



SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
Rad: 07-009955- -00000-0000
Fec: 2007-02-01 16:43:49 Dep. 2020 NUECREACIONES
Tra. 11 PATENTE IYII
Eve: 378 FASE NACIONAL
Art 411 PRESENTACION Eolines: 1AN

PETITORIO - FORMULARIO ÚNICO DE SOLICITUD
PATENTE PCT
ENTRADA EN FASE NACIONAL
SOLICITUD DE:

1

☒

Patente de Invención.

☐

Patente de Modelo de Utilidad.

☒

Capítulo I.

☐

Capítulo II.

2

SOLICITANTE
(71)Nombre: NOVARTIS AGDirección: Lichtstrasse 35, CH-456 BaselNacionalidad o Domicilio: SuizaLugar de Constitución: Suiza

Teléfono: _____

Fax: _____

E-mail: _____

IDENTIFICACIÓN

C.C. ☐ NIT ☐C.E. ☐ Otro ☐

Cual _____

Número _____

REPRESENTANTE
O APODERADONombre: CARLOS R. OLARTEDirección: World Trade Center Torre A,
Calle 100 No. 8A-37 Piso 10Teléfono: 601-7700 Fax: 601-7799E-mail: office@olarteraisbeck.com

IDENTIFICACIÓN

C.C. ☒ NIT ☐C.E. ☐ Otro ☐

Cual _____

Número 79782747Bta
TP 74.295INVENTOR (ES)
(72)Nombre: VER PÁGINA ADJUNTADirección: VER PAGINA ADJUNTANacionalidad o Domicilio: VER PAGINA ADJUNTA

5

PCT (86)

Solicitud Internacional No. PCT/EP2005/008361Fecha Agosto 2, 2005Publicación Internacional No. WO 2006/013087Fecha Febrero 9, 2006

6

Título (54) ANTICUERPOS MONOCLONALES HUMANOS CONTRA
INTERLEUCINA-4 HUMANA (IL-4)Clasificación Internacional (51) C07K 16/24Prioridad
SI ☒ NO ☐

(33) País de Origen

GB

GB

GB

GB

GB

(32) Fecha

Agosto 3, 2004

Agosto 3, 2004

Agosto 3, 2004

Agosto 3, 2004

Agosto 3, 2004

(31) Número de Solicitud

0417301.9

0417302.7

0417303.5

0417304.3

0417305.0; 0417306.8

9

Comprobante de pago No. 07-7.387Fecha Enero 25, 2007

0

ANEXOS

x

Comprobante de pago de la tasa de presentación de la solicitud.

Documento que acredita la existencia y representación legal cuando el solicitante sea persona jurídica.

x

Poderes, si fuere el caso. Adjunto copia simple ver expediente No. 06-076.505.

Documento de cesión del inventor al solicitante o a su causante.

Declaraciones.

x

Copia de la solicitud internacional. (Resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos).

x

Traducción de la solicitud internacional al castellano. (Resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos).

Copia del examen preliminar internacional efectuado por la Autoridad Internacional de Examen Preliminar (IPEA).

Traducción del examen preliminar internacional efectuado por la IPEA.

De ser el caso, copia del contrato de acceso.

De ser el caso, documento que acredite la licencia o autorización de uso de conocimientos tradicionales de las comunidades indígenas.

De ser el caso, certificado de depósito del material biológico.

Arte final 12 x 12.

De ser el caso, información sobre otras solicitudes de patente o títulos obtenidos en el extranjero por el mismo titular o su causante, relacionadas parcial o totalmente con la invención de esta solicitud.

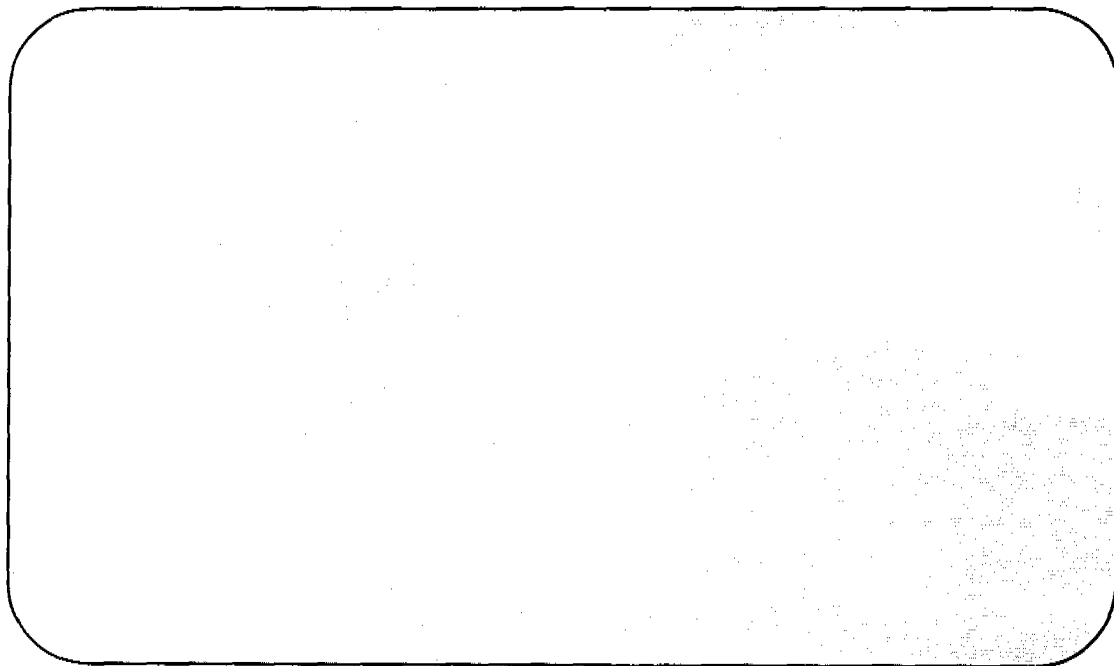
De ser el caso, modificaciones efectuadas a la solicitud internacional.

x

Otros. Búsqueda Internacional

1

FIGURA CARACTERÍSTICA:



2

Solicito la concesión de la patente,

NOMBRE: CARLOS R. OLARTE

FIRMA: [Signature]

C.C. 79.782.747 Btá T.P. 74.295

3
25 B

LISTA DE INVENTORES PCT/EP2005/008361

1. JOSE M CARBALLIDO HERRERA

Bernhard Weissgasse 6/3,

A-2380 Perchtoldsdorf.

Austria.

Nacionalidad: Española

2. JAN E. DE VRIES

Neue Welt Gasse 16/1,

A-1130 Wien.

Austria.

Nacionalidad: Países Bajos

3. CHRISTOPH SCHWAERZLER

Arndtstrasse 42/37R,

A-1120 Wien.

Austria.

Nacionalidad: Austria

44

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

NIT : 800070100 2

RECIBO OFICIAL DE CAJA : 07 - 7.007
FECHA : ENERO 25 DE 2007

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

Rad. 07-009955- -00000-0000

Fec: 2007-02-01 16:43:49 Dep. 2020 NUECREACIONE.

Tra. 11 PATENTEIYII

Eve: 378 FASENACIONALI

Act 411 PRESENTACION

Folios: 160

***** CONSIGNACION *****

DEPOSITANTE	TIPO CASO	BANCO	CUENTA	Nº. CERO	FECHA DEL	
PLANTE RAISBERG	CONSIGNACION	BANCO POPULAR	050-00010-6	50477079	02/01/2007	5.000.000,00

***** D E N O T A C I O N *****

CONCEPTO	TOTAL CONCEPTO
1 50000-01-01 SOLICITUDES	
TRÁMITES DE SOL. DE PATENTE DE IN	402.000,00
TOTAL :	402.000,00

EN: CUATROCIENTOS CINCUENTA Y DOS MIL PESOS

RESPONSABLE :

RECIBO DE CAJA APLICADO AL EXPEDIENTE N°. _____



Nota del traductor:

El documento adjunto de poder de Novartis AG a Carlos R. Olarte y/o J. Ian Raisbeck y/o Ana Maria Frieri y/o Juan Guillermo Moure y/o Natalia Castro lleva los siguientes datos en inglés.

CERTIFICACIÓN NOTARIAL

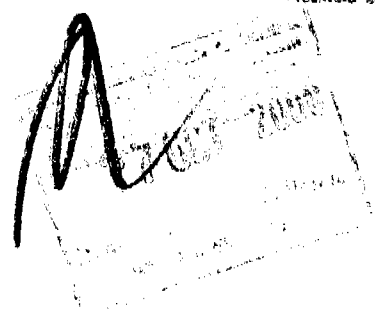
1. En esta fecha, día 30 de Agosto de 2006, yo, el suscrito Notario Público certifico por medio del presente la autenticidad de las firmas del señor Arthur Canonica, ciudadano de Corticiasca, Suiza, residente en Wisen/SO, Suiza, y del Sr. Pascal Traub, ciudadano de Riehen, Suiza, residente en Basilea, Suiza, ambos personas mayores de edad y con dirección comercial en Lichstrasse 35, 4056, Basilea, Suiza. La autenticidad de la firmas fue establecida por medio de la comparación.
2. Además, yo, el Notario Público, certifico por el presente que las anteriores personas han ejecutado el anterior documento como apoderados de Novartis AG.
3. Además, yo, el Notario Público certifico por el presente que Novartis AG, con su principal lugar de negocios en Basilea, Suiza, está debidamente constituida, está actualmente vigente y que los propósitos para los cuales se otorgó el Documento de Poder están dentro del alcance de sus propósitos corporativos.



Traductor Oficial

JORGE E. SIERRA REYES

Licencia 376 - 1993 Minjusticia



66

4. Además, yo, el Notario Público, certifico por el presente que las anteriores personas tienen la autoridad para ejecutar el documento de Poder y que por este instrumento, su representación es legal.

La base para mis certificaciones de los puntos 2, 3 y 4 fue la exhibición de los siguientes documentos auténticos:

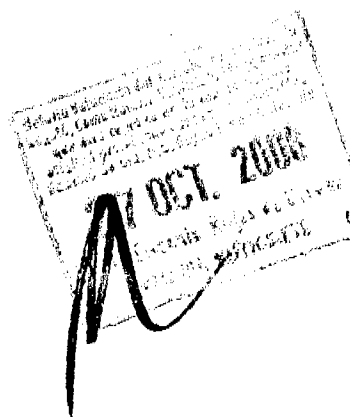
- Documento de Poder de Novartis AG fechado el 19 de junio de 2006 y
- Extracto del Registro de Comercio del Cantón de la ciudad de Basilea para Novartis AG, en Basilea, fechado el 25 de enero de 2006.

Basilea, Suiza, este día 30 de Agosto de 2006.

(Firmado) Dr. Matthias Staehelin, Notario Público del Cantón de la ciudad de Basilea, Suiza.

Mi licencia vence el 11 de Marzo de 2009.

Hay una Apostilla de Suiza, firmada por Heidi Fischer, bajo el No. 8049/13584.



A handwritten signature of Jorge E. Sierra Reyes.

Traductor Oficial

JORGE E. SIERRA REYES

Licencia 376 - 1902 PAL - 1

77

Certificación:

Certifico que la presente es una traducción verdadera y completa del documento adjunto: "Novartis"

Fecha: 12 de Septiembre de 2006.

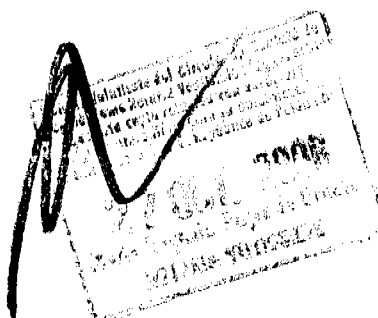
Traductor: Jorge Enrique Sierra Reyes.

Licencia No. 376 de 1993, del Ministerio de Justicia.

Dirección: Carrera 15 No. 99-13 Oficina 411. Bogotá, Colombia.

Teléfono: (57-1) 2182308, (57-1) 6232925.

E-mail: treseser1@yahoo.com. No. 8346




Traductor Oficial
JORGE E. SIERRA REYES
Licencia 376 - 1993 Ministerio de Justicia

OLARTE RAISBECK

OLARTE RAISBECK & FRIERI LTDA.

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

Zayde Chahin
Jacqueline Chaparro
José Luis Londoño
Felipe Mendoza
Simón Salinas

Of Counsel
Guillermo Chahin
Graciela Melo

Power of Attorney

The undersigned,

domiciled in

NOVARTIS AG

El suscrito,

domiciliado en

Lichtstrasse 35, CH-4056 Basel / Switzerland

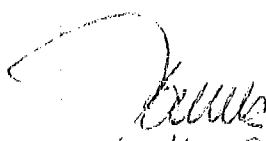
by means of these presents hereby grants to **Carlos R. Olarte and/or J. Ian Raisbeck and/or Ana María Frieri and/or Juan Guillermo Moure and/or Natalia Castro** full and sufficient Power of Attorney to file, prosecute, obtain, defend and enforce any and all of the company's Patents for Inventions, Utility Models, Layout-Designs (topographies) of Integrated Circuits, Industrial Designs, Trademarks, Advertising Slogans, Trade Names, Commercial Emblems, Geographical Indications, Protection of Trade Secrets, Obtainer's Certificates, Copyrights, Registration of Domain Names, Health Registrations, or any other intellectual property right in the Republic of Colombia, to which end it empowers them to take all steps necessary before any administrative or judicial authority of any class for the objects stated, to file petitions, recourses, replies and oppositions, pay taxes and annuities, request testimonies, receive documents and securities, abandon applications and collect refunds. Sufficient power is hereby granted to receive notifications on behalf of the Company, to confer powers on those who are to represent the company judicially and extrajudicially, to answer in court in the matter of all claims and demands that may be presented in connection with the objects stated, giving them likewise power to substitute these presents and revoke such substitutions.

por medio del presente otorga a **Carlos R. Olarte y/o J. Ian Raisbeck y/o Ana María Frieri y/o Juan Guillermo Moure y/o Natalia Castro** poder especial, amplio y suficiente para presentar, tramitar, obtener, defender y hacer respetar todas y cualquiera de las Patentes de Invención, Modelos de Utilidad, Esquemas de Trazados de Circuitos Integrados, Diseños Industriales, Marcas, Lemas Comerciales, Nombres Comerciales, Enseñas Comerciales, Denominaciones de Origen, Protección de Secretos Empresariales, Certificados de Obtentor, Derechos de Autor, Registro de Nombres de Dominio, Registros Sanitarios, o cualquier otro bien de propiedad intelectual de la compañía en la República de Colombia, a cuyo efecto los faculta para dar todos los pasos necesarios ante cualquier autoridad administrativa o judicial de cualquier jerarquía para cumplir con lo encomendado, elevar solicitudes, recursos, respuestas y oposiciones, pagar impuestos y anualidades, solicitar testimonios, recibir documentos y valores, desistir y percibir. Se concede poder bastante para recibir notificaciones a nombre de la compañía, otorgar poderes a quienes vayan a representar a la compañía judicial y extrajudicialmente, responder en juicio a todas las reclamaciones o demandas que por motivo de lo encomendado se presentaren, dándoles asimismo facultad para sustituir el presente y revocar dichas sustituciones.

Signature/Firma:

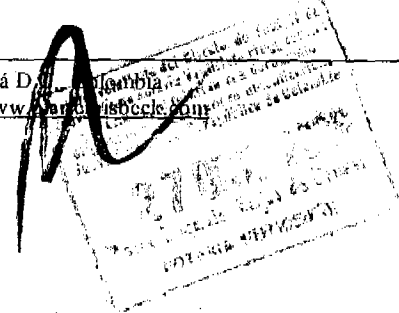
Date/Fecha: June 27, 2006

City/Country/Ciudad,País: Basel, Switzerland


Arthur Corontec


Pascal Thaul

World Trade Center - Torre A, Calle 100 No. 8A - 37, Piso 10, Bogotá D.C.
Tel + 57 1 601-7700, Fax + 57 1 601-7799, office@olarteraisbeck.com, www.olarteraisbeck.com



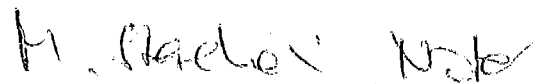
Attestation

- 1 On this date, the 30th (thirtieth) day of August 2006 (two thousand and six), I, the undersigned Notary Public certify herewith the authenticity of the signatures of **Mr. Arthur Canonica**, citizen of Corticiasca, Switzerland, residing in Wisen/SO, Switzerland and of **Mr. Pascal Traub**, citizen of Riehen, Switzerland, residing in Basel, Switzerland, both of legal age and with business address at, Lichtstrasse 35, 4056 Basel, Switzerland. The authenticity of the signatures was established by means of comparison.
- 2 Further, I, the Notary Public certify herewith that the foregoing persons have executed the foregoing document as proxy holders for Novartis AG.
- 3 Further, I, the Notary Public certify herewith that Novartis AG, having its principal place of business located in Basel / Switzerland, is duly incorporated, is currently in existence, and that the purposes for which the Power of Attorney is granted are within the scope of its corporate purposes.
- 4 Further, I, the Notary Public certify herewith that the foregoing persons have the authority to execute the Power of Attorney and that for this instrument their representation is legal.

The foundation for my certifications contained in points 2 (two), 3 (three) and 4 (four) was the exhibition of the following authentic documents:

- Power of Attorney by Novartis AG dated June 19 (nineteen), 2006 (two thousand and six); and
- Extract from the Register of Commerce of the Canton of Basel-City for Novartis AG, in Basel, dated January 25 (twenty-five), 2006 (two thousand and six).

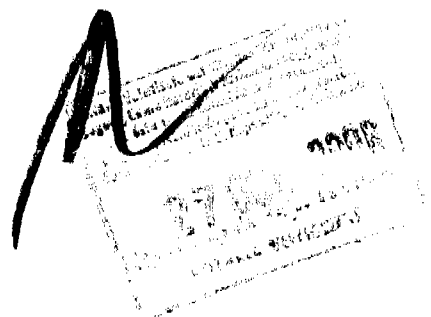
BASEL, Switzerland, this 30th (thirtieth) day of August 2006 (two thousand and six)



Dr. Matthias Staehelin, Notary Public
in the Canton of Basel-City, Switzerland

My license expires on March 11 (eleven),
2009 (two thousand and nine).

Leg.Prof.Nr. 975/2006



APOSTILLE

(Hague Convention of October 5th, 1954)

1. Country: Switzerland (Schweiz/Suisse)

This official document

2. is signed by

3. in his/her function as

4. and certified by the seal of the

Certified

10. 11. 2010

5. in Basel (Date)

6. on

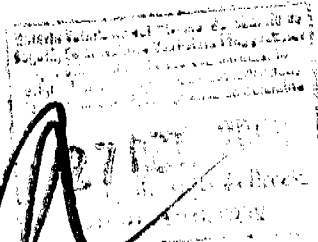
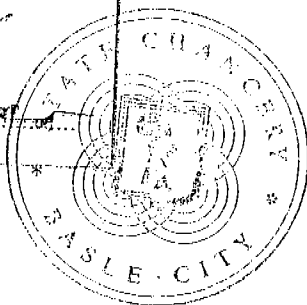
7. by the State Chancery of the Canton of Basel Stadt

8. no.

9. Seal/stamp:

10. Signature:

Heidi Fischer



(19) World Intellectual Property Organization
International Bureau



PCT

(43) International Publication Date
9 February 2006 (09.02.2006)

(10) International Publication Number
WO 2006/013087 A1

(51) International Patent Classification:
C07K 16/24 (2006.01)

(74) Agents: DE WEERD, Peter et al.; Novartis AG, Corporate Intellectual Property, CH-4002 Basel (CH).

(21) International Application Number:
PCT/EP2005/008361

(22) International Filing Date: 2 August 2005 (02.08.2005)

(25) Filing Language: English

(26) Publication Language: English

(30) Priority Data:
0417301.9 3 August 2004 (03.08.2004) GB
0417302.7 3 August 2004 (03.08.2004) GB
0417303.5 3 August 2004 (03.08.2004) GB
0417304.3 3 August 2004 (03.08.2004) GB
0417305.0 3 August 2004 (03.08.2004) GB
0417306.8 3 August 2004 (03.08.2004) GB

(71) Applicant (for all designated States except AT, US): NO-VARTIS AG, [CH/CH]; Lichtstrasse 35, CH-4056 Basel (CH).

(72) Inventor (for AT only): NOVARTIS PHARMA GMBH; Brunner Strasse 59, A-1230 Vienna (AT).

(72) Inventors; and

(75) Inventors/Applicants (for US only): CARBALLIDO HERRERA, José, M. [ES/AT]; Bernhard Weissgasse 6/3, A-2380 Perchtoldsdorf (AT). DE VRIES, Jan, E. [NL/AT]; Neue Welt Gasse 16/1, A-1130 Wien (AT). SCHWAERZLER, Christoph [AT/AT]; Arndtstrasse 42/37R, A-1120 Wien (AT).

(81) Designated States (unless otherwise indicated, for every kind of national protection available): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, 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.

(84) Designated States (unless otherwise indicated, for every kind of regional protection available): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), Eurasian (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), European (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IS, IT, LT, 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).

Published:

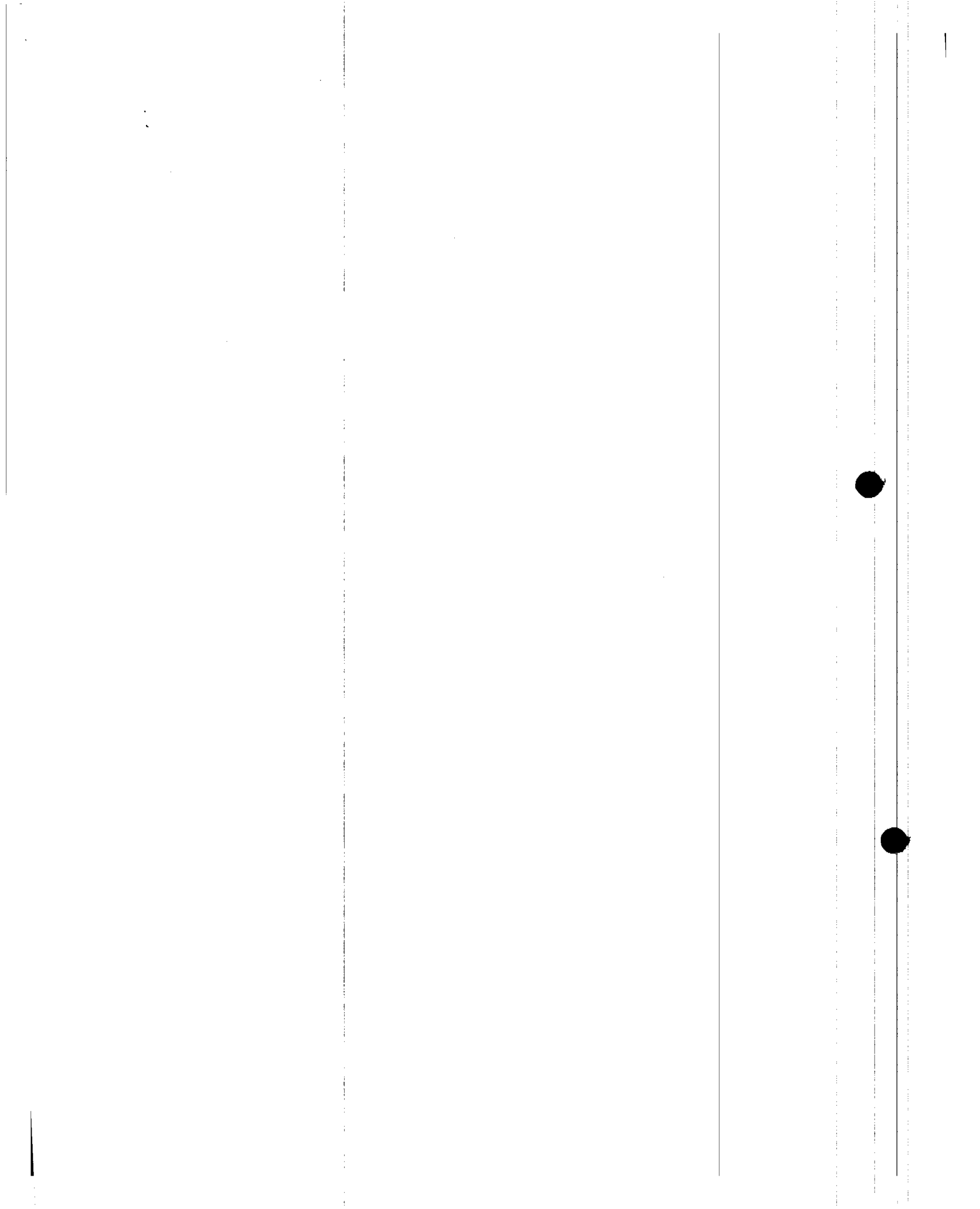
- with international search report
- before the expiration of the time limit for amending the claims and to be republished in the event of receipt of amendments

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.

(54) Title: HUMAN MONOCLONAL ANTIBODIES AGAINST HUMAN IL-4

(57) Abstract: Antibodies which are specific for human interleukin-4 and their use in the treatment of IL-4 and/or IgE mediated diseases.

WO 2006/013087 A1



HUMAN MONOCLONAL ANTIBODIES AGAINST HUMAN IL-4

The present invention relates to antibodies which are specific for human interleukin-4 (hIL-4).

Allergic diseases such as atopic dermatitis, allergic rhinitis, asthma and food allergies are characteristically associated with exacerbated Th2 cell responses to innocuous environmental antigens (allergens). Allergens are captured by antigen presenting cells, processed and presented in the context of MHC Class II molecules to allergen-specific T helper (Th) cells. Allergen specific Th cells belong to the Th2 phenotype and develop from precursor T cells under the influence of interleukin-4 (IL-4). Once Th2 cells are activated, they secrete IL-4 and interleukin-13 (IL-13), which together with surface bound signals induce B cells to switch to IgE producing plasma cells. IgE molecules bind to high affinity FcεR on mast cells and, after subsequent encounter with allergen, induce mast cell activation and the release of mediators of allergic reactions. Th2 cytokines also promote the survival of eosinophils and the growth of mast cells which, after degranulation, also release additional Th2 cytokines capable of augmenting IgE production, Th2 differentiation and eosinophil survival. Thus, Th2 cells play a pivotal role in the induction and development of allergic responses and therefore, antagonizing their development and/or their effector functions would be an efficient way to intervene in allergic responses.

IL-4 and IL-13 share many biological activities due to the fact that both cytokines use the IL-4 receptor (IL-4R)-alpha chain as a component of their respective receptor complexes. IL-13 signals through an heterodimeric complex consisting of an IL-13 binding chain (IL-13Rα1) and the IL-4Rα chain. IL-4 utilizes this IL-4Rα/IL-13Rα1 complex, called type II IL-4R, as an alternative to the type I IL-4R, consisting of IL-4Rα chain and the common γ chain (γ) shared by receptors for IL-2, IL-4, IL-7, IL-9, IL-15 and thymic stromal lymphopoietin (TSLP). Because T cells do not express IL-13Rα1, IL-13 in contrast to IL-4 does not support T cell proliferation and cannot induce the differentiation of naïve human Th cells towards the Th2 phenotype (see e.g. J. E. de Vries et al., Encyclopedia of Hormones and related cell regulators, Academic Press, 2002). IL-4 plays a pivotal role in T cell proliferation and thus in the development and maintenance of allergic diseases. IL-4 gene deficient mice or mice lacking IL-4 (see e.g. Kuhn R. et al., Science, 1991 (5032) 707:10) or the downstream signaling factor STAT6 (see e.g. Kaplan M.H. et al., Immunity, 1996 (3) 313-9) do not develop significant numbers of Th2 cells and have reduced IgE responses.

We have now found antibodies with a high affinity for human IL-4 and a strong inhibitory potential of IL-4 mediated IgE synthesis by naïve human B cells.

13
13

In one aspect the present invention provides an human IL-4 specific antibody which binds to human IL-4 with a dissociation constant K_d of equal or less than 800 pM, such as e.g. equal or less than 200 pM.

In another aspect the present invention provides an antibody having a first domain comprising in sequence the hypervariable regions CDR1, CDR2 and CDR3 and a second domain comprising in sequence the hypervariable regions CDR1', CDR2' and CDR3' selected from the group consisting of an antibody wherein

- a) said CDR1 has the amino acid sequence Gly-Phe-Thr-Phe-Ser-Ser-Tyr-Ala-Met-His (GFTFSSYAMH),
said CDR2 has the amino acid sequence Phe-Ile-Trp-Asp-Asp-Gly-Ser-Phe-Lys-Tyr-Tyr-Ala-Glu-Ser-Val-Lys-Gly (FIWDDGSFKYYAESVKG),
said CDR3 has the amino acid sequence Glu-Gly-Ser-Trp-Ser-Pro-Asp-Ile-Phe (EGSWSPDIF),
said CDR1' has the amino acid sequence Ser-Gln-Gly-Ile-Ser-Arg-Ala (SQGISRA),
said CDR2' has the amino acid sequence Asp-Ala-Ser (DAS),
said CDR3' has the amino acid sequence Phe-Asn-Ser-Tyr-Pro-Ile (FNSYPI),
- b) said CDR1 has the amino acid sequence Gly-Phe-Thr-Leu-Ser-Ser-Phe-Gly-Met-His (GFTLSSFGMH),
said CDR2 has the amino acid sequence Val-Ile-Trp-Tyr-Asp-Gly-Ser-Asn-Glu-Tyr-Tyr-Ala-Asp-Ser-Val-Lys-Gly (VIWYDGSNEYADSVKG),
said CDR3 has the amino acid sequence Glu-Gly-Ser-Trp-Ser-Pro-Asp-Ile-Phe (EGSWSPDIF),
said CDR1' has the amino acid sequence Ser-Gln-Gly-Ile-Arg-Ser-Ala (SQGIRSA),
said CDR2' has the amino acid sequence Asp-Ala-Ser (DAS),
said CDR3' has the amino acid sequence Phe-Asn-Ser-Tyr-Pro-Val (FNSYPV),
- c) said CDR1 has the amino acid sequence Gly-Phe-Thr-Leu-Ser-Ser-Tyr-Gly-Met-His (GFTLSSYGMH),
said CDR2 has the amino acid sequence Val-Ile-Trp-Tyr-Asp-Gly-Asn-Asn-Gln-Tyr-Tyr-Ala-Asp-Ser-Val-Lys-Gly (VIWYDGNNQYYADSCKG),
said CDR3 has the amino acid sequence Glu-Gly-Ser-Trp-Ser-Pro-Asp-Ile-Phe (EGSWSPDIF),
said CDR1' has the amino acid sequence Ser-Gln-Gly-Ile-Ser-Ser-Tyr (SQGISSY),
said CDR2' has the amino acid sequence Asp-Ala-Ser (DAS),
said CDR3' has the amino acid sequence Phe-Asn-Ser-Tyr-Pro (FNSYP),
- d) said CDR1 has the amino acid sequence Gly-Asp-Thr-Phe-Ser-Ser-Tyr-Ala-Ile-Ser (GDTFSSYAIS),

said CDR2 has the amino acid sequence Gly-Ile-Ile-Ile-Pro-Val-Ile-Gly-Thr-Val-Asn-Tyr-Glu-Glu-Arg-Phe-Gln-Asp-Arg (GIIPVIGTVNVEERFQD),

said CDR3 has the amino acid sequence Glu-Glu-Gly-Phe-Leu (EEGFL),

said CDR1' has the amino acid sequence Ser-Gln-Gly-Ile-Ser-Ser-Ala (SQGISSA),

said CDR2' has the amino acid sequence Asp-Ala-Ser (DAS),

said CDR3' has the amino acid sequence Phe-Asn-Ser-Tyr-Pro-Leu (FNSYPL),

e) said CDR1 has the amino acid sequence Gly-Phe-Thr-Phe-Ser-Cys-Cys-Gly-Met-His (GFTFSCCGMH),

said CDR2 has the amino acid sequence Val-Ile-Trp-Tyr-Asp-Gly-Ser-Asn-Lys-Tyr-Tyr-Ala-Asp-Ser-Val-Lys-Gly (VIWYDGSNKYYADSVKG),

said CDR3 has the amino acid sequence Asp-Ser-Ser-Gly-Ser-Phe-Tyr-Glu-Tyr-Phe (DSSGSFYEFYF),

said CDR1' has the amino acid sequence Ser-Gln-Gly-Ile-Asn-Ser-Ala (SQGINSA),

said CDR2' has the amino acid sequence Asp-Ala-Ser (DAS),

said CDR3' has the amino acid sequence Phe-Asn-Ser-Tyr-Pro-Tyr (FNSYPY), and

f) said CDR1 has the amino acid sequence Gly-Phe-Thr-Phe-Ser-Gly-Tyr-Gly-Met-His (GFTFSGYGMH),

said CDR2 has the amino acid sequence Val-Val-Trp-Tyr-Asp-Gly-Gly-Tyr- Lys- Phe-Tyr-Ala-Asp-Ser-Val-Lys-Gly (VWYDGGYKFYADSVKG),

said CDR3 has the amino acid sequence Asp-Ser-Ser-Gly-Ser-Phe-Tyr-Glu-Tyr-Leu (DSSGSFYEYL),

said CDR1' has the amino acid sequence Ser-Gln-Gly-Ile-Ser-Ser-Ala (SQGISSA),

said CDR2' has the amino acid sequence Asp-Ala-Ser (DAS),

said CDR3' has the amino acid sequence Phe-Asn-Ser-Tyr-Pro-His (FNSYPH).

CDR1, CDR2 and CDR3 are part of the amino acid sequence of the heavy chain of such antibody and CDR1', CDR2' and CDR3' are part of the amino acid sequence of the light chain of such antibody.

