg gcc gac gac att ttc agt gtc Gys His Met Asp Val Phe His Phe Met Ala Asp Asp Ile Phe Ser Val 85 90 95	288
aac atc aca gac cag tct ggc aac tac tcc cag gag tgt ggc agc ttt Asn Ile Thr Asp Gln Ser Gly Asn Tyr Ser Gln Glu Cys Gly Ser Phe 100 105 110	336
ctc ctg gct gag agc atc aag ccg gct ccc cct ttc aac gtc act gtc Leu Leu Ala Glu Ser Ile Lys Pro Ala Pro Pro Phe Asn Val Thr Val 115 120 125	384
acc ttc tca gga cag tat aat atc tcc tgg cgc tca gnt tac gaa gac Thr Phe Ser Gly Gln Tyr Asn Ile Ser Trp Arg Ser Asp Tyr Glu Asp 130 135 140	432
ccg gcc ttc tac atg ctg aag ggc aag ctc cag tat gag ctg cag tac Pro Ala Phe Tyr Met Leu Lys Gly Lys Leu Gln Tyr Glu Leu Gln Tyr 145 150 155 160	480
agg aac ccg gga gac ccc tgg gct gtc agt ccg agg aga aag ctg atc Arg Asn Arg Gly Asp Pro Trp Ala Val Ser Pro Arg Arg Lys Leu Ile 165 170 175	528
tca gtc gac tca aga agt gtc tcc ctc ctc ccc ctg gag ttc cgc aac Ser Val Asp Ser Arg Ser Val Ser Leu Leu Pro Leu Glu Phe Arg Lys 180 185 190	576
gac tgc agc tat gag ctg cag gtc ccg gca ggc ccc atg cct gcc tcc Asp Ser Ser Tyr Glu Leu Gln Val Arg Ala Gly Pro Met Pro Gly Ser 195 200 205	624
ttc tac cag ggg acc tgg agt gaa tgg agt gac ccg gtc atc ttt cag Ser Tyr Gln Gly Thr Trp Ser Glu Trp Ser Asp Pro Val Ile Phe Gln 210 215 220	672

Fig. 12A

acc cag tca gag gag tta aag gaa ggc tgg abc gat gac gat gac aag Thr Gln Ser Glu Glu Leu Lys Glu Gly Trp Asn Asp Asp Asp Asp Lys 225 230 235 240	720
ggc tcc ggc gac aaa. act cac aca tgc cca ccg tgc cca gca cct gaa Gly Ser Gly Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu 245 250 255	768
ggc ctg gag gca ccg tca gtc ttc ctc ttc ccc cca aia ccc aag gac Ala Leu Gly Ala Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp 260 265 270	816
acc ctc atg atc tcc cgg. acc cct gag gtc aca tgc gtg gtg gtg gac Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp 275 280 285	864
gtg agc. cac gaa gat cct gag gtc aag ttc aac tgg tac gtg gac ggc Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly 290 295 300	912
gtg gag gtg cat aat gcc aag aca aag ccg cgg gag gag. cag tac aac Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn 305 310 315 320	960
agc acg tac cgt gtg gtc agc gtc ctc acc gtc ctg cac cag gac tgg Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp 325 330 335	1008
ctg aat ggc aag gag tac aag tgc aag gtc tcc aac aaa gcc ctc cca Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro 340 345 350	1056
gcc ccc atc gag aaa acc atc tcc aia gcc aia ggg cag ccc cga gaa Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu 355 360 365	1104
cca cag gtg tac acc ctg. ccc cca tcc cgg. gag gag atg acc aag aac Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn 370 375 380	1152
cag gtc agc ctg acc tgc ctg gtc aaa ggc ttc tat ccc agc gac atc Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile 385 390 395 400	1200
gcc gtg gag tgg gag agc aat ggg cag ccg gag aac aac tac aag acc Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr 405 410 415	1248
acc. cct ccc gtg ctg gac tcc gac ggc tcc ttc ttc ttc tat agc aag Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys 420 425 430	1296
ctc acc gtg gac aag agc agg tgg cag cag ggg aac gtc ttc tca tgc Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys 435 440 445	1344

Fig. 123

p00205

tcc gtc atg cat gag gct ctg cgc aac cgc tac acg cag-agg agc gtc 1392
 Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
 450 455 460

tcc ctg tcc ccg ggt aaa tga SEQ ID NO: 32 1413
 Ser Leu Ser Pro Gly Lys SEQ ID NO: 33
 465 470

Fig. 12C

2 10 40:14	atg	ccc	cgg	ggc	tca	gtg	gct	gac	tta	ctc	ctg	ctg	att	ctc	cat	gaa	48
3 10 40:35	Met	Pro	Arg	Gly	Pro	Val	Ala	Ala	Leu	Leu	Leu	Leu	Ile	Leu	His	Gly	..
1					5				10				15				
	gct	tgg	agc	tgc	ctg	gac	ctc	act	tgc	tac	gct	gac	tac	ctc	tgg	acc	96
	Ala	Trp	Ser	Cys	Leu	Asp	Leu	Thr	Cys	Tyr	Thr	Asp	Tyr	Leu	Trp	Thr	
				20				25					30				
	atc	acc	tgt	gtc	ctg	gag	aca	cgg	agc	ccc	aac	ccc	ggc	ata	ctc	agt	144
	Ile	Thr	Cys	Val	Leu	Glu	Thr	Arg	Ser	Pro	Asn	Pro	Ser	Ile	Leu	Ser	
				35				40					45				
	ctc	acc	tgg	caa	gat	gaa	tat	gag	gaa	cit	cag	gac	caa	gag	acc	ttc	192
	Leu	Thr	Trp	Gln	Asp	Glu	Tyr	Glu	Glu	Leu	Gln	Asp	Gln	Glu	Thr	Phe	
				50			55					60					
	tgc	agc	cta	cac	agg	tct	ggc	cac	aac	acc	aca	cat	ata	tgg	tac	acg	240
	Cys	Ser	Leu	His	Arg	Ser	Gly	His	Asn	Thr	Thr	His	Ile	Trp	Tyr	Thr	
						70					75					80	
	tgc	cat	atg	cgc	tgg	tct	caa	tcc	ctg	tcc	gat	gaa	ggt	ttc	att	gtc	288
	Cys	His	Met	Arg	Leu	Ser	Gln	Phe	Leu	Ser	Asp	Glu	Val	Phe	Ile	Val	
						85					90				95		
	aat	gtg	acg	gac	cag	tct	ggc	aac	aac	tcc	caa	gag	tgt	ggc	agc	ttt	336
	Asn	Val	Thr	Asp	Gln	Ser	Gly	Asn	Asn	Ser	Gln	Glu	Cys	Gly	Ser	Phe	
						100				105					110		
	gtc	ctg	gct	gag	agc	atc	aaa	cca	gct	ccc	ccc	tgg	aac	gtg	act	gtg	384
	Val	Leu	Ala	Glu	Ser	Ile	Lys	Pro	Ala	Pro	Pro	Leu	Asn	Val	Thr	Val	
						115			120				125				
	ggc	tcc	tca	gaa	cgc	tat	gat	atc	tcc	tgg	gac	tca	gct	tat	gac	gaa	432
	Ala	Phe	Ser	Gly	Arg	Tyr	Asp	Ile	Ser	Trp	Asp	Ser	Ala	Tyr	Asp	Glu	
						130						140					
	ccc	tcc	aac	tac	gtg	ctg	agg	ggc	agg	cta	caa	tat	gag	ctg	cag	tat	480
	Pro	Ser	Asn	Tyr	Val	Leu	Arg	Gly	Lys	Leu	Gln	Tyr	Glu	Leu	Gln	Tyr	
						145						155				160	
	cgg	aac	ctc	aga	gac	ccc	tat	gct	gtg	agg	ccg	gtg	acc	agg	ctg	atc	528
	Arg	Asn	Leu	Arg	Asp	Pro	Tyr	Ala	Val	Arg	Pro	Val	Thr	Lys	Leu	Ile	
						165					170				175		
	tca	gtg	gac	tca	aga	aac	gtc	tct	cit	ctc	ccc	gaa	gag	ttc	cac	aaa	576
	Ser	Val	Asp	Ser	Arg	Asn	Val	Ser	Leu	Leu	Pro	Glu	Glu	Phe	His	Lys	
						180					185				190		
	gat	tct	ggc	tac	cag	ctg	cag	gtg	cgg	gca	gca	ccc	cag	cca	ggc	act	624
	Asp	Ser	Ser	Tyr	Gln	Leu	Gln	Val	Arg	Ala	Ala	Pro	Gln	Pro	Gly	Thr	
						195						200			205		
	tca	tcc	agg	ggg	acc	tgg	agt	gag	tgg	agt	gac	ccc	gtc	atc	ttt	cag	672
	Ser	Phe	Arg	Gly	Thr	Trp	Ser	Glu	Trp	Ser	Asp	Pro	Val	Ile	Phe	Gln	
						210						220					

