ANTICUERPOS CONTRA EL RECEPTOR ALFA DE LA INTERLEUCINA-4 HUMANA

La presente descripción pertenece al campo de la medicina. En particular, la presente descripción se relaciona con anticuerpos que se unen específicamente a la subunidad alfa del receptor de la interleucina-4 (IL-4) humana (IL-4Rα), composiciones que comprenden tales anticuerpos IL-4Rα y métodos para usar tales anticuerpos IL-4Rα.

La epidemia en curso de trastornos inflamatorios inmunitarios, como las enfermedades inflamatorias de tipo 2, tal como la dermatitis atópica, el asma, la alergia alimentaria, entre otras, representa un conjunto heterogéneo de trastornos que afectan a diferentes tejidos diana. Los estudios inmunológicos y genéticos han identificado varias citocinas y receptores de citocinas implicados en las enfermedades inflamatorias de tipo 2, en particular, el receptor alfa de la interleucina-4 y las citocinas asociadas. La interleucina-4 y la interleucina-13 se han identificado como impulsores clave de las vías inflamatorias de tipo 2.

Receptor alfa de la interleucina-4 humana (también conocido como IL-4Rα; Subunidad alfa del receptor de IL-4; CD124; receptor BSF) es una glicoproteína transmembrana de la familia de receptores de citocinas de clase I que desempeña un papel importante en diversos procesos biológicos, como las respuestas inmunitarias basadas en Th2, la activación alternativa de macrófagos y células dendríticas, la inmunidad de las mucosas, la inflamación alérgica, la progresión tumoral y la aterogénesis. Se ha informado que el IL-4Rα se expresa en linfocitos

T y B, eosinófilos, basófilos, monocitos y macrófagos, células dendríticas, células endoteliales, fibroblastos, células epiteliales de las vías respiratorias y células del músculo liso. IL-4Rα existe en 2 complejos diferentes en todo el cuerpo, los receptores de tipo I están compuestos por la subunidad IL-4Rα con una cadena γ común, y se une específicamente a IL-4, mientras que los receptores de tipo II consisten en una subunidad IL-4Rα unida a una subunidad diferente conocida como IL-13Rα1. Tanto los receptores de IL-4Rα de tipo I como de tipo II se denominan receptores de IL-4 (IL-4R). IL-4Rα de tipo I se encuentra, por ejemplo, en linfocitos y células mieloides, y IL-4Rα de tipo II se encuentra, por ejemplo, en células mieloides y células no hematopoyéticas. Estos receptores de tipo II tienen la capacidad de unirse tanto a la interleucina-4 como a la interleucina-13, dos citocinas con funciones biológicas estrechamente relacionadas.

La interleucina-4 humana (también conocida como IL-4; BSF-1) está presente en un amplio espectro de tejidos, incluidos los hematopoyéticos, endoteliales, epiteliales, musculares, fibroblastos, hepatocitos y cerebrales. Se ha descubierto que la IL-4 humana es un regulador clave en la inmunidad humoral y adaptativa, y desempeña un papel, por ejemplo, en la estimulación de los linfocitos B activados, la proliferación de los linfocitos T, la diferenciación de los linfocitos B en células plasmáticas, la inducción de la diferenciación de linfocitos T CD4+ vírgenes en células efectoras Th2, la regulación al alza de la producción de MHC de clase II, CD23 e IL-4Rα en los linfocitos B y células de linaje mieloide, como células monocíticas, la

disminución en la producción de linfocitos Th1, macrófagos, IFN-gamma e IL-12 de células dendríticas. (Hershey et al. N. Engl. J. Med. 1997, 337 (24). 1720–5).

La interleucina-13 humana (también conocida como IL-13; P600) juega un papel importante, por ejemplo, en la metaplasia de las células caliciformes, la contracción del músculo de las células lisas y la producción de moco en el epitelio de las vías respiratorias, por ejemplo, en el asma alérgica. La unión del complejo IL-13 a IL-4Rα inicia la activación de múltiples vías de transducción, incluidas la tirosina cinasa 2 (Tyk-2) y la cinasa Jano 1 (JAK1). Como tales, tanto las citocinas IL-4 como IL-13 activan el factor de transcripción STAT6, promueven el cambio de clase de células B a IgE y la quimiotaxis de los eosinófilos, y también se ha encontrado que juegan un papel potencial en la proliferación tumoral, la supervivencia celular, la adhesión celular y la metástasis. (Suzuki, A., et al. Cytokine 2015; 75(1): 79-88). La IL-13 se expresa en múltiples tipos de células, incluidos los linfocitos B, los basófilos, los eosinófilos, los mastocitos, las células endoteliales, los fibroblastos, los monocitos, los macrófagos, las células epiteliales respiratorias y las células del músculo liso. (Hershey et al. N. Engl. J. Med. 1997, 337 (24). 1720–5).

Se conocen terapias de anticuerpos dirigidas a enfermedades inflamatorias de tipo 2, y están aprobadas o en desarrollo clínico. Tales anticuerpos incluyen dupilumab, que se dirige al IL-4Rα; pascolizumab que se dirige a IL-4; lebrikizumab, anrukinzumab, y tralokinumab que se dirigen a la vía de la IL-13. (Junttila, I., Frontiers in Immunology 2018, 9: 888). Sin embargo, a pesar del desarrollo de estas terapias dirigidas, sigue existiendo la necesidad de anticuerpos IL-4Rα adicionales, para su uso en pacientes

con trastornos inflamatorios de tipo 2, como asma, dermatitis atópica y/o esofagitis eosinofílica (EoE), y para pacientes que siguen siendo resistentes al tratamiento o que no responden de forma duradera a las terapias actuales, como dupilumab.

DESCRIPCIÓN DETALLADA

La presente descripción proporciona anticuerpos que se unen específicamente al IL-4Rα humano e inhiben las respuestas mediadas por el IL-4R, la IL-4 y/o la IL-13 (p. ej., proliferación de células B, fosforilación de STAT-6, expresión de CD23), composiciones que comprenden tales anticuerpos IL-4Rα y métodos para usar tales anticuerpos IL-4Rα. En particular, la presente descripción proporciona anticuerpos IL-4Rα humanos que se unen a un nuevo epítopo que abarca los dominios de tipo III de la fibronectina n-terminales 1 y 2 del IL-4Rα humano y/o de macaco cangrejero, tienen afinidades de unión deseadas, bloquean la señalización de IL-4R mediada tanto por IL-4 como por IL-13, y/o tienen buenas propiedades de capacidad de desarrollo tales como viscosidad y/o agregación. Tales anticuerpos IL-4Rα humanos pueden usarse para tratar trastornos inflamatorios de tipo 2, asociados con la señalización de IL-4R mediada por IL-4 o IL-13, que incluyen dermatitis atópica, esofagitis eosinofílica (EoE), poliposis nasal, asma, rinosinusitis crónica (RSC), enfermedad alérgica, enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC) o urticaria espontánea crónica (UCE). Tales anticuerpos IL-4Rα pueden usarse adicionalmente para tratar el cáncer. Como tal, los anticuerpos IL-4Rα humanos proporcionados en la presente descripción tienen una o más de las siguientes propiedades: 1) se unen a un nuevo epítopo estructural que abarca los dominios n-terminales de fibronectina tipo-III 1 y 2 de la IL-4Rα humana y/o de mono cynomolgus, 2) se unen a un nuevo epítopo funcional de la IL-4Rα humana y/o de mono cynomolgus, 3) se unen a la IL-4Rα humana y/o de mono cynomolgus con afinidades de unión deseables, 4) inhiben la

señalización de IL-4 mediada por IL-4, 5) inhiben la señalización de IL-4 mediada por IL-13, 6) no inducen significativamente la muerte mediada por la función efectora, 7) no inducen significativamente la unión al complemento, 8) conservan la unión al receptor Fcγ y/o 9) tienen baja viscosidad, unión a proteínas séricas y/o agregación.