We also have found an antibody comprising:

- the amino acid sequence of the heavy chain of a mature polypeptide of SEQ ID NO:1 and the amino acid sequence of the light chain of a mature polypeptide of SEQ ID NO:2, or
- the amino acid sequence of the heavy chain of a mature polypeptide of SEQ ID NO:9 and the amino acid sequence of the light chain of a mature polypeptide of SEQ ID NO:10, or
- the amino acid sequence of the heavy chain of a mature polypeptide of SEQ ID NO:17 and the amino acid sequence of the light chain of a mature polypeptide of SEQ ID NO:18, or
- the amino acid sequence of the heavy chain of a mature polypeptide of SEQ ID NO:25 and the

15
15

- amino acid sequence of the light chain of a mature polypeptide of SEQ ID NO:26, or
- the amino acid sequence of the heavy chain of a mature polypeptide of SEQ ID NO:33 and the amino acid sequence of the light chain of a mature polypeptide of SEQ ID NO:34, or
 - the amino acid sequence of the heavy chain of a mature polypeptide of SEQ ID NO:41 and the amino acid sequence of the light chain of a mature polypeptide of SEQ ID NO:42.

In a further aspect the present invention provides an antibody comprising

- a) a polypeptide of SEQ ID NO:1 and a polypeptide of SEQ ID NO:2, or
- b) a polypeptide of SEQ ID NO:9 and a polypeptide of SEQ ID NO:10, or
- c) a polypeptide of SEQ ID NO:17 and a polypeptide of SEQ ID NO:18, or
- d) a polypeptide of SEQ ID NO:25 and a polypeptide of SEQ ID NO:26, or
- e) a polypeptide of SEQ ID NO:33 and a polypeptide of SEQ ID NO:34, or
- f) a polypeptide of SEQ ID NO:41 and a polypeptide of SEQ ID NO:42.

We further have found an antibody comprising:

- the amino acid sequence of the heavy chain of a polypeptide of SEQ ID NO:1 further containing a leader sequence (= SEQ ID NO:3) and the amino acid sequence of the light chain of a polypeptide of SEQ ID NO:2 further containing a leader sequence (= SEQ ID NO:4), or
- the amino acid sequence of the heavy chain of a polypeptide of SEQ ID NO:9 further containing a leader sequence (= SEQ ID NO:11) and the amino acid sequence of the light chain of a polypeptide of SEQ ID NO:10 further containing a leader sequence (= SEQ ID NO:12), or
- the amino acid sequence of the heavy chain of a polypeptide of SEQ ID NO:17 further containing a leader sequence (= SEQ ID NO:19) and the amino acid sequence of the light chain of a polypeptide of SEQ ID NO:18 further containing a leader sequence (= SEQ ID NO:20), or
- the amino acid sequence of the heavy chain of a polypeptide of SEQ ID NO:25 further containing a leader sequence (= SEQ ID NO:27) and the amino acid sequence of the light chain of a polypeptide of SEQ ID NO:26 further containing a leader sequence (= SEQ ID NO:28), or
- the amino acid sequence of the heavy chain of a polypeptide of SEQ ID NO:33 further containing a leader sequence (= SEQ ID NO:35) and the amino acid sequence of the light chain of a polypeptide of SEQ ID NO:34 further containing a leader sequence (= SEQ ID NO:36), or
- the amino acid sequence of the heavy chain of a polypeptide of SEQ ID NO:41 further containing a leader sequence (= SEQ ID NO:43) and the amino acid sequence of the light chain of a polypeptide of SEQ ID NO:42 further containing a leader sequence (= SEQ ID NO:44).

In a further aspect the present invention provides an antibody comprising

- a) a polypeptide of SEQ ID NO:3 and a polypeptide of SEQ ID NO:4, or
- b) a polypeptide of SEQ ID NO:11 and a polypeptide of SEQ ID NO:12, or

- c) a polypeptide of SEQ ID NO:19 and a polypeptide of SEQ ID NO:20, or
d) a polypeptide of SEQ ID NO:27 and a polypeptide of SEQ ID NO:28, or
e) a polypeptide of SEQ ID NO:35 and a polypeptide of SEQ ID NO:36, or
f) a polypeptide of SEQ ID NO:43 and a polypeptide of SEQ ID NO:44.

Antibodies provided by the present invention are hereinafter also designated as "compound(s) of (according to) the present invention".

In another aspect the present invention provides a compound of the present invention which is selected from the group consisting of an human IL-4 specific monoclonal antibody (hIL-4 mAb), a fragment thereof and an analog thereof.

An hIL-4 mAb is an antibody which specifically recognizes human IL-4, i.e. includes antigen binding sites specific for human IL-4, and which has specifically its CDRs but also other parts of the heavy and light chain derived from human immunoglobulins.

The antibody may be of any isotype including IgG1, IgG2, IgG3 and IgG4, preferably of isotype IgG1.

"A fragment thereof" means a part of the heavy and light chain variable sequence of a hIL-4 mAb, which retains the same antigen binding specificity and/or neutralizing ability as the molecule from which the fragments are derived, e.g. a Fab fragment or a F(ab')₂ fragment derived from hIL-4 mAb.

A Fab fragment contains the entire light chain and amino terminal portions of the heavy chain; a F(ab')₂ fragment is the fragment formed by 2 Fab fragments bound by disulfide bonds. Such fragments can be obtained by conventional means, e.g. cleavage of the monoclonal antibodies with the appropriate proteolytic enzymes, papain and/or pepsin, or by recombinant methods, and the fragments themselves are useful as therapeutic and/or prophylactic agents.

"An analog thereof" means a hIL-4 mAb with an amino acid sequence which is modified by at least one amino acid outside of the CDR regions, e.g. outside of CDR1, CDR2 and CDR3 of the heavy chain or outside of CDR1', CDR2' and CDR3' of the light chain. Said modification includes a chemical modification, a substitution or a rearrangement of one or a few amino acids, i.e. no more than 10 amino acids, which modification permits the amino acid sequence to retain the biological characteristics, e.g. antigen specificity and affinity, of the unmodified sequence. For example silent mutations can be constructed via substitution to create endonuclease restriction sites within or surrounding the CDR regions.

An analog may also arise as allelic variation. An "allelic variation or modification" is an alteration in the nucleic acid sequence encoding an antibody of the present invention outside of the CDR regions. Such alterations or modifications may be due to the degeneracies of the genetic code or may be liberately engineered to provide desired characteristics. Such variations or modifications may or may not result in alterations in any encoded amino acid sequence, but retain the biological activities, e.g. antigen specificity and affinity.

We have also found polynucleotides encoding compounds of the present invention.

In another aspect the present invention provides isolated polynucleotides comprising polynucleotides encoding a compound of the present invention.

In another aspect the present invention provides polynucleotides encoding the amino acid sequence of CDR1, CDR2 and CDR3 of a compound of the present invention and polynucleotides encoding the amino acid sequence of CDR1', CDR2' and CDR3' of a compound of the present invention.

In another aspect the present invention provides polynucleotides comprising

- a) a polynucleotide of SEQ ID NO:5 and a polynucleotide of SEQ ID NO:6, or
- b) a polynucleotide of SEQ ID NO:13 and a polynucleotide of SEQ ID NO:14, or
- c) a polynucleotide of SEQ ID NO:21 and a polynucleotide of SEQ ID NO:22, or
- d) a polynucleotide of SEQ ID NO:29 and a polynucleotide of SEQ ID NO:30, or
- e) a polynucleotide of SEQ ID NO:37 and a polynucleotide of SEQ ID NO:38, or
- f) a polynucleotide of SEQ ID NO:45 and a polynucleotide of SEQ ID NO:46.

In another aspect the present invention provides polynucleotides encoding

- a) a polypeptide of SEQ ID NO:7 and SEQ ID NO:8, or
- b) a polypeptide of SEQ ID NO:15 and SEQ ID NO:16, or
- c) a polypeptide of SEQ ID NO:23 and SEQ ID NO:24, or
- d) a polypeptide of SEQ ID NO:31 and SEQ ID NO:32, or
- e) a polypeptide of SEQ ID NO:39 and SEQ ID NO:40, or
- f) a polypeptide of SEQ ID NO:47 and SEQ ID NO:48.

SEQ ID NO:5 is a polynucleotide encoding an amino acid sequence of SEQ ID NO:1.

SEQ ID NO:6 is a polynucleotide encoding an amino acid sequence of SEQ ID NO:2.

SEQ ID NO:7 is a polynucleotide encoding an amino acid sequence of SEQ ID NO:3.

19
18

SEQ ID NO:8 is a polynucleotide encoding an amino acid sequence of SEQ ID NO:4.
SEQ ID NO:13 is a polynucleotide encoding an amino acid sequence of SEQ ID NO:9.
SEQ ID NO:14 is a polynucleotide encoding an amino acid sequence of SEQ ID NO:10.
SEQ ID NO:15 is a polynucleotide encoding an amino acid sequence of SEQ ID NO:11.
SEQ ID NO:16 is a polynucleotide encoding an amino acid sequence of SEQ ID NO:12.
SEQ ID NO:21 is a polynucleotide encoding an amino acid sequence of SEQ ID NO:17.
SEQ ID NO:22 is a polynucleotide encoding an amino acid sequence of SEQ ID NO:18.
SEQ ID NO:23 is a polynucleotide encoding an amino acid sequence of SEQ ID NO:19.
SEQ ID NO:24 is a polynucleotide encoding an amino acid sequence of SEQ ID NO:20.
SEQ ID NO:29 is a polynucleotide encoding an amino acid sequence of SEQ ID NO:25.
SEQ ID NO:30 is a polynucleotide encoding an amino acid sequence of SEQ ID NO:26.
SEQ ID NO:31 is a polynucleotide encoding an amino acid sequence of SEQ ID NO:27.
SEQ ID NO:32 is a polynucleotide encoding an amino acid sequence of SEQ ID NO:28.
SEQ ID NO:37 is a polynucleotide encoding an amino acid sequence of SEQ ID NO:33.
SEQ ID NO:38 is a polynucleotide encoding an amino acid sequence of SEQ ID NO:34.
SEQ ID NO:39 is a polynucleotide encoding an amino acid sequence of SEQ ID NO:35.
SEQ ID NO:40 is a polynucleotide encoding an amino acid sequence of SEQ ID NO:36.
SEQ ID NO:45 is a polynucleotide encoding an amino acid sequence of SEQ ID NO:41.
SEQ ID NO:46 is a polynucleotide encoding an amino acid sequence of SEQ ID NO:42.
SEQ ID NO:47 is a polynucleotide encoding an amino acid sequence of SEQ ID NO:43.
SEQ ID NO:48 is a polynucleotide encoding an amino acid sequence of SEQ ID NO:44.

A compound of the present invention may be produced by recombinant DNA techniques. Thus, one or more DNA molecules encoding the antibody, a fragment thereof or an analog thereof may be constructed, placed under appropriate control sequences in an appropriate vector and transferred into a suitable host (organism) for expression. The compound of the present invention may be obtained according, e.g. analogously, to a method as conventional together with the information provided herein, e.g. with the knowledge of the amino acid sequence of the hypervariable and/or variable regions and the polynucleotides encoding these regions. A method for constructing a variable domain gene is e.g. described in EP 239 400 and may be briefly summarized as follows:

A replicable expression vector including a suitable promoter operably linked to a polynucleotide sequence of interest, e.g. encoding at least a variable domain of an immunoglobulin heavy or light chain comprising CDRs, is prepared, a suitable cell line is transformed with said expression vector, the transformed cell line is cultured and the corresponding immunoglobulin is obtained.

74
19

In another aspect the present invention provides an expression vector comprising a polynucleotide encoding a compound of the present invention, e.g. at least one polynucleotide of SEQ ID NO:5, SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO:7, SEQ ID NO:8, SEQ ID NO:13, SEQ ID NO:14, SEQ ID NO:15, SEQ ID NO:16, SEQ ID NO:21, SEQ ID NO:22, SEQ ID NO:23, SEQ ID NO:24, SEQ ID NO:37, SEQ ID NO:38, SEQ ID NO:39, SEQ ID NO:40, SEQ ID NO:45, SEQ ID NO:46, SEQ ID NO:47 or SEQ ID NO:48.

Naturally an expression vector can comprise more than one polynucleotide.

In another aspect the present invention provides

- An expression system comprising a polynucleotide encoding a compound of the present invention wherein said expression system or part thereof is capable of producing a compound of the present invention, e.g. a hIL-4 mAb, when said expression system or part thereof is present in a compatible host cell; and
- An isolated host cell comprising an expression system as defined above.

Expression vectors, e.g. comprising suitable promoter(s) and genes encoding heavy and light chain constant parts are known, e.g. and are commercially available and include e.g. heavy chain vector IgG1 and light chain vector human kappa. A conventional expression vector or recombinant plasmid may be produced by placing the respective polynucleotide in operative association with conventional regulatory control sequences capable of controlling the replication and expression in, and/or secretion from, a host cell. Regulatory sequences include promoter sequences, e.g. CMV promoter, LCK promoter, and appropriate signal sequences.

A selected host cell may be transfected by conventional techniques with the vector of interest to create a transfected host cell, which then may be cultured by conventional techniques to produce the compounds of the present invention.

Appropriate cell lines may be found according, e.g. analogously, to a method as conventional.

Appropriate hosts are known or may be found according, e.g. analogously, to a method as conventional and include cell cultures or transgenic animals.

Suitable host cells or cell lines for the expression of the compounds of the present invention are preferably eukaryotic cells such as e.g. CHO, COS, a fibroblast cell (e.g. 3T3) and myeloid cells among others, preferably a mammalian cell, such as a CHO cell or SP2/0.

The compounds of the present invention exhibit pharmacological activity and are therefore useful as pharmaceuticals. E.g., the compounds of the present invention interfere strongly with the binding of IL-4 to an IL-4 receptor and are herein also referred to as IL-4 blocking or neutralizing compounds of the present invention, including hIL-4 mAb(s). Compounds of the present invention

20
76

show activity and their affinity can be determined in the TEST:AFFINITY MEASUREMENT as described in Example 1.

A compound of the present invention thus shows therapeutic activity against IL-4 and/or IgE mediated diseases, such as

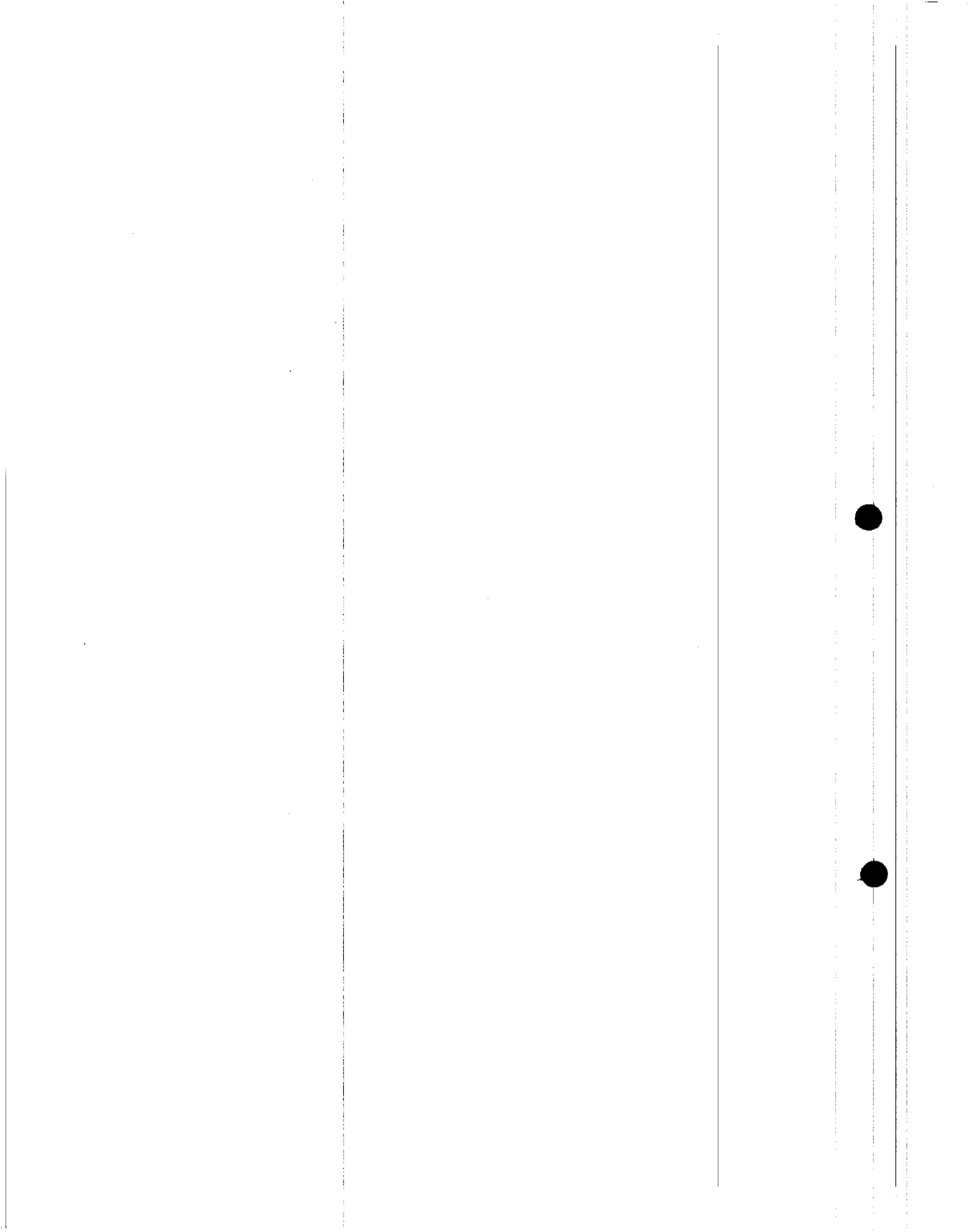
- various allergic diseases, e.g. including urticaria, allergic reactions to medication, rhinitis, e.g. allergic rhinitis, conjunctivitis, e.g. rhinoconjunctivitis, dermatitis, e.g. atopic dermatitis, asthma, e.g. atopic asthma and allergic asthma, anaphylactic shock; preferably atopic dermatitis, allergic asthma, allergic rhinitis, allergic rhinoconjunctivitis, such as allergic asthma or atopic dermatitis;
- autoimmune diseases, including e.g. Kawasaki disease, Grave's disease, Sjorgen's syndrome, autoimmune lymphoproliferative syndrome, autoimmune haemolytic anemia, autoimmune uveitis, myasthenia gravis, Lupus Erythematosus and Bullous pemphigoid;
- disorders of the digestive system in which IL-4 and/or IgE play a role, including e.g. ulcers, gastric inflammation, mucosal inflammation, ulcerative colitis, Crohn's disease, inflammatory bowel disease and other disorders of the digestive system in which IL-4 and/or IgE play a role;
- diseases wherein IL-4 and/or IgE are overproduced and considered to contribute to pathology, including e.g. systemic sclerosis (scleroderma), septic arthritis and reactive arthritis.

In another aspect the present invention provides a compound of the present invention, e.g. a hIL-4 mAb, for use as a pharmaceutical, e.g. against IL-4 and/or IgE mediated diseases, e.g. allergic diseases, e.g. atopic dermatitis, allergic asthma, allergic rhinitis, preferably atopic dermatitis.

In another aspect the present invention provides the use of the present invention of a compound of the present invention which is selected from the group consisting of a hIL-4 mAb, a fragment thereof and an analog thereof.

For pharmaceutical use a compound of the present invention includes one or more, preferably one, compounds of the present invention, e.g. a combination of two or more compounds of the present invention.

In another aspect the present invention provides the use of a compound of the present invention for the manufacture of a medicament, e.g. a pharmaceutical composition, for the treatment of diseases mediated by IL-4 and/or IgE, e.g. allergic diseases, e.g. allergic rhinoconjunctivitis, atopic dermatitis, allergic asthma, allergic rhinitis, preferably allergic asthma or atopic dermatitis, such as atopic dermatitis.



21
21

In a further aspect the present invention provides the use of a compound of the present invention for the manufacture of a medicament, e.g. a pharmaceutical composition, for the treatment of a disease as described above, e.g. selected from the group consisting of atopic dermatitis, allergic asthma and allergic rhinitis.

In a further aspect the present invention provides a compound of the present invention for the uses as mentioned above, wherein the compound of the present invention is selected from the group consisting of a hIL-4 mAb, a fragment thereof and an analog thereof.

It has, for example been determined that the affinity constant of a compound of the present invention, e.g. a hIL-4 mAb, a fragment thereof or an analog thereof, for human IL-4 is equal or less than 800 pM, e.g. is equal or less than 200 pM, such as of about 30 pM to about 200 pM, preferably of about 45 pM to about 170 pM, such as about 100 pM, more preferred about 50 pM, such as about 45 pM.

It has, for example also been determined that the affinity constant of a compound of the present invention, e.g. a hIL-4 mAb, a fragment thereof or an analog thereof, for human IL-4 is of 30 pM to 200 pM, preferably of 45 pM to 170 pM, such as 100 pM, more preferred 50 pM, such as 45 pM.

It is therefore, indicated that for the treatment of diseases mediated by IL-4, the compounds of the present invention may be administered to larger mammals, for example humans, by similar modes of administration at similar dosages than conventionally used with monoclonal antibodies.

In another aspect the present invention provides an antibody which binds to human IL-4 with a dissociation constant of equal or less than 200 pM, e.g. 30 to 200 pM.

In a further aspect of the present invention the antibody for the uses as mentioned above is a hIL-4 mAb, a fragment thereof or an analog thereof which binds to human IL-4 with a dissociation constant K_d of equal or less than 200 pM, e.g. 30 to 200 pM.

In a further aspect the present invention provides a method of treatment of diseases which are mediated by IL-4 and/or IgE, e.g. allergic diseases, e.g. atopic dermatitis, allergic asthma, allergic rhinitis, preferably atopic dermatitis, which treatment comprises administering to a subject in need of such treatment an effective amount of a compound of the present invention; e.g. in the form of a pharmaceutical composition.

In a further aspect of the present invention a compound of the present invention is administered in combination with another pharmaceutically active agent either simultaneously or in sequence.

22
22

Treatment includes treatment and prophylaxis.

For such treatment, the appropriate dosage will, of course, vary depending upon, for example, the chemical nature and the pharmacokinetic data of an antibody of the present invention employed, the individual host, the mode of administration and the nature and severity of the conditions being treated. However, in general, for satisfactory results in larger mammals, for example humans, an indicated daily dosage is in the range from, e.g. about, 0.1 ng/kg to, e.g. about, 10 mg/kg, such as from, e.g. about, 100 ng/kg to, e.g. about, 2 mg/kg of a compound of the present invention; conveniently administered, for example, in divided doses up to four times a day.

A compound of the present invention may be administered by any conventional route, for example parenterally, e.g. including intravenous, intradermal, intramuscular, subcutaneous, intranasal administration, injectable solutions or suspensions or inhaler powder.

In another aspect the present invention provides a pharmaceutical composition comprising a compound of the present invention in association with at least one pharmaceutical excipient, e.g. appropriate carrier and/or diluent, e.g. including fillers, binders, disintegrators, flow conditioners, lubricants, sugars and sweeteners, fragrances, preservatives, stabilizers, wetting agents and/or emulsifiers, solubilizers, salts for regulating osmotic pressure and/or buffers.

In another aspect the present invention provides a pharmaceutical composition according to the present invention further comprising another pharmaceutically active agent.

Such compositions may be manufactured according, e.g. analogously to a method as conventional, e.g. by mixing, granulating, coating, dissolving or lyophilizing processes. Unit dosage forms may contain, for example, from, e.g. about, 0.5 mg to, e.g. about, 1000 mg, such as 1 mg to about 500 mg.

A compound of the present invention may be used for pharmaceutical treatment according to the present invention alone or in combination with one or more other pharmaceutically active agents. Such other pharmaceutically active agents include e.g. other antibodies, e.g. such as antibodies neutralizing IgE, cytokines or cytokine receptors, which are chosen according to the particular condition to be treated.

Combinations include fixed combinations, in which two or more pharmaceutically active agents are in the same formulation; kits, in which two or more pharmaceutically active agents in separate formulations are sold in the same package, e.g. with instruction for co-administration; and free combinations in which the pharmaceutically active agents are packaged separately, but instruction for simultaneous or sequential administration are given.

23
23

In another aspect the present invention also provides a method for diagnosing allergies and other conditions associated with excess IgE production in a human which comprises

- a) contacting a sample of a biological fluid with an antibody of the present invention, and
- b) assaying for the occurrence of binding between said antibody and human IL-4.

In the following Examples all temperatures are in degrees Celsius (°C) and are uncorrected.

The following abbreviations are used:

FACS buffer	PBS, 2% FCS and 0.2% NaN ₃
FCS	fetal calf serum
FITC	fluorescein isothiocyanat
IC ₅₀	inhibitory concentration
KLH	keyhole limpet hemocyanin
mAb	monoclonal antibody
MTX	methotrexate
PBS	phosphate buffered saline
slgD	surface Immunoglobulin D
rmIL-3	recombinant murine interleukin-3
rhIL-4	recombinant human interleukin-4
rhIL-13	recombinant human interleukin-13
rpm	revolutions per minute
RPMI	Roswell Park Memorial Institute medium
RT	room temperature
TF-buffer	272 mM sucrose, 1 mM MgCl ₂ , 7 mM phosphate buffer pH 7.4

24
24

EXAMPLES

EXAMPLE 1:

a) Antibody production

Plasmids encoding the variable regions of the sequence SEQ ID NO: 5 or 7 (= heavy chain) and the sequence SEQ ID NO: 6 or 8 (= light chain) of the antibody are cloned into expression cassettes for human kappa light chains and human IgG1 heavy chains.

The specificity determining regions are combined with the necessary elements to generate complete monoclonal antibodies, i.e. promoter, leader sequence and splice donor sites for splicing to the antibody constant region exons that are required for the expression of functional immunoglobulin proteins. The variable region cassettes for the heavy and light chain antibodies, encoding for leader sequences, variable region and 3'-prime splice donor sites for splicing the constant region exons CH1-CH4 and kappa, are transferred into mammalian expression vectors HC (heavy chain vector, human IgG1) and LC (light chain vector, human kappa).

The light chain containing plasmid and the heavy chain containing plasmid are introduced into Sp2/0 cells in a co-transfection approach. E.g. for transfection, cells in exponential growth phase with a viability of about 95% are used. Cells are washed twice with cold TF-buffer and cell concentration is adjusted to 2×10^7 cells/ml in TF-buffer. 0.8 ml cell suspension obtained are mixed with 15 µg each of the heavy chain and light chain plasmid and placed on ice for 10 minutes.

Transfection is done by electroporation using the Biorad Gene Pulser (280 V and 25 µF). After electroporation, cells are placed on ice for 15 minutes, transferred into 50 ml cold culture medium and incubated for 1 day at 37° and 5% CO₂. For clonal amplification, the G418 resistant cells obtained are cultivated in the presence of 200 nM MTX. An aliquot of the heterogeneous cell pool is seeded into 96-well plates at clonal density of 1 viable cell/well in culture medium containing 200 nM MTX allowing selection of clonal populations of amplified cells. Limiting dilution cloning is applied to generate clonal cell lines after amplification and adaptation to serum-free culture conditions. Cells are seeded into two 96-well plates at a concentration of 0.5 cell/well. Wells are screened microscopically for clonality one day after seeding. Only monoclonal antibodies are used for further testing.

The antibody obtained comprises an amino acid sequence of SEQ ID NO:1 and SEQ ID NO:2.

b) Affinity measurements

Affinity measurements of human mAbs of the present invention are carried on a BIAcore™ 2000 instrument. Anti-human IgG is coated onto a BIAcore sensorchip CM-5 (BIAcore), so that application of defined amounts of human mAbs results in capturing on this prepared surface and hence in a change of refractory properties that are measured. A subsequent application of rhIL-4 results in a further change of the refractory properties, which allows determination of the association rate (K_{on} , on rate) as well as the dissociation rate (K_{off} , off rate) and the product of these two, the affinity (K_d , dissociation constant, given in pM), according to the BIAevaluation 3.0

25
25

software. Using several concentrations of rhIL-4 in BIAbuffer, an affinity of 43 pM of an mAb as defined by CDRs as described in claim 2a) is determined.

c) Determination of inhibitory potential on IL-4 mediated IgE

c1) Cell sources

Human B cells are isolated from peripheral blood, respectively, buffy coats by Ficoll-paque density centrifugation, followed by magnetic separation with MACS beads (Miltenyi Biotech) specific for human CD19 or human CD22 on an AutoMACS device.

Naïve human B cells are similarly isolated using anti-human sIgD FITC labeled goat F(ab')₂ antibodies followed by anti-FITC MACS beads.

c2) Cell culture/maintenance

Transfectants (BaF/3 transfectants carrying the IL-4R α and the IL-13R α 1) are cultured in RPMI 1640 medium supplemented with Glutamax (Invitrogen), 10% FCS, 1% penicillin/streptomycin and 10 ng/ml rhIL-4 (Novartis). Cells are split 1:1 twice weekly, washed with fresh medium without rhIL-4 and kept in such medium overnight (=starved cells).

Human ex vivo (naïve) B cell cultures are incubated in X-Vivo medium (Cambrex, XV15) supplemented with Glutamax, 10% FCS, 1% penicillin/streptomycin in 96-well plates (Costar).

c3) BAF cell proliferation assay

Starved cells as described in b) are collected, washed with fresh medium, counted and adjusted to 2×10^5 cells/ml of which 100 μ l per well are distributed to 96-well plates (Costar). For titration series the cytokines rhIL-4, rhIL-13 and rhIL-3 are prepared in 4 times the desired final concentration in the same medium.

For titration series antibodies are either used as cell culture supernatants with ELISA determined concentrations or from purified material at 4 times the desired concentrations in the same medium. The pre-dilutions of cytokines and antibodies are mixed at equal volumes and 100 μ l of the pre-mix are transferred to the well prepared with cells. Controls are set up for background proliferation (medium without cytokine and without antibody = 100% inhibition) and maximum proliferation (medium with cytokine only = 0% inhibition).

After overnight incubation at 37° in the presence of 5% CO₂, [methyl-³H]thymidine (Amersham TRK120) 1 μ Ci per well is added in 10 μ l of medium and incubated for 8 hours. Following a freeze/thaw cycle cells are harvested from the plates on filter mats using a Tomtek harvester. Filter mats are dried in a microwave oven for 2 minutes at 650 W and transferred to a sample bag together with a sheet of Meltilex Scintillation Wax (Wallac). Wax is melted through the filter and filters obtained are placed inside appropriate cassettes and inserted into a micro-beta reader (Wallac) for scintillation counting using a program measuring 30 seconds per field and extrapolating to counts per minutes.

An IC₅₀ of 30 pM is measured in this test system for the antibody.

c4) IL-4 induced CD23 up-regulation on B cells

26
26

MACS separated B cells are adjusted to $0.5-1 \times 10^6$ cells/ml in XV15 and plated out in 100 μ l per well of 96 well round bottom plates. Cytokines (1 ng/ml final) and mAb (2 μ g/ml – 2 ng/ml final) are pre-diluted and pre-mixed as described above and added in 100 μ l to reach a final volume of 200 μ l.

After culturing overnight at 37° in the presence of 5% CO₂ cells are transferred to 96-well plates (Costar) and centrifuged at 2200 rpm (~1000 x g) for 1 minute after flicking off the supernatant washed with FACS buffer.

Fluorescence labeled mAbs [HLA-DR FITC (Caltag#MHLDR01 1:800), CD19 PE (Caltag#MHCD1904 1:200) and CD23 APC (Caltag#MHCD2305 1:200)] are prepared in FACS buffer and distributed in 50 μ l per well. After 30-60 minutes incubation at RT, wells are filled up with FACS buffer, centrifuged and the centrifugation residue obtained is washed with FACS buffer. Cells are re-suspended in FACS buffer with 2 μ g/ml propidium iodide and analyzed on a dual laser FacsCalibur flow cytometer (BD Biosciences). Cells are gated according to their forward scatter and side scatter properties as well as their ability to exclude propidium iodide and their CD19 expression. Mean fluorescence intensities and percentage of cells above arbitrary threshold (set on un-induced cells) in CD23 expression are determined. Baseline expression (100% inhibition) is determined on cells without cytokine, whereas 0% inhibition is set on cells incubated with cytokine but without mAb.

An IC₅₀ of 334 pM for this antibody is determined for IL-4 induced CD23 expression on the cells as described above in the presence of 70 pM recombinant human IL-4.

c5) IL-4 induced IgE production by naïve B cells

Magnetically sorted naïve B cells are adjusted to 3×10^5 cells per ml in XV15 and plated out in 100 μ l per well of 96-well plates in a 6 x 6 array in the center of the plate, surrounded by PBS filled wells during the 10 days of culture at 37° in the presence of 5% CO₂. One plate each is prepared per mAb to be tested, consisting of 3 wells each un-induced and induced controls and quintuplicate repeats of mAb titrations starting at 7 μ g/ml and running in 3-fold dilution down to 29 ng/ml final concentrations added in 50 μ l four times concentrated pre-dilution. Inducing conditions are rhIL-4 at 20 ng/ml plus anti-CD40 mAb (Novartis) at 0.5 μ g/ml final concentrations also added in 50 μ l of four times concentrated pre-dilution. IgE concentrations are determined at the end of the culture period by a standard sandwich ELISA method.

An IC₅₀ of 2806 pM for this antibody is determined for IL-4 induced IgE on the cells as described above.

Examples 2 to 6:

Antibodies are obtained analogously as described in example 1 and comprise the following amino acid sequences:

Example 2 is an antibody comprising amino acid sequence SEQ ID NO:9 and SEQ ID NO:10.

27
27

Example 3 is an antibody comprising amino acid sequence SEQ ID NO:17 and SEQ ID NO:18.
 Example 4 is an antibody comprising amino acid sequence SEQ ID NO:25 and SEQ ID NO:26.
 Example 5 is an antibody comprising amino acid sequence SEQ ID NO:33 and SEQ ID NO:34.
 Example 6 is an antibody comprising amino acid sequence SEQ ID NO:41 and SEQ ID NO:42.