Fig. 13A

acc	cag	gct	ggg	gag	ctc	gag	gca	ggc	tgg	gac	ggc	tcc	ggc	tcc	aga	720
Thr	Gln	Ala	Gly	Glu	Pro	Glu	Ala	Gly	Trp	Asp	Gly	Ser	Gly	Ser	Arg	
225					230				235						240	

gagccccgag gacgacant caagccctgt cctccatgca atgcccagg taagtcaeta 780
 gaccagagct ccactcccgg gagnetgga agtgcataa acatccctgc actagaggat 840
 aagccatgta cagatccatt tccctctctc ctctatgca cctaacctcy aggtggacc 900
 atccgtcttc atcttctctc caagatcaa ggtgtactc atgactctcc tgagcccat 960
 agtcacatgt gtgggtgggg atgtgagcga ggtgaccca gatgtccaga tcaagtgggt 1020
 tttgacacac gtggagtag acacagctca gacacaaac cctagagagg attacacag 1080
 tactctccgg gtggtcagt cctccccat ccagcaccag gactggatga gtggcaggc 1140
 tttggcatgc gctgtacaa acaagacct cccagcgcc atcgagagaa ccatctcaa 1200
 acccaagggt gagagctga gctgactgc atgggggtg ggtgggcat aaggataag 1260
 gtctgtgtgg acagcttct gcttcagcca tgaccttgt gtagtcttct accttcacg 1320
 ggtcagtaag agctccacag gtatgtgtc tgcctccac agaagagag atgactaag 1380
 aacaggtac tctgacctgc atgttcacag acctctgcc tgaagcatt tccgtggagt 1440
 ggaacacaa cgggaaaca gactaaac acaagacac tgaaccagtc ctggactctg 1500
 atggttctta ctctatgtac agcagctga ggtggaaaa gaggactgg gtggaaaga 1560
 atagctactc ctgttcagt gtccacagg gtctgcaca tcaacacag actaagagct 1620
 tctccggac tccggtaaa tgaactcag accacaaa ctctcaggtc caagagaca 1680
 cccacactca tctctatgt tccctgtat aaataaagca cccagcaatg cctgggacca 1740
 tgtatagga attc 1754

Fig. 13B

ctgcaggtcg acaccacc atg ccc cgg ggc cca gtc gct ggc tta ctc ctg	51
Met Pro Arg Gly Pro Val Ala Ala Leu Leu Leu	10
ctg att ctc cat gga gct tgg agc tgc ctg gac ctc act tgc tnc acc	99
Leu Ile Leu His Gly Ala Trp Ser Cys Leu Asp Leu Thr Cys Tyr Thr	25
gac tac ctc tgg acc atc acc tgc gtc ctg gag aca cgg agc ccc aac	147
Asp Tyr Leu Trp Thr Ile Thr Cys Val Leu Glu Thr Arg Ser Pro Asn	35 40
ccc agc ata ctc agt ctc acc tgg caa gat gaa tat gag gaa ctt cag	195
Pro Ser Ile Leu Ser Leu Thr Trp Gln Asp Glu Tyr Glu Glu Leu Gln	45 50 55
gac caa gag acc ttc tgc agc cta cac agg tct ggc cac aac acc aca	243
Asp Gln Glu Thr Phe Cys Ser Leu His Arg Ser Gly His Asn Thr Thr	60 65 70 75
cat ata tgg tac acg tgc cat atg cgc tgg tct caa ttc ctg tcc gat	291
His Ile Trp Tyr Thr Cys His Met Arg Leu Ser Gln Phe Leu Ser Asp	80 85 90
gaa gtt ttc att gtc aat gtc acc gac cag tct ggc aac aac tcc caa	339
Glu Val Phe Ile Val Asn Val Thr Asp Gln Ser Gly Asn Asn Ser Gln	95 100 105
gag tgt ggc agc ttt gtc ctg gct gag agc atc aab cca gct ccc ccc	387
Glu Cys Gly Ser Phe Val Leu Ala Glu Ser Ile Lys Pro Ala Pro Pro	110 115 120
tgg aac gtc act gtc ggc ttc tca gaa cgc tat gat atc tcc tgg gac	435
Leu Asn Val Thr Val Ala Phe Ser Gly Arg Tyr Asp Ile Ser Trp Asp	125 130 135
tca gct tat gac gaa ccc tcc aac tac gtc ctg agg ggc aag cta caa	483
Ser Ala Tyr Asp Glu Pro Ser Asn Tyr Val Leu Arg Gly Lys Leu Gln	140 145 150 155
tat gag ctg cag tat cgg aac ctc aga gac ccc tat gct gtc agg ccg	531
Tyr Glu Leu Gln Tyr Arg Asn Leu Arg Asp Pro Tyr Ala Val Arg Pro	160 165 170
gtg acc aag ctg acc tca gtc gac tca agh aac gtc tct ctt ctc cct	579
Val Thr Lys Leu Ile Ser Val Asp Ser Arg Asn Val Ser Leu Leu Pro	175 180 185
gaa gag ttc cgc aag gat tct agc tac cag ctg cag gtc cgg gca gcg	627
Glu Glu Phe His Lys Asp Ser Ser Tyr Gln Leu Gln Val Arg Ala Ala	190 195 200
cct cag cca ggc act tcn ttc agg ggg acc tgg agt gag tgg agt gac	675
Pro Gln Pro Gly Thr Ser Phe Arg Gly Thr Trp Ser Glu Trp Ser Asp	205 210 215

Fig. 14A

" 10-100

```

ccc gtc atc ttt cag acc cag gct ggg gag ccc gag gca ggc tgg gac 723
Pro Val Ile Phe Gln Thr Gln Ala Gly Glu Pro Glu Ala Gly Trp Asp
220 225 230 235

ggc agc gga cat cac cat cat cac cac ggc agc ggc gac tat aag gac 721
Gly Ser Gly His His His His His His Gly Ser Gly Asp Tyr Lys Asp
240 245 250

gat gac gat aag tagtgagat tc SEQ ID NO: 36 795
Asp Asp Asp Lys SEQ ID NO: 37
255

```

Fig. 1A8

atg	aaa	ttc	tta	gtc	aac	gtt	gcc	cat	gtt	ttt	atg	gtc	gtg	tac	att	48
Met	Lys	Phe	Leu	Val	Asn	Val	Ala	Leu	Val	Phe	Met	Val	Val	Tyr	Ile	1
tct	tac	atc	tat	gcc	ggc	agc	gga	cac	cac	cat	cat	cac	cac	ggt	agc	96
Ser	Tyr	Ile	Tyr	Ala	Gly	Ser	Gly	His	His	His	His	His	His	Gly	Ser	20
ggc	gac	tat	aaa	gac	gat	gac	gat	aag	ggt	tcc	gga	tgc	ctg	gac	ctc	144
Gly	Asp	Tyr	Lys	Asp	Asp	Asp	Asp	Lys	Gly	Ser	Gly	Cys	Leu	Asp	Leu	35
act	tgc	tac	act	gac	tac	ctc	tgg	acc	atc	acc	tgt	gtc	ctg	gag	aca	392
Thr	Cys	Tyr	Thr	Asp	Tyr	Leu	Trp	Thr	Ile	Thr	Cys	Val	Leu	Glu	Thr	50
cdg	agc	ccc	aac	ccc	agc	ata	ctc	agt	ctc	acc	tgg	caa	gat	gaa	tat	240
Arg	Ser	Pro	Asn	Pro	Ser	Ile	Leu	Ser	Leu	Thr	Trp	Gln	Asp	Glu	Tyr	65
gag	gaa	ctt	cag	gac	caa	gag	acc	ttc	tgc	agc	cta	cac	agg	tct	ggc	288
Glu	Glu	Leu	Gln	Asp	Gln	Glu	Thr	Phe	Cys	Ser	Leu	His	Arg	Ser	Gly	85
cac	aac	acc	aca	cat	ata	tgg	tac	acg	tgc	cat	atg	cgc	tgg	tct	caa	336
His	Asn	Thr	Thr	His	Ile	Trp	Tyr	Thr	Cys	His	Met	Arg	Leu	Ser	Gln	100
ttc	ctg	tcc	gat	gaa	gtt	ttc	att	gtc	ant	gtg	acg	gac	cag	tct	ggc	384
Phe	Leu	Ser	Asp	Glu	Val	Phe	Ile	Val	Asn	Val	Thr	Asp	Gln	Ser	Gly	115
aac	aac	tcc	caa	gag	tgt	ggc	agc	ttt	gtc	ctg	gct	gag	agc	atc	aaa	432
Asn	Asn	Ser	Gln	Glu	Cys	Gly	Ser	Phe	Val	Leu	Ala	Glu	Ser	Ile	Lys	130
cca	gct	ccc	ccc	tgg	aac	gtg	act	gtg	gcc	ttc	tca	gga	cgc	tat	gat	480
Pro	Ala	Pro	Pro	Leu	Asn	Val	Thr	Val	Ala	Phe	Ser	Gly	Arg	Tyr	Asp	145
atc	tcc	tgg	gac	tca	gct	tat	gac	gaa	ccc	tcc	aac	tac	gtg	ctg	agg	528
Ile	Ser	Trp	Asp	Ser	Ala	Tyr	Asp	Glu	Pro	Ser	Asn	Tyr	Val	Leu	Arg	165
ggc	aag	cta	caa	tat	gag	ctg	cag	tat	cgg	aac	ctc	aga	gac	ccc	tat	576
Gly	Lys	Leu	Gln	Tyr	Glu	Leu	Gln	Tyr	Arg	Asn	Leu	Arg	Asp	Pro	Tyr	180
gct	gtg	agg	ccg	gtg	acc	aag	ctg	atc	tca	gtg	gac	tca	aga	aac	gtc	624
Ala	Val	Arg	Pro	Val	Thr	Lys	Leu	Ile	Ser	Val	Asp	Ser	Arg	Asn	Val	195
tct	ctt	ctc	cct	gaa	gag	tcc	cac	aaa	gat	tct	agc	tac	cag	ctg	cag	672
Ser	Leu	Leu	Pro	Glu	Glu	Phe	His	Lys	Asp	Ser	Ser	Tyr	Gln	Leu	Gln	210

Fig. 15A

gtg	cdg	gca	gca	cct	cag	cca	gac	act	tca	ttc	agg	ggg	acc	tgg	agt	720
Val	Arg	Ala	Ala	Pro	Gln	Pro	Gly	Thr	Ser	Phe	Arg	Gly	Thr	Trp	Ser	
225					230					235					240	
ggg	tgg	agt	gac	ccc	gtc	acc	ttt	cag	acc	cag	gct	ggg	ggg	ccc	ggg	768
Glu	Trp	Ser	Asp	Pro	Val	Ile	Phe	Gln	Thr	Gln	Ala	Gly	Glu	Pro	Glu	
				245				250						255		
gca	gac	tgg	gac	tag	gag	gac	tc	SEQ ID NO: 38								792
Ala	Gly	Trp	Asp					SEQ ID NO: 39								
			260													