En algunas modalidades, los anticuerpos de la presente descripción que se unen específicamente a IL-4Rα humano son anticuerpos totalmente humanos. En algunas modalidades, los anticuerpos de la presente descripción se unen a un nuevo epítopo estructural de IL-4Rα humano, en donde el epítopo abarca el dominio 1 y el dominio 2 del dominio de tipo III de la fibronectina n-terminal del IL-4Rα. En algunas modalidades, los anticuerpos de la presente descripción se unen a un nuevo epítopo funcional del IL-4Rα humano. En algunas modalidades, los anticuerpos de la presente descripción se unen específicamente a IL-4Rα humano en linfocitos B, linfocitos T y células mieloides. En modalidades adicionales, los anticuerpos de la presente descripción se unen a IL-4Rα humano y/o de macaco cangrejero y bloquean la unión de IL-4 e IL-13 a IL-4Rα, evitando así la señalización mediada por IL-4R. En algunas modalidades, los anticuerpos de la presente descripción inhiben la fosforilación de IL-4R STAT-6 inducida por IL-4 e IL-13, la proliferación de linfocitos B y la expresión de CD23. En aún otras modalidades, los anticuerpos de la presente descripción no inducen significativamente la destrucción mediada por la función efectora. En algunas modalidades, el anticuerpo anti-IL-4Rα humano que tiene una cadena principal de IgG4P humana o IgG1A humana retiene la unión al receptor Fcγ. En tales modalidades, el anticuerpo anti-IL-4Rα humano que tiene una cadena

principal de IgG4P humana o IgG1A humana tiene una unión mejorada a los linfocitos B y las células mieloides, en comparación con un anticuerpo IL-4Rα humano que tiene una cadena principal nula efectora (por ejemplo, IgG1AAA).

En algunas modalidades, el anticuerpo IL-4Rα humano o fragmento de unión a antígeno de este de la presente descripción se une específicamente a un epítopo de IL-4Rα humano, en donde el epítopo comprende uno o más residuos de aminoácidos seleccionados de D12, M14, S15, I16, Y37, L39, F41, L42, L43, E45, H47, T48, C49, I50, E52, H62, L64, M65, D66, D67, V68, V69, D72, R99, P121, P123, P124, D125, P192 (las posiciones de los residuos de aminoácidos corresponden a la sec. con núm. de ident.: 15). En algunas modalidades, el anticuerpo IL-4Rα humano o fragmento de unión a antígeno de este de la presente descripción se une específicamente a un epítopo de IL-4Rα humano, en donde el epítopo comprende al menos uno, al menos dos, al menos tres, al menos cuatro, o al menos cinco o más residuos de aminoácidos seleccionados de D12, M14, S15, I16, Y37, L39, F41, L42, L43, E45, H47, T48, C49, I50, E52, H62, L64, M65, D66, D67, V68, V69, D72, R99, P121, P123, P124, D125, P192 (las posiciones de los residuos de aminoácidos corresponden a la sec. con núm. de ident.: 15). En algunas modalidades, el anticuerpo IL-4Rα humano o fragmento de unión a antígeno de este se une específicamente a un epítopo de IL-4Rα humano que comprende uno o más residuos de aminoácidos seleccionados de D12, M14, S15, I16, Y37, L39, F41, L43, E45, H47, T48, C49, I50, H62, L64, M65, D66, D67, V69, D72, R99, P121, P123, P124, D125 (las posiciones de los residuos de aminoácidos corresponden a la sec. con núm. de

ident.: 15). En algunas modalidades, el anticuerpo IL-4Rα humano o fragmento de unión a antígeno de este de la presente descripción se une específicamente a un epítopo de IL-4Rα humano, en donde el epítopo comprende al menos uno, al menos dos, al menos tres, al menos cuatro, o al menos cinco o más residuos de aminoácidos seleccionados de D12, M14, S15, I16, Y37, L39, F41, L43, E45, H47, T48, C49, I50, H62, L64, M65, D66, D67, V69, D72, R99, P121, P123, P124, D125 (las posiciones de los residuos de aminoácidos corresponden a la sec. con núm. de ident.: 15). En algunas modalidades, el anticuerpo IL-4Rα humano o fragmento de unión a antígeno de este se une específicamente a un epítopo de IL-4Rα humano que comprende uno o más residuos de aminoácidos seleccionados de D12, M14, S15, I16, L39, F41, L42, T48, C49, I50, E52, H62, L64, M65, D66, D67, V68, V69, D72, R99, P121, P123, P124, D125, P192 (las posiciones de los residuos de aminoácidos corresponden a la sec. con núm. de ident.: 15). En algunas modalidades, el anticuerpo IL-4Rα humano o fragmento de unión a antígeno de este de la presente descripción se une específicamente a un epítopo de IL-4Rα humano, en donde el epítopo comprende al menos uno, al menos dos, al menos tres, al menos cuatro, o al menos cinco o más residuos de aminoácidos seleccionados de D12, M14, S15, I16, L39, F41, L42, T48, C49, I50, E52, H62, L64, M65, D66, D67, V68, V69, D72, R99, P121, P123, P124, D125, P192 (las posiciones de los residuos de aminoácidos corresponden a la sec. con núm. de ident.: 15). En modalidades adicionales, el anticuerpo IL-4Rα humano o fragmento de unión a antígeno de este se une específicamente a un epítopo de IL-4Rα humano que comprende uno o más

residuos de aminoácidos seleccionados de D12, M14, S15, I16, Y37, L39, T48, C49, I50, E52, H62, M65, R99, P121, P123, P124, D125, P192 (las posiciones de los residuos de aminoácidos corresponden a la sec. con núm. de ident.: 15). En modalidades adicionales, el anticuerpo IL-4Rα humano o fragmento de unión a antígeno de este de la presente descripción se une específicamente a un epítopo de IL-4Rα humano, en donde el epítopo comprende al menos uno, al menos dos, al menos tres, al menos cuatro, o al menos cinco o más residuos de aminoácidos seleccionados de D12, M14, S15, I16, Y37, L39, T48, C49, I50, E52, H62, M65, R99, P121, P123, P124, D125, P192 (las posiciones de los residuos de aminoácidos corresponden a la sec. con núm. de ident.: 15). En modalidades adicionales, el anticuerpo IL-4Rα humano o fragmento de unión a antígeno de este se une específicamente a un epítopo de IL-4Rα humano que comprende uno o más residuos de aminoácidos seleccionados de R99, P121, P123, P124, D125, P192 (las posiciones de los residuos de aminoácidos corresponden a la sec. con núm. de ident.: 15), en donde estos residuos están ubicados en el dominio 2 de los dominios de tipo III de la fibronectina N-terminales del IL-4Rα. En aún otras modalidades, el anticuerpo IL-4Rα humano o fragmento de unión a antígeno de este se une específicamente a un epítopo de IL-4Rα humano que comprende al menos uno o más de los residuos de aminoácidos D66, D67 y D125 (las posiciones de los residuos de aminoácidos corresponden a la sec. con núm. de ident.: 15). En aún otras modalidades, el anticuerpo IL-4Rα humano o fragmento de unión a antígeno de este se une específicamente a un epítopo de IL-4Rα humano que comprende al menos uno de los