Table 1 summarizes the IC₅₀ values of the antibodies in the various test systems as described in Example 1b to c.

TABLE 1:

	K _d [pM]	IC ₅₀ [pM] measured in the particular assays		
		BAF cell proliferation	IL-4 induced CD23	IL-4 induced IgE
Ex. 1	43	30	334	2806
Ex. 2	59	50	463	5339
Ex. 3	89	84	873	7813
Ex. 4	66	688	848	7570
Ex. 5	84	218	2835	9944
Ex. 6	170	167	2869	2648

SEQUENCE LISTING

SEQ ID NO:1

(amino acid sequence of the mature polypeptide of the heavy chain, underlined amino acids correspond to CDR1, CDR2 and CDR3)

QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYAMHWVRQAPGKGLEWVTFIWDDGSFKYYAES
 VKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAREGSWSPDIFDIWGQGTMTVTVSS

SEQ ID NO:2

(amino acid sequence of the mature polypeptide of the light chain, underlined amino acids correspond to CDR1', CDR2' and CDR3')

AIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISRALAWYQQKPGKAPKLLIYDASSLESGVPSRFSGSG
 SGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQFN SYPITFGQGTRLEIKRT

SEQ ID NO:3

(amino acid sequence of the polypeptide of SEQ ID NO:1 with leader sequence, amino acids marked in bold correspond to the leader sequence)

MEFGLNWVFLVALFRGVHCQVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYAMHWVRQAPGK
 GLEWVTFIWDDGSFKYYAESVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAREGSWSPDIFDI
 WGQGTMTVTVSS

SEQ ID NO:4

(amino acid sequence of the polypeptide of SEQ ID NO:2 with leader sequence, amino acids marked in bold correspond to the leader sequence)

MDMRVPAQLLGLLLLWLPGARCAIQLTQSPSSLSASVGDRVITICRASQGISRALAWYQQKPGK
APKLLIYDASSLESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQFNSYPIFGQGTRLEIKRT

SEQ ID NO:5

(nucleotides encoding an amino acid sequence of SEQ ID NO:1)

CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCGTGGTCCAGCCTGGGAGGTCCCTGAGACTCT
CCTGTGCAGCGTCTGGATTCACCTTCAGTAGCTATGCCATGCACTGGGTCCGCCAGGCTCCA
GGCAAGGGGCTGGAGTGGGTGACATTTATATGGGATGATGGAAGTTTTAAATATTATGCAGAG
TCCGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCTGTATTTGCAAATG
AACAGCCTGAGAGCCGAAGACACGGCTGTGTATTACTGTGCGAGAGAGGGCAGCTGGTCTCC
TGATATATTTGATATCTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTTCA

SEQ ID NO:6

(nucleotides encoding an amino acid sequence of SEQ ID NO:2)

CCCATCCAGTTGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCATC
ACTTGCCGGGCAAGTCAGGGCATTAGCAGAGCTTTAGCCTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAA
AGCTCCTAAGCTCCTGATCTATGATGCCTCCAGTTTGAAAGTGGGGTCCCATCAAGGTTGAG
CGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGCCTGCAGCCTGAAGATTTTGC
AACTTATTACTGTCAACAGTTTAATAGTTACCCCATCACCTTCGGCCAAGGGACACGACTGGA
GATTAAACGAACT

SEQ ID NO:7

(nucleotides encoding an amino acid sequence of SEQ ID NO:3)

ATGGAGTTTGGGCTGAAGTGGGTTTTCTCGTTGCTCTTTTCAGAGGTGTCCACTGTCAGGTG
CAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCGTGGTCCAGCCTGGGAGGTCCCTGAGACTCTCCTGTG
CAGCGTCTGGATTCACCTTCAGTAGCTATGCCATGCACTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGCAAG
GGGCTGGAGTGGGTGACATTTATATGGGATGATGGAAGTTTTAAATATTATGCAGAGTCCGTG
AAGGGCCGATTCACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCTGTATTTGCAAATGAACAGC
CTGAGAGCCGAAGACACGGCTGTGTATTACTGTGCGAGAGAGGGCAGCTGGTCTCCTGATAT
ATTTGATATCTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTTCA

SEQ ID NO:8

(nucleotides encoding an amino acid sequence of SEQ ID NO:4)

ATGGACATGAGGGTCCCCGCTCAGCTCCTGGGGCTTCTGCTGCTCTGGCTCCCAGGTGCCAG
ATGTGCCATCCAGTTGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCAC
CATCACTTGCCGGGCAAGTCAGGGCATTAGCAGAGCTTTAGCCTGGTATCAGCAGAAACCAG
GGAAAGCTCCTAAGCTCCTGATCTATGATGCCTCCAGTTTGAAAGTGGGGTCCCATCAAGGT
TCAGCGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGCCTGCAGCCTGAAGAT

TTTGCAACTTATTACTGTCAACAGTTTAATAGTTACCCCATCACCTTCGGCCAAGGGACACGAC
TGGAGATTAAACGAACT

SEQ ID NO:9

(amino acid sequence of the mature polypeptide of the heavy chain, underlined amino acids correspond to CDR1, CDR2 and CDR3)

QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTLSSFGMHWVRQAPGKGLEWVAVIWDGSNEYADS
VKGRFTTSRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAREGSWSPDIFDIWGQGTMVTVSS

SEQ ID NO:10

(amino acid sequence of the mature polypeptide of the light chain, underlined amino acids correspond to CDR1', CDR2' and CDR3')

AIQLTQSPSSLSASVGDRVITTCRTSQGIRSAWYQQNPGKAPKLLIYDASSLESGVPSRFSGSG
SGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQFNSYPVTFGQGRLEIKRT

SEQ ID NO:11

(amino acid sequence of the polypeptide of SEQ ID NO:9 with leader sequence, amino acids marked in bold correspond to the leader sequence)

MEFGLSWVFLVALLRGVQCQVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTLSSFGMHWVRQAPGK
GLEWVAVIWDGSNEYADSVKGRFTTSRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAREGSWSPDIF
DIWGQGTMVTVSS

SEQ ID NO:12

(amino acid sequence of the polypeptide of SEQ ID NO:10 with leader sequence, amino acids marked in bold correspond to the leader sequence)

MDMRVPAQLLGLLLLWLPGARCAIQLTQSPSSLSASVGDRVITTCRTSQGIRSAWYQQNPGK
APKLLIYDASSLESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQFNSYPVTFGQGRLEIKRT

SEQ ID NO:13

(nucleotides encoding an amino acid sequence of SEQ ID NO:9)

CAGGTGCAACTGGTGGAGTCGGGGGGAGGCGTGGTCCAGCCTGGGAGGTCCCTGAGACTC
TCCTGTGCAGCGTCTGGATTCACCTTAAGTAGCTTTGGCATGCACTGGGTCCGCCAGGCTCC
AGGCAAGGGGCTGGAGTGGGTGGCAGTTATATGGTATGATGGAAGTAATGAATACTATGCAG
ACTCCGTGAAGGGCCGATTCACCACCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCTGTATCTGCAA
ATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCTGTGTATTACTGTGCGAGAGAGGGCAGCTGGT
CTCCTGATATTTTGTATCTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTTCA

SEQ ID NO:14

(nucleotides encoding an amino acid sequence of SEQ ID NO:10)

GCCATCCAGTTGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCATC
ACTTGCCGGACAAGTCAGGGCATTTCGAGTGCTTTAGCCTGGTATCAGCAGAACCCCGGGAA
AGCTCCTAAGCTCCTGATCTATGATGCCTCCAGTTTGAAAGTGGGGTCCCATCAAGGTTTCA
CGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGCCTGCAGCCTGAAGATTTTG

26
29

CAACTTATTACTGTCAACAGTTTAATAGTTACCCCGTCACCTTCGGCCAAGGGACACGACTGG
AGATTAAACGAACT

SEQ ID NO:15

(nucleotides encoding an amino acid sequence of SEQ ID NO:11)

ATGGAGTTTGGGCTGAGCTGGGTTTTCTCGTTGCTCTTTTAAGAGGTGTCCAGTGTCCAGGTG
CAACTGGTGGAGTCGGGGGGAGGCGTGGTCCAGCCTGGGAGGTCCCTGAGACTCTCCTGTG
CAGCGTCTGGATTACCTTAAGTAGCTTTGGCATGCACTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGCAAG
GGGCTGGAGTGGGTGGCAGTTATATGGTATGATGGAAGTAATGAATACTATGCAGACTCCGT
GAAGGGCCGATTCACCACCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCTGTATCTGCAAATGAACA
GCCTGAGAGCCGAGGACACGGCTGTGTATTACTGTGCGAGAGAGGGCAGCTGGTCTCCTGA
TATTTTGGATATCTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTTCA

SEQ ID NO:16

(nucleotides encoding an amino acid sequence of SEQ ID NO:12)

ATGGACATGAGGGTCCCCGCTCAGCTCCTGGGGCTTCTGCTGCTCTGGCTCCCAGGTGCCA
CATGTGCCATCCAGTTGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCA
CCATCACTTGCCGGACAAGTCAGGGCATTGCGAGTGCTTTAGCCTGGTATCAGCAGAACCCC
GGGAAAGCTCCTAAGCTCCTGATCTATGATGCCTCCAGTTTGGAAAGTGGGGTCCCATCAAG
GTTGAGCGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGCCTGCAGCCTGAAG
ATTTTGCAACTTATTACTGTCAACAGTTTAATAGTTACCCCGTCACCTTCGGCCAAGGGACACG
ACTGGAGATTAAACGAACT

SEQ ID NO:17

(amino acid sequence of the mature polypeptide of the heavy chain, underlined amino acids correspond to CDR1, CDR2 and CDR3)

QVQLVESGGGMVQPGRSLRLSCAASGFTLSSYGMHWVRQAPGKGLEWTVIWYDGNNQYYAD
SVKGRFTISRDNSKNTLYQMNSLRAEDTAVYYCAREGSWSPDIFDIWGQGTMTVSS

SEQ ID NO:18

(amino acid sequence of the mature polypeptide of the light chain, underlined amino acids correspond to CDR1', CDR2' and CDR3')

AIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISSYLAWYQQKPGKAPKLLIYDASSLESGVPSRFSGSG
SGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQFNSYPITFGQGTRLEIKRT

SEQ ID NO:19

(amino acid sequence of the polypeptide of SEQ ID NO:17 with leader sequence, amino acids marked in bold correspond to the leader sequence)

MEFGLSWVFLVALLRGVQCQVQLVESGGGMVQPGRSLRLSCAASGFTLSSYGMHWVRQAPGK
GLEWTVIWYDGNNQYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYQMNSLRAEDTAVYYCAREGSWSPDIF
DIWGQGTMTVSS

SEQ ID NO:20

31

(amino acid sequence of the polypeptide of SEQ ID NO:18 with leader sequence, amino acids marked in bold correspond to the leader sequence)

MDMRVPAQLLGLLLWLPGARCAIQLTQSPSSLSASVGDRVITICRASQGISSYLAWYQQKPGK
APKLLIYDASSLESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQFNSYPI**TFGQGTRLEIKRT**
SEQ ID NO:21

(nucleotides encoding an amino acid sequence of SEQ ID NO:17)

CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCATGGTCCAGCCTGGGAGGTCCCTGAGACTCT
CCTGTGCAGCGTCTGGATTCACCCTCAGTAGCTATGGCATGCACTGGGTCCGCCAGGCTCCA
GGCAAGGGGCTGGAGTGGGTGACAGTTATATGGTATGATGGAAATAATCAATACTATGCAGA
CTCCGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCTGTATCTGCAAAT
GAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCTGTATATTACTGTGCGAGAGAGGGCAGCTGGTCT
CCTGATATTTTTGATATCTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTTCA

SEQ ID NO:22

(nucleotides encoding an amino acid sequence of SEQ ID NO:18)

CCCATCCAGTTGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCATC
ACTTGCCGGGCAAGTCAGGGCATTAGCAGTTATTTAGCCTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAA
AGCTCCTAAGCTCCTGATCTATGATGCCTCCAGTTTGAAAGTGGGGTCCCATCAAGGTTTCAG
CGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGCCTGCAGCCTGAAGATTTTG
CAACTTATTACTGTCAACAGTTTAATAGTTACCCCATCACCTTCGGCCAAGGGACACGACTGG
AGATTAAACGAACT

SEQ ID NO:23

(nucleotides encoding an amino acid sequence of SEQ ID NO:19)

ATGGAGTTTGGGCTGAGCTGGGTTTTCTCGTTGCTCTTTTAAGAGGTGTCCAGTGTCAAGTG
CAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCATGGTCCAGCCTGGGAGGTCCCTGAGACTCTCCTGTG
CAGCGTCTGGATTCACCCTCAGTAGCTATGGCATGCACTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGCAAG
GGGCTGGAGTGGGTGACAGTTATATGGTATGATGGAAATAATCAATACTATGCAGACTCCGTG
AAGGGCCGATTCACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCTGTATCTGCAAATGAACAGC
CTGAGAGCCGAGGACACGGCTGTATATTACTGTGCGAGAGAGGGCAGCTGGTCTCCTGATAT
TTTTGATATCTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTTCA

SEQ ID NO:24

(nucleotides encoding an amino acid sequence of SEQ ID NO:20)

ATGGACATGAGGGTCCCCGCTCAGCTCCTGGGGCTTCTGCTGCTCTGGCTCCCAGGTGCCA
GATGTGCCATCCAGTTGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCA
CCATCACTTGCCGGGCAAGTCAGGGCATTAGCAGTTATTTAGCCTGGTATCAGCAGAAACCA
GGGAAAGCTCCTAAGCTCCTGATCTATGATGCCTCCAGTTTGAAAGTGGGGTCCCATCAAG
GTTGAGCGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGCCTGCAGCCTGAAG

22
23

ATTTTGCAACTTATTACTGTCAACAGTTTAATAGTTACCCCATCACCTTCGGCCAAGGGACACG
ACTGGAGATTAAACGAACT

SEQ ID NO:25

(amino acid sequence of the mature polypeptide of the heavy chain, underlined amino acids correspond to CDR1, CDR2 and CDR3)

QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGDTFSSYAISWVRQAPGQGFWMGGIIPVIGTVNVEERF
QDRVITADNSTSTAYMELTSLSRSEDVAVYFCGREGFLDYWGQGTTLTVSS

SEQ ID NO:26

(amino acid sequence of the mature polypeptide of the light chain, underlined amino acids correspond to CDR1', CDR2' and CDR3')

AIQLTQSPSSLSASVGDRVITITCRASQGISSALAWYQQKPGKAPKLLIYDASSLESGVPSRFSGSG
SGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQFN^{SY}PLLTFFGGGTKVEIKRT

SEQ ID NO:27

(amino acid sequence of the polypeptide of SEQ ID NO:25 with leader sequence, amino acids marked in bold correspond to the leader sequence)

MDWTWRFLFVA^{AT}G^VQ^SQVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGDTFSSYAISWVRQAPGQ
GFWMGGIIPVIGTVNVEERFQDRVITADNSTSTAYMELTSLSRSEDVAVYFCGREGFLDYWGQ
GTLTVSS

SEQ ID NO:28

(amino acid sequence of the polypeptide of SEQ ID NO:26 with leader sequence, amino acids marked in bold correspond to the leader sequence)

MDMRVPAQLLGLLLLWLPGARCAIQLTQSPSSLSASVGDRVITITCRASQGISSALAWYQQK
GKAPKLLIYDASSLESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQFN^{SY}PLLTFFGGGTK
VEIKRT

SEQ ID NO:29

(nucleotides encoding an amino acid sequence of SEQ ID NO:25)

CAGGTCCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGTCCTCGGTGAAGGTCT
CTGCAAGGCTTCTGGAGACACCTTCAGCAGTTATGCTATCAGTTGGGTGCGACAGGCCCT
GGACAAGGGTTTGAGTGGATGGGAGGGATCATCCCTGTCATTGGTACAGTAAATTATGAAGA
GAGATTCCAGGACAGAGTCACGATTACCGCGGACAATTCCACGAGCACAGCCTACATGGAGT
TGACTAGTCTGAGATCTGAAGACACGGCCGTGTATTTTGTGGGAGAGAAGAGGGCTTCCTT
GACTATTGGGGCCAGGGAACCCTGGTCACCGTCTCCTCA

SEQ ID NO:30

(nucleotides encoding an amino acid sequence of SEQ ID NO:26)

ATGGACATGAGGGTCCCCGCTCAGCTCCTGGGGCTTCTGCTGCTCTGGCTCCCAGGTGCCA
GATGTGCCATCCAGTTGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCA
CCATCACTTGCCGGGCAAGTCAGGGCATTAGCAGTGCTTTAGCCTGGTATCAGCAGAAACCA

GGGAAAGCTCCTAAGCTCCTGATCTATGATGCCTCCAGTTTGGAAAGTGGGGTCCCATCAAG
GTTTCAGCGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGCCTGCAGCCTGAAG
ATTTTGCAACTTATTACTGTCAACAGTTTAATAGTTACCCTCTTCTCACTTTCGGCGGAGGGAC
CAAGGTGGAGATCAAACGTACG

SEQ ID NO:31

(nucleotides encoding an amino acid sequence of SEQ ID NO:27)

ATGGACTGGACCTGGAGGTTCTCTTTGTGGTGGCAGCAGCTACAGGTGTCCAGTCCCAGGT
CCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGTCCTCGGTGAAGGTCTCCTGC
AAGGCTTCTGGAGACACCTTCAGCAGTTATGCTATCAGTTGGGTGCGACAGGCCCTGGACA
AGGGTTTGAGTGGATGGGAGGGATCATCCCTGTCATTGGTACAGTAAATTATGAAGAGAGATT
CCAGGACAGAGTCACGATTACCGCGGACAATTCCACGAGCACAGCCTACATGGAGTTGACTA
GTCTGAGATCTGAAGACACGGCCGTGTATTTTTGTGGGAGAGAAGAGGGCTTCCTTGACTATT
GGGGCCAGGGAACCCTGGTCACCGTCTCCTCA

SEQ ID NO:32

(nucleotides encoding an amino acid sequence of SEQ ID NO:28)

ATGGACATGAGGGTCCCCGCTCAGCTCCTGGGGCTTCTGCTGCTCTGGCTCCCAGGTGCCA
GATGTGCCATCCAGTTGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCA
CCATCACTTGCCGGGCAAGTCAGGGCATTAGCAGTGCTTTAGCCTGGTATCAGCAGAAACCA
GGGAAAGCTCCTAAGCTCCTGATCTATGATGCCTCCAGTTTGGAAAGTGGGGTCCCATCAAG
GTTTCAGCGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGCCTGCAGCCTGAAG
ATTTTGCAACTTATTACTGTCAACAGTTTAATAGTTACCCTCTTCTCACTTTCGGCGGAGGGAC
CAAGGTGGAGATCAAACGTACG

SEQ ID NO:33

(amino acid sequence of the mature polypeptide of the heavy chain, underlined amino acids correspond to CDR1, CDR2 and CDR3)

QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSCCGMHWVRQAPGKGLEWVAVIWYDGSNKYYAD
SVKGRFTISRDTSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCATDSSGSFYEFQHWGQGTLTVSS

SEQ ID NO:34

(amino acid sequence of the mature polypeptide of the light chain, underlined amino acids correspond to CDR1', CDR2' and CDR3')

AIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGINSALAWYQQKPGKAPKLLIYDASSLES GVPSRFSGSG
SGTDFTLTIS SLQPEDFATYYCQQFNSYPYTFGQGTKLEIKRT

SEQ ID NO:35

(amino acid sequence of the polypeptide of SEQ ID NO:33 with leader sequence, amino acids marked in bold correspond to the leader sequence)

MEFGLSWVFLVALLRGVQCQVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSCCGMHWVRQAPGK
GLEWVAVIWYDGSNKYYADSVKGRFTISRDTSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCATDSSGSFYEYF
QHWGQGTLTVSS

SEQ ID NO:36

(amino acid sequence of the polypeptide of SEQ ID NO:34 with leader sequence, amino acids marked in bold correspond to the leader sequence)

MDMRVPAQLLGLLLLWLPGARCAIQLTQSPSSLSASVGDRVITICRASQGINSALAWYQQKPGK
APKLLIYDASSLESGVPSRFSGSGSGTDFLTISLQPEDFATYYCQQFNYPYTFGQGGTKLEIKRT

SEQ ID NO:37

(nucleotides encoding an amino acid sequence of SEQ ID NO:33)

CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCGTGGTCCAGCCTGGGAGGTCCCTGAGACTCT
CCTGTGCAGCGTCTGGATTCACCTTCAGTTGCTGTGGCATGCACTGGGTCCGCCAGGCTCCA
GGCAAGGGGCTGGAGTGGGTGGCAGTTATATGGTATGATGGAAGTAATAAATACTATGCAGA
CTCCGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCCAGAGACACTTCCAAGAACACGCTGTATCTGCAAAT
GAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCTGTGTATTACTGTGCGACAGATAGTTCGGGGAGTT
TTATGAATACTTCCAGCACTGGGGCCAGGGCACCCCTGGTCACCGTCTCCTCA

SEQ ID NO:38

(nucleotides encoding an amino acid sequence of SEQ ID NO:34)

GCCATCCAGTTGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCATC
ACTTGCCGGGCAAGTCAGGGCATTAAACAGTGCTTTAGCCTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAA
AGCTCCTAAGCTCCTGATCTATGATGCCTCCAGTTTGAAAGTGGGGTCCCATCAAGGTTGAG
CGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGCCTGCAGCCTGAAGATTTTG
CAACTTATTACTGTCAACAGTTTAATAGTTACCCGTACACTTTTGGCCAGGGGACCAAGCTGG
AGATCAAACGAACT

SEQ ID NO:39

(nucleotides encoding an amino acid sequence of SEQ ID NO:35)

ATGGAGTTTGGGCTGAGCTGGGTTTTCTCGTTGCTCTTTAAGAGGTGTCCAGTGTCAGGTG
CAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCGTGGTCCAGCCTGGGAGGTCCCTGAGACTCTCCTGTG
CAGCGTCTGGATTCACCTTCAGTTGCTGTGGCATGCACTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGCAAG
GGGCTGGAGTGGGTGGCAGTTATATGGTATGATGGAAGTAATAAATACTATGCAGACTCCGT
GAAGGGCCGATTCACCATCTCCAGAGACACTTCCAAGAACACGCTGTATCTGCAAATGAACA
GCCTGAGAGCCGAGGACACGGCTGTGTATTACTGTGCGACAGATAGTTCGGGGAGTTTTTAT
GAATACTTCCAGCACTGGGGCCAGGGCACCCCTGGTCACCGTCTCCTCA

SEQ ID NO:40

(nucleotides encoding an amino acid sequence of SEQ ID NO:36)

ATGGACATGAGGGTCCCCGCTCAGCTCCTGGGGCTTCTGCTGCTCTGGCTCCCAGGTGCCA
GATGTGCCATCCAGTTGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCA

CCATCACTTGCCGGGCAAGTCAGGGCATTAAACAGTGCTTTAGCCTGGTATCAGCAGAAACCA
 GGGAAAGCTCCTAAGCTCCTGATCTATGATGCCTCCAGTTTGGAAAGTGGGGTCCCATCAAG
 GTTCAGCGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGCCTGCAGCCTGAAG
 ATTTTGCAACTTATTACTGTCAACAGTTTAATAGTTACCCGTACACTTTTGGCCAGGGGACCAA
 GCTGGAGATCAAACGAACT

SEQ ID NO:41

(amino acid sequence of the mature polypeptide of the heavy chain, underlined amino acids correspond to CDR1, CDR2 and CDR3)

QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASSGFTFSGYGMHWVRQAPGRGLDWVAVVWYDGGYKFYA
DSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDSSGSFYEYLQHWGQGTLVTVSS

SEQ ID NO:42

(amino acid sequence of the mature polypeptide of the light chain, underlined amino acids correspond to CDR1', CDR2' and CDR3')

AIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISSALAWYQQKPGKAPKLLIYDASSLESGVPSRFSGSG
 SGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQFNSYPHF~~WPGDQAGDQT~~NCG

SEQ ID NO:43

(amino acid sequence of the polypeptide of SEQ ID NO:41 with leader sequence, amino acids marked in bold correspond to the leader sequence)

MEFGLSWVFLVALLRGVQCQVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSGYGMHWVRQAPGR
GLDWVAVVWYDGGYKFYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDSSGSFYEY
LQHWGQGTLVTVSS

SEQ ID NO:44

(amino acid sequence of the polypeptide of SEQ ID NO:42 with leader sequence, amino acids marked in bold correspond to the leader sequence)

MDMRVPAQLLGLLLLWLPGARCAIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISSALAWYQQKPGK
APKLLIYDASSLESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQFNSYPHF~~WPGDQAGDQT~~
 NCG

SEQ ID NO:45

(nucleotides encoding an amino acid sequence of SEQ ID NO:41)

CAGGTGCAGTTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCGTGGTCCAGCCTGGGAGGTCCCTGAGACTCT
 CCTGTGCAGCGTCTGGATTCACCTTCAGTGGCTATGGCATGCACTGGGTCCGCCAGGCTCCA
 GGCAGGGGGGCTGGACTGGGTGGCAGTTGTGTGGTATGATGGAGGTTATAAGTTCTATGCAGA
 CTCCGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCTGTATCTGCAAAT
 GAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCTGTGTATTACTGTGCGAGAGATAGTTCGGGGAGTT
 TTTATGAATACTTACAACATTGGGGCCAGGGCACCCCTGGTCACCGTCTCCTCA

SEQ ID NO:46

(nucleotides encoding an amino acid sequence of SEQ ID NO:42)

GCCATCCAGTTGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCATC
ACTTGCCGGGCAAGTCAGGGCATTAGCAGTGCTTTAGCCTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAA
AGCTCCTAAGCTCCTGATCTATGATGCCTCCAGTTTGGAAAGTGGGGTCCCATCAAGGTTTCAG
CGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGCCTGCAGCCTGAAGATTTTG
CAACTTATTACTGTCAACAGTTTAATAGTTACCCTCACTTTTGGCCAGGGGACCAAGCTGGAG
ATCAAACGAACT

SEQ ID NO:47

(nucleotides encoding an amino acid sequence of SEQ ID NO:43)

ATGGAGTTTGGGCTGAGCTGGGTTTTCTCGTTGCTCTTTTAAGAGGTGTCCAGTGTCCAGGTG
CAGTTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCGTGGTCCAGCCTGGGAGGTCCCTGAGACTCTCCTGTG
CAGCGTCTGGATTCACCTTCAGTGGCTATGGCATGCACTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGCAG
GGGGCTGGACTGGGTGGCAGTTGTGTGGTATGATGGAGGTTATAAGTTCTATGCAGACTCCG
TGAAGGGCCGATTCACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCTGTATCTGCAAATGAACA
GCCTGAGAGCCGAGGACACGGCTGTGTATTACTGTGCGAGAGATAGTTCGGGGAGTTTTTAT
GAATACTTACAACATTGGGGCCAGGGCACCCTGGTCCACCGTCTCCTCA

SEQ ID NO:48

(nucleotides encoding an amino acid sequence of SEQ ID NO:44)

ATGGACATGAGGGTCCCCGCTCAGCTCCTGGGGCTTCTGCTGCTCTGGCTCCCAGGTGCCA
GATGTGCCATCCAGTTGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCA
CCATCACTTGCCGGGCAAGTCAGGGCATTAGCAGTGCTTTAGCCTGGTATCAGCAGAAACCA
GGGAAAGCTCCTAAGCTCCTGATCTATGATGCCTCCAGTTTGGAAAGTGGGGTCCCATCAAG
GTTTCAGCGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGCCTGCAGCCTGAAG
ATTTTGCAACTTATTACTGTCAACAGTTTAATAGTTACCCTCACTTTTGGCCAGGGGACCAAGC
TGGAGATCAAACGAACT

Patent Claims

1. An human IL-4 specific antibody which binds to human IL-4 with a dissociation constant K_d of equal or less than 800 pM.
2. An antibody of claim 1 having a first domain comprising in sequence the hypervariable regions CDR1, CDR2 and CDR3 and a second domain comprising in sequence the hypervariable regions CDR1', CDR2' and CDR3' selected from the group consisting of an antibody wherein
- a) said CDR1 has the amino acid sequence Gly-Phe-Thr-Phe-Ser-Ser-Tyr-Ala-Met-His,
said CDR2 has the amino acid sequence Phe-Ile-Trp-Asp-Asp-Gly-Ser-Phe-Lys-Tyr-Tyr-Ala-Glu-Ser-Val-Lys-Gly,
said CDR3 has the amino acid sequence Glu-Gly-Ser-Trp-Ser-Pro-Asp-Ile-Phe,
said CDR1' has the amino acid sequence Ser-Gln-Gly-Ile-Ser-Arg-Ala,
said CDR2' has the amino acid sequence Asp-Ala-Ser,
said CDR3' has the amino acid sequence Phe-Asn-Ser-Tyr-Pro-Ile,
 - b) said CDR1 has the amino acid sequence Gly-Phe-Thr-Leu-Ser-Ser-Phe-Gly-Met-His,
said CDR2 has the amino acid sequence Val-Ile-Trp-Tyr-Asp-Gly-Ser-Asn-Glu-Tyr-Tyr-Ala-Asp-Ser-Val-Lys-Gly,
said CDR3 has the amino acid sequence Glu-Gly-Ser-Trp-Ser-Pro-Asp-Ile-Phe,
said CDR1' has the amino acid sequence Ser-Gln-Gly-Ile-Arg-Ser-Ala,
said CDR2' has the amino acid sequence Asp-Ala-Ser,
said CDR3' has the amino acid sequence Phe-Asn-Ser-Tyr-Pro-Val,
 - c) said CDR1 has the amino acid sequence Gly-Phe-Thr-Leu-Ser-Ser-Tyr-Gly-Met-His,
said CDR2 has the amino acid sequence Val-Ile-Trp-Tyr-Asp-Gly-Asn-Asn-Gln-Tyr-Tyr-Ala-Asp-Ser-Val-Lys-Gly,
said CDR3 has the amino acid sequence Glu-Gly-Ser-Trp-Ser-Pro-Asp-Ile-Phe,
said CDR1' has the amino acid sequence Ser-Gln-Gly-Ile-Ser-Ser-Tyr,
said CDR2' has the amino acid sequence Asp-Ala-Ser,
said CDR3' has the amino acid sequence Phe-Asn-Ser-Tyr-Pro,
 - d) said CDR1 has the amino acid sequence Gly-Asp-Thr-Phe-Ser-Ser-Tyr-Ala-Ile-Ser,
said CDR2 has the amino acid sequence Gly-Ile-Ile-Ile-Pro-Val-Ile-Gly-Thr-Val-Asn-Tyr-Glu-Glu-Arg-Phe-Gln-Asp-Arg,
said CDR3 has the amino acid sequence Glu-Glu-Gly-Phe-Leu,
said CDR1' has the amino acid sequence Ser-Gln-Gly-Ile-Ser-Ser-Ala,
said CDR2' has the amino acid sequence Asp-Ala-Ser,
said CDR3' has the amino acid sequence Phe-Asn-Ser-Tyr-Pro-Leu,
 - e) said CDR1 has the amino acid sequence Gly-Phe-Thr-Phe-Ser-Cys-Cys-Gly-Met-His,

said CDR2 has the amino acid sequence Val-Ile-Trp-Tyr-Asp-Gly-Ser-Asn-Lys-Tyr-Tyr-Ala-Asp-Ser-Val-Lys-Gly,

said CDR3 has the amino acid sequence Asp-Ser-Ser-Gly-Ser-Phe-Tyr-Glu-Tyr-Phe,

said CDR1' has the amino acid sequence Ser-Gln-Gly-Ile-Asn-Ser-Ala,

5 said CDR2' has the amino acid sequence Asp-Ala-Ser,

said CDR3' has the amino acid sequence Phe-Asn-Ser-Tyr-Pro-Tyr, and

f) said CDR1 has the amino acid sequence Gly-Phe-Thr-Phe-Ser-Gly-Tyr-Gly-Met-His,

said CDR2 has the amino acid sequence Val-Val-Trp-Tyr-Asp-Gly-Gly-Tyr-Lys-Phe-Tyr-Ala-Asp-Ser-Val-Lys-Gly,

10 said CDR3 has the amino acid sequence Asp-Ser-Ser-Gly-Ser-Phe-Tyr-Glu-Tyr-Leu,

said CDR1' has the amino acid sequence Ser-Gln-Gly-Ile-Ser-Ser-Ala,

said CDR2' has the amino acid sequence Asp-Ala-Ser,

said CDR3' has the amino acid sequence Phe-Asn-Ser-Tyr-Pro-His.

15 2. An antibody of claim 1 or 2 comprising

a) a polypeptide of SEQ ID NO:1 and a polypeptide of SEQ ID NO:2, or

b) a polypeptide of SEQ ID NO:9 and a polypeptide of SEQ ID NO:10, or

c) a polypeptide of SEQ ID NO:17 and a polypeptide of SEQ ID NO:18, or

d) a polypeptide of SEQ ID NO:25 and a polypeptide of SEQ ID NO:26, or

20 e) a polypeptide of SEQ ID NO:33 and a polypeptide of SEQ ID NO:34, or

f) a polypeptide of SEQ ID NO:41 and a polypeptide of SEQ ID NO:42.

4. An antibody of any one of claims 1 to 3 comprising

a) a polypeptide of SEQ ID NO:3 and a polypeptide of SEQ ID NO:4, or

25 b) a polypeptide of SEQ ID NO:11 and a polypeptide of SEQ ID NO:12, or

c) a polypeptide of SEQ ID NO:19 and a polypeptide of SEQ ID NO:20, or

d) a polypeptide of SEQ ID NO:27 and a polypeptide of SEQ ID NO:28, or

e) a polypeptide of SEQ ID NO:35 and a polypeptide of SEQ ID NO:36, or

f) a polypeptide of SEQ ID NO:43 and a polypeptide of SEQ ID NO:44.