Cronograma del modelo CIA

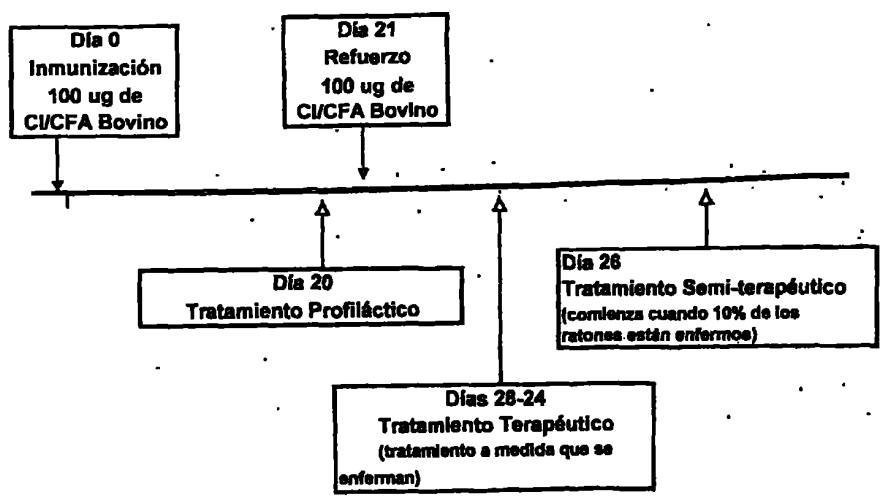


FIG.16

5/2/85

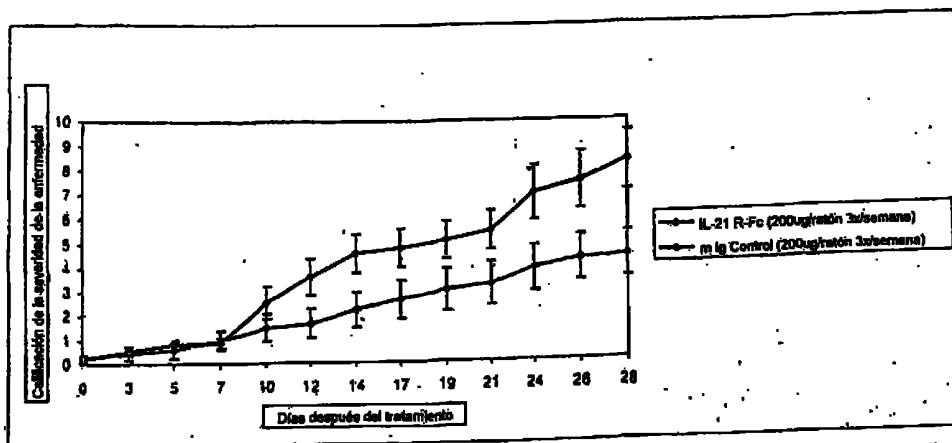


FIG.17

3

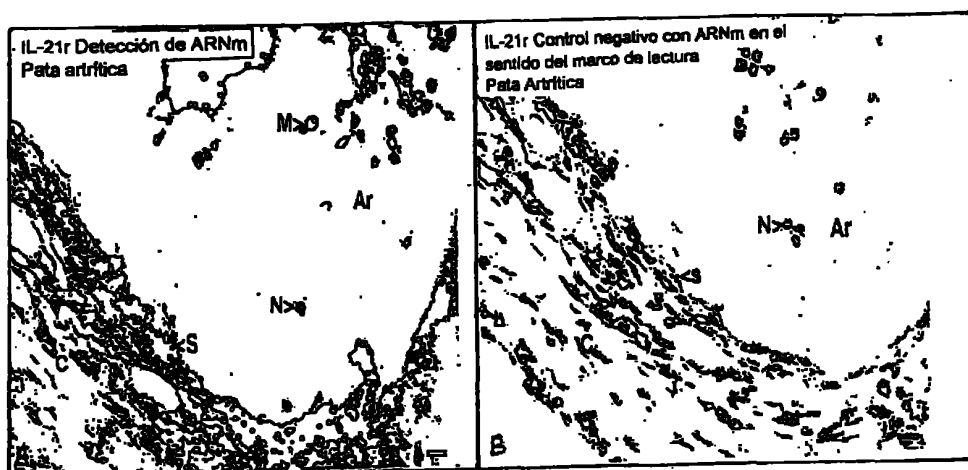
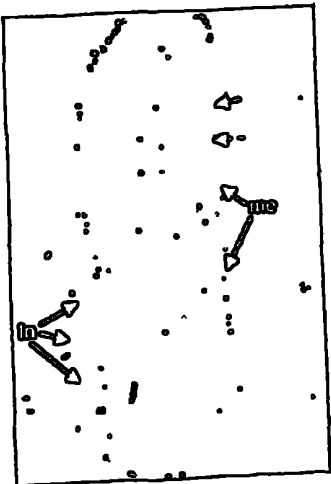


FIG. 18

55700

miL21RFc reduce la enfermedad en el modelo espontaneo de enfermedad intestinal inflamatoria cuando se lo administra con propósitos terapeuticos

Fig. 19



expresión in Situ de ARNm de IL21R en Intestino humano normal

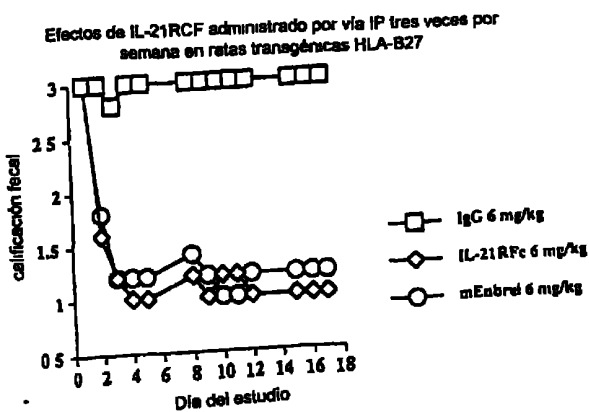
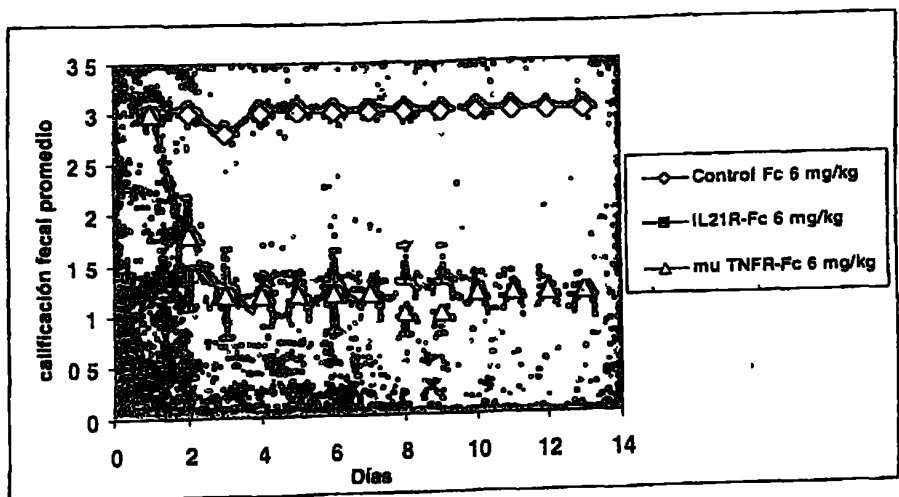


Fig. 19

IL21R-Fc murino reduce las señales clínicas de IBD en el modelo de autoinmunidad en ratas HLAB27

FIG. 20



Dosificación de MWF

Fig. 20

Figura 21

IL21R soluble reduce las señales clínicas de IBD en el modelo de autoinmunidad en ratas HLAB27.

Calificación histológica de la severidad de la enfermedad en el modelo de IBD en rata

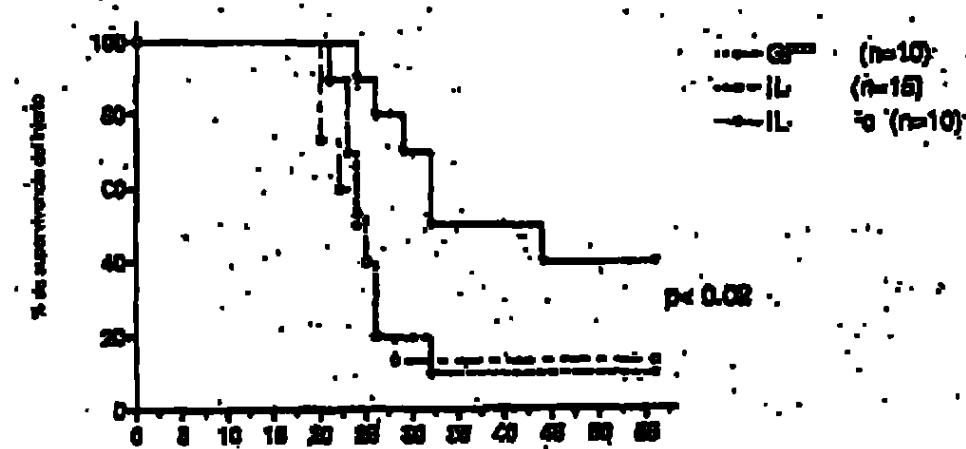
Grupo	Localización	Intensidad	Profundidad de la lesión	Fibrosis	Calificación total
	(0-2)	(0-3)	(0-3)	0-2	0-10
ipG 8 mg/kg	1.5 ± 0.45	2.6 ± 0.37	1.93 ± 0.60	1.33 ± 0.34	7.57 ± 1.62
TNFR-Fc 8 mg/kg	0.53 ± 0.30*	1.00 ± 0.53*	0.40 ± 0.37	0.59 ± 0.24	2.27 ± 1.28
IL21R-Fc 8 mg/kg	0.53 ± 0.58*	0.80 ± 0.45*	0.47 ± 0.46	0.20 ± 0.30*	2.00 ± 1.70