residuos de aminoácidos D66 y D67 (las posiciones de los residuos de aminoácidos corresponden a la sec. con núm. de ident.: 15). En aún otras modalidades, el anticuerpo IL-4Rα humano o fragmento de unión a antígeno de este se une específicamente a un epítopo de IL-4Rα humano que comprende al menos uno de los residuos de aminoácidos D66 y D125 (las posiciones de los residuos de aminoácidos corresponden a la sec. con núm. de ident.: 15). En aún otras modalidades, el anticuerpo IL-4Rα humano o fragmento de unión a antígeno de este se une específicamente a un epítopo de IL-4Rα humano que comprende el residuo de aminoácido D66 (las posiciones de los residuos de aminoácidos corresponden a la sec. con núm. de ident.: 15). En aún otras modalidades, el anticuerpo IL-4Rα humano o fragmento de unión a antígeno de este se une específicamente a un epítopo estructural y/o funcional del IL-4Rα humano, en donde el epítopo abarca el dominio 1 y el dominio 2 de los dominios de tipo III de la fibronectina n-terminales del IL-4Rα. En modalidades particulares, el anticuerpo IL-4Rα humano o fragmento de unión a antígeno de este se une específicamente a un nuevo epítopo estructural y/o funcional del IL-4Rα humano, en donde el epítopo se superpone con el sitio de unión de IL-4 a IL-4Rα. En tales modalidades, el anticuerpo IL-4Rα humano o fragmento de unión a antígeno de este bloquea la unión de IL-4 al IL-4Rα humano. En modalidades particulares, el anticuerpo IL-4Rα humano o fragmento de unión a antígeno de este se une a un nuevo epítopo estructural y/o funcional del IL-4Rα humano, en donde el epítopo se superpone con el sitio de unión de IL-13 a IL-4Rα. En tales modalidades, el anticuerpo IL-4Rα humano o fragmento de unión a antígeno de este bloquea la

unión de IL-13 al IL-4Rα humano. En modalidades particulares, el anticuerpo IL-4Rα humano o fragmento de unión al antígeno de este se une a un nuevo epítopo estructural y/o funcional del IL-4Rα humano, en donde el epítopo se superpone tanto con los sitios de unión de IL-4 como de IL-13 a IL-4Rα. En tales modalidades, el anticuerpo IL-4Rα humano o fragmento de unión a antígeno de este bloquea la unión de IL-4 e IL-13 al IL-4Rα humano. En algunas modalidades, el epítopo de IL-4Rα se determina mediante cristalografía de rayos X, mutagénesis de barrido de alanina, mutagénesis de impedimento estérico y/o HDX-MS. En aún otras modalidades, el epítopo de IL-4Rα se determina mediante mutagénesis dirigida al sitio.

En algunas modalidades, la presente descripción proporciona un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno de este, que se une específicamente a IL-4Rα humano, y comprende una región variable de cadena pesada (VH) y una región variable de cadena ligera (VL), en donde la VH comprende regiones determinantes de complementariedad de cadenas pesadas HCDR1, HCDR2, y HCDR3, y la VL comprende regiones determinantes de complementariedad de cadenas ligeras LCDR1, LCDR2 y LCDR3, en donde la HCDR1 comprende la sec. con núm. de ident.: 1, la HCDR2 comprende la sec. con núm. de ident.: 2, la HCDR3 comprende la sec. con núm. de ident.: 3, la LCDR1 comprende la sec. con núm. de ident.: 4, la LCDR2 comprende la sec. con núm. de ident.: 5, y la LCDR3 comprende la sec. con núm. de ident.: 6. En algunas modalidades, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de este que se une específicamente a IL-4Rα comprende una VH que comprende la sec. con núm. de ident.: 7 y una VL que comprende la sec. con núm. de

ident.: 8. En algunas modalidades, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno de este comprende una HC que comprende la sec. con núm. de ident.: 33 y una LC que comprende la sec. con núm. de ident.: 10. En algunas modalidades, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de este comprende una HC que comprende la sec. con núm. de ident.: 35 y una LC que comprende la sec. con núm. de ident.: 10. En algunas modalidades, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de este comprende una HC que comprende la sec. con núm. de ident.: 9 y una LC que comprende la sec. con núm. de ident.: 10. En algunas modalidades, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de este comprende una HC que comprende la sec. con núm. de ident.: 13 y una LC que comprende la sec. con núm. de ident.: 10. En algunas modalidades, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de este comprende una HC que comprende la sec. con núm. de ident.: 37 y una LC que comprende la sec. con núm. de ident.: 10. En algunas modalidades, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de este comprende una HC que comprende la sec. con núm. de ident.: 31 y una LC que comprende la sec. con núm. de ident.: 10. En algunas modalidades, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de este comprende una HC que comprende la sec. con núm. de ident.: 50 y una LC que comprende la sec. con núm. de ident.: 10. En algunas modalidades, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de este comprende una HC que comprende la sec. con núm. de ident.: 52 y una LC que comprende la sec. con núm. de ident.: 10.

En algunas modalidades, la presente descripción proporciona un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno de este, que se une específicamente a IL-4Rα

humano, en donde el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno de este comprende una región variable de cadena pesada (VH) y una región variable de cadena ligera (VL), en donde la VH comprende regiones determinantes de complementariedad de cadenas pesadas HCDR1, HCDR2, y HCDR3, y la VL comprende regiones determinantes de complementariedad de cadenas ligeras LCDR1, LCDR2 y LCDR3, en donde la HCDR1 comprende la sec. con núm. de ident.: 42, la HCDR2 comprende la sec. con núm. de ident.: 2, la HCDR3 comprende la sec. con núm. de ident.: 3, la LCDR1 comprende la sec. con núm. de ident.: 22, la LCDR2 comprende la sec. con núm. de ident.: 5, y la LCDR3 comprende la sec. con núm. de ident.: 6. En algunas modalidades, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de este que se une específicamente a IL-4Rα comprende una VH que comprende la sec. con núm. de ident.: 44 y una VL que comprende la sec. con núm. de ident.: 45. En algunas modalidades, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de este comprende una HC que comprende la sec. con núm. de ident.: 46 y una LC que comprende la sec. con núm. de ident.: 47.

En algunas modalidades, la presente descripción proporciona un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de este, que se une específicamente a IL-4Rα humano, en donde el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de este comprende una región variable de cadena pesada (VH) y una región variable de cadena ligera (VL), en donde la VH comprende regiones determinantes de complementariedad de cadenas pesadas HCDR1, HCDR2, y HCDR3, y la VL comprende regiones determinantes de complementariedad de cadenas ligeras

LCDR1, LCDR2 y LCDR3, en donde la HCDR1 comprende la sec. con núm. de ident.: 19, la HCDR2 comprende la sec. con núm. de ident.: 20, la HCDR3 comprende la sec. con núm. de ident.: 3, la LCDR1 comprende la sec. con núm. de ident.: 22, la LCDR2 comprende la sec. con núm. de ident.: 5, y la LCDR3 comprende la sec. con núm. de ident.: 24. En algunas modalidades, los anticuerpos IL-4Rα humanos comprenden una VH que comprende la sec. con núm. de ident.: 25 y una VL que comprende la sec. con núm. de ident.: 26. Por ejemplo, en algunas modalidades, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno de este, que se une específicamente a IL-4Rα humano, comprende una cadena pesada (HC) que comprende la sec. con núm. de ident.: 27 y una cadena ligera (LC) que comprende la sec. con núm. de ident.: 28.

En algunas modalidades de la presente descripción, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno de este que se une específicamente a IL-4Rα humano tiene un isotipo IgG1 humano o IgG4 humano.

En algunas modalidades de la presente descripción, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno de este que se une específicamente a IL-4Rα humano tiene un isotipo IgG1 humano. En algunas modalidades, el anticuerpo IL-4Rα humano tiene una región Fc de IgG1 humana modificada en donde el anticuerpo comprende una alanina en el residuo de aminoácido 322 (sustitución K322A) (numeración de la UE) también denominada IgG1A. En tales modalidades, el anticuerpo IL-4Rα humano o el fragmento de unión a antígeno de este de la presente descripción ha reducido o eliminado la actividad del complemento. En algunas modalidades, el anticuerpo IL-4Rα

humano o fragmento de unión a antígeno de este tiene una región Fc de IgG1 humana modificada que comprende un L234A, un L235A y/o un P329A también denominados IgG1AA o IgGIAAA respectivamente, que han reducido o eliminado la unión a los receptores Fcγ y C1q (todos los residuos numerados de acuerdo con la numeración de la UE). En algunas modalidades, el anticuerpo IL-4Rα humano o fragmento de unión a antígeno de este que tiene una cadena principal de IgG1A humano muestra una unión mejorada a los linfocitos B y las células mieloides, en comparación con el anticuerpo IL-4Rα humano que tiene una cadena principal nula efectora de IgG1AAA humana.