30

5. An antibody of any one of claims 1 to 4 which is selected from the group consisting of an human IL-4 specific monoclonal antibody, a fragment thereof and an analog thereof.

6. Isolated polynucleotides comprising polynucleotides encoding an antibody of claim 1.

35

7. Polynucleotides of claim 6 encoding the amino acid sequence of an antibody of any one of claims 2 to 5.

39
31

8. Polynucleotides of any one of claims 6 or 7 comprising
- a) a polynucleotide of SEQ ID NO:5 and a polynucleotide of SEQ ID NO:6, or
 - b) a polynucleotide of SEQ ID NO:13 and a polynucleotide of SEQ ID NO:14, or
 - 5 c) a polynucleotide of SEQ ID NO:21 and a polynucleotide of SEQ ID NO:22, or
 - d) a polynucleotide of SEQ ID NO:29 and a polynucleotide of SEQ ID NO:30, or
 - e) a polynucleotide of SEQ ID NO:37 and a polynucleotide of SEQ ID NO:38, or
 - f) a polynucleotide of SEQ ID NO:45 and a polynucleotide of SEQ ID NO:46.
- 10 9. Polynucleotides of any one of claims 6 to 8 encoding
- a) a polypeptide of SEQ ID NO:7 and SEQ ID NO:8, or
 - b) a polypeptide of SEQ ID NO:15 and SEQ ID NO:16, or
 - c) a polypeptide of SEQ ID NO:23 and SEQ ID NO:24, or
 - d) a polypeptide of SEQ ID NO:31 and SEQ ID NO:32, or
 - 15 e) a polypeptide of SEQ ID NO:39 and SEQ ID NO:40, or
 - f) a polypeptide of SEQ ID NO:47 and SEQ ID NO:48.
10. An expression vector comprising polynucleotides of any one of claims 6 to 9.
- 20 11. An expression system comprising a polynucleotide of any one of claims 6 to 9 wherein said expression system or part thereof is capable of producing an antibody of any one of claims 1 to 5 when said expression system or part thereof is present in a compatible host cell.
12. An isolated host cell comprising an expression system of claim 11.
- 25 13. Use of an antibody of any one of claims 1 to 5 as a pharmaceutical.
14. Use of an antibody of any one of claims 1 to 5 for the manufacture of a medicament for the treatment of diseases mediated by IL-4 and/or IgE.
- 30 15. Use of claim 14 wherein the disease is selected from the group consisting of atopic dermatitis, allergic asthma and allergic rhinitis.
16. Use of any one of claims 13 to 15 wherein the antibody is selected from the group
- 35 consisting of an human IL-4 monoclonal antibody, a fragment thereof and an analog thereof.
17. A pharmaceutical composition comprising an antibody of any one of claims 1 to 5 in

association with at least one pharmaceutically acceptable excipient.

40
40

18. A method of treatment of diseases mediated by IL-4 and/or IgE which treatment comprises administering to a subject in need of such treatment an effective amount of an antibody of any one of claims 1 to 5.

8059-4-33746A.ST25.txt
SEQUENCE LISTING

41

<110> Novartis AG
<120> Organic compound
<130> 4-33746A/NFI 8059
<160> 48
<170> PatentIn version 3.1
<210> 1
<211> 120
<212> PRT
<213> Homo Sapiens
<400> 1

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

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

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

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

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

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

Ala Arg Glu Gly Ser Trp Ser Pro Asp Ile Phe Asp Ile Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 2
<211> 109
<212> PRT
<213> Homo Sapiens
<400> 2

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

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

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

8059-4-33746A.ST25.txt

42
AT

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

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

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

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

<210> 3
<211> 139
<212> PRT
<213> Homo Sapiens

<400> 3

Met Glu Phe Gly Leu Asn Trp Val Phe Leu Val Ala Leu Phe Arg Gly
1 5 10 15

Val His Cys Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln
20 25 30

Pro Gly Arg Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe
35 40 45

Ser Ser Tyr Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu
50 55 60

Glu Trp Val Thr Phe Ile Trp Asp Asp Gly Ser Phe Lys Tyr Tyr Ala
65 70 75 80

Glu Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn
85 90 95

Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val
100 105 110

Tyr Tyr Cys Ala Arg Glu Gly Ser Trp Ser Pro Asp Ile Phe Asp Ile
115 120 125

Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser
130 135

<210> 4
<211> 131
<212> PRT
<213> Homo Sapiens

<400> 4

8059-4-33746A.ST25.txt

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

Leu Pro Gly Ala Arg Cys Ala Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser
 20 25 30

Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser
 35 40 45

Gln Gly Ile Ser Arg Ala Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys
 50 55 60

Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Asp Ala Ser Ser Leu Glu Ser Gly Val
 65 70 75 80

Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
 85 90 95

Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln
 100 105 110

Ile Asn Ser Tyr Pro Ile Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile
 115 120 125

Lys Arg Thr
 130

<210> 5
 <211> 360
 <212> DNA
 <213> Homo Sapiens

<400> 5
 cagggtgcagc tgggtggagtc tgggggagggc gtggtccagc ctgggagggtc cctgagactc 60
 tcctgtgcag cgtctggatt caccttcagt agctatgccca tgcactgggt ccgccaggct 120
 ccaggcaagg ggctggagtg ggtgacattt atatgggatg atggaagttt taaatattat 180
 gcagagtccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240
 ctgcaaatga acagcctgag agccgaagac acggctgtgt attactgtgc gagagagggc 300
 agctgggtctc ctgatatatt tgatatctgg ggccaaggga caatgggtcac cgtctcttca 360

<210> 6
 <211> 327
 <212> DNA
 <213> Homo Sapiens

<400> 6
 gccatccagt tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
 atcacttgcc gggcaagtca gggcattagc agagcttttag cctgggtatca gcagaaacca 120
 gggaaagctc ctaagctcct gatctatgat gcctccagtt tggaaagtgg ggtcccatca 180
 aggttcagcg gcagtggatc tgggacagat ttactctca ccatcagcag cctgcagcct 240

8059-4-33746A.ST25.txt

44
44

gaagattttg caacttatta ctgtcaacag tttaatagtt accccatcac cttcggccaa 300
 gggacacgac tggagattaa acgaact 327

<210> 7
 <211> 441
 <212> DNA
 <213> Homo Sapiens

<400> 7
 atggagtttg ggctgaactg ggttttcctc gttgctcttt tcagaggtgt ccactgtcag 60
 gtgcagctgg tggagtctgg gggaggcgtg gtccagcctg ggaggtccct gagactctcc 120
 tgtgcagcgt ctggattcac cttcagtagc tatgccatgc actgggtccg ccaggctcca 180
 ggcaaggggc tggagtgggt gacatttata tgggatgatg gaagttttaa atattatgca 240
 gagtccgtga agggccgatt caccatctcc agagacaatt ccaagaacac gctgtatttg 300
 caaatgaaca gcctgagagc cgaagacacg gctgtgtatt actgtgcgag agagggcagc 360
 tggctccttg atatatttga tatctggggc caagggacaa tggtcaccgt ctcttcaggc 420
 ccatccgtct tccccctggc g 441

<210> 8
 <211> 393
 <212> DNA
 <213> Homo Sapiens

<400> 8
 atggacatga ggggtccccgc tcagctcctg gggcttctgc tgctctggct cccaggtgcc 60
 agatgtgcca tccagttgac ccagctctcca tcctccctgt ctgcatctgt aggagacaga 120
 gtcaccatca cttgccgggc aagtcagggc attagcagag ctttagcctg gtatcagcag 180
 aaaccagggg aagctcctaa gctcctgac tatgatgcct ccagtttggg aagtggggtc 240
 ccatcaaggt tcagcggcag tggatctggg acagatttca ctctcaccat cagcagcctg 300
 cagcctgaag attttgcaac ttattactgt caacagttta atagttaccc catcaccttc 360
 ggccaagggg cacgactgga gattaaacga act 393

<210> 9
 <211> 120
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 9

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

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

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

8059-4-33746A.ST25.txt

Ala Val Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Asn Glu Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

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

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

Ala Arg Glu Gly Ser Trp Ser Pro Asp Ile Phe Asp Ile Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 10
<211> 109
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 10

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

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

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

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

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

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

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

<210> 11
<211> 139
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 11

Met Glu Phe Gly Leu Ser Trp Val Phe Leu Val Ala Leu Leu Arg Gly
1 5 10 15

Val Gln Cys Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln

46

AG

8059-4-33746A.ST25.txt

20

25

30

Pro Gly Arg Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Leu
 35 40 45

Ser Ser Phe Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu
 50 55 60

Glu Trp Val Ala Val Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Asn Glu Tyr Tyr Ala
 65 70 75 80

Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Thr Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn
 85 90 95

Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val
 100 105 110

Tyr Tyr Cys Ala Arg Glu Gly Ser Trp Ser Pro Asp Ile Phe Asp Ile
 115 120 125

Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser
 130 135

<210> 12
 <211> 131
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 12

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

Leu Pro Gly Ala Arg Cys Ala Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser
 20 25 30

Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Thr Ser
 35 40 45

Gln Gly Ile Arg Ser Ala Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Asn Pro Gly Lys
 50 55 60

Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Asp Ala Ser Ser Leu Glu Ser Gly Val
 65 70 75 80

Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
 85 90 95

Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln
 100 105 110

Phe Asn Ser Tyr Pro Val Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile
 115 120 125

Lys Arg Thr
130

<210> 13
<211> 360
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 13
caggtgcacac tggctggagtc ggggggaggc gtgtccagc ctggaggtc cctgagatc
120 tccgtgtag cgtctggat caccctaagt agctttgca tgcactgggt ccgccaggct
180 ccaggcaagg ggtctggagt ggtggcagtt atattgtatg atgaagtaa tgaatactat
240 gcagactccg tgaaggccg attaccacc tccagagaca attccaagaa cagctgttat
300 ctgcaaatga acagccctgag agccgagag acggtctgtt atactgtgc gagagaggc
360 agctggtctc ctgatatctc tgatatctgg ggcgaaggga caatgttcac cgtctcttca

<210> 14
<211> 327
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 14
gccatccagt tgaccagtc tccatccctc ctgtctgcat ctgttagaga cagatccacc
60 atcatctgcc ggaacaagtc gggcatctgc agtgccttag cctgttatca gcagaacccc
120 atcaaatgct ctaagctctc gatctatgat gccctcagtt tggaaagtgg ggtcccatca
180 aggttcagcg gcagtggatc tggacagat ttcacttca ccatcagcag cctgcagcct
240 gaagatttg caacttata ctgtcaacag ttaatatgtt accccgtcac cttcgccaa
300 gggacacgac tggagattaa acgaact
327

<210> 15
<211> 417
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 15
tggagtttg ggcctgagctg ggtttccctc gtgtcctctt taagaggtgt ccagtgtcag
60 gtgcaactgg tggatcggg gggagggcgtg gtccagcctg ggaggtccct gagaactctc
120 tgtgcagcgt ctggatccac ctaagtagc ttggcagtc actgggtccg ccaggctcca
180 tggcaagggc tggagtgggt ggcagttata tggatatgtg gaagtaatga atactatgca
240 gactccgtga agggccgatt caccacctcc agagacaatt ccaagaacac gctgtatctg
300 caaatgaaca gccctgagag cgaaggacag gctgtgtatt actgtgcgag agagggcagc
360 tggctctccg atattttga tacttggggc caagggaaca tggtcacagt ctcttca
417

<210> 16
<211> 393
<212> DNA

48
48

8059-4-33746A.ST25.txt

<213> Homo sapiens

<400> 16

```

atggacatga ggggtccccgc tcagctcctg gggcttctgc tgctctggct cccaggtgcc      60
agatgtgcca tccagttgac ccagtcctca tcctccctgt ctgcatctgt aggagacaga      120
gtcaccatca cttgccggac aagtcagggc attcgcagtg ctttagcctg gtatcagcag      180
aaccccggga aagctcctaa gctcctgac tatgatgcct ccagtttgga aagtggggtc      240
ccatcaaggt tcagcggcag tggatctggg acagatttca ctctcaccat cagcagcctg      300
cagcctgaag attttgcaac ttattactgt caacagttta atagttaccc cgtcaccttc      360
ggccaaggga cagcactgga gattaaacga act                                     393

```

<210> 17

<211> 120

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 17

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

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

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

Thr val Ile Trp Tyr Asp Gly Asn Asn Gln Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60

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

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

Ala Arg Glu Gly Ser Trp Ser Pro Asp Ile Phe Asp Ile Trp Gly Gln
 100 105 110

Gly Thr Met Val Thr val Ser Ser
 115 120

<210> 18

<211> 109

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 18

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

8059-4-33746A.ST25.txt

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Tyr
 20 25 30

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

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

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

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

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

<210> 19
 <211> 139
 <212> PRT
 <13> Homo sapiens
 <400> 19

Met Glu Phe Gly Leu Ser Trp Val Phe Leu Val Ala Leu Leu Arg Gly
 1 5 10 15

Val Gln Cys Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Met Val Gln
 20 25 30

Pro Gly Arg Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Leu
 35 40 45

Ser Ser Tyr Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu
 50 55 60

Glu Trp Val Thr Val Ile Trp Tyr Asp Gly Asn Asn Gln Tyr Tyr Ala
 65 70 75 80

Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn
 85 90 95

Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val
 100 105 110

Tyr Tyr Cys Ala Arg Glu Gly Ser Trp Ser Pro Asp Ile Phe Asp Ile
 115 120 125

Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser
 130 135

<210> 20

8059-4-33746A.ST25.txt

<211> 131
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 20

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

Leu Pro Gly Ala Arg Cys Ala Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser
 20 25 30

Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser
 35 40 45

Gln Gly Ile Ser Ser Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys
 50 55 60

Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Asp Ala Ser Ser Leu Glu Ser Gly Val
 65 70 75 80

Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
 85 90 95

Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln
 100 105 110

Phe Asn Ser Tyr Pro Ile Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile
 115 120 125

Lys Arg Thr
 130

<210> 21
 <211> 360
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

<400> 21

cagggtgcagc tgggtggagtc tggggggaggc atggtccagc ctgggaggtc cctgagactc 60

cctgtgcag cgtctggatt caccctcagt agctatggca tgcactgggt ccgccaggct 120

ccaggcaagg ggctggagtg ggtgacagtt atatggtatg atggaaataa tcaatactat 180

gcagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240

ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggctgtat attactgtgc gagagagggc 300

agctgggtctc ctgatatttt tgatatctgg ggccaagga caatgggtcac cgtctcttca 360

<210> 22
 <211> 327
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

<400> 22

gccatccagt tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60

8059-4-33746A.ST25.txt

120 atcattgcc gggaagtc gggcatagc agttattag cctggtatca gcagaacca
180 gggaagctc ctaagctcct gatctatgat gctccagtt tggaagtgg ggtcccatca
240 aggttcagcg gcatgtgac tgggacagat ttcatctca ccatcagcag cctgcagcct
300 gaagatttg caacttata ctgtcaacag ttaatagt accccatca cttcgccaa
327 gggaacgac tggagatta acgaact

<210> 23
<211> 417
<212> DNA
<213> Homo sapiens

60 atgagtttg ggttgagctg ggtttcttc gttgctcttt taagaggtgt ccagtgtcag
120 gtgcagctgg ttgagcttgg gggaagcctg gtccagcctg ggaggtccct ggaactctcc
180 tgtcagcgt ctggtatcac cctcagtagc tatggcagtc actgggtcgg ccaggtctca
240 ggcaagggtc tggagtgggt gacagtata tggatgatg gaataatca atactatgca
300 aactccgtga agggccgatt caccatctcc agagaacaat ccaagaacac gctgtatctg
360 caatgaaca gcttgagagc cgaagacacg gctgtatat actgtgcgag agaggcagc
417 tgttctctg atatttga tatctggggc caagggacaa tgtccacgt ctcttca

<210> 24
<211> 393
<212> DNA
<213> Homo sapiens

60 atgacatga ggttcccgct tcagctcctg ggtctctgc tgccttggt ccaggtgcc
120 agatgtcca tccagtgcac ccagtctcca tcttccctgt ctgcattgt aggaacaga
180 gtccaccatca ctgtccgggc aagtcagggc attagcagtt atttagcctg gtatcagcag
240 aaaccaggga aagctcccaa gctccctgac tatgatgctt ccagtttggg aagtgggtc
300 ccatcaaggt tcagcggcag tggatctggg acagattca ctccaccat cagcagcctg
360 cagctgaag atttgcacac ttatctagt caacagttt atagttaacc catcaccttc
393 ggccaaggga cagcactgga gattaacga act

<210> 25
<211> 116
<212> PRT
<213> Homo sapiens

1 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Gln Val Lys Lys Pro Gly Ser
5
20 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Asp Thr Phe Ser Ser Tyr
25
30

51

8059-4-33746A.ST25.txt

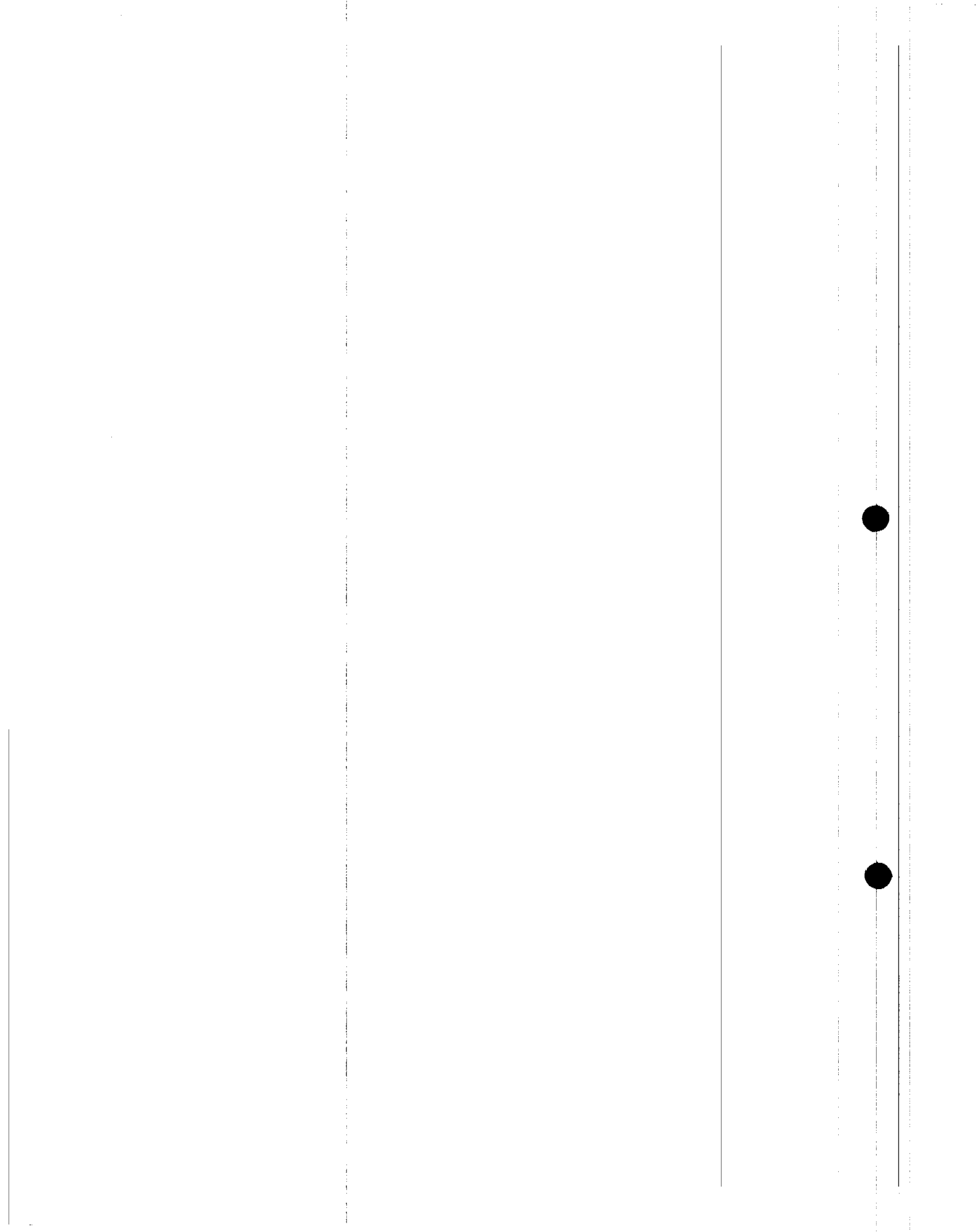
52
52
52Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Phe Glu Trp Met
35 40 45Gly Gly Ile Ile Pro Val Ile Gly Thr Val Asn Tyr Glu Glu Arg Phe
50 55 60Gln Asp Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Asn Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80Met Glu Leu Thr Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys
85 90 95Gly Arg Glu Glu Gly Phe Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
100 105 110Thr Val Ser Ser
115<210> 26
<211> 110
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 26

Ala Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Ala
20 25 30Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45Tyr Asp Ala Ser Ser Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Phe Asn Ser Tyr Pro Leu
85 90 95Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr
100 105 110<210> 27
<211> 135
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 27

Met Asp Trp Thr Trp Arg Phe Leu Phe Val Val Ala Ala Ala Thr Gly
Page 12



53
K3

8059-4-33746A.ST25.txt

1

5

10

15

Val Gln Ser Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys
20 25 30

Pro Gly Ser Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Asp Thr Phe
35 40 45

Ser Ser Tyr Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Phe
50 55 60

Glu Trp Met Gly Gly Ile Ile Pro Val Ile Gly Thr Val Asn Tyr Glu
65 70 75 80

Glu Arg Phe Gln Asp Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Asn Ser Thr Ser
85 90 95

Thr Ala Tyr Met Glu Leu Thr Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val
100 105 110

Phe Cys Gly Arg Glu Glu Gly Phe Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
115 120 125

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
130 135

<210> 28
<211> 132
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 28

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

Leu Pro Gly Ala Arg Cys Ala Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser
20 25 30

Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser
35 40 45

Gln Gly Ile Ser Ser Ala Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys
50 55 60

Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Asp Ala Ser Ser Leu Glu Ser Gly Val
65 70 75 80

Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
85 90 95

Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln
100 105 110

8059-4-33746A.ST25.txt

phe Asn Ser Tyr Pro Leu Leu Thr phe Gly Gly Thr Lys Val Glu
115 120 125

Ile Lys Arg Thr
130

<210> 29
<211> 348
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 29
caggtccagc tgggtcagc gtaagaagc ctgggtccgc ggtgaagtc
60
tccctgaag cttctgaga caccctcagc agtatgcta tcagttgggt gcgacagcc
120
cctgacaag gttttagtg gatggaggg atcatccctg tcaatggtac agtaaatat
180
gaagagagat tccagagcag agtcagat accgagaca atccacgag cacagcctac
240
atggattga ctatcttag atctgagac accgctgtg attttgtgg gagagaagag
300
ggcttccctg actattggg ccagggaac ctgtccaccg tctctca
348

<210> 30
<211> 396
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 30
atgacatga ggttccccc tcagctcccg gggctctgc tgcctggct ccaggtgccc
60
agattgcca tccagttgac ccagttcca tccctccctg ctgcatctgt aggaagacaga
120
gtcaccatca ctgcccggc aagtcagggc attagcagtg ctttagcctg gtatcagcag
180
aaaccagga aagctccaa gctcctgac tatgatgccc ccagttgga aagtgggtgc
240
ccatcaaggt tcagcggcag tgatctggg acagattca ctctccacat cagcagcctg
300
cagcctgaag atttgcac ttattactgt caacagttta atagttaccc tcttctcact
360
ttcggcggag ggaaccaaggt ggagatcaaa cgtacg
396

<210> 31
<211> 405
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 31
atgacttga cctgaggtt cctcttttg gtcgacagc ctacaggtgt ccagttccag
60
gtccagctgg tcagctctgg ggcctgaggtg aagaagcccg ggtccctcgtg gaaggtctcc
120
tgcgaagctt ctggaagcac cttcagcagt tatgtcataa gttgggtgcg acaggtccctc
180
ggacaaggtt ttgagtggat gggaggatc atccctgtca ttgtacagt aaattatgaa
240
gagatctcc aggaacaggt cagatatacc gcggaacaat ccaagagcac agcctacatg
300
gagttgacta gttcagatc tgaagacag gccgtgtatt ttgttgggag agaagagggc
360

8059-4-33746A.ST25.txt

ttccttgact attggggcca ggaaccctg gtcaccgtct cctca 405

<210> 32
 <211> 396
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

<400> 32
 atggacatga ggggtccccgc tcagctcctg gggcttctgc tgctctggct cccaggtgcc 60
 agatgtgccca tccagttgac ccagtcctcca tctccctgt ctgcatctgt aggagacaga 120
 gtcacatca cttgccgggc aagtcagggc attagcagtg ctttagcctg gtatcagcag 180
 aaaccagga aagctcctaa gctcctgac tatgatgcct ccagtttgga aagtggggtc 240
 ccatcaaggt tcagcggcag tggatctggg acagatttca ctctcaccat cagcagcctg 300
 cagcctgaag attttgcaac ttattactgt caacagttta atagttaccc tcttctcact 360
 ttcggcggag ggaccaaggt ggagatcaaa cgtacg 396

<210> 33
 <211> 121
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 33

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

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

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

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

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

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

Ala Thr Asp Ser Ser Gly Ser Phe Tyr Glu Tyr Phe Gln His Trp Gly
 100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120

<210> 34
 <211> 109
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

8059-4-33746A.ST25.txt

<400> 34

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

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

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

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

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

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Phe Asn Ser Tyr Pro Tyr
85 90 95

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

<210> 35
<211> 140
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 35

Met Glu Phe Gly Leu Ser Trp Val Phe Leu Val Ala Leu Leu Arg Gly
1 5 10 15

Val Gln Cys Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln
20 25 30

Pro Gly Arg Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe
35 40 45

Ser Cys Cys Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu
50 55 60

Glu Trp Val Ala Val Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala
65 70 75 80

Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Thr Ser Lys Asn
85 90 95

Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val
100 105 110

Tyr Tyr Cys Ala Thr Asp Ser Ser Gly Ser Phe Tyr Glu Tyr Phe Gln
115 120 125

8059-4-33746A.ST25.txt

57
57

His Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
130 135 140

<210> 36
<211> 131
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 36

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

Leu Pro Gly Ala Arg Cys Ala Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser
20 25 30

Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser
35 40 45

Gln Gly Ile Asn Ser Ala Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys
50 55 60

Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Asp Ala Ser Ser Leu Glu Ser Gly Val
65 70 75 80

Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
85 90 95

Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln
100 105 110

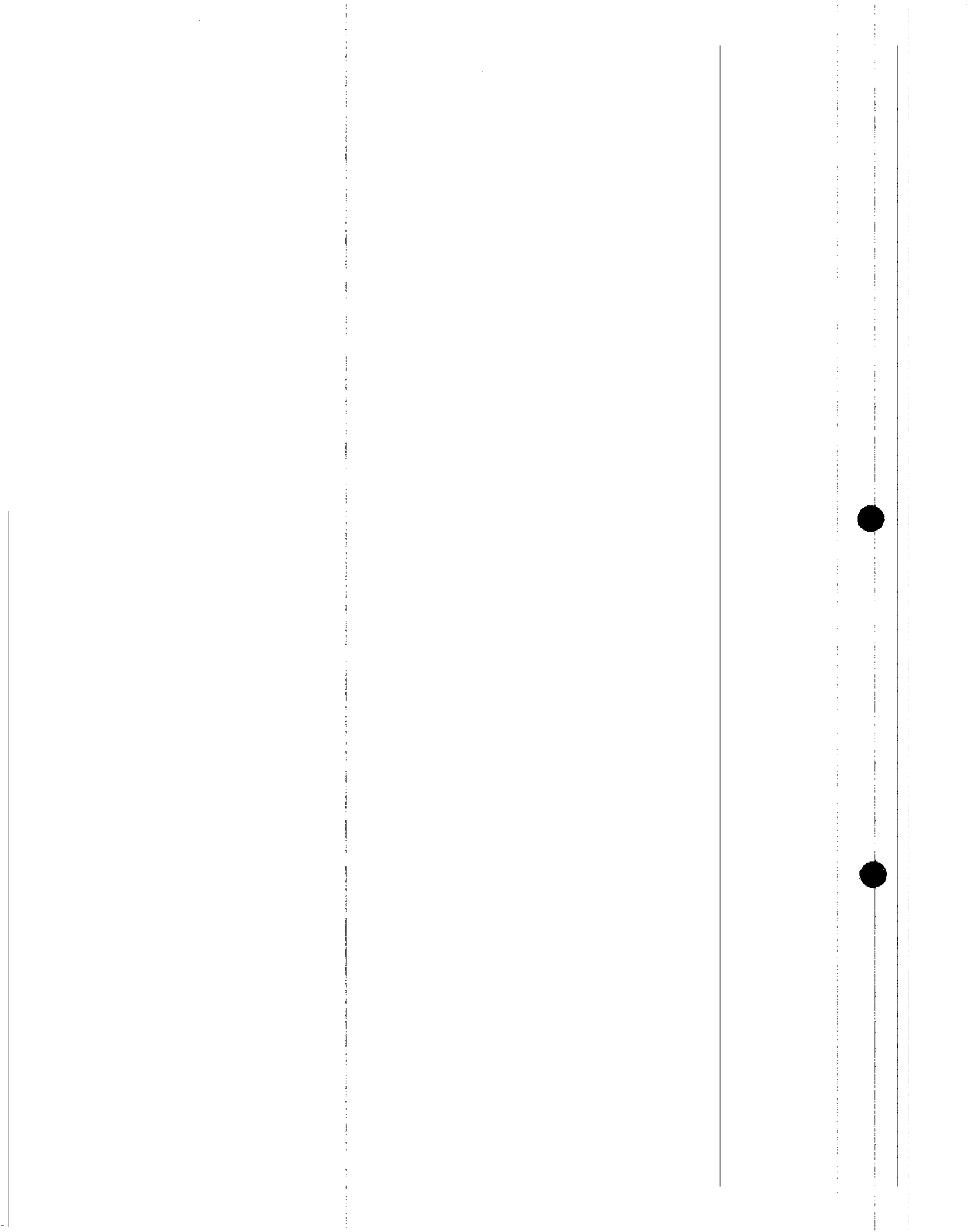
Phe Asn Ser Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile
115 120 125

Lys Arg Thr
130

<210> 37
<211> 363
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 37

caggtgcagc tggtagagtc tgggggaggc gtggtccagc ctgggaggtc cctgagactc	60
tcctgtgcag cgtctggatt caccttcagt tgctgtggca tgcactgggt ccgccaggct	120
ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcagtt atatggtatg atggaagtaa taaatactat	180
gcagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca cttccaagaa cagctgtat	240
ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggctgtgt attactgtgc gacagatagt	300
tcggggagtt tttatgaata cttccagcac tggggccagg gcaccctggt caccgtctcc	360
tca	363



58/58

<210> 38
<211> 327
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 38
gccatccagt tgaaccagtc tccatccccc ctgtctgcat ctgtaggaga cagatccacc
120
atacttgcg gggcaagtc gggcattaac agtgccttag cctgtatca gcagaacc
180
gggaagctc ctaagctcct gatctatgat gccctccagtt tggaaagtgg ggtcccatca
240
aggttcagcg gcagtggatc tgggacagat ttcacttca ccatcagcag cctgcagcct
300
gaagattttg caacttatca ctgtcaacag tttaatagtt accgtacac ttttggccag
327
gggaaccaagc tggagatcaa acgaact

<210> 39
<211> 420
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 39
atgagttttg gcttgagctg gttttcttc gttgcctctt taagagtgct ccagtgtcag
60
ggagcttgg tggagcttgg gggagggcgtg gtccaagcctg ggaagtccct gagactctcc
120
ttgtcagcgt ctgatctac cttagtttc tgttgcatgc actgggtccg ccaagctcca
180
tggcaagggc tggagtgggt ggcagttata tggatgatg gaagtaataa ataactatga
240
gactccgtga agggccgatt caccatctcc agagaacatt ccaagaaac gctgtatctg
300
caatgaaca gcctgagagc cgaagacag gctgtgtatt actgtgcgac agatagttcg
360
ggagttttt atgaatactt ccagcacttg ggcacaggca cccctggtcac cgtctctcca
420

<210> 40
<211> 393
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 40
atggacatga ggttcccccgc tcagcttccctg gggcttctgc tgcctctgct cccaagtgc
60
agatgtgcca tccagttagc ccagttcca tccctccctgt ctgcattctgt aggaagacaga
120
ccaccatca ctgcccgggc aagtcaaggc attaacagtgt ctttagcctg gtatcagcag
180
aaaccaggga aagctcccaa gctccctgatc tatgatgcct ccagtttggga aagtggggtc
240
ccatcaagtt tcagcggcag tggatctggg acagatttca ctctcaacat cagcagcctg
300
cagcctgaag attttgcaac ttattactgt caacagttta atagttaacc gtacactttt
360
ggccagggga ccaagcttga gatcaaacga act

<210> 41
<211> 121
<212> PRT
<213> Homo sapiens

59
251

8059-4-33746A.ST25.txt

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

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

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

Ala Val Val Trp Tyr Asp Gly Gly Tyr Lys Phe Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

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

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

Ala Arg Asp Ser Ser Gly Ser Phe Tyr Glu Tyr Leu Gln His Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 42
<211> 110
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 42

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

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

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

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

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

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

Phe Trp Pro Gly Asp Gln Ala Gly Asp Gln Thr Asn Cys Gly
100 105 110

8059-4-33746A.ST25.txt

<210> 43
 <211> 140
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 43

Met Glu Phe Gly Leu Ser Trp Val Phe Leu Val Ala Leu Leu Arg Gly
 1 5 10 15

Val Gln Cys Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln
 20 25 30

Pro Gly Arg Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe
 35 40 45

Ser Gly Tyr Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Arg Gly Leu
 50 55 60