*señal < vehículo (p < 0,05) en ANOVA y la prueba de rango múltiple nueva de Duncan

Figura 22

Transducción retroviral de células T en el rechazo de injertos

IL-21R α

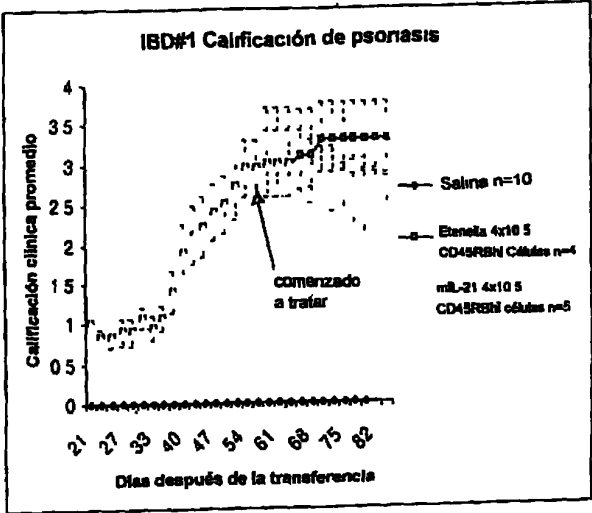
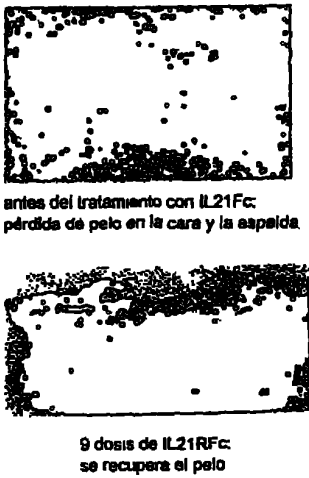


Días después de la transferencia adoptiva

Se infectaron células T B6 con GFP, IL-21 o retrovirus del IL-21R. Se inyectaron 3×10^5 células infectadas separadas en ratones B6 mixto con injertos de piel BALB/c existentes

El tratamiento terapéutico con IL21RFc revierte las señales clínicas de psoriasis en el modelo de transferencia adoptiva CD45Rbhi

FIG. 23



A los ratones se les proporcionó una dosis ip de IL21RFc en 200 ug de MWV

01700

Figura 24

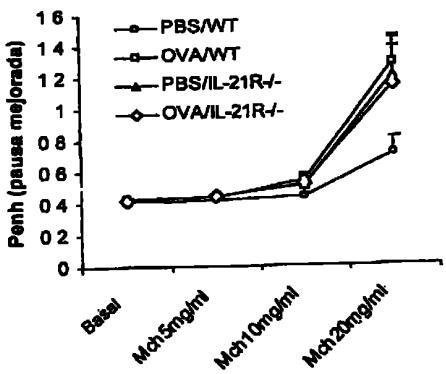
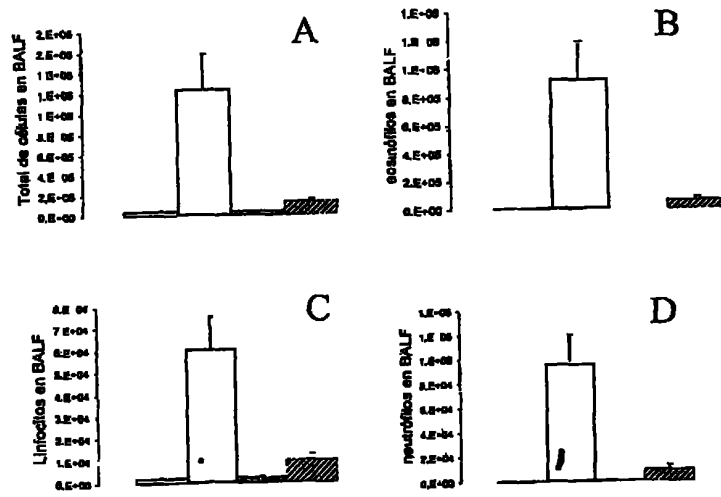
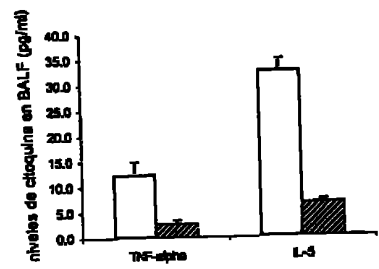