En algunas modalidades de la presente descripción, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno de este que se une específicamente a IL-4Rα humano tiene un isotipo IgG4 humano. En algunas modalidades, el anticuerpo IL-4Rα humano o fragmento de unión al antígeno de este tiene una región bisagra de IgG4 humana modificada que comprende una sustitución S228P (numeración de la UE), también denominada IgG4P, que reduce el intercambio del brazo Fab de IgG4 *in vivo* (véase Labrijn, et al., Nat. Biotechnol. 2009, 27(8):767). En algunas modalidades, el anticuerpo IL-4Rα humano o fragmento de unión a antígeno de este tiene una región Fc de IgG4 humana modificada que comprende un F234A y/o un L235A (numeración de la UE) también denominada IgG4AA, que reducen la unión a los receptores Fcγ y C1q. De acuerdo con algunas modalidades de la presente descripción, la región Fc comprende S228P, F234A y L235A (todos los residuos numerados de acuerdo con la numeración IMGT o de la UE) también denominado IgG4PAA. En algunas modalidades, el anticuerpo IL-4Rα humano o fragmento de

unión a antígeno de este que tiene una cadena principal de IgG4P humano tiene una unión mejorada a los linfocitos B y las células mieloides, en comparación con un anticuerpo IL-4Rα humano que tiene una cadena principal nula efectora.

En algunas modalidades, el anticuerpo IL-4Rα humano o fragmento de unión a antígeno de este tiene una región de HC de IgG4 humana modificada que reduce la viscosidad del anticuerpo en comparación con el mismo anticuerpo con una región constante de HC de IgG4 humana de tipo salvaje. En tales modalidades, el anticuerpo IL-4Rα humano o fragmento de unión al antígeno de este tiene una región constante HC de IgG4 humana modificada que comprende una sustitución de aminoácidos en uno o más de los siguientes residuos de aminoácidos en comparación con la región constante HC de IgG4 humana de tipo silvestre: Q274K, Q355R, E419Q (todas las posiciones numeradas de acuerdo con la numeración EU).

En otras modalidades, el anticuerpo IL-4Rα humano o fragmento de unión al antígeno de este tiene una región HC de IgG4 humana modificada que comprende una sustitución de aminoácidos en uno o más de los siguientes residuos de aminoácidos en comparación con la región HC de IgG4 humana de tipo silvestre: E137G, D203N, Q274K, Q355R, E419Q (todas las posiciones numeradas de acuerdo con la numeración EU).

En algunas modalidades, el anticuerpo IL-4Rα humano o fragmento de unión a antígeno de este tiene una región constante de HC de IgG4 humana modificada que comprende una sustitución E137G (numeración de la UE). En algunas modalidades, el anticuerpo IL-4Rα humano o fragmento de unión a antígeno de este tiene una

región constante de HC de IgG4 humana modificada que comprende una sustitución D203N (numeración de la UE). En algunas modalidades, el anticuerpo IL-4Rα humano o fragmento de unión a antígeno de este tiene una región constante de HC de IgG4 humana modificada que comprende una sustitución Q274K (de acuerdo con la numeración de la UE). En algunas modalidades, el anticuerpo IL-4Rα humano o fragmento de unión a antígeno de este tiene una región constante de HC de IgG4 humana modificada que comprende una sustitución Q355R (de acuerdo con la numeración de la UE). En algunas modalidades, el anticuerpo IL-4Rα humano o fragmento de unión a antígeno de este tiene una región constante de HC de IgG4 humana modificada que comprende una sustitución E419Q (de acuerdo con la numeración de la UE). En algunas modalidades, el anticuerpo IL-4Rα humano o fragmento de unión a antígeno de este tiene una región constante de HC de IgG4 humana modificada que comprende las sustituciones Q274K y Q355R (todas las posiciones numeradas de acuerdo con la numeración de la UE). En algunas modalidades, el anticuerpo IL-4Rα humano o fragmento de unión a antígeno de este tiene una región constante de HC de IgG4 humana modificada que comprende las sustituciones Q274K y E419Q (todas las posiciones numeradas de acuerdo con la numeración de la UE). En algunas modalidades, el anticuerpo IL-4Rα humano o fragmento de unión a antígeno de este tiene una región constante de HC de IgG4 humana modificada que comprende las sustituciones Q355R y E419Q (todas las posiciones numeradas de acuerdo con la numeración de la UE). En algunas modalidades, el anticuerpo IL-4Rα humano o fragmento de unión a antígeno de este

tiene una región constante de HC de IgG4 humana modificada que comprende las sustituciones Q274K, Q355R, y E419Q (todas las posiciones numeradas de acuerdo con la numeración de la UE). En algunas modalidades, el anticuerpo IL-4Rα humano o fragmento de unión a antígeno de este tiene una región constante de HC de IgG4 humana modificada que comprende las sustituciones S228P, Q274K, Q355R, E419Q (todas las posiciones numeradas de acuerdo con la numeración de la UE). En algunas modalidades, el anticuerpo IL-4Rα humano o fragmento de unión a antígeno de este tiene una región de HC de IgG4 humana modificada que comprende las sustituciones S228P, E137G, D203N, Q274K, Q355R, E419Q (todas las posiciones numeradas de acuerdo con la numeración de la UE).

En algunas modalidades, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de este comprende uno o más de los siguientes: una glicina en el residuo de aminoácido 137 (numeración de la UE), una asparagina en el residuo de aminoácido 203 (numeración de la UE), una lisina en el residuo de aminoácido 274 (numeración de la UE), una arginina en el residuo de aminoácido 355(numeración de la UE), o una glutamina en el residuo de aminoácido 419 (numeración de la UE).

En algunas modalidades, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de este comprende: una lisina en el residuo de aminoácido 274 (numeración de la UE), una arginina en el residuo de aminoácido 355, y una glutamina en el residuo de aminoácido 419 (numeración de la UE).

En algunas modalidades, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de este comprende: una glicina en el residuo de aminoácido 137 (numeración de la

UE), una asparagina en el residuo de aminoácido 203 (numeración de la UE), una lisina en el residuo de aminoácido 274 (numeración de la UE), una arginina en el residuo de aminoácido 355, y una glutamina en el residuo de aminoácido 419 (numeración de la UE).

En modalidades adicionales, el anticuerpo IL-4Rα humano o fragmento de unión a antígeno de este tiene un dominio constante de IgG1 humana o IgG4 humana modificado que comprende residuos de cisteína modificados genéticamente para su uso en la generación de compuestos conjugados de anticuerpos (también denominados bioconjugados) (véase WO 2018/232088 Al). Más particularmente, en tales modalidades de la presente descripción, el anticuerpo IL-4Rα humano o fragmento de unión al antígeno de este comprende una cisteína en el residuo de aminoácido 124 (numeración de la UE), o una cisteína en el residuo de aminoácido 378 (numeración de la UE), o una cisteína en el residuo de aminoácido 124 (numeración de la UE) y cisteína en el residuo de aminoácido 378 (numeración de la UE).

En algunas modalidades, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno de este que se une específicamente a IL-4Rα humano tiene una región flanqueante de IgG1 humana o IgG4 humana modificada. En algunas modalidades, las modificaciones están en la región flanqueante de VH. En algunas modalidades, las modificaciones están en la región flanqueante de VL. En algunas modalidades, las modificaciones están en las regiones flanqueantes de VH y VL. En modalidades adicionales, la región flanqueante de IgG1 humana o IgG4 humana modificada reduce el riesgo de inmunogenicidad del anticuerpo.