Asp Trp Val Ala Val Val Trp Tyr Asp Gly Gly Tyr Lys Phe Tyr Ala
 65 70 75 80

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn
 85 90 95

Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val
 100 105 110

Tyr Tyr Cys Ala Arg Asp Ser Ser Gly Ser Phe Tyr Glu Tyr Leu Gln
 115 120 125

His Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 130 135 140

<210> 44
 <211> 132
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 44

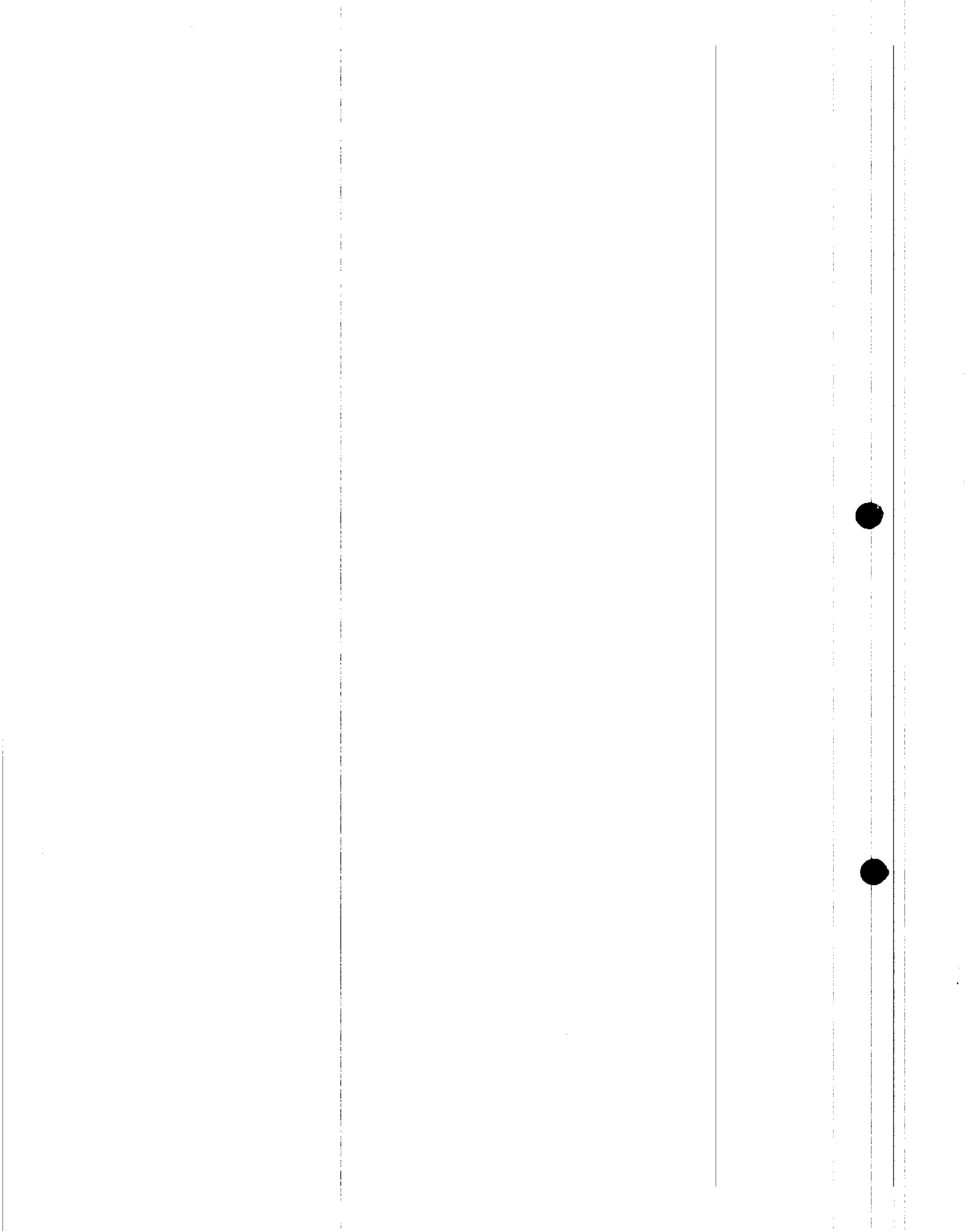
Met Asp Met Arg Val Pro Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Trp
 5 10 15

Leu Pro Gly Ala Arg Cys Ala Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser
 20 25 30

Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser
 35 40 45

Gln Gly Ile Ser Ser Ala Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys
 50 55 60

Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Asp Ala Ser Ser Leu Glu Ser Gly Val
 65 70 75 80



8059-4-33746A.ST25.TXT

180 tgtgcagcgt ctgatctac cttagtgcc tatggcatgc actgggtccg ccaagctcca
 240 gcaagggggc tggactgggt ggcagttgtg tggatgatg gaggttataa gtctatgca
 300 gactccgtga agggccgatt caccatccc agagaacaat ccaagaacac gctgtatctg
 360 caatgaaca gccctgagagc cgaaggacag gctgtgtatt actgtcgag agatagttcg
 420 gggagtttt atgaatatc acaacattgg ggcaggga cccgtgtcac cgtctccca

<210> 48
 <211> 391
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

60 atgacatga gggtcccgcc tcagctccctg gggcttctgc tgcctctggt ccaaggtgcc
 120 agatgtgcca tccaattgac ccagctcca tccctccctgt ctgcatctgt agggagacaga
 180 gtaccatca ctgcccgggc aagtcagggc attagcagtg cttagccttg gtatcagcag
 240 aaaccaggga aagctcccaa gctccctgatc tatgatgcct ccagtttggg aagtggggtc
 300 ccatcaaggt tcagcggcag tggatctggg acagattca ctctcaccat cagcagcctg
 360 gcttgaag atttgcaac ttatctagt caacagttta atagttacc tcacttttgg
 391 ccagggacc aagctggaga tcaaacggaac t

61

62
52

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No.

PCT/EP2005/008361

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

C07K16/24

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

B. FIELDS SEARCHED

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

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

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

EPO-Internal, WPI Data, PAJ

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	US 5 705 154 A (DALIE ET AL) 6 January 1998 (1998-01-06) column 2, line 5 - line 18 column 5, line 49 - line 62 claims; examples	1-18
A	US 2002/002132 A1 (PLUENNEKE JOHN D) 3 January 2002 (2002-01-03) paragraph '0001! paragraph '0017! paragraph '0088! - paragraph '0091! paragraph '0144! - paragraph '0149! claims; examples	1-18
	----- -/--	

☒ Further documents are listed in the continuation of box C.

☒ Patent family members are listed in 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.
- *Z* document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

20 December 2005

Date of mailing of the international search report

05/01/2006

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Rankin, R

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No.

PCT/EP2005/008361

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WO 91/09059 A (SCHERING CORPORATION) 27 June 1991 (1991-06-27) page 1, line 22 - line 34 page 6, line 8 - line 17 claims; examples -----	1-18
P,A	FR 2 859 725 A (NEOVACS) 18 March 2005 (2005-03-18) page 4, line 15 - line 22 claims; examples -----	1-18

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/EP2005/008361

Box II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of Item 2 of first sheet)

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 claim 18 is directed to a method of treatment of the human body, the search has been carried out and based on the alleged effects of the compound.
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

International Application No

PCT/EP2005/008361

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US 5705154	A	06-01-1998	NONE	
US 2002002132	A1	03-01-2002	NONE	
WO 9109059	A	27-06-1991	AT 136906 T AU 639754 B2 AU 7176291 A CA 2071908 A1 CZ 9006352 A3 DE 69026627 D1 DE 69026627 T2 DK 506826 T3 EP 0506826 A1 ES 2085983 T3 FI 922847 A GR 3020325 T3 HU 64568 A2 IE 904589 A1 JP 7030116 B JP 4506359 T KR 9616862 B1 NZ 236511 A OA 9704 A PT 96230 A SK 635290 A3 US 6358509 B1 ZA 9010190 A	15-05-1996 05-08-1993 18-07-1991 21-06-1991 13-08-1997 23-05-1996 22-08-1996 13-05-1996 07-10-1992 16-06-1996 18-06-1992 30-09-1996 28-01-1994 03-07-1991 05-04-1995 05-11-1992 23-12-1996 25-02-1993 30-08-1993 15-10-1991 11-06-1999 19-03-2002 28-08-1991
FR 2859725	A	18-03-2005	WO 2005028513 A2	31-03-2005

ANTICUERPOS MONOCLONALES HUMANOS CONTRA
INTERLEUCINA-4 HUMANA (IL-4)

Descripción de la Invención

5 La presente invención se refiere a anticuerpos que son
específicos para la interleucina-4 humana (hIL-4).

10 Las enfermedades alérgicas, tales como dermatitis atópica,
rinitis alérgica, asma, y alergias a alimentos, están
característicamente asociadas con respuestas exacerbadas de las
células Th2 a los antígenos medio-ambientales inocuos (alergenos).
Los alergenos son capturados por las células presentadoras de
antígeno, procesados y presentados en el contexto de moléculas
MHC Clase II ante las células auxiliares T (Th) específicas de
alergeno. Las células Th específicas de alergeno pertenecen al
15 fenotipo Th2 y se desarrollan a partir de células T precursoras bajo
la influencia de la interleucina-4 (IL-4). Una vez que se activan las
células Th2, secretan IL-4 e interleucina-13 (IL-13), que, junto con
las señales enlazadas a la superficie, inducen a las células B a
cambiar hasta células de plasma productoras de IgE. Las moléculas
20 de IgE se enlazan con FcεR de alta afinidad sobre los mastocitos y,
después de su encuentro subsecuente con el alergeno, inducen la
activación de los mastocitos y la liberación de los mediadores de las
reacciones alérgicas. Las citocinas Th2 también promueven la
sobrevivencia de los eosinófilos y el crecimiento de los mastocitos
25 que, después de la desgranulación, también liberan citocinas Th2

68

adicionales capaces de aumentar la producción de IgE, la diferenciación de células Th, y la sobrevivencia de los eosinófilos. Por consiguiente, las células Th2 tienen un papel pivotal en la inducción y desarrollo de las respuestas alérgicas y, por consiguiente, la antagonización de su desarrollo y/o de sus funciones efectoras sería una manera eficiente de intervenir en las respuestas alérgicas.

IL-4 e IL-13 comparten muchas actividades biológicas debido al hecho de que ambas citocinas utilizan la cadena (IL-4R)-alfa receptora de IL-4 como un componente de sus complejos receptores respectivos. IL-13 señala a través de un complejo heterodimérico que consiste en una cadena de enlace de IL-13 (IL-13R α 1) y la cadena IL-4R α . IL-4 utiliza este complejo IL-4R α /IL-13R α 1, denominado como IL-4R tipo II, como una alternativa a IL-4R tipo I, consistente en la cadena IL-4R α y la cadena γ común ($c\gamma$) compartida por los receptores para IL-2, IL-4, IL-7, IL-9, IL-15, y linfopoietina estromal timica (TSLP). Debido a que las células T no expresan IL-13R α 1, IL-13 en contraste con IL-4 no soporta la proliferación de células T, y no puede inducir la diferenciación de las células Th humanas puras hacia el fenotipo Th2 (ver, por ejemplo, J. E. de Vries y colaboradores, *Encyclopedia of Hormones and related cell regulators*, Academic Press, 2002). IL-4 tiene un papel pivotal en la proliferación de células T y, por lo tanto, en el desarrollo y mantenimiento de enfermedades alérgicas. Los ratones deficientes en el gen de IL-4, o los ratones que carecen de IL-4 (ver, por

ejemplo, Kuhn R. y colaboradores, *Science*, 1991 (5032) 707:10), o del factor de señalización corriente abajo STAT6 (ver, por ejemplo, Kaplan M. H. y colaboradores, *Immunity*, 1996 (3) 313-9), no desarrollan números significativos de célula Th2, y tienen respuestas de IgE reducidas.

Ahora hemos encontrado anticuerpos con una alta afinidad por la IL-4 humana, y un fuerte potencial inhibidor de la síntesis de IgE mediada por IL-4, por parte de las células B humanas puras.

En un aspecto, la presente invención proporciona un anticuerpo específico de IL-4 humana, el cual se enlaza con la IL-4 humana con una constante de disociación K_d igual o menor que 800 pM, tal como, por ejemplo, igual o menor que 200 pM.

En otro aspecto, la presente invención proporciona un anticuerpo que tiene un primer dominio que comprende, en secuencia, las regiones hipervariables CDR1, CDR2, y CDR3, y un segundo dominio que comprende, en secuencia, las regiones hipervariables CDR1', CDR2', y CDR3', seleccionado a partir del grupo que consiste en un anticuerpo en donde:

a) la CDR1 tiene la secuencia de aminoácidos Gly-Phe-Thr-Phe-Ser-Ser-Tyr-Ala-Met-His (GFTFSSYAMH),

la CDR2 tiene la secuencia de aminoácidos Phe-Ile-Trp-Asp-Asp-Gly-Ser-Phe-Lys-Tyr-Tyr-Ala-Glu-Ser-Val-Lys-Gly (FIWDDGSFKYYAESVKG),

la CDR3 tiene la secuencia de aminoácidos Glu-Gly-Ser-Trp-Ser-Pro-Asp-Ile-Phe (EGSWSPDIF),

90
70

la CDR1' tiene la secuencia de aminoácidos Ser-Gln-Gly-Ile-Ser-Arg-Ala (SQGISRA),

la CDR2' tiene la secuencia de aminoácidos Asp-Ala-Ser (DAS),

5 la CDR3' tiene la secuencia de aminoácidos Phe-Asn-Ser-Tyr-Pro-Ile (FNSYPI),

b) la CDR1 tiene la secuencia de aminoácidos Gly-Phe-Thr-Leu-Ser-Ser-Phe-Gly-Met-His (GFTLSSFGMH),

10 la CDR2 tiene la secuencia de aminoácidos Val-Ile-Trp-Tyr-Asp-Gly-Ser-Asn-Glu-Tyr-Tyr-Ala-Asp-Ser-Val-Lys-Gly (VIWYDGSNEYADSVKG),

la CDR3 tiene la secuencia de aminoácidos Glu-Gly-Ser-Trp-Ser-Pro-Asp-Ile-Phe (EGSWSPDIF),

15 la CDR1' tiene la secuencia de aminoácidos Ser-Gln-Gly-Ile-Arg-Ser-Ala (SQGIRSA),

la CDR2' tiene la secuencia de aminoácidos Asp-Ala-Ser (DAS),

la CDR3' tiene la secuencia de aminoácidos Phe-Asn-Ser-Tyr-Pro-Val (FNSYPV),

20 c) la CDR1 tiene la secuencia de aminoácidos Gly-Phe-Thr-Leu-Ser-Ser-Tyr-Gly-Met-His (GFTLSSYGMH),

la CDR2 tiene la secuencia de aminoácidos Val-Ile-Trp-Tyr-Asp-Gly-Asn-Asn-Gln-Tyr-Tyr-Ala-Asp-Ser-Val-Lys-Gly (VIWYDGNNQYYADSCKG),

25 la CDR3 tiene la secuencia de aminoácidos Glu-Gly-Ser-Trp-

24
21

Ser-Pro-Asp-Ile-Phe (EGSWSPDIF),

la CDR1' tiene la secuencia de aminoácidos Ser-Gln-Gly-Ile-Ser-Ser-Tyr (SQGISSY),

la CDR2' tiene la secuencia de aminoácidos Asp-Ala-Ser
5 (DAS),

la CDR3' tiene la secuencia de aminoácidos Phe-Asn-Ser-Tyr-Pro (FNSYP),

d) la CDR1 tiene la secuencia de aminoácidos Gly-Asp-Thr-Phe-Ser-Ser-Tyr-Ala-Ile-Ser (GDTFSSYAIS),

10 la CDR2 tiene la secuencia de aminoácidos Gly-Ile-Ile-Ile-Pro-Val-Ile-Gly-Thr-Val-Asn-Tyr-Glu-Glu-Arg-Phe-Gln-Asp-Arg (GIIIPVIGTVNYYEERFQD),

la CDR3 tiene la secuencia de aminoácidos Glu-Glu-Gly-Phe-Leu (EEGFL),

15 la CDR1' tiene la secuencia de aminoácidos Ser-Gln-Gly-Ile-Ser-Ser-Ala (SQGISSA),

la CDR2' tiene la secuencia de aminoácidos Asp-Ala-Ser (DAS),

20 la CDR3' tiene la secuencia de aminoácidos Phe-Asn-Ser-Tyr-Pro-Leu (FNSYPL),

e) la CDR1 tiene la secuencia de aminoácidos Gly-Phe-Thr-Phe-Ser-Cys-Cys-Gly-Met-His (GFTFSCCGMH),

la CDR2 tiene la secuencia de aminoácidos Val-Ile-Trp-Tyr-Asp-Gly-Ser-Asn-Lys-Tyr-Tyr-Ala-Asp-Ser-Val-Lys-Gly
25 (VIWYDGSNKYYADSVKG),

72

la CDR3 tiene la secuencia de aminoácidos Asp-Ser-Ser-Gly-Ser-Phe-Tyr-Glu-Tyr-Phe (DSSGSFYEYF),

la CDR1' tiene la secuencia de aminoácidos Ser-Gln-Gly-Ile-Asn-Ser-Ala (SQGINSA),

5 la CDR2' tiene la secuencia de aminoácidos Asp-Ala-Ser (DAS),

la CDR3' tiene la secuencia de aminoácidos Phe-Asn-Ser-Tyr-Pro-Tyr (FNSYPY), y

10 f) la CDR1 tiene la secuencia de aminoácidos Gly-Phe-Thr-Phe-Ser-Gly-Tyr-Gly-Met-His (GFTFSGYGMH),

la CDR2 tiene la secuencia de aminoácidos Val-Val-Trp-Tyr-Asp-Gly-Gly-Tyr-Lys-Phe-Tyr-Ala-Asp-Ser-Val-Lys-Gly (VVWYDGGYKFYADSVKG),

15 la CDR3 tiene la secuencia de aminoácidos Asp-Ser-Ser-Gly-Ser-Phe-Tyr-Glu-Tyr-Leu (DSSGSFYEYL),

la CDR1' tiene la secuencia de aminoácidos Ser-Gln-Gly-Ile-Ser-Ser-Ala (SQGISSA),

la CDR2' tiene la secuencia de aminoácidos Asp-Ala-Ser (DAS),

20 la CDR3' tiene la secuencia de aminoácidos Phe-Asn-Ser-Tyr-Pro-His (FNSYPH).

CDR1, CDR2, y CDR3 son parte de la secuencia de aminoácidos de la cadena pesada de este anticuerpo, y CDR1', CDR2', y CDR3' son parte de la secuencia de aminoácidos de la
25 cadena ligera de este anticuerpo.

93

También hemos encontrado un anticuerpo que comprende:

- la secuencia de aminoácidos de la cadena pesada de un polipéptido maduro de la SEC ID NO: 1, y la secuencia de aminoácidos de la cadena ligera de un polipéptido maduro de la SEC ID NO: 2, ó
- la secuencia de aminoácidos de la cadena pesada de un polipéptido maduro de la SEC ID NO: 9, y la secuencia de aminoácidos de la cadena ligera de un polipéptido maduro de la SEC ID NO: 10, ó
- la secuencia de aminoácidos de la cadena pesada de un polipéptido maduro de la SEC ID NO: 17, y la secuencia de aminoácidos de la cadena ligera de un polipéptido maduro de la SEC ID NO: 18, ó
- la secuencia de aminoácidos de la cadena pesada de un polipéptido maduro de la SEC ID NO: 25, y la secuencia de aminoácidos de la cadena ligera de un polipéptido maduro de la SEC ID NO: 26, ó
- la secuencia de aminoácidos de la cadena pesada de un polipéptido maduro de la SEC ID NO: 33, y la secuencia de aminoácidos de la cadena ligera de un polipéptido maduro de la SEC ID NO: 34, ó
- la secuencia de aminoácidos de la cadena pesada de un polipéptido maduro de la SEC ID NO: 41, y la secuencia de aminoácidos de la cadena ligera de un polipéptido maduro de la SEC ID NO: 42.

En un aspecto adicional, la presente invención proporciona un anticuerpo que comprende:

a) un polipéptido de la SEC ID NO: 1 y un polipéptido de la SEC ID NO: 2, ó

5 b) un polipéptido de la SEC ID NO: 9 y un polipéptido de la SEC ID NO: 10, ó

c) un polipéptido de la SEC ID NO: 17 y un polipéptido de la SEC ID NO: 18, ó

10 d) un polipéptido de la SEC ID NO: 25 y un polipéptido de la SEC ID NO: 26, ó

e) un polipéptido de la SEC ID NO: 33 y un polipéptido de la SEC ID NO: 34, ó

f) un polipéptido de la SEC ID NO: 41 y un polipéptido de la SEC ID NO: 42.

15 Además hemos encontrado un anticuerpo que comprende:

- la secuencia de aminoácidos de la cadena pesada de un polipéptido de la SEC ID NO: 1, que además contiene una secuencia líder (= SEC ID NO: 3), y la secuencia de aminoácidos de la cadena ligera de un polipéptido de la SEC ID NO: 2, que además contiene una secuencia líder (= SEC ID NO: 4), ó

20 - la secuencia de aminoácidos de la cadena pesada de un polipéptido de la SEC ID NO: 9, que además contiene una secuencia líder (= SEC ID NO: 11), y la secuencia de aminoácidos de la cadena ligera de un polipéptido de la SEC ID NO: 10, que además contiene una secuencia líder (= SEC ID NO: 12), ó

25

25
75

- la secuencia de aminoácidos de la cadena pesada de un polipéptido de la SEC ID NO: 17, que además contiene una secuencia líder (= SEC ID NO: 19), y la secuencia de aminoácidos de la cadena ligera de un polipéptido de la SEC ID NO: 18, que además
5 contiene una secuencia líder (= SEC ID NO: 20), ó

- la secuencia de aminoácidos de la cadena pesada de un polipéptido de la SEC ID NO: 25, que además contiene una secuencia líder (= SEC ID NO: 27), y la secuencia de aminoácidos de la cadena ligera de un polipéptido de la SEC ID NO: 26, que además
10 contiene una secuencia líder (= SEC ID NO: 28), ó

- la secuencia de aminoácidos de la cadena pesada de un polipéptido de la SEC ID NO: 33, que además contiene una secuencia líder (= SEC ID NO: 35), y la secuencia de aminoácidos de la cadena ligera de un polipéptido de la SEC ID NO: 34, que además
15 contiene una secuencia líder (= SEC ID NO: 36), ó

- la secuencia de aminoácidos de la cadena pesada de un polipéptido de la SEC ID NO: 41, que además contiene una secuencia líder (= SEC ID NO: 43), y la secuencia de aminoácidos de la cadena ligera de un polipéptido de la SEC ID NO: 42, que además
20 contiene una secuencia líder (= SEC ID NO: 44).

En un aspecto adicional, la presente invención proporciona un anticuerpo que comprende:

a) un polipéptido de la SEC ID NO: 3 y un polipéptido de la SEC ID NO: 4, ó

25 b) un polipéptido de la SEC ID NO: 11 y un polipéptido de la

76
76

SEC ID NO: 12, ó

c) un polipéptido de la SEC ID NO: 19 y un polipéptido de la SEC ID NO: 20, ó

5 d) un polipéptido de la SEC ID NO: 27 y un polipéptido de la SEC ID NO: 28, ó

e) un polipéptido de la SEC ID NO: 35 y un polipéptido de la SEC ID NO: 36, ó

f) un polipéptido de la SEC ID NO: 43 y un polipéptido de la SEC ID NO: 44.

10 Los anticuerpos proporcionados por la presente invención también se designan posteriormente en la presente como "compuesto(s) de (acuerdo con) la presente invención".

En otro aspecto, la presente invención proporciona un compuesto de la presente invención, el cual se selecciona a partir
15 del grupo que consiste en un anticuerpo monoclonal específico de IL-4 humana (hIL-4 mAb), un fragmento del mismo, y un análogo del mismo.

Un hIL-4 mAb es un anticuerpo que reconoce específicamente la IL-4 humana, es decir, incluye sitios de enlace de antígeno
20 específicos para la IL-4 humana, y el cual tiene específicamente sus CDRs pero también otras partes de la cadena pesada y ligera derivadas a partir de inmunoglobulinas humanas.

El anticuerpo puede ser de cualquier isotipo, incluyendo IgG1, IgG2, IgG3, e IgG4, de preferencia del isotipo IgG1.

25 "Un fragmento del mismo" significa una parte de la secuencia

27
20

variable de cadena pesada y ligera de un hIL-4 mAb, la cual retiene la misma especificidad de enlace de antígeno y/o capacidad neutralizante que la molécula a partir de la cual se derivan los fragmentos, por ejemplo un fragmento Fab, o un fragmento F(ab')₂ derivado a partir del hIL-4 mAb.

Un fragmento Fab contiene la cadena ligera entera y las porciones amino-terminales de la cadena pesada; un fragmento F(ab')₂ es el fragmento formado por 2 fragmentos Fab enlazados por enlaces de disulfuro. Estos fragmentos se pueden obtener por medios convencionales, por ejemplo disociación de los anticuerpos monoclonales con las enzimas proteolíticas apropiadas, papaína y/o pepsina, o mediante métodos recombinantes, y los fragmentos mismos son útiles como agentes terapéuticos y/o profilácticos.

"Un análogo del mismo" significa un hIL-4 mAb con una secuencia de aminoácidos que es modificada por cuando menos un aminoácido fuera de las regiones CDR, por ejemplo fuera de CDR1, CDR2, y CDR3 de la cadena pesada, o fuera de CDR1', CDR2', y CDR3' de la cadena ligera. Esta modificación incluye una modificación química, una sustitución, o una reconfiguración de uno o unos cuantos aminoácidos, es decir, no más de 10 aminoácidos, cuya modificación permite que la secuencia de aminoácidos retenga las características biológicas, por ejemplo especificidad de antígeno y afinidad, de la secuencia no modificada. Por ejemplo, se pueden construir mutaciones silenciosas por medio de sustitución para crear sitios de restricción de endonucleasa dentro o alrededor de las

78
79

regiones CDR.

Un análogo también puede presentarse como una variación alélica. Una "variación o modificación alélica" es una alteración en la secuencia de ácido nucleico que codifica un anticuerpo de la presente invención fuera de las regiones CDR. Estas alteraciones o modificaciones se pueden deber a las degeneraciones del código genético, o se pueden diseñar liberalmente para proporcionar las características deseadas. Estas variaciones o modificaciones pueden o no dar como resultado alteraciones en cualquier secuencia de aminoácidos codificada, pero retienen las actividades biológicas, por ejemplo, especificidad de antígeno y afinidad.

También hemos encontrado polinucleótidos que codifican los compuestos de la presente invención.

En otro aspecto, la presente invención proporciona polinucleótidos aislados que comprenden polinucleótidos que codifican un compuesto de la presente invención.

En otro aspecto, la presente invención proporciona polinucleótidos que codifican la secuencia de aminoácidos de CDR1, CDR2, y CDR3 de un compuesto de la presente invención, y polinucleótidos que codifican la secuencia de aminoácidos de CDR1', CDR2', y CDR3' de un compuesto de la presente invención.

En otro aspecto, la presente invención proporciona polinucleótidos que comprenden:

a) un polinucleótido de la SEC ID NO: 5, y un polinucleótido de la SEC ID NO: 6, 6

24
27

b) un polinucleótido de la SEC ID NO: 13, y un polinucleótido de la SEC ID NO: 14, ó

c) un polinucleótido de la SEC ID NO: 21, y un polinucleótido de la SEC ID NO: 22, ó

5 d) un polinucleótido de la SEC ID NO: 29, y un polinucleótido de la SEC ID NO: 30, ó

e) un polinucleótido de la SEC ID NO: 37, y un polinucleótido de la SEC ID NO: 38, ó

10 f) un polinucleótido de la SEC ID NO: 45, y un polinucleótido de la SEC ID NO: 46.

En otro aspecto, la presente invención proporciona polinucleótidos que codifican:

a) un polipéptido de las SEC ID NO: 7 y SEC ID NO: 8, ó

b) un polipéptido de las SEC ID NO: 15 y SEC ID NO: 16, ó

15 c) un polipéptido de las SEC ID NO: 23 y SEC ID NO: 24, ó

d) un polipéptido de las SEC ID NO: 31 y SEC ID NO: 32, ó

e) un polipéptido de las SEC ID NO: 39 y SEC ID NO: 40, ó

f) un polipéptido de las SEC ID NO: 47 y SEC ID NO: 48.

20 La SEC ID NO: 5 es un polinucleótido que codifica una secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 1.

La SEC ID NO: 6 es un polinucleótido que codifica una secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 2.

La SEC ID NO: 7 es un polinucleótido que codifica una secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 3.

La SEC ID NO: 8 es un polinucleótido que codifica una secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 4.

La SEC ID NO: 13 es un polinucleótido que codifica una secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 9.

5 La SEC ID NO: 14 es un polinucleótido que codifica una secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 10.

La SEC ID NO: 15 es un polinucleótido que codifica una secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 11.

10 La SEC ID NO: 16 es un polinucleótido que codifica una secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 12.

La SEC ID NO: 21 es un polinucleótido que codifica una secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 17.

La SEC ID NO: 22 es un polinucleótido que codifica una secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 18.

15 La SEC ID NO: 23 es un polinucleótido que codifica una secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 19.

La SEC ID NO: 24 es un polinucleótido que codifica una secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 20.

20 La SEC ID NO: 29 es un polinucleótido que codifica una secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 25.

La SEC ID NO: 30 es un polinucleótido que codifica una secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 26.

La SEC ID NO: 31 es un polinucleótido que codifica una secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 27.

25 La SEC ID NO: 32 es un polinucleótido que codifica una

21
21

secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 28.

La SEC ID NO: 37 es un polinucleótido que codifica una secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 33.

5 La SEC ID NO: 38 es un polinucleótido que codifica una secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 34.

La SEC ID NO: 39 es un polinucleótido que codifica una secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 35.

La SEC ID NO: 40 es un polinucleótido que codifica una secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 36.

10 La SEC ID NO: 45 es un polinucleótido que codifica una secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 41.

La SEC ID NO: 46 es un polinucleótido que codifica una secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 42.

15 La SEC ID NO: 47 es un polinucleótido que codifica una secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 43.

La SEC ID NO: 48 es un polinucleótido que codifica una secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 44.

20 Un compuesto de la presente invención se puede producir mediante técnicas de ADN recombinante. Por consiguiente, se pueden construir una o más moléculas de ADN que codifiquen el anticuerpo, un fragmento del mismo, o un análogo del mismo, y se pueden colocar bajo secuencias de control apropiadas en un vector apropiado, y se pueden transferir a un huésped (organismo) adecuado para la expresión. El compuesto de la presente invención
25 se puede obtener de acuerdo con, por ejemplo de una manera

85
9
12

análoga a, un método convencional, junto con la información proporcionada en la presente, por ejemplo, con el conocimiento de la secuencia de aminoácidos de las regiones hipervariables y/o variables y los polinucleótidos que codifican estas regiones. Por ejemplo, en la Patente Europea Número EP 239 400, se describe un método para construir un gen de dominio variable, y se puede resumir brevemente como sigue:

Se prepara un vector de expresión replicable que incluya un promotor adecuado operativamente enlazado a una secuencia de polinucleótido de interés, por ejemplo que codifique cuando menos un dominio variable de una cadena pesada o ligera de inmunoglobulina que comprenda CDRs, se transforma una línea celular adecuada con este vector de expresión, se cultiva la línea celular transformada, y se obtiene la inmunoglobulina correspondiente.

En otro aspecto, la presente invención proporciona un vector de expresión que comprende un polinucleótido que codifica un compuesto de la presente invención, por ejemplo cuando menos un polinucleótido de las SEC ID NO: 5, SEC ID NO: 6, SEC ID NO: 7, SEC ID NO: 8, SEC ID NO: 13, SEC ID NO: 14, SEC ID NO: 15, SEC ID NO: 16, SEC ID NO: 21, SEC ID NO: 22, SEC ID NO: 23, SEC ID NO: 24, SEC ID NO: 37, SEC ID NO: 38, SEC ID NO: 39, SEC ID NO: 40, SEC ID NO: 45, SEC ID NO: 46, SEC ID NO: 47, ó SEC ID NO: 48.

Naturalmente, un vector de expresión puede comprender más

de un polinucleótido.

En otro aspecto, la presente invención proporciona:

- Un sistema de expresión que comprende un polinucleótido que codifica un compuesto de la presente invención, en donde este sistema de expresión o parte del mismo es capaz de producir un compuesto de la presente invención, por ejemplo un hIL-4 mAb, cuando el sistema de expresión o parte del mismo esté presente en una célula hospedadora compatible; y

- Una célula hospedadora aislada que comprende un sistema de expresión como se define anteriormente.

Los vectores de expresión, por ejemplo que comprenden promotores adecuados y genes que codifican las partes constantes de cadena pesada y ligera son conocidos, por ejemplo, y están comercialmente disponibles, e incluyen, por ejemplo, el vector de cadena pesada IgG1 y el vector de cadena ligera kappa humano. Se puede producir un vector de expresión convencional o un plásmido recombinante mediante la colocación del polinucleótido respectivo en asociación operativa con secuencias de control reguladoras convencionales capaces de controlar la réplica y expresión en, y/o la secreción a partir de, una célula hospedadora. Las secuencias reguladoras incluyen secuencias promotoras, por ejemplo el promotor CMV, el promotor LCK, y secuencias de señales apropiadas.

Una célula hospedadora seleccionada se puede transfectar mediante técnicas convencionales con el vector de interés para crear una célula hospedadora transfectada, la cual entonces se puede

GA
SA

cultivar mediante técnicas convencionales para producir los compuestos de la presente invención.

Las líneas celulares apropiadas se pueden encontrar de acuerdo con, por ejemplo de una manera análoga a, un método convencional.

Los huéspedes apropiados son conocidos o se pueden encontrar de acuerdo con, por ejemplo de una manera análoga a, un método convencional, e incluyen cultivos celulares o animales transgénicos.