Figura 25



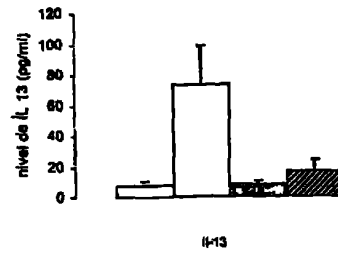
no/12

Figura 26



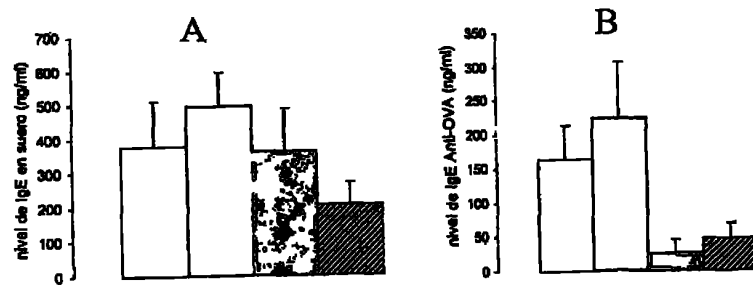
8-7700

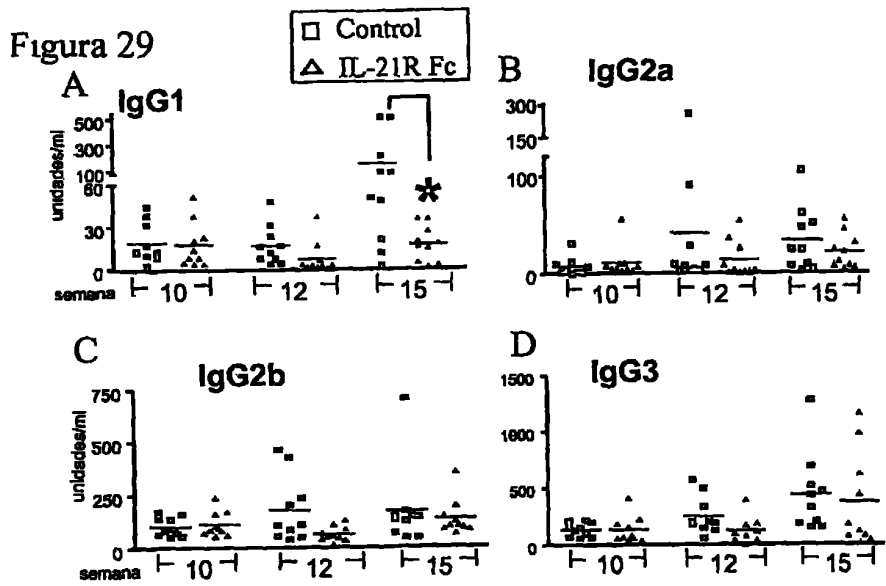
Figura 27

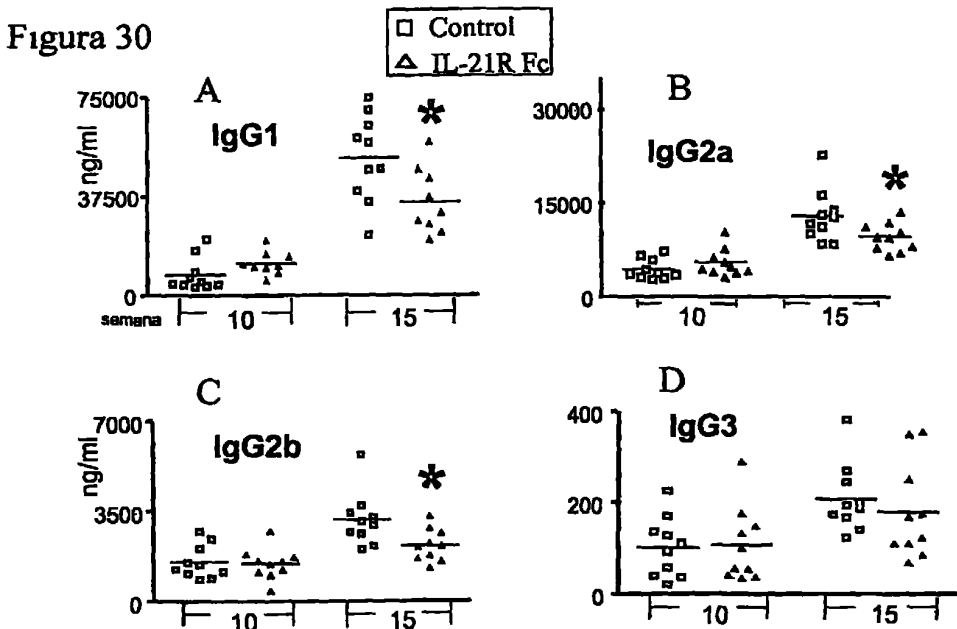


7700

Figura 28







— 65700

Figura 31

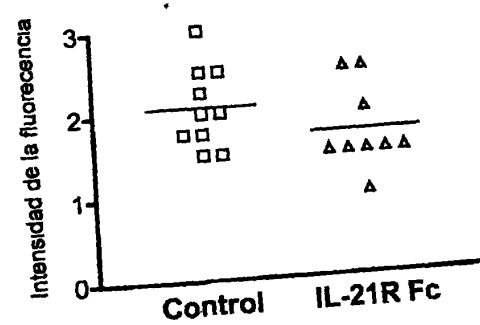
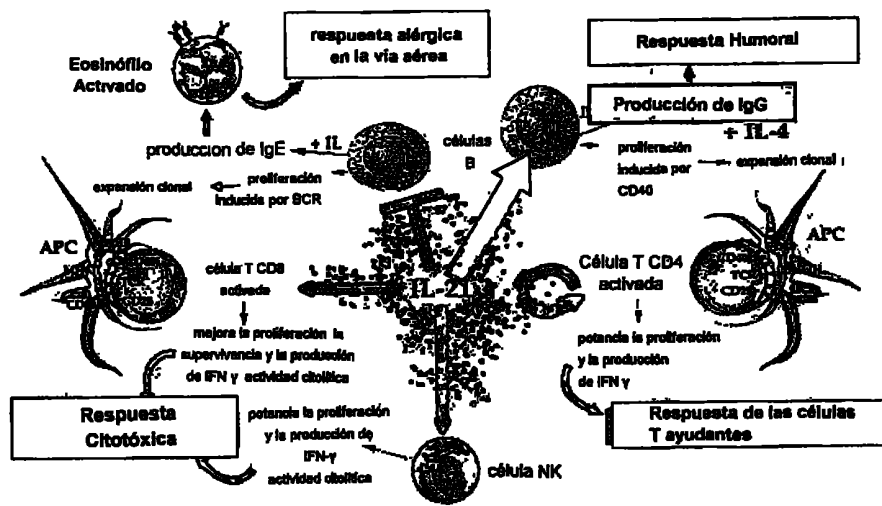


Figura 32



81200

Figura 33



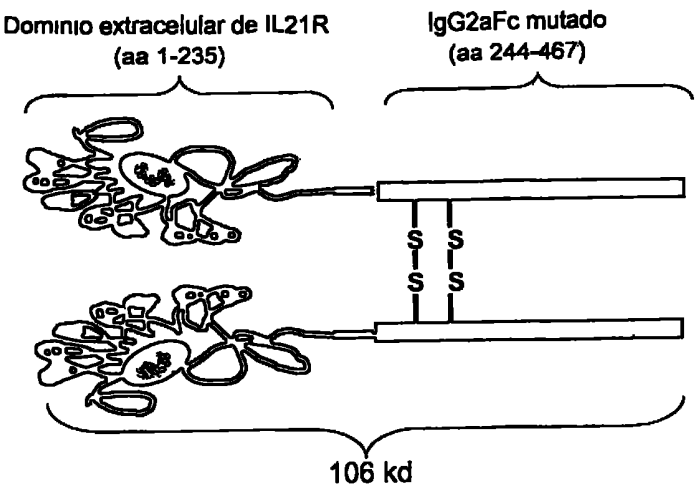
IL21 amplifica
la respuesta
inflamatoria

IL21R-Fc inhibe la
unión de IL-21 al receptor
de IL-21

El anticuerpo anti-IL21
secuestra IL21 del
receptor de IL21

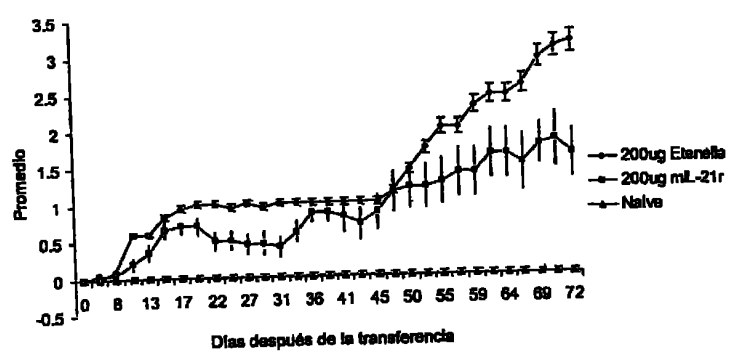
El anticuerpo
anti-IL21R bloquea
la unión de IL21
al receptor de IL21

Figura 34



467/500

Figura 35



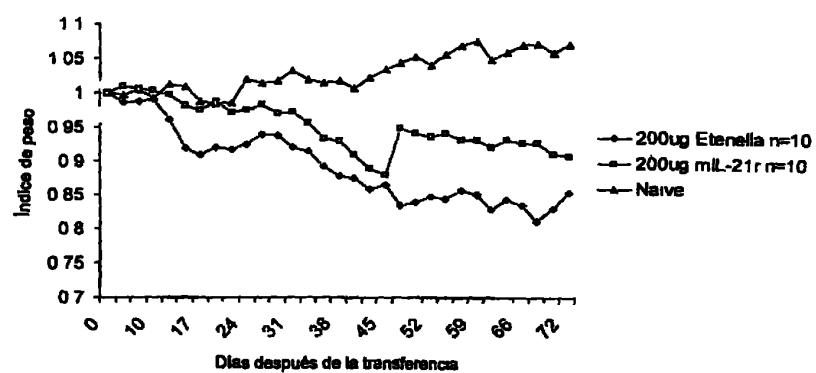
28/2/21

Figura 36

Tratamiento	Incidencia de Psonasis	Día de inicio promedio	Prueba de T	Mayor valor promedio de Psonasis	Prueba de T
200ug anti Etenella	9/10	13 3+3 28		2 72+1 09	
200ug mL-21r	9/10	30 67+21 58	0 043	1 78+1 08	0 086

nm-9

Figura 37



nm/24

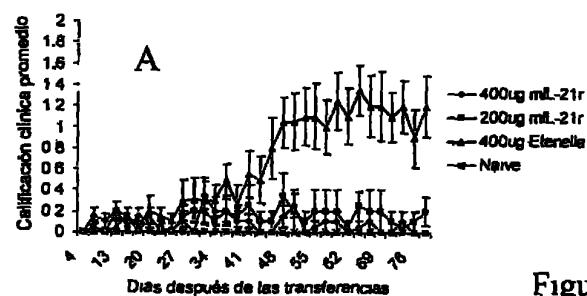


Figura 38

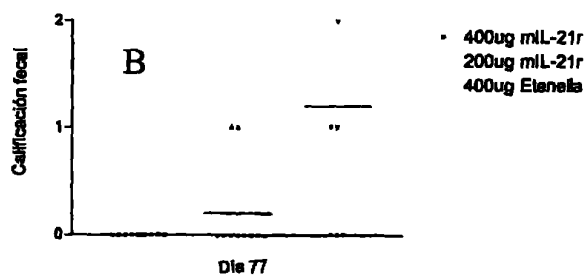
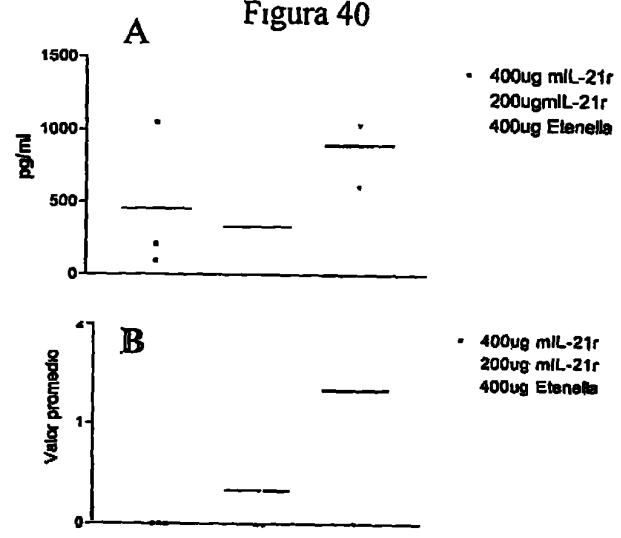


Figura 39

IBD#14 IBD(heces)					
Tratamiento	Incidencia de IBD	Día de inicio promedio	Prueba de T	Valor promedio más alto	Prueba de T
400ug Anti Etenella	9/10	36 22± 14 86		1 778± 0 441	
200ug mL-21r	6/10	36 67± 13 74	0 954	1 167± 0 408	0,018
400ug mL-21r	8/10	45 5± 17 485	0 261	1± 0	7,E-04