En algunas modalidades de la presente descripción, el anticuerpo IL-4Rα humano o fragmento de unión a antígeno de este de la presente descripción se une a IL-4Rα e inhibe la unión de IL-4 humana e IL-13 humana a IL-4Rα humano. En tales modalidades, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno de este de la presente descripción inhibe la unión de IL-4 humana a IL-4Rα humano y, por lo tanto, inhibe la activación de IL-4R humana, la fosforilación de STAT-6, la proliferación de linfocitos B y/o linfocitos T, y la expresión de CD23. En tales modalidades, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno de este de la presente descripción se une a IL-4Rα humano e inhibe la unión de IL-4 humana a IL-4Rα humano en aproximadamente 10 %, aproximadamente 20 %, aproximadamente 30 %, aproximadamente 40 %, aproximadamente 50 %, aproximadamente 60 %, aproximadamente 70 %, aproximadamente 80 %, aproximadamente 90 % o aproximadamente 100 %. En modalidades adicionales, el anticuerpo IL-4Rα humano o fragmento de unión a antígeno de este de la presente descripción se une a IL-4Rα humano en linfocitos B y T e inhibe la fosforilación de STAT-6 inducida por IL-4 en linfocitos B y T en aproximadamente 10 %, aproximadamente 20 %, aproximadamente 30 %, aproximadamente 40 %, aproximadamente 50 %, aproximadamente 60 %, aproximadamente 70 %, aproximadamente 80 %, aproximadamente 90 % o aproximadamente 100 %. En modalidades adicionales, el anticuerpo IL-4Rα humano o fragmento de unión a antígeno de este de la presente descripción se une a IL-4Rα humano en linfocitos B e inhibe la proliferación de linfocitos B inducida por IL-4 en aproximadamente 10 %, aproximadamente 20 %,

aproximadamente 30 %, aproximadamente 40 %, aproximadamente 50 %, aproximadamente 60 %, aproximadamente 70 %, aproximadamente 80 %, aproximadamente 90 % o aproximadamente 100 %. En aún otras modalidades, el anticuerpo IL-4Rα humano o fragmento de unión a antígeno de este de la presente descripción se une a IL-4Rα humano en células mieloides e inhibe la expresión de CD23 inducida por IL-4 en células mieloides humanas en aproximadamente 10 %, aproximadamente 20 %, aproximadamente 30 %, aproximadamente 40 %, aproximadamente 50 %, aproximadamente 60 %, aproximadamente 70 %, aproximadamente 80 %, aproximadamente 90 % o aproximadamente 100 %.

En algunas modalidades, el anticuerpo IL-4Rα humano o fragmento de unión a antígeno de este de la presente descripción inhibe la unión de IL-13 humana a IL-4Rα humano. En tales modalidades, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno de este de la presente descripción inhibe la unión de IL-13 humana a IL-4Rα humano y, por lo tanto, inhibe la activación de IL-4R humana, la fosforilación de STAT-6, la proliferación de linfocitos B y/o T y la expresión de CD23. En modalidades adicionales, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno de este de la presente descripción se une a IL-4Rα humano e inhibe la unión de IL-13 humana a IL-4Rα humano en aproximadamente 10 %, aproximadamente 20 %, aproximadamente 30 %, aproximadamente 40 %, aproximadamente 50 %, aproximadamente 60 %, aproximadamente 70 %, aproximadamente 80 %, aproximadamente 90 % o aproximadamente 100 %. En aún otras modalidades, el anticuerpo IL-4Rα humano o el fragmento de unión a antígeno de este de la presente descripción se une a IL-4Rα humano en los linfocitos B e inhibe la

activación de STAT-6 inducida por IL-13 en los linfocitos B en aproximadamente 10 %, aproximadamente 20 %, aproximadamente 30 %, aproximadamente 40 %, aproximadamente 50 %, aproximadamente 60 %, aproximadamente 70 %, aproximadamente 80 %, aproximadamente 90 % o aproximadamente 100 %. En modalidades adicionales, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno de este de la presente descripción inhibe la unión de IL-13 humana a IL-4Rα humano e inhibe la proliferación de linfocitos B y/o linfocitos T. En tales modalidades, el anticuerpo IL-4Rα humano o fragmento de unión a antígeno de este de la presente descripción se une a IL-4Rα humano en linfocitos B y/o linfocitos T e inhibe la proliferación de linfocitos B y/o T inducida por IL-13 en aproximadamente 10 %, aproximadamente 20 %, aproximadamente 30 %, aproximadamente 40 %, aproximadamente 50 %, aproximadamente 60 %, aproximadamente 70 %, aproximadamente 80 %, aproximadamente 90 % o aproximadamente 100 %. En aún otras modalidades, el anticuerpo IL-4Rα humano o fragmento de unión a antígeno de este de la presente descripción se une a IL-4Rα humano en células mieloides e inhibe la expresión de CD23 inducida por IL-13 en células mieloides humanas en aproximadamente 10 %, aproximadamente 20 %, aproximadamente 30 %, aproximadamente 40 %, aproximadamente 50 %, aproximadamente 60 %, aproximadamente 70 %, aproximadamente 80 %, aproximadamente 90 % o aproximadamente 100 %.

En algunas modalidades, el anticuerpo IL-4Rα humano o fragmento de unión a antígeno de este de la presente descripción inhibe la unión de IL-4 humana e IL-13 humana a IL-4Rα humano al unirse a un epítopo de IL-4Rα humano novedoso, en

donde el epítopo comprende uno o más residuos de aminoácidos seleccionados de D12, M14, S15, I16, Y37, L39, F41, L42, L43, E45, H47, T48, C49, I50, E52, H62, L64, M65, D66, D67, V68, V69, D72, R99, P121, P123, P124, D125, P192 (las posiciones de los residuos de aminoácidos corresponden a la sec. con núm. de ident.: 15). En algunas modalidades, el anticuerpo IL-4Rα humano o fragmento de unión a antígeno de este inhibe la unión de IL-4 humana y/o IL-13 humana a IL-4Rα humano al unirse a un epítopo de IL-4Rα humano, en donde el epítopo comprende uno o más residuos de aminoácidos seleccionados de D12, M14, S15, I16, Y37, L39, F41, L43, E45, H47, T48, C49, I50, H62, L64, M65, D66, D67, V69, D72, R99, P121, P123, P124, D125 (las posiciones de los residuos de aminoácidos corresponden a la sec. con núm. de ident.: 15). En algunas modalidades, el anticuerpo IL-4Rα humano o fragmento de unión a antígeno de este inhibe la unión de IL-4 humana y/o IL-13 humana a IL-4Rα humano al unirse a un epítopo de IL-4Rα humano, en donde el epítopo comprende uno o más residuos de aminoácidos seleccionados de D12, M14, S15, I16, L39, F41, L42, T48, C49, I50, E52, H62, L64, M65, D66, D67, V68, V69, D72, R99, P121, P123, P124, D125, P192 (las posiciones de los residuos de aminoácidos corresponden a la sec. con núm. de ident.: 15). En algunas modalidades, el anticuerpo IL-4Rα humano o fragmento de unión a antígeno de este inhibe la unión de IL-4 humana y/o IL-13 humana a IL-4Rα humano al unirse a un epítopo de IL-4Rα humano, en donde el epítopo comprende uno o más residuos de aminoácidos seleccionados de D12, M14, S15, I16, Y37, L39, T48, C49, I50, E52, H62, M65, R99, P121, P123, P124, D125, P192 (las posiciones de los residuos de aminoácidos corresponden a la sec. con núm.