Las células o líneas celulares huéspedes adecuadas para la expresión de los compuestos de la presente invención son de preferencia células eucarióticas, tales como, por ejemplo, CHO, COS, una célula de fibroblasto (por ejemplo, 3T3), y células mieloides, entre otras, de preferencia una célula de mamífero, tal como una célula CHO o SP2/0.

Los compuestos de la presente invención exhiben actividad farmacológica y, por consiguiente, son útiles como productos farmacéuticos. Por ejemplo, los compuestos de la presente invención interfieren fuertemente con el enlace de IL-4 a un receptor de IL-4, y en la presente también son referidos como compuestos bloqueadores o neutralizantes de IL-4 de la presente invención, incluyendo hIL-4 mAb(s). Los compuestos de la presente invención muestran actividad, y su afinidad se puede determinar en la PRUEBA: MEDICIÓN DE AFINIDAD, como se describe en el Ejemplo 1.

Un compuesto de la presente invención, por consiguiente,

85
85
15

muestra actividad terapéutica contra enfermedades mediadas por IL-4 y/o IgE, tales como:

5 - diferentes enfermedades alérgicas, por ejemplo incluyendo urticaria, reacciones alérgicas a medicamentos, rinitis, por ejemplo rinitis alérgica, conjuntivitis, por ejemplo rinoconjuntivitis, dermatitis, por ejemplo dermatitis atópica, asma, por ejemplo asma atópico y asma alérgico, choque anafiláctico;

10 de preferencia dermatitis atópica, asma alérgico, rinitis alérgica, rinoconjuntivitis alérgica, tal como asma alérgico o dermatitis atópica;

15 - enfermedades autoinmunes, incluyendo, por ejemplo, enfermedad de Kawasaki, enfermedad de Grave, síndrome de Sjorgen, síndrome linfoproliferativo autoinmune, anemia hemolítica autoinmune, uveitis autoinmune, miastenia gravis, lupus eritematoso, y penfigoide buloso;

20 - trastornos del sistema digestivo en donde IL-4 y/o IgE tengan un papel, incluyendo, por ejemplo, úlceras, inflamación gástrica, inflamación de la mucosa, colitis ulcerativa, enfermedad de Crohn, enfermedad inflamatoria del intestino, y otros trastornos del sistema digestivo en los que IL-4 y/o IgE tengan un papel;

- enfermedades en donde se sobre-produzcan IL-4 y/o IgE, y que se considere que contribuyan a la patología, incluyendo, por ejemplo, esclerosis sistémica (esclerodermia), artritis séptica, y artritis reactiva.

25 En otro aspecto, la presente invención proporciona un

compuesto de la presente invención, por ejemplo un hIL-4 mAb, para utilizarse como un producto farmacéutico, por ejemplo contra enfermedades mediadas por IL-4 y/o IgE, por ejemplo enfermedades alérgicas, por ejemplo dermatitis atópica, asma alérgico, rinitis alérgica, de preferencia dermatitis atópica.

En otro aspecto, la presente invención proporciona el uso de la presente invención de un compuesto de la presente invención, el cual se selecciona a partir del grupo que consiste en un hIL-4 mAb, un fragmento del mismo, y un análogo del mismo.

Para uso farmacéutico, un compuesto de la presente invención incluye uno o más, de preferencia un compuesto de la presente invención, por ejemplo una combinación de dos o más compuestos de la presente invención.

En otro aspecto, la presente invención proporciona el uso de un compuesto de la presente invención para la fabricación de un medicamento, por ejemplo una composición farmacéutica, para el tratamiento de enfermedades mediadas por IL-4 y/o IgE, por ejemplo enfermedades alérgicas, por ejemplo rinoconjuntivitis alérgica, dermatitis atópica, asma alérgico, rinitis alérgica, de preferencia asma alérgico o dermatitis atópica, tal como dermatitis atópica.

En un aspecto adicional, la presente invención proporciona el uso de un compuesto de la presente invención para la fabricación de un medicamento, por ejemplo una composición farmacéutica, para el tratamiento de una enfermedad como se describe anteriormente, por ejemplo seleccionada a partir del grupo que consiste en dermatitis

87
87

atópica, asma alérgico, y rinitis alérgica.

En un aspecto adicional, la presente invención proporciona un compuesto de la presente invención, para los usos mencionados anteriormente, en donde el compuesto de la presente invención se
5 selecciona a partir del grupo que consiste en hIL-4 mAb, un fragmento del mismo, y un análogo del mismo.

Por ejemplo, se ha determinado que la constante de afinidad de un compuesto de la presente invención, por ejemplo un hIL-4 mAb, un fragmento del mismo, o un análogo del mismo, para la IL-4 humana, es igual o menor que 800 pM, por ejemplo es igual o menor
10 que 200 pM, tal como de aproximadamente 30 pM a aproximadamente 200 pM, de preferencia de aproximadamente 45 pM a aproximadamente 170 pM, tal como aproximadamente 100 pM, más preferiblemente aproximadamente 50 pM, tal como aproximadamente
15 45 pM.

Por ejemplo, también se ha determinado que la constante de afinidad de un compuesto de la presente invención, por ejemplo un hIL-4 mAb, un fragmento del mismo, o un análogo del mismo, para la IL-4 humana, es de 30 pM a 200 pM, de preferencia de 45 pM a 170
20 pM, tal como 100 pM, más preferiblemente 50 pM, tal como 45 pM.

Por consiguiente, se indica que, para el tratamiento de las enfermedades mediadas por IL-4, los compuestos de la presente invención se pueden administrar a mamíferos superiores, por ejemplo seres humanos, mediante modos de administración similares, en
25 dosificaciones similares a las convencionalmente utilizadas con los

28
83

anticuerpos monoclonales.

En otro aspecto, la presente invención proporciona un anticuerpo que se enlaza con la IL-4 humana con una constante de disociación igual o menor que 200 pM, por ejemplo de 30 a 200 pM.

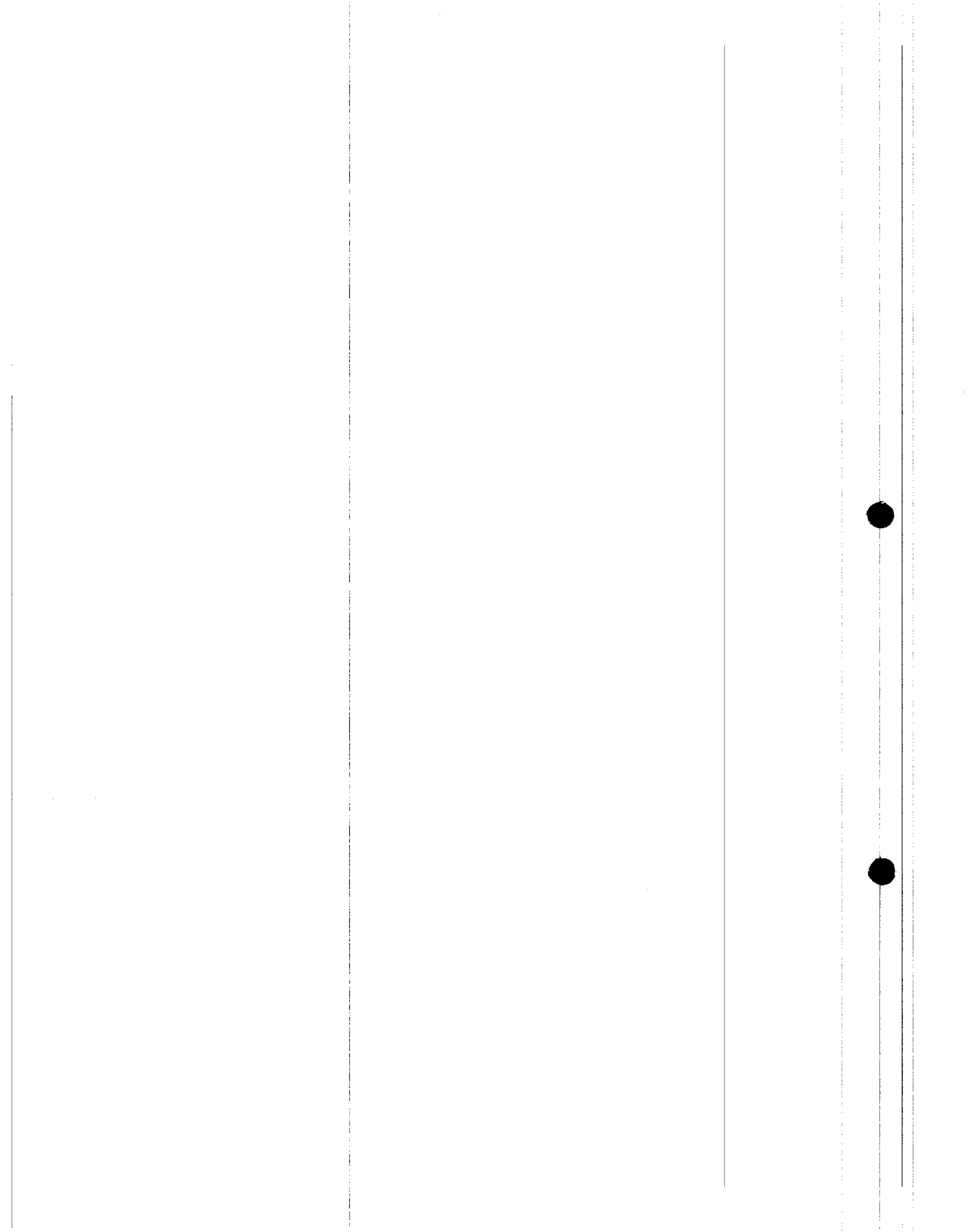
5 En un aspecto adicional de la presente invención, el anticuerpo para los usos mencionados anteriormente, es un hIL-4 mAb, un fragmento del mismo, o un análogo del mismo, el cual se enlaza con la IL-4 humana con una constante de disociación K_d igual o menor que 200 pM, por ejemplo de 30 a 200 pM.

10 En un aspecto adicional, la presente invención proporciona un método de tratamiento de enfermedades que son mediadas por IL-4 y/o IgE, por ejemplo enfermedades alérgicas, por ejemplo dermatitis atópica, asma alérgico, rinitis alérgica, de preferencia dermatitis atópica, cuyo tratamiento comprende administrar a un sujeto que
15 necesite el tratamiento, una cantidad efectiva de un compuesto de la presente invención, por ejemplo en la forma de una composición farmacéutica.

En un aspecto adicional de la presente invención, un compuesto de la presente invención se administra en combinación
20 con otro agente farmacéuticamente activo, ya sea de una manera simultánea o en secuencia.

El tratamiento incluye tratamiento y profilaxis.

Para este tratamiento, la dosificación apropiada, por supuesto, variará dependiendo, por ejemplo, de la naturaleza
25 química y de los datos farmacocinéticos de un anticuerpo de la



89
87

presente invención empleado, del huésped individual, del modo de administración, y de la naturaleza y severidad de las condiciones que se estén tratando. Sin embargo, en general, para obtener resultados satisfactorios en mamíferos superiores, por ejemplo en seres humanos, una dosificación diaria indicada está en el intervalo de, por ejemplo, aproximadamente 0.1 nanogramos/kilogramo a, por ejemplo, 10 miligramos/kilogramo, tal como de, por ejemplo, aproximadamente 100 nanogramos/kilogramo, a, por ejemplo, aproximadamente 2 miligramos/kilogramo de un compuesto de la presente invención; convenientemente administrados, por ejemplo, en dosis divididas hasta cuatro veces al día.

Un compuesto de la presente invención se puede administrar por cualquier vía convencional, por ejemplo parenteralmente, por ejemplo incluyendo administración intravenosa, intradérmica, intramuscular, subcutánea, intranasal, soluciones o suspensiones inyectables, o polvo inhalador.

En otro aspecto, la presente invención proporciona una composición farmacéutica que comprende un compuesto de la presente invención en asociación con cuando menos un excipiente farmacéutico, por ejemplo un vehículo y/o diluyente apropiado, por ejemplo incluyendo rellenos, aglutinantes, desintegrantes, acondicionadores de flujo, lubricantes, azúcares y edulcorantes, fragancias, conservadores, estabilizantes, agentes humectantes y/o emulsionantes, solubilizantes, sales para regular la presión osmótica, y/o reguladores del pH.

90
90

En otro aspecto, la presente invención proporciona una composición farmacéutica de acuerdo con la presente invención, la cual comprende además otro agente farmacéuticamente activo.

Estas composiciones se pueden fabricar de acuerdo con, por ejemplo de una manera análoga a, un método convencional, por ejemplo mediante procesos de mezcla, granulación, recubrimiento, disolución, o liofilización. Las formas de dosificación unitaria pueden contener, por ejemplo, de aproximadamente 0.5 miligramos a, por ejemplo, aproximadamente 1000 miligramos, tal como de 1 miligramo a aproximadamente 500 miligramos.

Un compuesto de la presente invención se puede utilizar para tratamiento farmacéutico de acuerdo con la presente invención, solo o en combinación con uno o más agentes farmacéuticamente activos diferentes. Estos otros agentes farmacéuticamente activos incluyen, por ejemplo, otros anticuerpos, por ejemplo tales como anticuerpos que neutralicen la IgE, las citocinas, o los receptores de citoquina, los cuales se seleccionan de acuerdo con la condición particular que se vaya a tratar.

Las combinaciones incluyen combinaciones fijas, en donde dos o más agentes farmacéuticamente activos están en la misma formulación; estuches terapéuticos, en donde dos o más agentes farmacéuticamente activos en formulaciones separadas se venden en el mismo paquete, por ejemplo con instrucciones para su co-administración; y combinaciones libres, en donde los agentes farmacéuticamente activos se empacan por separado, pero se dan

91
91

instrucciones para su administración simultánea o en secuencia.

En otro aspecto, la presente invención también proporciona un método para diagnosticar alergias y otras condiciones asociadas con una producción excesiva de IgE en un ser humano, el cual comprende:

- a) poner en contacto una muestra de un fluido biológico con un anticuerpo de la presente invención, y
- b) ensayar para determinar la presentación del enlace entre este anticuerpo y la IL-4 humana.

En los siguientes Ejemplos, todas las temperaturas están en grados Celsius (°C) y no están corregidas.

Se utilizan las siguientes abreviaturas:

Regulador

FACS PBS, FCS al 2 por ciento, y NaN₃ al 0.2 por ciento.

FCS Suero de becerro fetal.

FITC Isocianato de fluoresceína.

CI₅₀ Concentración inhibidora.

KLH Hemocianina de limpete de orificio.

mAb Anticuerpo monoclonal.

MTX Metotrexato.

PBS Suero regulado con fosfato.

slgD Inmunoglobulina D superficial.

rmIL-3 Interleucina-3 de murino recombinante.

rhIL-4 Interleucina-4 humana recombinante.

rhIL-13 Interleucina-13 humana recombinante.

92
9

rpm Revoluciones por minuto.

RPMI Medio del Roswell Park Memorial Institute.

RT Temperatura ambiente.

Regulador-TF Sacarosa 272 mM, $MgCl_2$ 1 mM, regulador
5 de fosfato 7 mM, pH de 7.4.

EJEMPLOS

EJEMPLO 1:

a) Producción de anticuerpo.

10 Los plásmidos que codifican las regiones variables de la
secuencia SEC ID NO: 5 ó 7 (= cadena pesada) y la secuencia SEC
ID NO: 6 u 8 (= cadena ligera) del anticuerpo, se clonan en casetes
de expresión para las cadenas ligeras kappa humanas y las cadenas
pesadas IgG1 humanas.

15 Las regiones determinantes de especificidad se combinan con
los elementos necesarios para generar anticuerpos monoclonales
completos, es decir, promotor, secuencia líder, y sitios donadores de
empalme, para el empalme con los exones de la región constante del
anticuerpo que se requieren para la expresión de las proteínas de
inmunoglobulina funcionales. Los casetes de región variable para los
20 anticuerpos de cadena pesada y ligera, que codifican para las
secuencias líder, la región variable, y los sitios donadores de
empalme de cebador-3' para empalmar los exones CH1-CH4 de la
región constante y kappa, se transfieren a los vectores de expresión
de mamífero HC (vector de cadena pesada, IgG1 humano) y LC
25 (vector de cadena ligera, kappa humano).

97
93

El plásmido que contiene la cadena ligera y el plásmido que contiene la cadena pesada, se introducen en células Sp2/0 en un planteamiento de co-transfección. Por ejemplo, para la transfección, se utilizan células en fase de crecimiento exponencial con una

5 viabilidad de aproximadamente el 95 por ciento. Las células se lavan dos veces con regulador-TF frío, y se ajusta la concentración celular a 2×10^7 células/mililitro en regulador-TF. Se mezclan 0.8 mililitros de la suspensión celular obtenida con 15 microgramos de cada uno de los plásmidos de cadena pesada y de cadena ligera, y se colocan

10 sobre hielo durante 10 minutos. La transfección se hace mediante electroporación utilizando el Biorad Gene Pulser (280 V y 25 μ F). Después de la electroporación, las células se colocan sobre hielo durante 15 minutos, se transfieren a 50 mililitros de medio de cultivo frío, y se incuban durante 1 día a 37°C y con CO₂ al 5 por ciento.

15 Para la amplificación clonal, las células resistentes a G418 se cultivan en la presencia de MTX 200 nM. Se siembra una alícuota de la reserva celular heterogénea en placas de 96 pozos en una densidad clonal de 1 célula viable/pozo en un medio de cultivo que contiene MTX 200 nM, permitiendo la selección de poblaciones

20 clonales de células amplificadas. Se aplica clonación de dilución limitante para generar las líneas celulares clonales después de la amplificación y adaptación a las condiciones de cultivo sin suero. Las células se siembran en dos placas de 96 pozos en una concentración de 0.5 células/pozo. Los pozos se rastrean

25 microscópicamente para determinar la clonalidad un día después de

94
94

la siembra. Solamente se utilizan anticuerpos monoclonales para la prueba adicional.

El anticuerpo obtenido comprende una secuencia de aminoácidos de las SEC ID NO: 1 y SEC ID NO: 2.

5 **b) Mediciones de afinidad.**

Las mediciones de afinidad de los anticuerpos monoclonales humanos de la presente invención se llevan a cabo en un instrumento BIAcore^{MR} 2000. La IgG anti-humano se recubre sobre un chip sensor BIAcore CM-5 (BIAcore), de tal manera que la aplicación de cantidades definidas de anticuerpos monoclonales humanos dé como resultado la captura sobre esta superficie preparada, y por consiguiente, un cambio de las propiedades refractarias que se miden. Una aplicación subsecuente de rhIL-4 da como resultado un cambio adicional de las propiedades refractarias, el cual permite hacer la determinación del índice de asociación (K_{activado} , índice activado), así como el índice de disociación ($K_{\text{desactivado}}$, índice desactivado), y el producto de estos dos, la afinidad (K_d , constante de disociación, dada en pM), de acuerdo con el software BIAevaluation 3.0. Utilizando varias concentraciones de rhIL-4 en BIAbuffer (regulador BIA), se determina una afinidad de 43 pM de un anticuerpo monoclonal como se define por las CDRs descritas en la reivindicación 2a).

c) Determinación del potencial inhibidor sobre IgE mediada por IL-4.

25 **c1) Fuentes celulares.**

Se aíslan células B humanas a partir de sangre periférica, respectivamente, recubrimientos esponjosos mediante centrifugación de densidad Ficoll-paque, seguida por separación magnética con perlas MACS (Miltenyi Biotech) específicas para CD19 humano ó
5 CD22 humano, en un dispositivo AutoMACS.

De una manera similar, se aíslan células B humanas puras, utilizando anticuerpos $F(ab')_2$ de cabra marcados con FITC contra sIgD humana, seguidos por perlas MACS anti-FITC.

c2) Cultivo/mantenimiento celular.

10 Los transfectantes (transfectantes BaF/3 que llevan IL-4R α e IL-13R α se cultivan en un medio RPMI 1640 complementado con Glutamax (Invitrogen), suero de becerro fetal al 10 por ciento, penicilina al 1 por ciento/ estreptomicina, y 10 nanogramos/mililitro de rhIL-4 (Novartis). Las células se dividen a 1:1 dos veces a la
15 semana, se lavan con medio fresco sin rhIL-4, y se mantienen en este medio durante la noche (= células en inanición).

Los cultivos de células B (puras) humanas *ex vivo* se incuban en un medio X-Vivo (Cambrex, XV15) complementado con Glutamax, suero de becerro fetal al 10 por ciento, penicilina al 1 por
20 ciento/estreptomicina, en placas de 96 pozos (Costar).

c3) Ensayo de proliferación celular BAF.

Las células en inanición descritas en b) se recolectan, se lavan con medio fresco, se cuentan, y se ajustan a 2×10^5 células/mililitro, de donde se distribuyen 100 microlitros en placas de
25 96 pozos (Costar). Para la serie de titulación, se preparan las

96
h

citocinas rhIL-4, rhIL-13, y rmlL-3 en 4 veces la concentración final deseada en el mismo medio.

Para la serie de titulación, se utilizan anticuerpos ya sea como sobrenadantes de cultivo celular con concentraciones determinadas por ELISA, o bien a partir del material purificado, en 4 veces las concentraciones deseadas en el mismo medio. Las pre-diluciones de citocinas y anticuerpos se mezclan en volúmenes iguales, y se transfieren 100 microlitros de la pre-mezcla al pozo preparado con células. Se establecen controles para la proliferación del fondo (medio sin citoquina y sin anticuerpo = inhibición del 100 por ciento) y para la proliferación máxima (medio con citoquina solamente = inhibición del 0 por ciento).

Después de una incubación durante la noche a 37°C en la presencia de CO₂ al 5 por ciento, se agrega [metil-³H]-timidina (Amersham TRK120) a 1 µCi por pozo en 10 microlitros del medio, y se incuba durante 8 horas. En seguida de un ciclo de congelación/descongelación, las células se cosechan de las placas sobre esteras de filtro utilizando un cosechador Tomtek. Las esteras de filtro se secan en un horno de microondas durante 2 minutos a 650 W, y se transfieren a una bolsa de muestra junto con una hoja de Cera de Cintilación Meltilex (Wallac). La cera se funde a través del filtro, y los filtros obtenidos se colocan adentro de los cartuchos apropiados y se insertan en un lector micro-beta (Wallac) para el conteo de cintilación, utilizando un programa que mide 30 segundos por campo, y extrapolando a conteos por minuto.

97

Se mide una CI_{50} de 30 pM en este sistema de prueba para el anticuerpo.

c4) Aumento de CD23 inducido por IL-4 en células B.

Las células B separadas por MACS se ajustan a $0.5-1 \times 10^6$ células/mililitro en XV15, y se aplican en 100 microlitros por pozo en placas de fondo redondo de 96 pozos. Las citocinas (1 nanogramo/mililitro final) y el anticuerpo monoclonal (2 microgramos/mililitro - 2 nanogramos/mililitro final) se pre-diluyen y se pre-mezclan como se describe anteriormente, y se agregan en 100 microlitros para alcanzar un volumen final de 200 microlitros.

Después de cultivar durante la noche a 37°C en la presencia de CO_2 al 5 por ciento, las células se transfieren a placas de 96 pozos (Costar), y se centrifugan a 2200 revoluciones por minuto (aproximadamente $1000 \times g$) durante 1 minuto, después de sacudir el sobrenadante lavado con regulador FACS.

Se preparan anticuerpos marcados con fluorocromo [HLA-DR FITC (Catálogo # MHLDR01, 1:800), CD19 PE (Catálogo # MHCD1904, 1:200), y CD23 APC (Catálogo # MHCD2305, 1:200)], en regulador FACS, y se distribuyen en 50 microlitros por pozo. Después de una incubación de 30 a 60 minutos a temperatura ambiente, los pozos se rellenan con regulador FACS, se centrifugan, y el residuo de la centrifugación obtenido se lava con regulador FACS. Las células se vuelven a suspender en regulador FACS con 2 microgramos/mililitro de yoduro de propidio, y se analizan en un citómetro de flujo FacsCalibur de láser doble (BD Biosciences). Las

98-71

células se pasan por la compuerta de acuerdo con sus propiedades de dispersión hacia adelante y de dispersión lateral, así como con su capacidad para excluir el yoduro de propidio y su expresión de CD19. Se determinan las intensidades de fluorescencia promedio y el porcentaje de células arriba del umbral arbitrario (establecido sobre las células no inducidas) en la expresión de CD23. La expresión de la línea base (inhibición del 100 por ciento) se determina en células sin citoquina, mientras que la inhibición del 0 por ciento se establece sobre las células incubadas con citoquina pero sin anticuerpo monoclonal.

Se determina una CI_{50} de 334 pM para este anticuerpo para la expresión de CD23 inducida por IL-4 sobre las células como se describe anteriormente, en la presencia de IL-4 humana recombinante 70 pM.

c5) Producción de IgE inducida por IL-4 por parte de las células B puras.

Las células B puras magnéticamente clasificadas se ajustan a 3×10^5 células por mililitro en XV15, y se aplican en 100 microlitros por pozo en placas de 96 pozos, en un arreglo de 6 x 6 en el centro de la placa, rodeadas por pozos rellenos con suero regulado con fosfato durante los 10 días del cultivo a 37°C en la presencia de CO₂ al 5 por ciento. Se prepara una placa por cada anticuerpo monoclonal que se vaya a probar, consistiendo en 3 pozos por cada control no inducido e inducido, y repeticiones quintuplicadas de titulaciones de anticuerpo monoclonal, empezando en 7

94
77

microgramos/mililitro, y ejecutando en una dilución triple bajando hasta concentraciones finales de 29 nanogramos/ mililitro agregadas en 50 microlitros de una pre-dilución concentrada cuatro veces. Las condiciones de inducción son rhIL-4 en 20 nanogramos/mililitro más anticuerpo monoclonal anti-CD40 (Novartis) en concentraciones finales de 0.5 microgramos/mililitro también agregadas en 50 microlitros de una pre-dilución concentrada cuatro veces. Las concentraciones de IgE se determinan al final del período de cultivo mediante un método ELISA de emparejado estándar.

10 Se determina una CI_{50} de 2806 pM para este anticuerpo, para la IgE inducida por IL-4 sobre las células, como se describe en lo anterior.

EJEMPLOS 2 A 6:

15 Se obtienen anticuerpos de una manera análoga a la descrita en el Ejemplo 1, y comprenden las siguientes secuencias de aminoácidos:

El Ejemplo 2 es un anticuerpo que comprende las secuencias de aminoácidos SEC ID NO: 9 y SEC ID NO: 10.

20 El Ejemplo 3 es un anticuerpo que comprende las secuencias de aminoácidos SEC ID NO: 17 y SEC ID NO: 18.

El Ejemplo 4 es un anticuerpo que comprende las secuencias de aminoácidos SEC ID NO: 25 y SEC ID NO: 26.

El Ejemplo 5 es un anticuerpo que comprende las secuencias de aminoácidos SEC ID NO: 33 y SEC ID NO: 34.

25 El Ejemplo 6 es un anticuerpo que comprende las secuencias

de aminoácidos SEC ID NO: 41 y SEC ID NO: 42.

La Tabla 1 resume los valores Cl_{50} de los anticuerpos en los diferentes sistemas de prueba, como se describe en los Ejemplos 1b a c.

5 **TABLA 1:**

	K_d [pM]	Cl_{50} [pM] medida en los ensayos particulares		
		Proliferación celular BAF	CD23 inducida por IL-4	IgE inducida por IL-4
Ej. 1	43	30	334	2806
Ej. 2	59	50	463	5339
Ej. 3	89	84	873	7813
Ej. 4	66	688	848	7570
Ej. 5	84	218	2835	9944
Ej. 6	170	167	2869	2648

LISTADO DE SECUENCIAS

SEC ID NO: 1

(Secuencia de aminoácidos del polipéptido maduro de la cadena pesada, los aminoácidos subrayados corresponden a CDR1, CDR2, y CDR3).

QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYAMHWVRQAPGKGLEW
 VTFIWDDGSFKYYAESVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYC
 AREGSWSPDIFDIWGQGTMVTVSS

10-1

SEC ID NO: 2

(Secuencia de aminoácidos del polipéptido maduro de la cadena ligera, los aminoácidos subrayados corresponden a CDR1', CDR2', y CDR3').

5 AIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISRALAWYQQKPGKAPKLLIYD
ASSLESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQFNSYPITFGQ
 GTRLEIKRT

SEC ID NO: 3

10 (Secuencia de aminoácidos del polipéptido de la SEC ID NO: 1 con la
 secuencia líder, los aminoácidos marcados en negrillas corresponden
 a la secuencia líder).

MEFGLNWVFLVALFRGVHCQVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTF
SSYAMHWVRQAPGKGLEWVTFIWDDGSFKYYAESVKGRFTISRDNSKN
 TLYLQMNSLRAEDTAVYYCAREGSWSPDIFDIWGQGTMTVTVSS

15 **SEC ID NO: 4**

(Secuencia de aminoácidos del polipéptido de la SEC ID NO: 2 con la
 secuencia líder, los aminoácidos marcados en negrillas corresponden
 a la secuencia líder).

20 **MDMRVPAQLLGLLLLWLPGARCAIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQ**
GISRALAWYQQKPGKAPKLLIYDASSLESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISS
 LQPEDFATYYCQQFNSYPITFGQGTRLEIKRT

SEC ID NO: 5

(Nucleótidos que codifican una secuencia de aminoácidos de la SEC
 ID NO: 1).

25 CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCGTGGTCCAGCCTGGGA

102

GGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCGTCTGGATTACCTTCAGTAGC
 TATGCCATGCACTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGCAAGGGGCTGGAGT
 GGGTGACATTTATATGGGATGATGGAAGTTTTAAATATTATGCAGAGT
 CCGTGAAGGGCCGATTACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACG
 5 CTGTATTTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAAGACACGGCTGTGTA
 TTA CTGTGCGAGAGAGAGGGCAGCTGGTCTCCTGATATATTTGATATCTG
 GGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTTCA

SEC ID NO: 6

(Nucleótidos que codifican una secuencia de aminoácidos de la SEC
 ID NO: 2).

10 GCCATCCAGTTGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGG
 AGACAGAGTCACCATCACTTGCCGGGCAAGTCAGGGCATTAGCAGAG
 CTTTAGCCTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGCTCCTAAGCTCCTG
 ATCTATGATGCCTCCAGTTTGGAAAGTGGGGTCCCATCAAGGTTTCAG
 15 CGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGCCTGC
 AGCCTGAAGATTTTGCAACTTATTACTGTCAACAGTTTAATAGTTACCC
 CATCACCTTCGGCCAAGGGACACGACTGGAGATTAAACGAACT

SEC ID NO: 7

(Nucleótidos que codifican una secuencia de aminoácidos de la SEC
 ID NO: 3).

20 ATGGAGTTTGGGCTGAACTGGGTTTTCTCGTTGCTCTTTTCAGAGGT
 GTCCACTGTCAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCGTGGTCC
 AGCCTGGGAGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCGTCTGGATTACCC
 TTCAGTAGCTATGCCATGCACTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGCAAGGG
 25 GCTGGAGTGGGTGACATTTATATGGGATGATGGAAGTTTTAAATATTA

103
~~103~~

TGCAGAGTCCGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCCAGAGACAATTCCA
 AGAACACGCTGTATTTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAAGACACG
 GCTGTGTATTACTGTGCGAGAGAGGGCAGCTGGTCTCCTGATATATT
 TGATATCTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTTCA

5 **SEC ID NO: 8**

(Nucleótidos que codifican una secuencia de aminoácidos de la SEC
 ID NO: 4).

ATGGACATGAGGGTCCCCGCTCAGCTCCTGGGGCTTCTGCTGCTCTG
 GCTCCCAGGTGCCAGATGTGCCATCCAGTTGACCCAGTCTCCATCCT
 10 CCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCAACCATCACTTGCCGGGCA
 AGTCAGGGCATTAGCAGAGCTTTAGCCTGGTATCAGCAGAAACCAGG
 GAAAGCTCCTAAGCTCCTGATCTATGATGCCTCCAGTTTGGAAAGTG
 GGGTCCCATCAAGGTTTCAGCGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACT
 CTCACCATCAGCAGCCTGCAGCCTGAAGATTTTGCAACTTATTACTGT
 15 CAACAGTTTAAATAGTTACCCCATCACCTTCGGCCAAGGGACACGACT
 GGAGATTAAACGAACT

SEC ID NO: 9

(Secuencia de aminoácidos del polipéptido maduro de la cadena
 pesada, los aminoácidos subrayados corresponden a CDR1, CDR2, y
 20 CDR3).

QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTLSSFGMHWVRQAPGKGLEW
 VAVIWYDGSNEYYADSVKGRFTTSRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYY
 CAREGSWSPDIFDIWGQGTMVTVSS

SEC ID NO: 10

25 (Secuencia de aminoácidos del polipéptido maduro de la cadena

104
10X

ligera, los aminoácidos subrayados corresponden a CDR1', CDR2', y CDR3').

AIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRTSQGIRSALAWYQQNPGKAPKLLIYD
ASSLESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQFNSYPVTFG
 5 QGTRLEIKRT

SEC ID NO: 11

(Secuencia de aminoácidos del polipéptido de la SEC ID NO: 9 con la secuencia líder, los aminoácidos marcados en negrillas corresponden a la secuencia líder).

10 **MEFGLSWVFLVALLRGVQCQVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTL**
SSFGMHVVRQAPGKGLEWVAVIWYDGSNEYADSVKGRFTTSRDNSK
NTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAREGSWSPDIFDIWGQGTMVTVSS

SEC ID NO: 12

15 (Secuencia de aminoácidos del polipéptido de la SEC ID NO: 10 con la secuencia líder, los aminoácidos marcados en negrillas corresponden a la secuencia líder).

MDMRVPAQLLGLLLLWLPGARAIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRTSQ
 GIRSALAWYQQNPGKAPKLLIYDASSLESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISL
 LQPEDFATYYCQQFNSYPVTFGQGTRLEIKRT

20 **SEC ID NO: 13**

(Nucleótidos que codifican una secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 9).