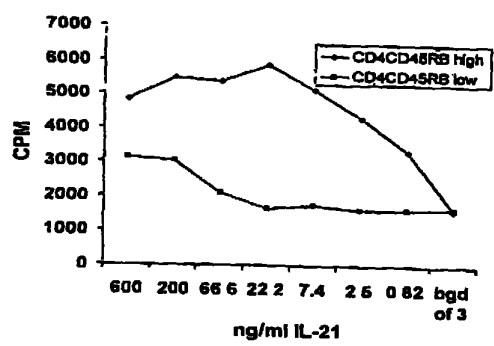
Figura 39

Figura 40



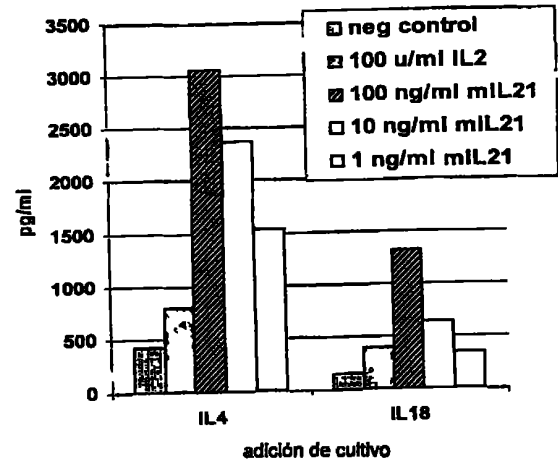
UNL

Figura 41



26700

Figura 42A



66700

Figura 42B

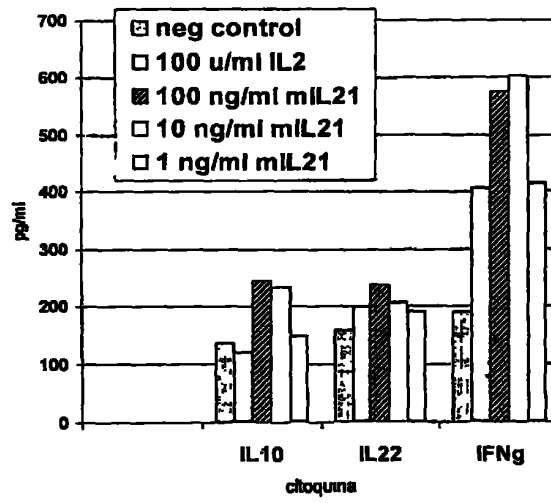
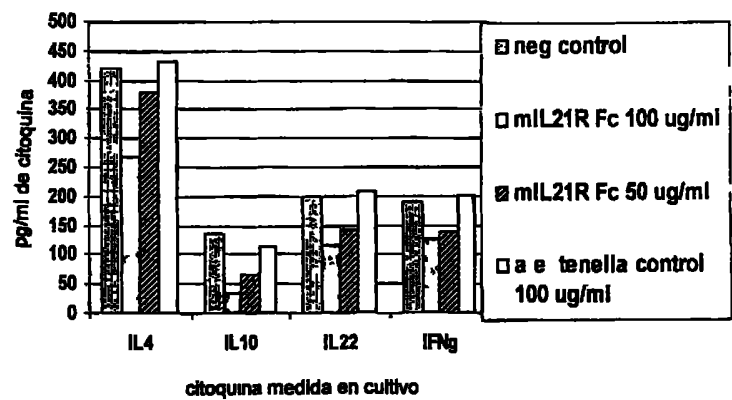


Figura 43



164400

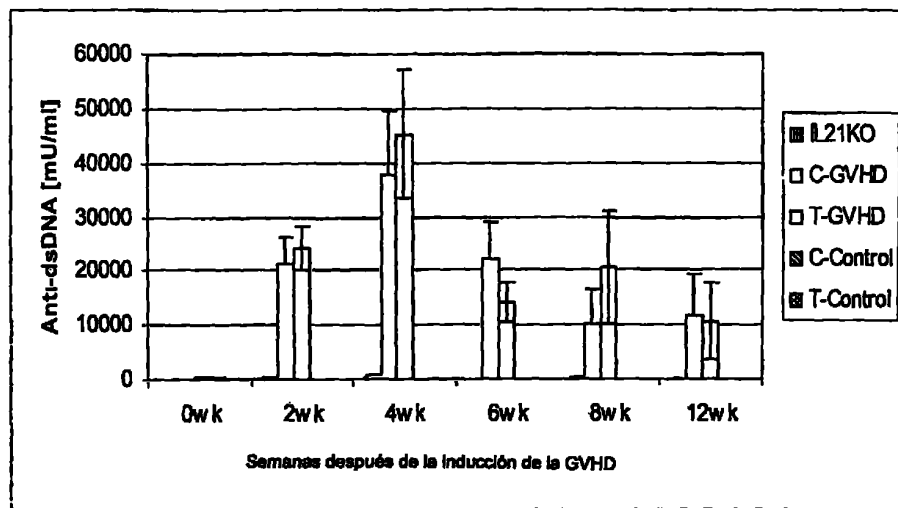


Figura 44A

26700

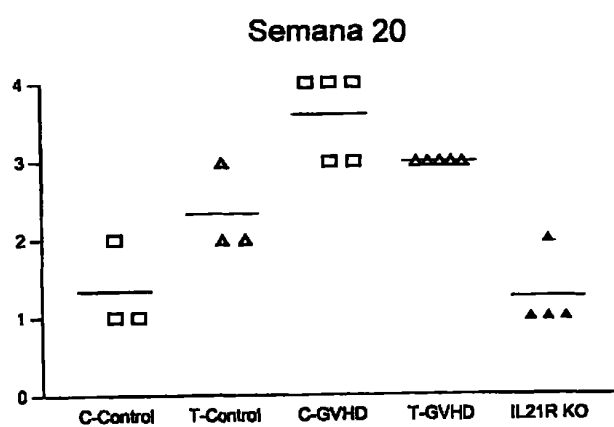


Figura 44B

८८३

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

(PCT Article 18 and Rules 43 and 44)

Applicant's or agent's file reference 01997.043400	FOR FURTHER ACTION see Form PCT/ISA/220 as well as, where applicable, Item 5 below.	
International application No. PCT/US2005/027912	International filing date (day/month/year) 05/08/2005	(Earliest) Priority Date (day/month/year) 05/08/2004
Applicant WYETH		

This international search report has been prepared by this International Searching Authority and is transmitted to the applicant according to Article 18. A copy is being transmitted to the International Bureau.

This international search report consists of a total of 7 sheets.

☒ It is also accompanied by a copy of each prior art document cited in this report.

1. Basis of the report

a. With regard to the language, the international search was carried out on the basis of:

- ☒ the international application in the language in which it was filed
☐ a translation of the international application into _____, which is the language of a translation furnished for the purposes of international search (Rules 12.3(a) and 23.1(b))

b. ☒ With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, see Box No. I.

2. ☒ Certain claims were found unsearchable (See Box No. II)

3. ☐ Unity of invention is lacking (see Box No. III)

4. With regard to the title,

- ☒ the text is approved as submitted by the applicant
☐ the text has been established by this Authority to read as follows:

5. With regard to the abstract,

- ☒ the text is approved as submitted by the applicant
☐ the text has been established, according to Rule 38.2(b), by this Authority as it appears in Box No. IV. The applicant may, within one month from the date of mailing of this international search report, submit comments to this Authority

6. With regard to the drawings,

a. the figure of the drawings to be published with the abstract is Figure No. 25

- ☒ as suggested by the applicant
☐ as selected by this Authority, because the applicant failed to suggest a figure
☐ as selected by this Authority, because this figure better characterizes the invention

b. ☐ none of the figures is to be published with the abstract

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US2005/027912

07/05

Box No. I Nucleotide and/or amino acid sequence(s) (Continuation of Item 1.b of the first sheet)

1. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application and necessary to the claimed invention, the international search was carried out on the basis of:
 - a. type of material
 - ☒ a sequence listing
 - ☐ table(s) related to the sequence listing
 - b. format of material
 - ☒ on paper
 - ☒ in electronic form
 - c. time of filing/furnishing
 - ☒ contained in the international application as filed
 - ☒ filed together with the international application in electronic form
 - ☐ furnished subsequently to this Authority for the purpose of search
2. ☐ In addition, in the case that more than one version or copy of a sequence listing and/or table relating thereto has been filed or furnished, the required statements that the information in the subsequent or additional copies is identical to that in the application as filed or does not go beyond the application as filed, as appropriate, were furnished.
3. Additional comments:

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

INV. A61K39/395 A61K38/17 C07K19/00 A61P37/00 C12N5/10
C12N15/63

436

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

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

A61K C07K

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

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

EPO-Internal, WPI Data, BIOSIS, EMBASE, Sequence Search

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 03/028630 A2 (WYETH CORP [US]; CARTER LAURA [US]; WHITTERS MATTHEW J [US]; COLLINS M) 10 April 2003 (2003-04-10) the whole document	1-32
X	WO 03/087320 A2 (BETH ISRAEL HOSPITAL [US]; MOLL THOMAS [US]; STROM TERRY B [US]; ZHENG) 23 October 2003 (2003-10-23) the whole document	1-32
	-/-	

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

☒ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

- *A* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- *E* earlier document but published on or after the international filing date
- *L* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- *O* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- *P* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

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

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

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

S document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

20 November 2006

Date of mailing of the international search report

04/12/2006

Name and mailing address of the ISA/

European Patent Office, P.O. Box 5518 Patentplan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-8040, Tx. 31 051 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3018

Authorized officer

Morawetz, Renate

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/US2005/027912

nn 27

437

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	DE GROOT-KRUSEMAN H A ET AL: "Intragraft mRNA expression of the novel cytokine IL-21 during acute rejection after clinical heart transplantation" JOURNAL OF HEART AND LUNG TRANSPLANTATION, vol. 21, no. 1, January 2002 (2002-01), page 165, XP002408141 & TWENTY-SECOND ANNUAL MEETING AND SCIENTIFIC SESSIONS OF THE INTERNATIONAL SOCIETY FOR HEART AND LUNG; WASHINGTON, DC, USA; APRIL 10-13, 2002 ISSN: 1053-2498 the whole document	2,3,12, 13, 15-20, 29-32
X	DE GROOT-KRUSEMAN H A ET AL: "Expression of the novel cytokine IL-21 during acute rejection after clinical heart transplantation and the effect of immunosuppressive agents." JOURNAL OF INTERFERON AND CYTOKINE RESEARCH, vol. 22, no. Supplement 1, 2002, pages S-97, XP009074923 & JOINT MEETING OF THE INTERNATIONAL SOCIETY FOR INTERFERON AND CYTOKINE RESEARCH, THE INTERNATIONAL C; TURIN, ITALY; OCTOBER 06-10, 2002 ISSN: 1079-9907 the whole document	2,3,12, 13, 15-20, 29-32
A	COLLINS M ET AL: "IL-21 AND IL-21 RECEPTOR. A NEW CYTOKINE PATHWAY MODULATES INNATE AND ADAPTIVE IMMUNITY" IMMUNOLOGIC RESEARCH, KARGER, BASEL, CH, vol. 28, no. 2, 2003, pages 131-140, XP009036147 ISSN: 0257-277X the whole document	
P,X	WO 2004/083249 A2 (WYETH CORP [US]; CAMBRIDGE ANTIBODY TECH [GB]; YOUNG DEBORAH A [US]; W) 30 September 2004 (2004-09-30) the whole document	1-32
	-/-	