de ident.: 15). En modalidades adicionales, el anticuerpo IL-4Rα humano o fragmento de unión a antígeno de este inhibe la unión de IL-4 humana y/o IL-13 humana a IL-4Rα humano al unirse a un epítopo de IL-4Rα humano, en donde el epítopo comprende uno o más residuos de aminoácidos seleccionados de R99, P121, P123, P124, D125, P192 (las posiciones de los residuos de aminoácidos corresponden a la sec. con núm. de ident.: 15), en donde estos residuos están ubicados en el dominio 2 del dominio de tipo III de la fibronectina N-terminal del IL-4Rα. En aún otras modalidades, el anticuerpo IL-4Rα humano o fragmento de unión a antígeno de este inhibe la unión de IL-4 humana y/o IL-13 humana a IL-4Rα humano al unirse a un epítopo de IL-4Rα humano, en donde el epítopo comprende al menos uno de los residuos de aminoácidos D66, D67 y D125 (las posiciones de los residuos de aminoácidos corresponden a la sec. con núm. de ident.: 15). En aún otras modalidades, el anticuerpo IL-4Rα humano o fragmento de unión a antígeno de este inhibe la unión de IL-4 humana y/o IL-13 humana a IL-4Rα humano al unirse a un epítopo de IL-4Rα humano, en donde el epítopo comprende al menos uno de los residuos de aminoácidos D66 y D67 (las posiciones de los residuos de aminoácidos corresponden a la sec. con núm. de ident.: 15). En aún otras modalidades, el anticuerpo IL-4Rα humano o fragmento de unión a antígeno de este inhibe la unión de IL-4 humana y/o IL-13 humana a IL-4Rα humano al unirse a un epítopo de IL-4Rα humano, en donde el epítopo comprende al menos uno de los residuos de aminoácidos D66 y D125 (las posiciones de los residuos de aminoácidos corresponden a la sec. con núm. de ident.: 15). En aún otras modalidades, el anticuerpo IL-4Rα humano o fragmento de unión a antígeno de este inhibe la unión de

IL-4 humana y/o IL-13 humana a IL-4Rα humano al unirse a un epítopo de IL-4Rα humano, en donde el epítopo comprende el residuo de aminoácido D66 (las posiciones de los residuos de aminoácidos corresponden a la sec. con núm. de ident.: 15).

Algunas modalidades de la presente descripción proporcionan ácidos nucleicos que codifican una cadena pesada o una cadena ligera, o una VH o VL, de los nuevos anticuerpos que se unen específicamente a IL-4Rα humano, o vectores que comprenden tales ácidos nucleicos.

En algunas modalidades, la presente descripción proporciona un ácido nucleico que comprende una secuencia de las sec. con núm. de ident.: 11, 12, 14, 29, 30, 32, 34, 36, 38, 48, 49, 51 o 53.

En algunas modalidades, se proporcionan ácidos nucleicos que codifican una cadena pesada o una cadena ligera de los anticuerpos que se unen específicamente a IL-4Rα humano. En algunas modalidades se proporcionan ácidos nucleicos que comprenden una secuencia que codifica las sec. con núm. de ident.: 9, 10, 13, 27, 28, 31, 33, 35, 37, 46, 47, 50 o 52. En algunas modalidades se proporcionan ácidos nucleicos que comprenden una secuencia que codifica una cadena pesada de anticuerpos que comprende las sec. con núm. de ident.: 9, 13, 27, 31, 33, 35, 37, 46, 50 o 52. Por ejemplo, el ácido nucleico puede comprender una secuencia seleccionada de las sec. con núm. de ident.: 11, 14, 29, 32, 34, 36, 38, 48, 51 o 53. En algunas modalidades, se proporcionan ácidos nucleicos que comprenden una secuencia que codifica una cadena ligera de anticuerpo que comprende la sec. con

núm. de ident.: 10, 28 o 47. Por ejemplo, el ácido nucleico puede comprender una secuencia seleccionada de las sec. con núm. de ident.: 12, 30, o 49.

En algunas modalidades de la presente descripción, se proporcionan ácidos nucleicos que codifican una VH o una VL de los anticuerpos que se unen específicamente a IL-4Rα humano. En algunas modalidades se proporcionan ácidos nucleicos que comprenden una secuencia que codifica las sec. con núm. de ident.: 7, 8, 25, 26, 44 o 45. En algunas modalidades, se proporcionan ácidos nucleicos que comprenden una secuencia que codifica una VH de anticuerpo que comprende las sec. con núm. de ident.: 7, 25 o 44. En algunas modalidades, se proporcionan ácidos nucleicos que comprenden una secuencia que codifica una VL de anticuerpo que comprende las sec. con núm. de ident.: 8, 26 o 45.

Algunas modalidades de la presente descripción proporcionan vectores que comprenden una secuencia de ácido nucleico que codifica una cadena pesada o una cadena ligera de anticuerpo. Por ejemplo, tales vectores pueden comprender una secuencia de ácidos nucleicos que codifica las sec. con núm. de ident.: 9, 13, 27, 31, 33, 35, 37, 46, 50 o 52. En algunas modalidades, el vector comprende una secuencia de ácidos nucleicos que codifica las sec. con núm. de ident.: 10, 28 o 47.

En la presente descripción se proporcionan también vectores que comprenden una secuencia de ácidos nucleicos que codifica una VH o VL de anticuerpo. Por ejemplo, tales vectores pueden comprender una secuencia de ácidos nucleicos que codifica las sec. con núm. de ident.: 7, 25 o 44. En algunas

modalidades, el vector comprende una secuencia de ácidos nucleicos que codifica la sec. con núm. de ident.: 8, 26 o 45.

En la presente descripción se proporcionan además vectores que comprenden una primera secuencia de ácidos nucleicos que codifica una cadena pesada de anticuerpo y una segunda secuencia de ácidos nucleicos que codifica una cadena ligera de anticuerpo. En algunas modalidades, el vector comprende una primera secuencia de ácidos nucleicos que codifica las sec. con núm. de ident.: 9, 13, 27, 31, 33, 35, 37, 46, 50, o 52, y una segunda secuencia de ácidos nucleicos que codifica las sec. con núm. de ident.: 10, 28, o 47.

En algunas modalidades, el vector comprende una primera secuencia de ácido nucleico que codifica la sec. con núm. de ident.: 9 y una segunda secuencia de ácido nucleico que codifica la sec. con núm. de ident.: 10. En algunas modalidades, el vector comprende una primera secuencia de ácido nucleico que codifica la sec. con núm. de ident.: 13 y una segunda secuencia de ácido nucleico que codifica la sec. con núm. de ident.: 10. En algunas modalidades, el vector comprende una primera secuencia de ácido nucleico que codifica la sec. con núm. de ident.: 27 y una segunda secuencia de ácido nucleico que codifica la sec. con núm. de ident.: 28. En algunas modalidades, el vector comprende una primera secuencia de ácido nucleico que codifica la sec. con núm. de ident.: 31 y una segunda secuencia de ácido nucleico que codifica la sec. con núm. de ident.: 10. En algunas modalidades, el vector comprende una primera secuencia de ácido nucleico que codifica la sec. con núm. de ident.: 33 y una segunda secuencia de ácido

nucleico que codifica la sec. con núm. de ident.: 10. En algunas modalidades, el vector comprende una primera secuencia de ácido nucleico que codifica la sec. con núm. de ident.: 35 y una segunda secuencia de ácido nucleico que codifica la sec. con núm. de ident.: 10. En algunas modalidades, el vector comprende una primera secuencia de ácido nucleico que codifica la sec. con núm. de ident.: 37 y una segunda secuencia de ácido nucleico que codifica la sec. con núm. de ident.: 10. En algunas modalidades, el vector comprende una primera secuencia de ácido nucleico que codifica la sec. con núm. de ident.: 50 y una segunda secuencia de ácido nucleico que codifica la sec. con núm. de ident.: 10. En algunas modalidades, el vector comprende una primera secuencia de ácido nucleico que codifica la sec. con núm. de ident.: 52 y una segunda secuencia de ácido nucleico que codifica la sec. con núm. de ident.: 10. En algunas modalidades, el vector comprende una primera secuencia de ácido nucleico que codifica la sec. con núm. de ident.: 46 y una segunda secuencia de ácido nucleico que codifica la sec. con núm. de ident.: 47.