CAGGTGCAACTGGTGGAGTCGGGGGGAGGCGTGGTCCAGCCTGGGA
 GGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCGTCTGGATTACCTTAAGTAGC
 25 TTTGGCATGCACTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGCAAGGGGCTGGAGT

105
105

GGGTGGCAGTTATATGGTATGATGGAAGTAATGAATACTATGCAGACT
 CCGTGAAGGGCCGATTCACCACCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACG
 CTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCTGTGTA
 TTAAGTGTGCGAGAGAGAGGGCAGCTGGTCTCCTGATATTTTTGATATCTG
 5 GGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTTCA

SEC ID NO: 14

*(Nucleótidos que codifican una secuencia de aminoácidos de la SEC
 ID NO: 10).*

10 GCCATCCAGTTGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGG
 AGACAGAGTCACCATCACTTGCCGGACAAGTCAGGGCATTTCGCAGTG
 CTTTAGCCTGGTATCAGCAGAACCCCGGGAAAGCTCCTAAGCTCCTG
 ATCTATGATGCCTCCAGTTTGGAAAGTGGGGTCCCATCAAGGTTTCAG
 CGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGCCTGC
 AGCCTGAAGATTTTGCAACTTATTACTGTCAACAGTTTAATAGTTACCC
 15 CGTCACCTTCGGCCAAGGGACACGACTGGAGATTAAACGAACT

SEC ID NO: 15

*(Nucleótidos que codifican una secuencia de aminoácidos de la SEC
 ID NO: 11).*

20 ATGGAGTTTGGGCTGAGCTGGGTTTTCTCGTTGCTCTTTTAAGAGGT
 GTCCAGTGTCAGGTGCAACTGGTGGAGTCGGGGGGAGGCGTGGTCC
 AGCCTGGGAGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCGTCTGGATTACCC
 TTAAGTAGCTTTGGCATGCACTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGCAAGGG
 GCTGGAGTGGGTGGCAGTTATATGGTATGATGGAAGTAATGAATACT
 ATGCAGACTCCGTGAAGGGCCGATTCACCACCTCCAGAGACAATTCC
 25 AAGAACACGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACAC

10⁶
~~106~~

GGCTGTGTATTACTGTGCGAGAGAGGGCAGCTGGTCTCCTGATATTT
TTGATATCTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTTCA

SEC ID NO: 16

(Nucleótidos que codifican una secuencia de aminoácidos de la SEC
ID NO: 12).

ATGGACATGAGGGTCCCCGCTCAGCTCCTGGGGCTTCTGCTGCTCTG
GCTCCCAGGTGCCAGATGTGCCATCCAGTTGACCCAGTCTCCATCCT
CCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCATCACTTGCCGGACA
AGTCAGGGCATTTCGCAGTGCTTTAGCCTGGTATCAGCAGAACCCCGG
GAAAGCTCCTAAGCTCCTGATCTATGATGCCTCCAGTTTGGAAAGTG
GGGTCCCATCAAGGTTTCAGCGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACT
CTCACCATCAGCAGCCTGCAGCCTGAAGATTTTGCAACTTATTACTGT
CAACAGTTTAAATAGTTACCCCGTCACCTTCGGCCAAGGGACACGACT
GGAGATTAAACGAACT

SEC ID NO: 17

(Secuencia de aminoácidos del polipéptido maduro de la cadena
pesada, los aminoácidos subrayados corresponden a CDR1, CDR2, y
CDR3).

QVQLVESGGGMVQPGRSLRLSCAASGFTLSSYGMHWVRQAPGKGLEW
VTVIWYDGNNQYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYC
AREGSWSPDIFDIWGQGTMTVSS

SEC ID NO: 18

(Secuencia de aminoácidos del polipéptido maduro de la cadena
ligera, los aminoácidos subrayados corresponden a CDR1', CDR2', y
CDR3').

107
~~107~~

AIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISSYLAWYQQKPGKAPKLLIYD
ASSLESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQFNSYPITFGQ
 GTRLEIKRT

SEC ID NO: 19

- 5 *(Secuencia de aminoácidos del polipéptido de la SEC ID NO: 17 con la secuencia líder, los aminoácidos marcados en negrillas corresponden a la secuencia líder).*

MEFGLSWVFLVALLRGVQCQVQLVESGGGMVQPGRSLRLSCAASGFT
LSSYGMHWVRQAPGKGLEWVTVIWYDGNNQYYADSVKGRFTISRDN
 10 **SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAREGSWSPDIFDIWGQGTMVTVSS**

SEC ID NO: 20

(Secuencia de aminoácidos del polipéptido de la SEC ID NO: 18 con la secuencia líder, los aminoácidos marcados en negrillas corresponden a la secuencia líder).

- 15 **MDMRVPAQLLGLLLLWLPGARCAIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQ**
GISSYLAWYQQKPGKAPKLLIYDASSLESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISS
 LQPEDFATYYCQQFNSYPITFGQGTRLEIKRT

SEC ID NO: 21

- 20 *(Nucleótidos que codifican una secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 17).*

- CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCATGGTCCAGCCTGGGA
 GGTCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCGTCTGGATTCACCCTCAGTAGC
 TATGGCATGCACTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGCAAGGGGCTGGAGT
 GGGTGACAGTTATATGGTATGATGGAAATAATCAATACTATGCAGACT
 25 CCGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACG

108
108
108

CTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCTGTATA
TTACTGTGCGAGAGAGGGCAGCTGGTCTCCTGATATTTTTGATATCTG
GGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTTCA

SEC ID NO: 22

5 (Nucleótidos que codifican una secuencia de aminoácidos de la SEC
ID NO: 18).

GCCATCCAGTTGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGG
AGACAGAGTCACCATCACTTGCCGGGCAAGTCAGGGCATTAGCAGTT
ATTTAGCCTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGCTCCTAAGCTCCTG
10 ATCTATGATGCCTCCAGTTTGGAAAGTGGGGTCCCATCAAGGTTTCAG
CGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGCCTGC
AGCCTGAAGATTTTGCAACTTATTACTGTCAACAGTTTAATAGTTACCC
CATCACCTTCGGCCAAGGGACACGACTGGAGATTAAACGAACT

SEC ID NO: 23

15 (Nucleótidos que codifican una secuencia de aminoácidos de la SEC
ID NO: 19).

ATGGAGTTTGGGCTGAGCTGGGTTTTCTCGTTGCTCTTTTAAGAGGT
GTCCAGTGTCAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCATGGTCC
AGCCTGGGAGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCGTCTGGATTCACC
20 CTCAGTAGCTATGGCATGCACTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGCAAGG
GGCTGGAGTGGGTGACAGTTATATGGTATGATGGAAATAATCAATACT
ATGCAGACTCCGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCCAGAGACAATTCC
AAGAACACGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACAC
GGCTGTATATTACTGTGCGAGAGAGGGCAGCTGGTCTCCTGATATTT
25 TTGATATCTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTTCA

109
109**SEC ID NO: 24**

(Nucleótidos que codifican una secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 20).

ATGGACATGAGGGTCCCCGCTCAGCTCCTGGGGCTTCTGCTGCTCTG
 5 GCTCCCA^ˆGGTGCCAGATGTGCCATCCAGTTGACCCAGTCTCCATCCT
 CCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCATCACTTGCCGGGCA
 AGTCAGGGCATTAGCAGTTATTTAGCCTGGTATCAGCAGAAACCAGG
 GAAAGCTCCTAAGCTCCTGATCTATGATGCCTCCAGTTTGGAAAGTG
 GGGTCCCATCAAGGTTTCAGCGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACT
 10 CTCACCATCAGCAGCCTGCAGCCTGAAGATTTTGCAACTTATTACTGT
 CAACAGTTTAATAGTTACCCCATCACCTTCGGCCAAGGGACACGACT
 GGAGATTAAACGAACT

SEC ID NO: 25

(Secuencia de aminoácidos del polipéptido maduro de la cadena pesada, los aminoácidos subrayados corresponden a CDR1, CDR2, y CDR3).

15 QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGDTFSSYAISWVRQAPGQGF
 MGGIIPVIGTVN^ˆYEERFQDRVTITADNSTSTAYMELTSLSRSEDTAVYFCG
 20 REEGFLDYWGQGTLVTVSS

SEC ID NO: 26

(Secuencia de aminoácidos del polipéptido maduro de la cadena ligera, los aminoácidos subrayados corresponden a CDR1', CDR2', y CDR3').

AIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISSALAWYQQKPGKAPKLLIYD
 25 ASSLESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQFNSYPLLTF

110
140

GGGTKVEIKRT

SEC ID NO: 27

(Secuencia de aminoácidos del polipéptido de la SEC ID NO: 25 con la secuencia líder, los aminoácidos marcados en negrillas corresponden a la secuencia líder).

MDWTWRFLFVVAATGVQSQVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGDT
FSSYAISWVRQAPGQGFWMGGIIPVIGTVNVEERFQDRVTITADNSTST
AYMELTSLSRSEDVAVYFCGREGFLDYWGQGTLVTVSS

SEC ID NO: 28

(Secuencia de aminoácidos del polipéptido de la SEC ID NO: 26 con la secuencia líder, los aminoácidos marcados en negrillas corresponden a la secuencia líder).

MDMRVPAQLLGLLLLWLPGARCAIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQ
GISSALAWYQQKPGKAPKLLIYDASSLESQVPSRFSGSGSGTDFTLTSS
LQPEDFATYYCQQFNSYPLLTFGGGTKVEIKRT

SEC ID NO: 29

(Nucleótidos que codifican una secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 25).

CAGGTCCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGT
CCTCGGTGAAGGTCTCCTGCAAGGCTTCTGGAGACACCTTCAGCAGT
TATGCTATCAGTTGGGTGCGACAGGCCCTGGACAAGGGTTTGAGTG
GATGGGAGGGATCATCCCTGTCATTGGTACAGTAAATTATGAAGAGA
GATTCCAGGACAGAGTCACGATTACCGCGGACAATTCCACGAGCACA
GCCTACATGGAGTTGACTAGTCTGAGATCTGAAGACACGGCCGTGTA
TTTTTGTGGGAGAGAAGAGGGCTTCCTTGACTATTGGGGCCAGGGAA

111
111

CCCTGGTCACCGTCTCCTCA

SEC ID NO: 30

(Nucleótidos que codifican una secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 26).

5 ATGGACATGAGGGTCCCCGCTCAGCTCCTGGGGCTTCTGCTGCTCTG
GCTCCCAGGTGCCAGATGTGCCATCCAGTTGACCCAGTCTCCATCCT
CCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCATCACTTGCCGGGCA
AGTCAGGGCATTAGCAGTGCTTTAGCCTGGTATCAGCAGAAACCAGG
GAAAGCTCCTAAGCTCCTGATCTATGATGCCTCCAGTTTGGAAAGTG
10 GGGTCCCATCAAGGTTTCAGCGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACT
CTCACCATCAGCAGCCTGCAGCCTGAAGATTTTGCAACTTATTACTGT
CAACAGTTTAAATAGTTACCCTCTTCTCACTTTCGGCGGAGGGACCAAG
GTGGAGATCAAACGTACG

15 **SEC ID NO: 31**

(Nucleótidos que codifican una secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 27).

ATGGACTGGACCTGGAGGTTCTCTTTGTGGTGGCAGCAGCTACAGG
TGTCCAGTCCCAGGTCCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGAAG
20 AAGCCTGGGTCTCGGTGAAGGTCTCCTGCAAGGCTTCTGGAGACAC
CTTCAGCAGTTATGCTATCAGTTGGGTGCGACAGGCCCTGGACAAG
GGTTTGAGTGGATGGGAGGGATCATCCCTGTCATTGGTACAGTAAAT
TATGAAGAGAGATTCCAGGACAGAGTCACGATTACCGCGGACAATTC
CACGAGCACAGCCTACATGGAGTTGACTAGTCTGAGATCTGAAGACA
25 CGGCCGTGTATTTTTGTGGGAGAGAAGAGGGCTTCCTTGACTATTGG

112
112

GGCCAGGGAACCCTGGTCACCGTCTCCTCA

SEC ID NO: 32

(Nucleótidos que codifican una secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 28).

5 ATGGACATGAGGGTCCCCGCTCAGCTCCTGGGGCTTCTGCTGCTCTG
GCTCCCAGGTGCCAGATGTGCCATCCAGTTGACCCAGTCTCCATCCT
CCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCATCACTTGCCGGGCA
AGTCAGGGCATTAGCAGTGCTTTAGCCTGGTATCAGCAGAAACCAGG
GAAAGCTCCTAAGCTCCTGATCTATGATGCCTCCAGTTTGGAAAGTG
10 GGGTCCCATCAAGGTTTCAGCGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACT
CTCACCATCAGCAGCCTGCAGCCTGAAGATTTTGCAACTTATTACTGT
CAACAGTTTAATAGTTACCCTCTTCTCACTTTCGGCGGAGGGACCAAG
GTGGAGATCAAACGTACG

SEC ID NO: 33

15 *(Secuencia de aminoácidos del polipéptido maduro de la cadena pesada, los aminoácidos subrayados corresponden a CDR1, CDR2, y CDR3).*

QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSCCGMHWVRQAPGKGLEW
VAVIWYDGSNKYYADSVKGRFTISRDTSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYC
20 ATDSSGSFYEFQHWGQGLTVTVSS

SEC ID NO: 34

(Secuencia de aminoácidos del polipéptido maduro de la cadena ligera, los aminoácidos subrayados corresponden a CDR1', CDR2', y CDR3').

25 AIQLTQSPSSLSASVGDRVITICRASQGINSALAWYQQKPGKAPKLLIYD

113
113

ASSLESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQFNSYPYTFG
QGTKLEIKRT

SEC ID NO: 35

(Secuencia de aminoácidos del polipéptido de la SEC ID NO: 33 con
5 la secuencia líder, los aminoácidos marcados en negrillas
corresponden a la secuencia líder).

MEFGLSWVFLVALLRGVQCQVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTF
SCCGMHWVRQAPGKGLEWVAVIWYDGSNKYYADSVKGRFTISRDTSK
NTLYLQMNSLRAEDTAVYYCATDSSGSFYEFQHWGQGTLVTVSS

10 **SEC ID NO: 36**

(Secuencia de aminoácidos del polipéptido de la SEC ID NO: 34 con
la secuencia líder, los aminoácidos marcados en negrillas
corresponden a la secuencia líder).

MDMRVPAQLLGLLLLWLPGARCAIQLTQSPSSLSASVGDRVITICRASQ
15 **GINSALAWYQQKPGKAPKLLIYDASSLESGVPSRFSGSGSGTDFTLTIS**
LQPEDFATYYCQQFNSYPYTFGQGTKLEIKRT

SEC ID NO: 37

(Nucleótidos que codifican una secuencia de aminoácidos de la SEC
ID NO: 33).

20 CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCGTGGTCCAGCCTGGGA
GGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCGTCTGGATTACCTTCAGTTGC
TGTGGCATGCACTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGCAAGGGGCTGGAGT
GGGTGGCAGTTATATGGTATGATGGAAGTAATAAATACTATGCAGACT
CCGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCCAGAGACACTTCCAAGAACACG
25 CTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCTGTGTA

114
x14

TTACTGTGCGACAGATAGTTTCGGGGAGTTTTTATGAATACTTCCAGCA
CTGGGGCCAGGGCACCCCTGGTCACCGTCTCCTCA

SEC ID NO: 38

(Nucleótidos que codifican una secuencia de aminoácidos de la SEC
ID NO: 34).

5 GCCATCCAGTTGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGG
AGACAGAGTCACCATCACTTGCCGGGCAAGTCAGGGCATTAAACAGTG
CTTTAGCCTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGCTCCTAAGCTCCTG
ATCTATGATGCCTCCAGTTTGGAAAGTGGGGTCCCATCAAGGTTTCAG
10 CGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGCCTGC
AGCCTGAAGATTTTGCAACTTATTACTGTCAACAGTTTAATAGTTACCC
GTACACTTTTGGCCAGGGGACCAAGCTGGAGATCAAACGAACT

SEC ID NO: 39

(Nucleótidos que codifican una secuencia de aminoácidos de la SEC
ID NO: 35).

15 ATGGAGTTTGGGCTGAGCTGGGTTTTCTCGTTGCTCTTTTAAGAGGT
GTCCAGTGTCAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCGTGGTCC
AGCCTGGGAGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCGTCTGGATTACCC
TTCAGTTGCTGTGGCATGCACTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGCAAGG
20 GGCTGGAGTGGGTGGCAGTTATATGGTATGATGGAAGTAATAAATAC
TATGCAGACTCCGTGAAGGGCCGATTACCATCTCCAGAGACACTTC
CAAGAACACGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACA
CGGCTGTGTATTACTGTGCGACAGATAGTTTCGGGGAGTTTTTATGAAT
ACTTCCAGCACTGGGGCCAGGGCACCCCTGGTCACCGTCTCCTCA

25 **SEC ID NO: 40**

115
H3

(Nucleótidos que codifican una secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 36).

ATGGACATGAGGGTCCCCGCTCAGCTCCTGGGGCTTCTGCTGCTCTG
GCTCCCAGGTGCCAGATGTGCCATCCAGTTGACCCAGTCTCCATCCT
5 CCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCATCACTTGCCGGGCA
AGTCAGGGGCATTAACAGTGCTTTAGCCTGGTATCAGCAGAAACCAGG
GAAAGCTCCTAAGCTCCTGATCTATGATGCCTCCAGTTTGGAAAGTG
GGGTCCCATCAAGGTTTCAGCGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACT
CTCACCATCAGCAGCCTGCAGCCTGAAGATTTTGCAACTTATTACTGT
10 CAACAGTTTAATAGTTACCCGTACACTTTTGGCCAGGGGACCAAGCT
GGAGATCAAACGAACT

SEC ID NO: 41

(Secuencia de aminoácidos del polipéptido maduro de la cadena pesada, los aminoácidos subrayados corresponden a CDR1, CDR2, y
15 CDR3).

QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASSGFTFSGYGMHWVRQAPGRGLDW
VAVVWYDGGYKFYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYY
CARDSSGSFYEYLQHWGQGTLVTSS

SEC ID NO: 42

(Secuencia de aminoácidos del polipéptido maduro de la cadena ligera, los aminoácidos subrayados corresponden a CDR1', CDR2', y
20 CDR3').

AIQLTQSPSSLSASVGDRVITCRASQGISSALAWYQQKPGKAPKLLIYD
25 ASSLESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQFNSYPHFWP

116
116

GDQAGDQTNCG

SEC ID NO: 43

(Secuencia de aminoácidos del polipéptido de la SEC ID NO: 41 con la secuencia líder, los aminoácidos marcados en negrillas corresponden a la secuencia líder).

MEFGLSWVFLVALLRGVQCQVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTF
SGYGMHWVRQAPGRGLDWVAVVWYDGGYKFYADSVKGRFTISRDNK
NTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDSSGSFYEYLQHWGQGTLTVSS

SEC ID NO: 44

(Secuencia de aminoácidos del polipéptido de la SEC ID NO: 42 con la secuencia líder, los aminoácidos marcados en negrillas corresponden a la secuencia líder).

MDMRVPAQLLGLLLLWLPGARCAIQLTQSPSSLSASVGDRVITICRASQ
GISSALAWYQQKPGKAPKLLIYDASSLESQVPSRFSGSGSGTDFLTISS
LQPEDFATYYCQQFNSYPHFVPGDQAGDQTNCG

SEC ID NO: 45

(Nucleótidos que codifican una secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 41).

CAGGTGCAGTTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCGTGGTCCAGCCTGGGA
GGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCGTCTGGATTACCTTCAGTGGC
TATGGCATGCACTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGCAGGGGGCTGGACT
GGGTGGCAGTTGTGTGGTATGATGGAGGTTATAAGTTCTATGCAGAC
TCCGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACAC
GCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCTGTGT
ATTACTGTGCGAGAGATAGTTCGGGGAGTTTTTATGAATACTTACAAC

117
117

ATTGGGGCCAGGGCACCCTGGTCACCGTCTCCTCA

SEC ID NO: 46

(Nucleótidos que codifican una secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 42).

5 GCCATCCAGTTGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGG
AGACAGAGTCACCATCACTTGCCGGGCAAGTCAGGGCATTAGCAGTG
CTTTAGCCTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGCTCCTAAGCTCCTG
ATCTATGATGCCTCCAGTTTGGAAAGTGGGGTCCCATCAAGGTTTCA
CGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGCCTGC
10 AGCCTGAAGATTTTGCAACTTATTACTGTCAACAGTTTAAATAGTTACCC
TCACTTTTGGCCAGGGGACCAAGCTGGAGATCAAACGAACT

SEC ID NO: 47

(Nucleótidos que codifican una secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 43).

15 ATGGAGTTTGGGCTGAGCTGGGTTTTCTCGTTGCTCTTTTAAGAGGT
GTCCAGTGTGAGGTGCAGTTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCGTGGTCC
AGCCTGGGAGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCGTCTGGATTACCC
TTCAGTGGCTATGGCATGCACTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGCAGGG
GGCTGGACTGGGTGGCAGTTGTGTGGTATGATGGAGGTTATAAGTTC
20 TATGCAGACTCCGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCCAGAGACAATTC
CAAGAACACGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACA
CGGCTGTGTATTACTGTGCGAGAGATAGTTCCGGGGAGTTTTTATGAAT
ACTTACAACATTGGGGCCAGGGCACCCTGGTCACCGTCTCCTCA

SEC ID NO: 48

25 *(Nucleótidos que codifican una secuencia de aminoácidos de la SEC*

118
118

ID NO: 44).

ATGGACATGAGGGTCCCCGCTCAGCTCCTGGGGCTTCTGCTGCTCTG
GCTCCCAGGTGCCAGATGTGCCATCCAGTTGACCCAGTCTCCATCCT
CCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCATCACTTGCCGGGCA
5 AGTCAGGGCATTAGCAGTGCTTTAGCCTGGTATCAGCAGAAACCAGG
GAAAGCTCCTAAGCTCCTGATCTATGATGCCTCCAGTTTGGAAAGTG
GGGTCCCATCAAGGTTTCAGCGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACT
CTCACCATCAGCAGCCTGCAGCCTGAAGATTTTGCAACTTATTACTGT
CAACAGTTTAAATAGTTACCCTCACTTTTGGCCAGGGGACCAAGCTGG
10 AGATCAAACGAACT

15

20

25

119
119

REIVINDICACIONES

① Un anticuerpo específico de IL-4 humana, el cual se
enlaza a la IL-4 humana con una constante de disociación K_d igual o
menor que 800 pM.

2. Un anticuerpo de la reivindicación 1, el cual tiene un
primer dominio que comprende, en secuencia, las regiones
hipervariables CDR1, CDR2, y CDR3, y un segundo dominio que
comprende, en secuencia, las regiones hipervariables CDR1', CDR2',
y CDR3', seleccionado a partir del grupo que consiste en un
anticuerpo en donde:

a) la CDR1 tiene la secuencia de aminoácidos Gly-Phe-Thr-
Phe-Ser-Ser-Tyr-Ala-Met-His,

la CDR2 tiene la secuencia de aminoácidos Phe-Ile-Trp-Asp-
Asp-Gly-Ser-Phe-Lys-Tyr-Tyr-Ala-Glu-Ser-Val-Lys-Gly,

la CDR3 tiene la secuencia de aminoácidos Glu-Gly-Ser-Trp-
Ser-Pro-Asp-Ile-Phe,

la CDR1' tiene la secuencia de aminoácidos Ser-Gln-Gly-Ile-
Ser-Arg-Ala,

la CDR2' tiene la secuencia de aminoácidos Asp-Ala-Ser,

la CDR3' tiene la secuencia de aminoácidos Phe-Asn-Ser-Tyr-
Pro-Ile,

b) la CDR1 tiene la secuencia de aminoácidos Gly-Phe-Thr-
Leu-Ser-Ser-Phe-Gly-Met-His,

la CDR2 tiene la secuencia de aminoácidos Val-Ile-Trp-Tyr-

120
120

Asp-Gly-Ser-Asn-Glu-Tyr-Tyr-Ala-Asp-Ser-Val-Lys-Gly,

la CDR3 tiene la secuencia de aminoácidos Glu-Gly-Ser-Trp-Ser-Pro-Asp-Ile-Phe,

la CDR1' tiene la secuencia de aminoácidos Ser-Gln-Gly-Ile-
5 Arg-Ser-Ala,

la CDR2' tiene la secuencia de aminoácidos Asp-Ala-Ser,

la CDR3' tiene la secuencia de aminoácidos Phe-Asn-Ser-Tyr-Pro-Val,

c) la CDR1 tiene la secuencia de aminoácidos Gly-Phe-Thr-
10 Leu-Ser-Ser-Tyr-Gly-Met-His,

la CDR2 tiene la secuencia de aminoácidos Val-Ile-Trp-Tyr-Asp-Gly-Asn-Asn-Gln-Tyr-Tyr-Ala-Asp-Ser-Val-Lys-Gly,

la CDR3 tiene la secuencia de aminoácidos Glu-Gly-Ser-Trp-Ser-Pro-Asp-Ile-Phe,

la CDR1' tiene la secuencia de aminoácidos Ser-Gln-Gly-Ile-
15 Ser-Ser-Tyr,

la CDR2' tiene la secuencia de aminoácidos Asp-Ala-Ser,

la CDR3' tiene la secuencia de aminoácidos Phe-Asn-Ser-Tyr-Pro,____

d) la CDR1 tiene la secuencia de aminoácidos Gly-Asp-Thr-Phe-Ser-Ser-Tyr-Ala-Ile-Ser,

la CDR2 tiene la secuencia de aminoácidos Gly-Ile-Ile-Ile-Pro-Val-Ile-Gly-Thr-Val-Asn-Tyr-Glu-Glu-Arg-Phe-Gln-Asp-Arg,

la CDR3 tiene la secuencia de aminoácidos Glu-Glu-Gly-Phe-
25 Leu,

*

error

121
121

la CDR1' tiene la secuencia de aminoácidos Ser-Gln-Gly-Ile-Ser-Ser-Ala,

la CDR2' tiene la secuencia de aminoácidos Asp-Ala-Ser,

la CDR3' tiene la secuencia de aminoácidos Phe-Asn-Ser-Tyr-
5 Pro-Leu,

e) la CDR1 tiene la secuencia de aminoácidos Gly-Phe-Thr-Phe-Ser-Cys-Cys-Gly-Met-His,

la CDR2 tiene la secuencia de aminoácidos Val-Ile-Trp-Tyr-Asp-Gly-Ser-Asn-Lys-Tyr-Tyr-Ala-Asp-Ser-Val-Lys-Gly,

10 la CDR3 tiene la secuencia de aminoácidos Asp-Ser-Ser-Gly-Ser-Phe-Tyr-Glu-Tyr-Phe,

la CDR1' tiene la secuencia de aminoácidos Ser-Gln-Gly-Ile-Asn-Ser-Ala,

la CDR2' tiene la secuencia de aminoácidos Asp-Ala-Ser,

15 la CDR3' tiene la secuencia de aminoácidos Phe-Asn-Ser-Tyr-Pro-Tyr, y

f) la CDR1 tiene la secuencia de aminoácidos Gly-Phe-Thr-Phe-Ser-Gly-Tyr-Gly-Met-His,

20 la CDR2 tiene la secuencia de aminoácidos Val-Val-Trp-Tyr-Asp-Gly-Gly-Tyr-Lys-Phe-Tyr-Ala-Asp-Ser-Val-Lys-Gly,

la CDR3 tiene la secuencia de aminoácidos Asp-Ser-Ser-Gly-Ser-Phe-Tyr-Glu-Tyr-Leu,

la CDR1' tiene la secuencia de aminoácidos Ser-Gln-Gly-Ile-Ser-Ser-Ala,

25 la CDR2' tiene la secuencia de aminoácidos Asp-Ala-Ser,

Con seq. lider
e igual seq RV3

122
122

la CDR3' tiene la secuencia de aminoácidos Phe-Asn-Ser-Tyr-Pro-His.

3. Un anticuerpo de la reivindicación 1 ó 2, el cual comprende:

5 a) un polipéptido de la SEC ID NO: 1 y un polipéptido de la SEC ID NO: 2, ó

b) un polipéptido de la SEC ID NO: 9 y un polipéptido de la SEC ID NO: 10, ó

10 c) un polipéptido de la SEC ID NO: 17 y un polipéptido de la SEC ID NO: 18, ó

d) un polipéptido de la SEC ID NO: 25 y un polipéptido de la SEC ID NO: 26, ó

e) un polipéptido de la SEC ID NO: 33 y un polipéptido de la SEC ID NO: 34, ó

15 f) un polipéptido de la SEC ID NO: 41 y un polipéptido de la SEC ID NO: 42.

④. Un anticuerpo de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, el cual comprende:

20 a) un polipéptido de la SEC ID NO: 3 y un polipéptido de la SEC ID NO: 4, ó

b) un polipéptido de la SEC ID NO: 11 y un polipéptido de la SEC ID NO: 12, ó

c) un polipéptido de la SEC ID NO: 19 y un polipéptido de la SEC ID NO: 20, ó

25 d) un polipéptido de la SEC ID NO: 27 y un polipéptido de la

123
123

SEC ID NO: 28, ó

e) un polipéptido de la SEC ID NO: 35 y un polipéptido de la SEC ID NO: 36, ó

5 f) un polipéptido de la SEC ID NO: 43 y un polipéptido de la SEC ID NO: 44.

5. Un anticuerpo de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, el cual se selecciona a partir del grupo que consiste en un anticuerpo monoclonal específico de IL-4 humana, un fragmento del mismo, y un análogo del mismo.

10 ⑥ Polinucleótidos aislados que comprenden polinucleótidos que codifican un anticuerpo de la reivindicación 1.

7. Polinucleótidos de la reivindicación 6, los cuales codifican la secuencia de aminoácidos de un anticuerpo de cualquiera de las reivindicaciones 2 a 5.

15 8. Polinucleótidos de cualquiera de las reivindicaciones 6 ó 7, los cuales comprenden:

a) un polinucleótido de la SEC ID NO: 5, y un polinucleótido de la SEC ID NO: 6, ó

20 b) un polinucleótido de la SEC ID NO: 13, y un polinucleótido de la SEC ID NO: 14, ó

c) un polinucleótido de la SEC ID NO: 21, y un polinucleótido de la SEC ID NO: 22, ó

d) un polinucleótido de la SEC ID NO: 29, y un polinucleótido de la SEC ID NO: 30, ó

25 e) un polinucleótido de la SEC ID NO: 37, y un

124
124

polinucleótido de la SEC ID NO: 38, ó

f) un polinucleótido de la SEC ID NO: 45, y un polinucleótido de la SEC ID NO: 46.

5 9. Polinucleótidos de cualquiera de las reivindicaciones 6 a 8, los cuales codifican:

- a) un polipéptido de las SEC ID NO: 7 y SEC ID NO: 8, ó
- b) un polipéptido de las SEC ID NO: 15 y SEC ID NO: 16, ó
- c) un polipéptido de las SEC ID NO: 23 y SEC ID NO: 24, ó
- d) un polipéptido de las SEC ID NO: 31 y SEC ID NO: 32, ó
- 10 e) un polipéptido de las SEC ID NO: 39 y SEC ID NO: 40, ó
- f) un polipéptido de las SEC ID NO: 47 y SEC ID NO: 48.

(10) Un vector de expresión que comprende polinucleótidos de cualquiera de las reivindicaciones 6 a 9.

15 (11) Un sistema de expresión que comprende un polinucleótido de cualquiera de las reivindicaciones 6 a 9, en donde este sistema de expresión o parte del mismo, es capaz de producir un anticuerpo de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, cuando este sistema de expresión o parte del mismo está presente en una célula hospedadora compatible.

20 (12) Una célula hospedadora aislada que comprende un sistema de expresión de la reivindicación 11.

(13) El uso de un anticuerpo de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, como un producto farmacéutico.

25 14. El uso de un anticuerpo de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, para la fabricación de un medicamento para

Chin. 1.1
dt. 2010Línea cel.
Nº deposit.

Obo

,,

125
125

el tratamiento de enfermedades mediadas por IL-4 y/o IgE.

15. El uso de la reivindicación 14, en donde la enfermedad se selecciona a partir del grupo que consiste en dermatitis atópica, asma alérgico, y rinitis alérgica.

uso

5 16. El uso de cualquiera de las reivindicaciones 13 a 15, en donde el anticuerpo se selecciona a partir del grupo que consiste en un anticuerpo monoclonal de IL-4 humana, un fragmento del mismo, o un análogo del mismo.

!!

10 17. Una composición farmacéutica que comprende un anticuerpo de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en asociación con cuando menos un excipiente farmacéuticamente aceptable.

15 18. Un método de tratamiento de enfermedades mediadas por IL-4 y/o IgE, cuyo tratamiento comprende administrar a un sujeto que necesite el tratamiento, una cantidad efectiva de un anticuerpo de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5.

metodo

20

25

126
+20**RESUMEN**

Se describen anticuerpos que son específicos para la interleucina-4 humana, y su uso en el tratamiento de enfermedades mediadas por IL-4 y/o IgE.