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
P,X	OZAKI K ET AL: "Regulation of B cell differentiation and plasma cell generation by IL-21, a novel inducer of Blimp-1 and Bcl-6" JOURNAL OF IMMUNOLOGY, THE WILLIAMS AND WILKINS CO. BALTIMORE, US, vol. 173, no. 9, 1 November 2004 (2004-11-01), pages 5361-5371, XP002335928 ISSN: 0022-1767 the whole document	1-32 438
P,X	YOUNG DEBORAH A ET AL: "Neutralization of interleukin 21 reduces inflammatory cytokines and correlates with suppression of disease in mice adoptively transplanted with Cd45rbhi Cd4+ T cells." GASTROENTEROLOGY, vol. 128, no. 4, Suppl. 2, April 2005 (2005-04), pages A40-A41, XP009074980 & ANNUAL MEETING OF THE AMERICAN-GASTROENTEROLOGICAL-ASSOCIATION/D IGEST IVE-DISEASE-WEEK; CHICAGO, IL, USA; MAY 14 -19, 2005 ISSN: 0016-5085 the whole document	1-32

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US2005/027912

07439

Box II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

439

This International Search Report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☒ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
Although claims 1-20 and 29-32 are directed to a method of treatment of the human/animal body, the search has been carried out and based on the alleged effects of the compound/composition.
2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the International Application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful International Search can be carried out, specifically:
3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this International Search Report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this International Search Report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this International Search Report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.
- ☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

national application No

PCT/US2005/027912

00440

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 03028630	A2	10-04-2003	CA 2460916 A1 10-04-2003
		EP 1432431 A2 30-06-2004	
		JP 2005508915 T 07-04-2005	
WO 03087320	A2	23-10-2003	AU 2003230834 A1 27-10-2003
WO 2004083249	A2	30-09-2004	AU 2004221876 A1 30-09-2004
		BR PI0408315 A 07-03-2006	
		CA 2518371 A1 30-09-2004	
		CN 1777621 A 24-05-2006	
		EP 1603949 A2 14-12-2005	
		KR 20050119120 A 20-12-2005	
		MX PA05009556 A 16-11-2005	

From the
INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY

To:

see form PCT/ISA220

PCT

WRITTEN OPINION OF THE
INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY
(PCT Rule 43bis.1)Date of mailing
(day/month/year) see form PCT/ISA210 (second sheet)Applicant's or agent's file reference
see form PCT/ISA220FOR FURTHER ACTION
See paragraph 2 belowInternational application No.
PCT/US2005/027912International filing date (day/month/year)
05.08.2005Priority date (day/month/year)
05.08.2004International Patent Classification (IPC) or both national classification and IPC
INV. A61K38/395 A61K38/17 C07K18/00 A61P37/00 C12N5/10 C12N15/83Applicant
WYETH

1. This opinion contains indications relating to the following items:

- ☒ Box No. I Basis of the opinion
☒ Box No. II Priority
☒ Box No. III Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability
☐ Box No. IV Lack of unity of invention
☒ Box No. V Reasoned statement under Rule 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") except that this does not apply where the applicant chooses an Authority other than this one to be the IPEA and the chosen IPEA has notified the International Bureau under Rule 68.1bis(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 3 months from the date of mailing of Form PCT/ISA220 or before the expiration of 22 months from the priority date, whichever expires later.

For further options, see Form PCT/ISA220.

3. For further details, see notes to Form PCT/ISA220.

FILE NO. 01997.043400.PC
ATTORNEY JPP
DUE DATE 3/4/07
DOCKETED VMS 12/11/06

Name and mailing address of the ISA:

European Patent Office
D-80298 Munich
Tel. +49 89 2369 - 0 Tx: 523658 apmu d
Fax: +49 89 2369 - 4465Date of completion of
this opinionsee form
PCT/ISA210

Authorized Officer

Morawetz, Renate

Telephone No. +49 89 2369-8155



**WRITTEN OPINION OF THE
INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY**

442
00/62
International application No.
PCT/US2005/027912

Box No. I Basis of the opinion

1. With regard to the language, this opinion has been established on the basis of:
 - ☒ the international application in the language in which it was filed
 - ☐ a translation of the international application into , which is the language of a translation furnished for the purposes of international search (Rules 12.3(a) and 23.1 (b)).
2. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application and necessary to the claimed invention, this opinion has been established on the basis of:
 - a. type of material:
 - ☒ a sequence listing
 - ☐ table(s) related to the sequence listing
 - b. format of material:
 - ☒ on paper
 - ☒ in electronic form
 - c. time of filing/furnishing:
 - ☒ contained in the international application as filed.
 - ☒ filed together with the international application in electronic form.
 - ☐ furnished subsequently to this Authority for the purposes of search.
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:

Box No. II Priority

1. ☒ The validity of the priority claim has not been considered because the International Searching Authority does not have in its possession a copy of the earlier application whose priority has been claimed or, where required, a translation of that earlier application. This opinion has nevertheless been established on the assumption that the relevant date (Rules 43bis.1 and 64.1) is the claimed priority date.
2. ☐ This opinion has been established as if no priority had been claimed due to the fact that the priority claim has been found invalid (Rules 43bis.1 and 64.1). Thus for the purposes of this opinion, the international filing date indicated above is considered to be the relevant date.
3. Additional observations, if necessary:

**WRITTEN OPINION OF THE
INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY**

nn/43 443
International application No.
PCT/US2005/027912

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. 1-20, 29-32

because:

☒ the said international application, or the said claims Nos. 1-20, 29-32 relate to the following subject matter which does not require an international search (specify):

see separate sheet

☐ the description, claims or drawings (indicate particular elements below) or said claims Nos. are so unclear that no meaningful opinion could be formed (specify):

☐ the claims, or said claims Nos. are so inadequately supported by the description that no meaningful opinion could be formed (specify):

☐ no international search report has been established for the whole application or for said claims Nos.

☐ a meaningful opinion could not be formed without the sequence listing; the applicant did not, within the prescribed time limit:

☐ furnish a sequence listing on paper complying with the standard provided for in Annex C of the Administrative Instructions, and such listing was not available to the International Searching Authority in a form and manner acceptable to it.

☐ furnish a sequence listing in electronic form complying with the standard provided for in Annex C of the Administrative Instructions, and such listing was not available to the International Searching Authority in a form and manner acceptable to it.

☐ pay the required late furnishing fee for the furnishing of a sequence listing in response to an invitation under Rules 13ter.1(a) or (b).

☐ a meaningful opinion could not be formed without the tables related to the sequence listings; the applicant did not, within the prescribed time limit, furnish such tables in electronic form complying with the technical requirements provided for in Annex C-bis of the Administrative Instructions, and such tables were not available to the International Searching Authority in a form and manner acceptable to it.

☐ the tables related to the nucleotide and/or amino acid sequence listing, if in electronic form only, do not comply with the technical requirements provided for in Annex C-bis of the Administrative Instructions.

☐ See Supplemental Box for further details

**WRITTEN OPINION OF THE
INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY**

444
nn444
International application No.
PCT/US2005/027912

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

1. Statement

Novelty (N)	Yes: Claims	31, 32
	No: Claims	1-30
Inventive step (IS)	Yes: Claims	
	No: Claims	31, 32
Industrial applicability (IA)	Yes: Claims	21-28
	No: Claims	

2. Citations and explanations

see separate sheet

Box No. VI Certain documents cited

1. Certain published documents (Rules 43bis.1 and 70.10)

and /or

2. Non-written disclosures (Rules 43bis.1 and 70.9)

see form 210

Re Item III

Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability

Claims 1-20 and 29-32 relate to subject-matter considered by this Authority to be covered by the provisions of Rule 67.1(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).

Re Item V

Reasoned statement with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement

1. Cited documents

Reference is made to the documents cited in the international search report:

- D1: WO 03/028630 A2 (2003-04-10)
- D2: WO 03/087320 A2 (2003-10-23)
- D3: DE GROOT-KRUSEMAN H A ET AL: "Intragraft mRNA expression of the novel cytokine IL-21 during acute rejection after clinical heart transplantation" JOURNAL OF HEART AND LUNG TRANSPLANTATION, vol. 21, no. 1, January 2002 (2002-01), page 165, XP002408141 & TWENTY-SECOND ANNUAL MEETING AND SCIENTIFIC SESSIONS OF THE INTERNATIONAL SOCIETY FOR HEART AND LUNG; WASHINGTON, DC, USA; APRIL 10-13, 2002 ISSN: 1053-2498
- D4: DE GROOT-KRUSEMAN H A ET AL: "Expression of the novel cytokine IL-21 during acute rejection after clinical heart transplantation and the effect of immunosuppressive agents." JOURNAL OF INTERFERON AND CYTOKINE RESEARCH, vol. 22, no. Supplement 1, 2002, pages S-97, XP009074923 & JOINT MEETING OF THE INTERNATIONAL SOCIETY FOR INTERFERON AND CYTOKINE RESEARCH, THE INTERNATIONAL C; TURIN, ITALY;

OCTOBER 06-10, 2002 ISSN: 1079-9907

2. Subject-matter of the application

Present application relates to a method of treating, ameliorating, or preventing an autoimmune, an inflammatory disorder, an arthritic disorder, an atopic disease, a respiratory disorder, etc, in a mammalian subject, comprising administering to the subject an IL-21/IL-21R antagonists selected from the group of consisting of an anti-IL-21R antibody, an anti-IL21 antibody, an antigen-binding fragment of an anti-IL-21R antibody, an antigen-binding fragment of an anti-IL-21 antibody, and an IL-21R soluble fragment.

3. Novelty

3.1. The present application does not meet the criteria of Article 33(1) PCT, because the subject-matter of claims 1-30 is not new in the sense of Article 33(2) PCT.