También se proporcionan composiciones que comprenden un primer vector que comprende una secuencia de ácidos nucleicos que codifica una cadena pesada de anticuerpo y un segundo vector que comprende una secuencia de ácidos nucleicos que codifica una cadena ligera de anticuerpo. En algunas modalidades, la composición comprende un primer vector que comprende una secuencia de ácidos nucleicos que codifica las sec. con núm. de ident.: 9, 13, 27, 31, 33, 35, 37, 46, 50 o 52, y una segunda secuencia de ácidos nucleicos que codifica las sec. con núm. de ident.: 10, 28, o 47.

En algunas modalidades, la composición comprende un primer vector que comprende una secuencia de ácidos nucleicos que codifica la sec. con núm. de ident.: 9 y un segundo vector que comprende una secuencia de ácidos nucleicos que codifica la sec. con núm. de ident.: 10. En algunas modalidades, la composición comprende un primer vector que comprende una secuencia de ácidos nucleicos que codifica la sec. con núm. de ident.: 13 y un segundo vector que comprende una secuencia de ácidos nucleicos que codifica la sec. con núm. de ident.: 10. En algunas modalidades, la composición comprende un primer vector que comprende una secuencia de ácido nucleico que codifica la sec. con núm. de ident.: 27 y un segundo vector que comprende una secuencia de ácido nucleico que codifica la sec. con núm. de ident.: 28. En algunas modalidades, la composición comprende un primer vector que comprende una secuencia de ácidos nucleicos que codifica la sec. con núm. de ident.: 31 y un segundo vector que comprende una secuencia de ácidos nucleicos que codifica la sec. con núm. de ident.: 10. En algunas modalidades, la composición comprende un primer vector que comprende una secuencia de ácidos nucleicos que codifica la sec. con núm. de ident.: 33 y un segundo vector que comprende una secuencia de ácidos nucleicos que codifica la sec. con núm. de ident.: 10. En algunas modalidades, la composición comprende un primer vector que comprende una secuencia de ácidos nucleicos que codifica la sec. con núm. de ident.: 35 y un segundo vector que comprende una secuencia de ácidos nucleicos que codifica la sec. con núm. de ident.: 10. En algunas modalidades, la composición comprende un primer vector que comprende una secuencia de ácidos nucleicos que codifica la sec.

con núm. de ident.: 37 y un segundo vector que comprende una secuencia de ácidos nucleicos que codifica la sec. con núm. de ident.: 10. En algunas modalidades, la composición comprende un primer vector que comprende una secuencia de ácidos nucleicos que codifica la sec. con núm. de ident.: 50 y un segundo vector que comprende una secuencia de ácidos nucleicos que codifica la sec. con núm. de ident.: 10. En algunas modalidades, la composición comprende un primer vector que comprende una secuencia de ácidos nucleicos que codifica la sec. con núm. de ident.: 52 y un segundo vector que comprende una secuencia de ácidos nucleicos que codifica la sec. con núm. de ident.: 10. En algunas modalidades, la composición comprende un primer vector que comprende una secuencia de ácido nucleico que codifica la sec. con núm. de ident.: 46 y un segundo vector que comprende una secuencia de ácido nucleico que codifica la sec. con núm. de ident.: 47.

Los ácidos nucleicos de la presente descripción pueden expresarse en una célula huésped, por ejemplo, después de que los ácidos nucleicos se hayan unido operativamente a una secuencia de control de expresión. Las secuencias de control de expresión capaces de expresar ácidos nucleicos a los que están operativamente enlazadas se conocen en la técnica. Un vector de expresión puede incluir una secuencia que codifica uno o más péptidos señal que facilitan la secreción del(los) polipéptido(s) de una célula huésped. Los vectores de expresión que contienen un ácido nucleico de interés (p. ej., un ácido nucleico que codifica una cadena pesada o cadena ligera de un anticuerpo) pueden transferirse a una célula huésped mediante métodos bien conocidos, por ejemplo, transfección, transformación,

transducción o infección estable o transitoria. Además, los vectores de expresión pueden contener uno o más marcadores de selección, por ejemplo, tetraciclina, neomicina y dihidrofolato reductasa, para ayudar en la detección de células huésped transformadas con las secuencias de ácidos nucleicos deseadas.

En otro aspecto, en la presente descripción se proporcionan células, p. ej., células huéspedes, que comprenden los ácidos nucleicos, vectores o composiciones de ácidos nucleicos descritos en la presente descripción. Una célula huésped puede ser una célula transfectada, transformada, transducida o infectada de manera estable o transitoria con uno o más vectores de expresión que expresan todo o una parte de un anticuerpo descrito en la presente descripción. En algunas modalidades, una célula huésped puede transfectarse, transformarse, transducirse o infectarse de manera estable o transitoria con un vector de expresión que expresa polipéptidos HC y LC de un anticuerpo de la presente descripción. En algunas modalidades, una célula huésped puede transfectarse, transformarse, transducirse o infectarse de manera estable o transitoria con un primer vector que expresa polipéptidos HC y un segundo vector que expresa polipéptidos LC de un anticuerpo descrito en la presente descripción. Tales células huésped, p. ej., células huésped de mamífero, pueden expresar los anticuerpos que se unen específicamente a IL-4Rα humana como se describe en la presente descripción. Las células huésped de mamíferos que se conoce que son capaces de expresar anticuerpos incluyen células CHO, células HEK293, células COS y células NS0.

En algunas modalidades, la célula, por ejemplo, la célula huésped, comprende un vector que comprende una primera secuencia de ácidos nucleicos que codifica las sec. con núm. de ident.: 9, 13, 27, 31, 33, 35, 37, 46, 50 o 52, y una segunda secuencia de ácidos nucleicos que codifica las sec. con núm. de ident.: 10, 28, o 47.

En algunas modalidades, la célula, por ejemplo, la célula huésped, comprende un primer vector que comprende una secuencia de ácidos nucleicos que codifica las sec. con núm. de ident.: 9, 13, 27, 31, 33, 35, 37, 46, 50 o 52, y un segundo vector que comprende una secuencia de ácidos nucleicos que codifica las sec. con núm. de ident.: 10, 28 o 47.

La presente descripción proporciona además un proceso para producir un anticuerpo o fragmentos de unión a antígeno de este que se unen específicamente a IL-4Rα humano descrito en la presente mediante el cultivo de la célula huésped descrita anteriormente, por ejemplo, una célula huésped de mamífero, en condiciones tales que el anticuerpo se expresa y recupera el anticuerpo expresado del medio de cultivo. El medio de cultivo, en el que se ha secretado un anticuerpo, puede purificarse mediante técnicas convencionales. Pueden emplearse diversos métodos de purificación de proteínas, y tales métodos se conocen en la técnica y se describen, por ejemplo, en Deutscher, Methods in Enzymology 182: 83-89 (1990) and Scopes, Protein Purification: Principles and Practice, 3rd Edition, Springer, NY (1994).

La presente descripción proporciona además anticuerpos o fragmentos de unión a antígeno de estos producidos por cualquiera de los procesos descritos en la presente.

En otro aspecto, en la presente descripción se proporcionan composiciones farmacéuticas que comprenden un anticuerpo, ácido nucleico o vector descrito en la presente descripción. Tales composiciones farmacéuticas también pueden comprender uno o más excipientes, diluyentes o portadores farmacéuticamente aceptables. Las composiciones farmacéuticas se pueden preparar mediante métodos muy conocidos en la técnica (p. ej., *Remington: The Science and Practice of Pharmacy*, 22nd ed. (2012), A. Loyd *et al*., Pharmaceutical Press).