5

10

15

20

25

127
127LISTADO DE SECUENCIAS

<110> Novartis AG
 <120> Compuesto orgánico
 <130> 4-33746A/NFI 8059
 <160> 48
 <170> PatentIn version 3.1
 5 <210> 1
 <211> 120
 <212> PRT
 <213> Homo Sapiens
 <400> 1
 Gln val Gln Leu val Glu Ser Gly Gly Gly val val Gln Pro Gly Arg
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30
 10 Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Thr Phe Ile Trp Asp Asp Gly Ser Phe Lys Tyr Tyr Ala Glu Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
 65 70 75 80
 15 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Glu Gly Ser Trp Ser Pro Asp Ile Phe Asp Ile Trp Gly Gln
 100 105 110
 Gly Thr Met val Thr val Ser Ser
 115 120
 20 <210> 2
 <211> 109
 <212> PRT
 <213> Homo Sapiens
 <400> 2
 Ala Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Arg Ala
 20 25 30
 25 Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
 35 40 45

128
126

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

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

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

5

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

<210> 3
<211> 139
<212> PRT
<213> Homo Sapiens
<400> 3

10

Met Glu Phe Gly Leu Asn Trp Val Phe Leu Val Ala Leu Phe Arg Gly
1 5 10 15

Val His Cys Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln
20 25 30

Pro Gly Arg Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe
35 40 45

Ser Ser Tyr Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu
50 55 60

15

Glu Trp Val Thr Phe Ile Trp Asp Asp Gly Ser Phe Lys Tyr Tyr Ala
65 70 75 80

Glu Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn
85 90 95

Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val
100 105 110

20

Tyr Tyr Cys Ala Arg Glu Gly Ser Trp Ser Pro Asp Ile Phe Asp Ile
115 120 125

Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser
130 135

<210> 4
<211> 131
<212> PRT
<213> Homo Sapiens
<400> 4

25

129
~~129~~

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

Leu Pro Gly Ala Arg Cys Ala Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser
20 25 30

Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser
35 40 45

5

Gln Gly Ile Ser Arg Ala Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys
50 55 60

Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Asp Ala Ser Ser Leu Glu Ser Gly Val
65 70 75 80

Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
85 90 95

10

Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln
100 105 110

Phe Asn Ser Tyr Pro Ile Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile
115 120 125

Lys Arg Thr
130

15

<210> 5
<211> 360
<212> ADN
<213> Homo Sapiens

<400> 5
caggtgcagc tgggtggagtc tgggggagggc gtggtccagc ctgggaggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cgtctggatt caccttcagt agctatgcc a tgcactgggt ccgccaggct 120
ccaggcaagg ggctggagtg ggtgacattt atatgggatg atggaagttt taaatattat 180
gcagagtccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240
ttgcaaatga acagcctgag agccgaagac acggctgtgt attactgtgc gagagagggc 300
agctggctctc ctgatataatt tgatatctgg ggccaaggga caatgggtcac cgtctcttca 360

20

<210> 6
<211> 327
<212> ADN
<213> Homo Sapiens

<400> 6
gccatccagt tgaccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
atcacttgcc gggcaagtca gggcattagc agagcttttag cctgggtatca gcagaaacca 120
gggaaagctc ctaagctcct gatctatgat gcctccagtt tggaaagtgg ggtcccatca 180
aggttcagcg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag cctgcagcct 240

25

130
130

gaagattttg caacttatta ctgtcaacag tttaatagtt accccatcac cttcggccaa 300
 gggacacgac tggagattaa acgaact 327

<210> 7
 <211> 441
 <212> ADN
 <213> Homo Sapiens

5 <400> 7
 atggagtttg ggctgaactg ggttttcttc gttgctcttt tcagaggtgt ccactgtcag 60
 gtgcagctgg tggagtcctg gggaggcgtg gtccagcctg ggaggtccct gagactctcc 120
 tgtgcagcgt ctggattcac cttcagtagc tatgccatgc actgggtccg ccaggctcca 180
 ggcaaggggc tggagtgggt gacatttata tgggatgatg gaagttttaa atattatgca 240
 gagtccgtga agggccgatt caccatctcc agagacaatt ccaagaacac gctgtatttg 300
 caaatgaaca gcctgagagc cgaagacacg gctgtgtatt actgtgagag agagggcagc 360
 tgggtctctg atatatttga tatctggggc caagggacaa tggtcaccgt ctcttcaggc 420
 10 ccatccgtct tccccctggc g 441

<210> 8
 <211> 393
 <212> ADN
 <213> Homo Sapiens

<400> 8
 atggacatga gggccccgc tcagctcctg gggcttctgc tgctctggct cccagggtgcc 60
 agatgtgcc a tccagttgac ccagctctca tctcctctgt ctgcatctgt aggagacaga 120
 15 gtcaccatca cttgccgggc aagtcagggc attagcagag ctttagcctg gtatcagcag 180
 aaaccaggg aagctcctaa gctcctgac tatgatgcct ccagtttgg aagtggggtc 240
 ccatcaaggt tcagcggcag tggatctggg acagatttca ctctcaccat cagcagcctg 300
 cagcctgaag attttgcaac ttattactgt caacagttta atagttaccc catcaccttc 360
 ggccaaggg a cagactgga gattaaacga act 393

20 <210> 9
 <211> 120
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 9
 Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Leu Ser Ser Phe
 20 25 30
 25 Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45

131
137

Ala Val Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Asn Glu Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

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

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

5

Ala Arg Glu Gly Ser Trp Ser Pro Asp Ile Phe Asp Ile Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 10
<211> 109
<212> PRT
<213> Homo sapiens

10

<400> 10

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

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

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

15

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

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

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

20

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

<210> 11
<211> 139
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 11

Met Glu Phe Gly Leu Ser Trp Val Phe Leu Val Ala Leu Leu Arg Gly
1 5 10 15

25

Val Gln Cys Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln

132
132

20 25 30

Pro Gly Arg Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Leu
35 40 45

Ser Ser Phe Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu
50 55 60

5 Glu Trp Val Ala Val Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Asn Glu Tyr Tyr Ala
65 70 75 80

Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Thr Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn
85 90 95

Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val
100 105 110

Tyr Tyr Cys Ala Arg Glu Gly Ser Trp Ser Pro Asp Ile Phe Asp Ile
115 120 125

10 Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser
130 135

<210> 12
<211> 131
<212> PRT
<213> Homo sapiens
<400> 12

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

Leu Pro Gly Ala Arg Cys Ala Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser
20 25 30

Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Thr Ser
35 40 45

Gln Gly Ile Arg Ser Ala Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Asn Pro Gly Lys
50 55 60

20 Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Asp Ala Ser Ser Leu Glu Ser Gly Val
65 70 75 80

Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
85 90 95

Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln
100 105 110

25 Phe Asn Ser Tyr Pro Val Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile
115 120 125

Lys Arg Thr
130

<210> 13
<211> 360
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 13
caggtgcac tggtagagtc gggggagagc gtgtccagc ctggagagtc cctgagatc
120
tccgtgcag gcttggat caccitaaat agcttggca tgcactgggt ccgccaggct
180
ccaggcaagg gctggagt gttggcagt atagtgtat atggaagtaa tgaatactat
240
gcagactccg tgaaggccg attaccacc tccagagaca attccaagaa cagctgtat
300
ctgcaaatga acagcctgag agccgagagc aggcctgtgt atactgtgc gagagaggc
360
agctgtctc ctgatatctt tgatatctgg ggcgaaggga caatgtcac gctcttca

5

<210> 14
<211> 327
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 14
gccatccagt tgacccagtc tccatctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagatccacc
60
atcactgccc ggaacaagta gggcattcgc agtgccttag cctgtatca gcagaacccc
120
gggaaagctc ctaagctcct gatctatgat gccctcagtc tggaaagtgg ggtcccatca
180
agttccagcg gcagtggatc tgggacagat ttcacttca ccatcagcag cctgcagcct
240
gaagatttg caactatta ctgtcaacag tttaatatgt acccctcac cttcggccaa
300
gggacacgac tggagattaa acgaact
327

15

<210> 15
<211> 417
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 15
atgagatttg gcttgagctg gttttcttc gtgtctctt taagagtgct ccagtgtcag
60
gtgcaactgg tggagtcggg gggaggcgtg gtccagcctg ggaagctcct gagaactccc
120
tgtgcagcgt ctgattcac cttaaagtagc ttggcatgc actgggtccg ccaggctcca
180
ggcaaggggc tggagtgggt ggcagtata tggtagatg gaagtaatga atactatgca
240
gactccgtga agggccgatt caccacctcc agagacaatt ccaagaacac gctgtatctg
300
caaatgaaca gccctgagagc cgaagacacg gctgtgtatt actgtcgag agaggcgagc
360
tgcctcctg atattttga tattctgggc caagggaaca tgttcacagt ctcttca
417

20

<210> 16
<211> 393
<212> ADN

25

133
+33

134
~~128~~

<213> Homo sapiens

<400> 16

atggacatga gggccccgc tcagctcctg gggcttctgc tgctctggct cccaggtgcc 60
 agatgtgcca tccagttgac ccagttccca tctccctgt ctgcatctgt aggagacaga 120
 gtcaccatca cttgccggac aagtcagggc attcgcagtg ctttagcctg gtatcagcag 180
 aacccccgga aagctcctaa gctcctgac tatgatgcct ccagtttgga aagtggggtc 240
 5 ccatcaaggt tcagcggcag tggatctggg acagatttca ctctaccat cagcagcctg 300
 cagcctgaag attttgcaac ttattactgt caacagttta atagttacc cgtcaccttc 360
 ggccaaggga cagcactgga gattaaacga act 393

<210> 17

<211> 120

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 17

10

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

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

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

15

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

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

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

20

Ala Arg Glu Gly Ser Trp Ser Pro Asp Ile Phe Asp Ile Trp Gly Gln
 100 105 110

Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser
 115 120

<210> 18

<211> 109

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 18

25

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

135
135

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Tyr
20 25 30

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

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

5

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

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

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

10

<210> 19
<211> 139
<212> PRT
<213> Homo sapiens
<400> 19

Met Glu Phe Gly Leu Ser Trp Val Phe Leu Val Ala Leu Leu Arg Gly
1 5 10 15

Val Gln Cys Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Met Val Gln
20 25 30

15

Pro Gly Arg Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Leu
35 40 45

Ser Ser Tyr Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu
50 55 60

Glu Trp Val Thr Val Ile Trp Tyr Asp Gly Asn Asn Gln Tyr Tyr Ala
65 70 75 80

20

Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn
85 90 95

Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val
100 105 110

Tyr Tyr Cys Ala Arg Glu Gly Ser Trp Ser Pro Asp Ile Phe Asp Ile
115 120 125

Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser
130 135

25

<210> 20

136
136

<211> 131
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 20

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

5 Leu Pro Gly Ala Arg Cys Ala Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser
 20 25 30

Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser
 35 40 45

Gln Gly Ile Ser Ser Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys
 50 55 60

Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Asp Ala Ser Ser Leu Glu Ser Gly Val
 65 70 75 80

10 Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
 85 90 95

Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln
 100 105 110

Phe Asn Ser Tyr Pro Ile Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile
 115 120 125

15 Lys Arg Thr
 130

<210> 21
 <211> 360
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<400> 21
 caggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc atggtccagc ctgggagggtc cctgagactc 60
 tcctgtgcag cgtctggatt caccctcagt agctatggca tgcactgggt ccgccaggct 120
 ccaggcaagg ggctggagtg ggtgacagtt atatggtatg atggaaataa tcaatactat 180
 gcagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240
 ctgcaaataa acagcctgag agccgaggac acggtctgtat attactgtgc gagagagggc 300
 agctgggtctc ctgatatttt tgatatctgg ggccaagggg caatgggtcac cgtctcttca 360

20
 <210> 22
 <211> 327
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

25 <400> 22
 gccatccagt tgaccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60

137

atcattgcc gggcaagtcaggccatagc agttatttag ccttgatca gcagaaacca
gggaagctc ctaagctcct gattatgat gccctcagtt tggaaagtgg ggtcccatca
aggttcagcg gcagtggatc tgggacagat ttcacttca ccatcagcag cctgcagcct
gaagatttg caactatata cttgcaacag tttatagtt accccatcac cttcgcccaa
gggacacgac tggagatcaa acgaact

<210> 23
<211> 417
<212> ADN
<213> Homo sapiens
<400> 23
atgagtttg gctgaagctg ggtttccctc gtttccttt taagagttgt ccagtgtcag
gtcagactgg tggagctgg gggagggcag gtccagcctg ggaagttcct gagaactccc
tgtqacagct ctggaatcac cctcagtagc tatggcatgc actgggtccg ccaggttcca
ggcaagggtc tggagtgggt gacagtata tggatgatg gaataatca atactatga
gactcctga agggccgat caccatccc agagacaatt ccaagaacac gctgatatg
caaatgaaca gctgagagc cgaagacag gctgtatat actgtcgag agaggcagc
tgtctcttg atattttga tatctgggc caaggacaa tggtaacct ctttca

<210> 25
<211> 116
<212> PRT
<213> Homo sapiens
<400> 25
atggacatga ggtccccgc tcaactcctg ggcctctgc tgccttgct ccaagtgc
agatgtcca tcaagtga ccaatcca tctcctcctg ctgcatctgt aggaacaga
gtaccatca ctgcccggc aagtcaggc attagcagtt attagcctg gtatcagcag
aaaccaggga aagctctaa gctcctgatc tatgatgctt ccaatttga aagtgggtc
ccatcaaggt tcaagggcag tggatctggg acagattca ctccaacct cagcagcctg
cagcctgaag atttgcaac ttatcagtt caacagttta atagttaacc catcaccttc
ggccaaggga cagcactgga gattaacga act

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Gln Val Lys Lys Pro Gly Ser
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Asp Thr Phe Ser Tyr
CDK1
25 30

140
140

Phe Asn Ser Tyr Pro Leu Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu
115 120 125

Ile Lys Arg Thr
130

5
<210> 29
<211> 348
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 29
cagggtccagc tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctgggtcctc ggtgaaggtc 60
tcctgcaagg cttctggaga caccttcagc agttatgcta tcagttgggt gcgacaggcc 120
cctggacaag ggtttgagtg gatgggaggg atcatccctg tcattgggtac agtaaattat 180
gaagagagat tccaggacag agtcacgatt accgcggaca attccacgag cacagcctac 240
atggagttga ctagtctgag atctgaagac acggccgtgt atttttgtgg gagagaagag 300
ggcttccttg actattgggg ccaggggaacc ctggtcaccg tctcctca 348

10
<210> 30
<211> 396
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 30
atggacatga ggggtccccgc tcagctcctg gggcttctgc tgctctggct cccaggtgcc 60
agatgtgcca tccagttgac ccagcttcca tcctccctgt ctgcatctgt aggagacaga 120
gtcaccatca cttgccgggc aagtcagggc attagcagtg ctttagcctg gtatcagcag 180
aaaccaggga aagctcctaa gctcctgac tatgatgcct ccagtttggg aagtggggtc 240
ccatcaaggt tcagcggcag tggatctggg acagatttca ctctcaccat cagcagcctg 300
cagcctgaag attttgcaac ttattactgt caacagttta atagttaccc tcttctcact 360
ttcggcgag ggaccaaggt ggagatcaaa cgtacg 396

20
<210> 31
<211> 405
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 31
atggactgga cctggagggt cctctttgtg gtggcagcag ctacaggtgt ccagtcaccag 60
gtccagctgg tgcagtctgg ggctgagggt aagaagcctg ggtcctcggt gaaggctctc 120
tgcaaggctt ctggagacac cttcagcagt tatgctatca gttgggtgag acaggccctt 180
ggacaagggt ttgagtggat gggagggatc atccctgtca ttggtacagt aaattatgaa 240
gagagattcc aggacagagt cacgattacc gcggacaatt ccacgagcac agcctacatg 300
25 gagttgacta gtctgagatc tgaagacacg gccgtgtatt tttgtgggag agaagagggc 360

ttccttgact attggggcca ggggaaccctg gtcaccgtct cctca

<210> 32
<211> 396
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 32
atggacatga ggggtccccgc tcagctcctg gggcttctgc tgctctggct cccagggtgcc 60
5 agatgtgccca tccagttgac ccagtcctcca tctccctgt ctgcatctgt aggagacaga 120
gtcaccatca cttgcccgggc aagtcagggc attagcagtg ctttagcctg gtatcagcag 180
aaaccagggga aagctcctaa gctcctgata tatgatgcct ccagtttgga aagtgggggc 240
ccatcaaggt tcagcggcag tggatctggg acagatttca ctctcaccat cagcagcctg 300
cagcctgaag attttgcaac ttattactgt caacagttta atagttaccc tcttctcact 360
ttcggcggag ggaccaaggt ggagatcaaa cgtacg 396

10 <210> 33
<211> 121
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 33
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Cys Cys
20 25 30
15 Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ala Val Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Thr Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80
20 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Thr Asp Ser Ser Gly Ser Phe Tyr Glu Tyr Phe Gln His Trp Gly
100 105 110
Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

25 <210> 34
<211> 109
<212> PRT
<213> Homo sapiens

142
142

<400> 34

Ala Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Asn Ser Ala
20 25 305 Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45Tyr Asp Ala Ser Ser Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Phe Asn Ser Tyr Pro Tyr
85 90 95

10

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

<210> 35

<211> 140

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 35

15

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

20

Glu Trp Val Ala Val Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala
65 70 75 80Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Thr Ser Lys Asn
85 90 95Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val
100 105 110

25

Tyr Tyr Cys Ala Thr Asp Ser Ser Gly Ser Phe Tyr Glu Tyr Phe Gln
115 120 125

143
113

His Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
130 135 140

<210> 36
<211> 131
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 36

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

Leu Pro Gly Ala Arg Cys Ala Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser
20 25 30

Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser
35 40 45

10 Gln Gly Ile Asn Ser Ala Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys
50 55 60

Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Asp Ala Ser Ser Leu Glu Ser Gly Val
65 70 75 80

Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
85 90 95

Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln
100 105 110

15 Phe Asn Ser Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile
115 120 125

Lys Arg Thr
130

<210> 37
<211> 363
<212> ADN
<213> Homo sapiens

20 <400> 37
caggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc gtgggtccagc ctgggaggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cgtctggatt caccttcagt tgctgtggca tgcactgggt ccgccaggct 120
ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcagtt atatggtatg atggaagtaa taaatactat 180
gcagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca cttccaagaa cacgctgtat 240
ctgcaaataga acagcctgag agccgaggac acggctgtgt attactgtgc gacagatagt 300
tcggggagtt tttatgaata cttccagcac tggggccagg gcaccctggt caccgtctcc 360
25 tca 363

<210> 38
 <211> 327
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

5 <400> 38
 gccatccagt tgaccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
 atcacttgcc gggcaagtca gggcattaac agtgcttttag cctgggtatca gcagaaacca 120
 gggaaagctc ctaagctcct gatctatgat gcctccagtt tggaaagtgg ggtcccatca 180
 aggttcagcg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag cctgcagcct 240
 gaagattttg caacttatta ctgtcaacag tttaatagtt acccgtagac ttttggccag 300
 gggaccaagc tggagatcaa acgaact 327

<210> 39
 <211> 420
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

10 <400> 39
 atggagtttg ggctgagctg ggttttcctc gttgctcttt taagaggtgt ccagtgtcag 60
 gtgcagctgg tggagtctgg gggaggcgtg gtccagcctg ggaggtccct gagactctcc 120
 tgtgcagcgt ctggattcac cttcagttgc tgtggcatgc actgggtccg ccaggctcca 180
 ggcaaggggc tggagtgggt ggcagttata tggatgatg gaagtaataa atactatgca 240
 gactccgtga agggccgatt caccatctcc agagacactt ccaagaacac gctgtatctg 300
 caaatgaaca gcctgagagc cgaggacacg gctgtgtatt actgtgagac agatagttcg 360
 gggagttttt atgaatactt ccagcactgg ggccagggca ccctgggtcac cgtctcctca 420

15 <210> 40
 <211> 393
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

20 <400> 40
 atggacatga gggccccgc tcagctcctg gggcttctgc tgctctggct cccaggtgcc 60
 agatgtgcca tccagttgac ccagctctcca tctccctgt ctgcattctgt aggagacaga 120
 gtcaccatca cttgccgggc aagtcagggc attaacagtg ctttagcctg gtatcagcag 180
 aaaccagggg aagctcctaa gctcctgac tatgatgcct ccagtttgga aagtggggtc 240
 ccatcaaggt tcagcggcag tggatctggg acagatttca ctctcaccat cagcagcctg 300
 cagcctgaag attttgcaac ttattactgt caacagttta atagttaccc gtacactttt 360
 ggccagggga ccaagctgga gatcaaacga act 393

25 <210> 41
 <211> 121
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 41

144
 24

145
145

Gln val Gln Leu val Glu ser Gly Gly Gly val val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15

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

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

5

Ala val val Trp Tyr Asp Gly Gly Tyr Lys Phe Tyr Ala Asp Ser val
50 55 60

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

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

10

Ala Arg Asp Ser Ser Gly Ser Phe Tyr Glu Tyr Leu Gln His Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Leu val Thr val Ser Ser
115 120

<210> 42
<211> 110
<212> PRT
<213> Homo sapiens

15

<400> 42

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

Asp Arg val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Ala
20 25 30

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

20

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

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

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

25

Phe Trp Pro Gly Asp Gln Ala Gly Asp Gln Thr Asn Cys Gly
100 105 110

146
 146
 146

<210> 43
 <211> 140
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 43

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

<210> 44
 <211> 132
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 44

Met Asp Met Arg Val Pro Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Trp
 1 5 10 15
 20 Leu Pro Gly Ala Arg Cys Ala Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser
 25 30
 Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser
 35 40 45
 Gln Gly Ile Ser Ser Ala Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys
 50 55 60
 25 Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Asp Ala Ser Ser Leu Glu Ser Gly Val
 65 70 75 80

147
147

Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
85 90 95

Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln
100 105 110

Phe Asn Ser Tyr Pro His Phe Trp Pro Gly Asp Gln Ala Gly Asp Gln
115 120 125

5

Thr Asn Cys Gly
130

<210> 45
<211> 363
<212> ADN
<213> Homo sapiens

10

<400> 45
cagggtgcagt tgggtggagtc tggggggagggc gtggtccagc ctgggaggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cgtctggatt caccttcagt ggctatggca tgcactgggt ccgccaggct 120
ccaggcaggg ggctggactg ggtggcagtt gtgtggtatg atggagggtta taagttctat 180
gcagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca attccaagaa cagcgtgtat 240
ctgcaaataga acagcctgag agccgaggac acggctgtgt attactgtgc gagagatagt 300
tcggggagtt tttatgaata cttacaacat tggggccagg gcaccctggt caccgtctcc 360
tca 363

15

<210> 46
<211> 325
<212> ADN
<213> Homo sapiens

20

<400> 46
gccatccagt tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
atcacttgcc gggcaagtca gggcattagc agtgcttttag cctgggtatca gcagaaacca 120
gggaaagctc ctaagctcct gatctatgat gcctccagtt tggaaagtgg ggtcccatca 180
aggttcagcg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag cctgcagcct 240
gaagattttg caacttatta ctgtcaacag tttaatagtt accctcactt ttggccaggg 300
gaccaagctg gagatcaaac gaact 325

25

<210> 47
<211> 420
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 47
atggagtttg ggctgagctg ggttttcctc gttgctcttt taagaggtgt ccagtgtcag 60
gtgcagtttg tggagtcctg gggaggcgtg gtccagcctg ggaggtccct gagactctcc 120

148-
143

tgtgcagcgt ctggattcac cttcagtggc tatggcatgc actgggtccg ccaggctcca 180
ggcagggggc tggactgggt ggcagttgtg tggatatgatg gaggttataa gttctatgca 240
gactccgtga agggccgatt caccatctcc agagacaatt ccaagaacac gctgtatctg 300
caaatgaaca gcctgagagc cgaggacacg gctgtgtatt actgtgcgag agatagttcg 360
gggagttttt atgaatactt acaacattgg ggccagggca ccctgggtcac cgtctcctca 420

5

<210> 48
<211> 391
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 48
atggacatga gggccccgc tcagctcctg gggcttctgc tgctctggct cccagggtgcc 60
agatgtgccca tccagttgac ccagttctcca tcctccctgt ctgcatctgt aggagacaga 120
gtcaccatca cttgccgggc aagtcagggc attagcagtg ctttagcctg gtatcagcag 180
aaaccagggga aagctcctaa gctcctgac tatgatgcct ccagtttgga aagtggggtc 240
ccatcaaggt tcagcggcag tggatctggg acagatttca ctctcaccat cagcagcctg 300
cagcctgaag attttgcaac ttattactgt caacagttta atagttaccc tcacttttgg 360
ccaggggacc aagctggaga tcaaacgaac t 391

10

15

20

25

PCT

146
147

To:

see form PCT/ISA/220

WRITTEN OPINION OF THE
INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY
(PCT Rule 43bis.1)

Date of mailing
(day/month/year) see form PCT/ISA/210 (second sheet)

Applicant's or agent's file reference
see form PCT/ISA/220

FOR FURTHER ACTION
See paragraph 2 below

International application No.
PCT/EP2005/008361

International filing date (day/month/year)
02.08.2005

Priority date (day/month/year)
03.08.2004

International Patent Classification (IPC) or both national classification and IPC
C07K16/24

Applicant
NOVARTIS AG

1. This opinion contains indications relating to the following items:

- ☒ Box No. I Basis of the opinion
- ☒ Box No. II Priority
- ☒ Box No. III Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability
- ☐ Box No. IV Lack of unity of invention
- ☒ Box No. V Reasoned statement under Rule 43bis.1(a)(i) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement
- ☐ Box No. VI Certain documents cited
- ☐ Box No. VII Certain defects in the international application
- ☐ Box No. VIII Certain observations on the international application

2. **FURTHER ACTION**

If a demand for international preliminary examination is made, this opinion will usually be considered to be a written opinion of the International Preliminary Examining Authority ("IPEA"). However, this does not apply where the applicant chooses an Authority other than this one to be the IPEA and the chosen IPEA has notified the International Bureau under Rule 66.1bis(b) that written opinions of this International Searching Authority will not be so considered.

If this opinion is, as provided above, considered to be a written opinion of the IPEA, the applicant is invited to submit to the IPEA a written reply together, where appropriate, with amendments, before the expiration of three months from the date of mailing of Form PCT/ISA/220 or before the expiration of 22 months from the priority date, whichever expires later.

For further options, see Form PCT/ISA/220.

3. For further details, see notes to Form PCT/ISA/220.

Name and mailing address of the ISA:



European Patent Office
D-80298 Munich
Tel. +49 89 2399 - 0 Tx: 523656 epmu d
Fax: +49 89 2399 - 4465

Authorized Officer

Rankin, R

Telephone No. +49 89 2399-2659



**WRITTEN OPINION OF THE
INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY**

International application No.
PCT/EP2005/008361

150 150

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, unless otherwise indicated under this item.
☐ This opinion has been established on the basis of a translation from the original language into the following language , which is the language of a translation furnished for the purposes of international search (under Rules 12.3 and 23.1(b)).
2. With regard to any **nucleotide and/or amino acid sequence** disclosed in the international application and necessary to the claimed invention, this opinion has been established on the basis of:
 - a. type of material:
☒ a sequence listing
☐ table(s) related to the sequence listing
 - b. format of material:
☒ in written format
☒ in computer readable form
 - c. time of filing/furnishing:
☒ contained in the international application as filed.
☐ filed together with the international application in computer readable form.
☐ furnished subsequently to this Authority for the purposes of search.
3. ☐ In addition, in the case that more than one version or copy of a sequence listing and/or table relating thereto has been filed or furnished, the required statements that the information in the subsequent or additional copies is identical to that in the application as filed or does not go beyond the application as filed, as appropriate, were furnished.
4. Additional comments:

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:

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. 18 (For reasons of Industrial Applicability)

because:

- ☒ the said international application, or the said claims Nos. 18 relate to the following subject matter which does not require an international preliminary examination (*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.
- ☐ no international search report has been established for the whole application or for said claims Nos.
- ☐ the nucleotide and/or amino acid sequence listing does not comply with the standard provided for in Annex C of the Administrative Instructions in that:

the written form

- ☐ has not been furnished
- ☐ does not comply with the standard

the computer readable form

- ☐ has not been furnished
- ☐ does not comply with the standard

- ☐ the tables related to the nucleotide and/or amino acid sequence listing, if in computer readable form only, do not comply with the technical requirements provided for in Annex C-bis of the Administrative Instructions.
- ☐ See separate sheet for further details

**WRITTEN OPINION OF THE
INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY**

International application No.
PCT/EP2005/008361

x52 158

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	1-18
	No: Claims	
Inventive step (IS)	Yes: Claims	
	No: Claims	1-18
Industrial applicability (IA)	Yes: Claims	1-17
	No: Claims	

2. Citations and explanations

see separate sheet

**WRITTEN OPINION OF THE
INTERNATIONAL SEARCHING
AUTHORITY (SEPARATE SHEET)**

153 153
International application No.

PCT/EP2005/008361

Re Item III.

Claim 18 relates 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 this claim (Article 34(4)(a)(i) PCT)

Re Item V.

For the assessment of the present claim 18 on the question whether it is industrially applicable, no unified criteria exist within the PCT Contracting States. The patentability can also be dependent upon the formulation of a claim. The EPO, for example, does not recognise as industrially applicable the subject matter of claims to the use of a compound in medical treatment, but may allow, however, the use of such a compound for the manufacture of a medicament for a new medical treatment.

Reference is made to the following documents:

D1 : US 5 705 154 A (DALIE ET AL) 6 January 1998 (1998-01-06)

Article 33(2) PCT

The subject matter of claims 1-18 is new in the sense of Article 33(2) PCT as none of the cited documents disclose human antibodies specific for IL-4 with a Kd of equal or less than 800pM.

Article 33(3) PCT

The present application does not meet the criteria of Article 33(1) PCT, because the subject matter of claim 1 does not involve an inventive step in the sense of Article 33(3)PCT.

Document D1, which is considered to represent the most relevant state of the art to the subject matter of claim 1, discloses humanized antibodies against human IL-4. (column 2, lines 5-18; column 5, lines 49-62; claims; examples)

The subject-matter of independent claim 1 differs from the disclosure of D1 in that the

antibodies of claim 1 are human and have a dissociation constant of less than or equal to 800pM

The effect of the difference is that the antibodies of claim 1 can bind more strongly to human IL-4 and are less antigenic when administered to human patients.

The problem to be solved by the present invention may therefore be regarded as providing human antibodies against IL-4 which have high affinity.

The subject matter of claim 1 solves this problem but cannot be considered inventive since the skilled person would view it as obvious and desirable to produce high-affinity human antibodies against IL-4. No inventive skill would be required and the skilled person would be motivated to attempt the solution of claim 1 with a high expectation of success.

The subject matter of claims 2-18 are also not considered inventive for the same reasoning.

PCT

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

(PCT Article 18 and Rules 43 and 44)

Applicant's or agent's file reference PD/4-33746A/NFI	FOR FURTHER ACTION see Form PCT/ISA/220 as well as, where applicable, Item 5 below.	
International application No. PCT/EP2005/008361	International filing date (day/month/year) 02/08/2005	(Earliest) Priority Date (day/month/year) 03/08/2004
Applicant NOVARTIS AG		

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 6 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, unless otherwise indicated under this item.

☐ The international search was carried out on the basis of a translation of the international application furnished to this Authority (Rule 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 II).

3. ☐ **Unity of invention is lacking** (see Box 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:

HUMAN MONOCLONAL ANTIBODIES AGAINST HUMAN IL-4

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. _____

☐ 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.

Box No. 1 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
- ☒ in written format
- ☒ in computer readable form
- c. time of filing/furnishing
- ☒ contained in the international application as filed
- ☐ filed together with the international application in computer readable form
- ☐ furnished subsequently to this Authority for the 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
 C07K16/24

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

B. FIELDS SEARCHED

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

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

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

EPO-Internal, WPI Data, PAJ

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	US 5 705 154 A (DALIE ET AL) 6 January 1998 (1998-01-06) column 2, line 5 - line 18 column 5, line 49 - line 62 claims; examples	1-18
A	US 2002/002132 A1 (PLUENNEKE JOHN D) 3 January 2002 (2002-01-03) paragraph '0001! paragraph '0017! paragraph '0088! - paragraph '0091! paragraph '0144! - paragraph '0149! claims; examples	1-18

☒ Further documents are listed in the continuation of box C.

☒ Patent family members are listed in 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.

Z document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

20 December 2005

Date of mailing of the international search report

05/01/2006

Name and mailing address of the ISA

 European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
 NL - 2280 HV Rijswijk
 Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
 Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Rankin, R

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category °	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WO 91/09059 A (SCHERING CORPORATION) 27 June 1991 (1991-06-27) page 1, line 22 - line 34 page 6, line 8 - line 17 claims; examples -----	1-18 158
P,A	FR 2 859 725 A (NEOVACS) 18 March 2005 (2005-03-18) page 4, line 15 - line 22 claims; examples -----	1-18

Box II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

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 claim 18 is directed to a method of treatment of the human body, the search has been carried out and based on the alleged effects of the compound.
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.

160

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US 5705154	A	06-01-1998	NONE
US 2002002132	A1	03-01-2002	NONE
WO 9109059	A	27-06-1991	AT 136906 T 15-05-1996
		AU 639754 B2 05-08-1993	
		AU 7176291 A 18-07-1991	
		CA 2071908 A1 21-06-1991	
		CZ 9006352 A3 13-08-1997	
		DE 69026627 D1 23-05-1996	
		DE 69026627 T2 22-08-1996	
		DK 506826 T3 13-05-1996	
		EP 0506826 A1 07-10-1992	
		ES 2085983 T3 16-06-1996	
		FI 922847 A 18-06-1992	
		GR 3020325 T3 30-09-1996	
		HU 64568 A2 28-01-1994	
		IE 904589 A1 03-07-1991	
		JP 7030116 B 05-04-1995	
		JP 4506359 T 05-11-1992	
		KR 9616862 B1 23-12-1996	
		NZ 236511 A 25-02-1993	
		OA 9704 A 30-08-1993	
		PT 96230 A 15-10-1991	
		SK 635290 A3 11-06-1999	
		US 6358509 B1 19-03-2002	
		ZA 9010190 A 28-08-1991	
FR 2859725	A	18-03-2005	WO 2005028513 A2 31-03-2005

160

Extracto folio 161 d 163

161
~~164~~

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
Rad: 07-009955- -00000-0000
Fec: 2007-02-01 18:43:49 Dep. 2020 NUECREACIONE
Tra. 11 PATENTE(IYII)
Eve: 378 FASENACIONALI
Art 411 PRESENTACION
Enline: 180



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 ☐
- ☐
- ☐