D1 discloses (page 2, line 4 -page 6, line 14) the use of IL- 21/IL-21R antagonists for the treatment of e.g. immune cell-associated disorders, transplant rejection, autoimmune disorder (e. g. , including, for example, diabetes mellitus (type I), arthritis (including rheumatoid arthritis, juvenile rheumatoid arthritis, osteoarthritis, psoriatic arthritis, and ankylosing spondylitis), multiple sclerosis, myasthenia gravis, vasculitis, systemic lupus erythematosus, autoimmune thyroiditis, dermatitis (including atopic dermatitis and eczematous dermatitis), psoriasis, scleroderma, asthma, allergy, IBD or Crohn's disease). The antagonist can be a fusion protein that includes a fragment of an IL-21R fused to a non-IL21R fragment, e. g. , an immunoglobulin Fc region. In other embodiments, the antagonist is an anti-IL21R or anti-IL21 antibody or an antigen-binding fragment thereof, or a soluble form of the IL-21 receptor. In a preferred embodiment, the fusion protein includes at least a fragment of an IL-21R polypeptide, which is capable of binding IL-21, e. g. , a soluble fragment of an IL-21R (e. g. , a fragment of an IL-21R comprising the extracellular domain of murine or human IL-21R; e. g. , from about amino acids 1-235, 1-236, 20-235, 20-236 of SEQ ID NO : 2 (human), or from about amino acids 1-236, 20-236 of SEQ ID NO : 10

(murine), or encoded by the corresponding nucleotides of SEQ ID NO : 1 or 9, or a sequence at least 85%, 90%, 95%, 98% or more identical thereto) and, e. g. , fused to, a second moiety, e. g. , a polypeptide (e. g. , an immunoglobulin chain, an Fc fragment.

Examples of antagonistic fusion proteins that can be used according to D1 (page 11, line 16 - page 12, line -31) are shown in Figures 7-15 (SEQ ID NO : 23, SEQ ID NO : 25, SEQ ID NO : 27, SEQ ID NO : 29, SEQ ID NO : 31, SEQ ID NO : 33, SEQ ID NO : 35, SEQ ID NO : 37, or SEQ ID NO : 39). These sequences are identical with the sequences of the antagonistic fusion proteins according to present application.

Nucleic acid sequences encoding the fusion proteins, host cells, vectors, methods of producing the fusion proteins and pharmaceutical composition comprising the fusion proteins are likewise disclosed.

Examples of further the disorders that can be treated according to D1 include (page 52, line 21 - page 54, line 27) transplant rejection, autoimmune diseases (including diabetes mellitus, arthritis (including rheumatoid arthritis, juvenile rheumatoid arthritis, osteoarthritis, psoriatic arthritis), multiple sclerosis, encephalomyelitis, myasthenia gravis, systemic lupus erythematosus, autoimmune thyroiditis, dermatitis (including atopic dermatitis and eczematous dermatitis), psoriasis, Sjogren's Syndrome, Crohn's disease, aphthous ulcer, iritis, conjunctivitis, keratoconjunctivitis, ulcerative colitis, spondyloarthropathy, ankylosing spondylitis, intrinsic asthma, allergic asthma, cutaneous lupus erythematosus, scleroderma, vaginitis, proctitis, drug eruptions, leprosy reversal reactions, erythema nodosum leprosum, autoimmune uveitis, allergic encephalomyelitis, acute necrotizing hemorrhagic encephalopathy, idiopathic bilateral progressive sensorineural hearing loss, aplastic anemia, pure red cell anemia, idiopathic thrombocytopenia, polychondritis, Wegener's granulomatosis, chronic active hepatitis, Stevens- Johnson syndrome, idiopathic sprue, lichen planus, Graves' disease, sarcoidosis, primary biliary cirrhosis, uveitis posterior, and interstitial lung fibrosis), graft- versus- host disease, and allergy such as, atopic allergy. D1 discloses moreover examples 1-8 of present application.

D1 thus anticipates at least the subject-matter of claims 1-30.

3.2. The subject-matter of claims 31 and 32 appears to be novel in view of the available prior art.

4. Inventive step

The present application does not meet the criteria of Article 33(1) PCT, because the subject-matter of claims 31 and 32 does not involve an inventive step in the sense of Article 33(3) PCT.

Claim 31 relates to a method of treating, preventing or ameliorating transplant/graft rejection in a mammalian transplant/graft recipient comprising: detecting a symptom of transplant/graft rejection in a transplant/graft recipient and administering to the transplant/graft recipient an IL-21/IL-21R antagonist.

Documents D1 discloses the use IL-21 antagonists for the treatment or prevention of transplant rejection (page 52, lines 24-25).

This authority is of the opinion that claim 31 lacks an inventive step in view of D1 since the additional step of detecting a symptom of transplant/graft rejection in a transplant/graft recipient is devoid of any inventive activity.

Dependent claim 32 does not contain any features which, in combination with the features of claim 31, meet the requirements of the PCT in respect of inventive step either.

Re Item VI

Certain documents cited

Certain published documents

Application No Patent No	Publication date (day/month/year)	Filing date (day/month/year)	Priority date (valid claim) (day/month/year)
PCT/US2004/007444	30.09.2004	12.03.2004	14.03.2003

Bitte beachten Sie, dass angeführte Nichtpatentliteratur (wie z. B. wissenschaftliche oder technische Dokumente) je nach geltendem Recht dem Urheberrechtsschutz und/oder anderen Schutzarten für schriftliche Werke unterliegen könnte. Die Vervielfältigung urheberrechtlich geschützter Texte, ihre Verwendung in anderen elektronischen oder gedruckten Publikationen und ihre Weitergabe an Dritte ist ohne ausdrückliche Zustimmung des Rechtsinhabers nicht gestattet.

● Veuillez noter que les ouvrages de la littérature non-brevets qui sont cités, par exemple les documents scientifiques ou techniques, etc., peuvent être protégés par des droits d'auteur et/ou toute autre protection des écrits prévue par les législations applicables. Les textes ainsi protégés ne peuvent être reproduits ni utilisés dans d'autres publications électroniques ou imprimées, ni rediffusés sans l'autorisation expresse du titulaire du droit d'auteur.

● Please be aware that cited works of non-patent literature such as scientific or technical documents or the like may be subject to copyright protection and/or any other protection of written works as appropriate based on applicable laws. Copyrighted texts may not be copied or used in other electronic or printed publications or re-distributed without the express permission of the copyright holder.

XS CPRTENFRDE

EN(0) 9514452 Tardeta

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

DIVISION DE NUEVAS CREACIONES

EXTRACTO PARA PUBLICACIÓN

SOLICITUD DE PATENTE DE INVENCION PCT

Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

000000

(21) N° de solicitud: 07 7680				(51) Int Cl: A61K 38/17, A61K 38/385, A61P 37/00, C07K 19/00, C12N 15/63, C12N 5/10	
22) Fecha de solicitud: 26/01/2007				(71) Solicitante(s) WYETH	
(30) Prioridad	(31) No.	(32) Fecha	(33) País	(72) Inventor(es) YOUNG, Deborah A COLLINS, Mary Otros	
	60/599,086	05/08/04	US		
	60/636,176	23/12/04	US	(74) Apoderado: ALVARO CORREA ORDOÑEZ	
(85) Fecha límite inicio fase nacional: 05/02/07				(87) Publicación internacional	
(86) Datos relativos a la presentación de la solicitud PCT				Fecha: 21/12/06	
Fecha de presentación de la solicitud: 05/08/05				N° publicación: WO 2006/135385	
No. de solicitud PCT/US2005/027912					
(54) Título: ANTAGONISMO DE LA ACTIVIDAD DEL RECEPTOR DE INTERLEUQUINA 21					

Reivindicación(es):

1. Un método para tratar, mejorar o prevenir un trastorno autoinmune o inflamatorio en un sujeto mamífero, que comprende administrar al sujeto un antagonista de IL-21/IL-21R seleccionado del grupo que consiste en un anticuerpo anti-IL-21R, un anticuerpo anti-IL-21, una porción de unión a antígeno de un anticuerpo anti-IL-21R, una porción de unión a antígeno de un anticuerpo anti-IL-21 y un fragmento soluble de IL-21R, en una cantidad suficiente para tratar, mejorar o prevenir el trastorno.



REQUISITOS MINIMOS PARA ADMISION A TRAMITE PCT

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 presenta la solicitud []
- ◆ Descripción de la invención []
- ◆ Dibujos de ser estos pertinentes []
- ◆ 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 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 un Esquema de Trazado []
- ◆ Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud []
- ◆ Representación gráfica del esquema trazado []
- ◆ Comprobante de pago de las tasas establecidas []

COMPLETA []

INCOMPLETA []

Firma Responsable

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

Rad: 07-007680-00000-0000

Fecha Feb: 2007-01-26 16:01:16 Dep. 2021 INCREACIONES

Tiz 11 PATENTERII

E: 576 FASENACIONALI

et411 PRESENTACION

Follet 452

Carrera 13.No. 27-00 Piso 5, 7 y 10

Conmutador: 3 82 08 40

Fax: 350 52 20

E-mail: info@sic.gov.co

www.sic.gov.co

Bogotá, D.C., Colombia

REPUBLICA DE COLOMBIA
SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCI

Bogotá,
2020

Doctor(a)
CORREA ORDOÑEZ ALVARO

REFERENCIA	Radicación No.	07 7680
	Solicitud internacional	PCT/US2005/027912
	Fecha inicio fase nacional	05/03/2007
	Trámite	11
	Evento	378
	Actuación	430
	Oficio No.	2580

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.

2. La solicitud no contiene el poder debidamente otorgado, con el lleno de los requisitos exigidos por los artículos 63 y subsiguientes del Código de Procedimiento Civil. Adicionalmente, deberá presentar el documento que acredita la existencia y representación legal de la sociedad solicitante, cuando ésta fuere persona jurídica.

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 al 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 CARMENZA CESPEDES DE VERGEL
Jefe de la división de Nuevas Creaciones

El anterior requerimiento fue notificado por fijación en lista de fecha 23 FEB. 2007 leraso