Los anticuerpos o fragmentos de unión a antígeno de estos que se unen específicamente a IL-4Rα humano, ácidos nucleicos, vectores o composiciones farmacéuticas descritos en la presente pueden usarse para tratar un trastorno asociado con IL-4R, como trastornos inflamatorios inmunitarios, como trastornos inflamatorios de tipo 2, que incluyen, de modo no taxativo, dermatitis atópica, esofagitis eosinofílica, poliposis nasal, asma, rinosinusitis crónica (RSC), enfermedad alérgica, enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC) o urticaria espontánea crónica (UCE). Como tales, los anticuerpos de la descripción pueden usarse adicionalmente para tratar el cáncer, p. ej., el cáncer asociado con células B, como la LLC, u otros cánceres como glioma maligno, ovario, pulmón, mama, carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello (SCCHN), cáncer de páncreas, riñón, colon, próstata y vejiga. Tales métodos pueden incluir además la administración de uno o más agentes quimioterapéuticos al sujeto. En algunas modalidades, el agente quimioterapéutico se administra en combinación simultánea, separada o secuencial con un anticuerpo o fragmento de unión a

antígeno de este que se une específicamente a IL-4Rα humano descrito en la presente o una composición farmacéutica de este. Las modalidades de la presente descripción proporcionan además métodos para tratar el cáncer con un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno de este que se une específicamente a IL-4Rα humano o una composición farmacéutica de este, en combinación simultánea, separada o secuencial con radiación ionizante.

En algunas modalidades, en la presente se proporcionan métodos para tratar un trastorno asociado con IL-4R, por ejemplo, un trastorno inflamatorio inmunitario tal como un trastorno inflamatorio inmunitario de tipo 2 o cáncer, en un sujeto (por ejemplo, un paciente humano) que lo necesite, mediante la administración al sujeto de una cantidad terapéuticamente efectiva de un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno de este que se une específicamente a IL-4Rα humano, un ácido nucleico que codifica tal anticuerpo que se une específicamente a IL-4Rα humano, un vector que comprende tal ácido nucleico, o una composición farmacéutica que comprende tal anticuerpo que se une específicamente a IL-4Rα humano, ácido nucleico o vector, como se describe en la presente. Los anticuerpos, ácidos nucleicos, vectores o composiciones farmacéuticas descritos en la presente descripción pueden administrarse por vías parenterales (p. ej., subcutánea e intravenosa). En modalidades, el trastorno inflamatorio inmunitario asociado a IL-4Rα/IL-4 y/o IL-4Rα/IL-13 es un trastorno inflamatorio de tipo 2. Tales trastornos inflamatorios de tipo 2 incluyen, pero no se limitan a, dermatitis atópica, esofagitis eosinofílica, poliposis nasal, asma, rinosinusitis crónica (CRS), enfermedad alérgica, enfermedad

pulmonar obstructiva crónica (COPD) o urticaria crónica espontánea (CSU). En algunas modalidades, el orden de IL-4R es cáncer, p. ej., cáncer asociado con células B, como la CLL, u otros cánceres tales como glioma maligno, ovario, pulmón, mama, carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello (SCCHN), cáncer de páncreas, riñón, colon, próstata y vejiga.

También se proporcionan en la presente anticuerpos o fragmentos de unión a antígeno de estos que se unen específicamente a IL-4Rα humano, ácidos nucleicos, vectores o composiciones farmacéuticas descritos en la presente para su uso en terapia. Además, la presente descripción también proporciona anticuerpos o fragmentos de unión a antígeno de estos que se unen específicamente a IL-4Rα humano, ácidos nucleicos, vectores o composiciones farmacéuticas descritos en la presente para su uso en el tratamiento de un trastorno de IL-4R, por ejemplo, trastornos inflamatorios inmunitarios tales como un trastorno inflamatorio de tipo 2, o cáncer. Tales trastornos inflamatorios de tipo 2 incluyen, pero no se limitan a, dermatitis atópica, esofagitis eosinofílica, poliposis nasal, asma, rinosinusitis crónica (CRS), enfermedad alérgica, enfermedad pulmonar obstructiva crónica (COPD) o urticaria crónica espontánea (CSU). En algunas modalidades, el trastorno asociado con IL-4R es cáncer, p. ej., cáncer asociado con células B, como la CLL, u otros cánceres como glioma maligno, ovario, pulmón, mama, carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello (SCCHN), cáncer de páncreas, riñón, colon, próstata y vejiga.

En la presente se proporciona el uso de anticuerpos o fragmentos de unión a antígeno de estos que se unen específicamente a IL-4Rα humano, ácidos nucleicos,

vectores o composiciones farmacéuticas descritos en la presente en la fabricación de un medicamento para el tratamiento de un trastorno asociado con IL-4R, por ejemplo, trastornos inflamatorios tales como un trastorno inflamatorio de tipo 2 o cáncer. Tales trastornos inflamatorios de tipo 2 incluyen, pero no se limitan a, dermatitis atópica, esofagitis eosinofílica, poliposis nasal, asma, rinosinusitis crónica (CRS), enfermedad alérgica, enfermedad pulmonar obstructiva crónica (COPD) o urticaria crónica espontánea (CSU). En algunas modalidades, el trastorno asociado con IL-4R es cáncer, p. ej., cáncer asociado con células B, como la CLL, u otros cánceres como glioma maligno, ovario, pulmón, mama, carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello (SCCHN), cáncer de páncreas, riñón, colon, próstata y vejiga.

El término “IL-4Rα”, como se usa en la presente, a menos que se indique lo contrario, se refiere a cualquier IL-4Rα maduro nativo que resulte del procesamiento de una proteína precursora de IL-4Rα en una célula. El término incluye IL-4Rα de cualquier fuente vertebrada, incluidos mamíferos como primates (por ejemplo, humanos y macacos cangrejeros o rhesus) y roedores (por ejemplo, ratones y ratas), a menos que se indique lo contrario. El término también incluye variantes naturales de IL-4Rα, por ejemplo, variantes de empalme o variantes alélicas. La secuencia de aminoácidos de un ejemplo de IL-4Rα humano se conoce en la técnica, por ejemplo, la secuencia de referencia P24394 de UniProt (sec. con núm. de ident.: 39). La secuencia de aminoácidos de un ejemplo de IL-4Rα de macaco cangrejero también se conoce en la técnica, por ejemplo, la secuencia de referencia NCBI XP_005591572.2 (sec. con núm. de ident.: 40). El término “IL-4Rα” se usa en

la presente descripción para referirse colectivamente a todas las isoformas y formas polimórficas de IL-4Rα humano conocidas. La numeración de secuencia usada en la presente descripción se basa en la proteína madura sin el péptido señal.

El término “IL-4R”, como se usa en la presente descripción, a menos que se indique lo contrario, se refiere a un complejo de la subunidad de IL-4Rα con una cadena γ común (receptor de tipo I) y/o un complejo de la subunidad de IL-4Rα con un IL-13Rα1 (receptor de tipo II).

El término “IL-4”, como se usa en la presente, a menos que se indique lo contrario, se refiere a cualquier IL-4 madura nativa que resulte del procesamiento de una proteína precursora de IL-4 en una célula. El término incluye IL-4 de cualquier fuente vertebrada, incluidos mamíferos como primates (por ejemplo, humanos y macacos cangrejeros o rhesus) y roedores (por ejemplo, ratones y ratas), a menos que se indique lo contrario. El término también incluye variantes naturales de IL-4, por ejemplo, variantes de empalme o variantes alélicas. La secuencia de aminoácidos de un ejemplo de IL-4 humana se conoce en la técnica, por ejemplo, la secuencia de referencia P05112 de UniProt (sec. con núm. de ident.: 17). El término “IL-4” se usa en la presente descripción para referirse colectivamente a todas las isoformas y formas polimórficas de IL-4 humana conocidas.

El término “IL-13”, como se usa en la presente descripción, a menos que se indique lo contrario, se refiere a cualquier IL-13 maduro nativo que resulte del procesamiento de una proteína precursora de IL-13 en una célula. El término incluye IL-13 de cualquier origen vertebrado, incluidos mamíferos como primates (p.

ej., humanos y monos cynomolgus o Rhesus) y roedores (p. ej., ratones y ratas), a menos que se indique lo contrario. El término también incluye variantes naturales de IL-13, por ejemplo, variantes de empalme o variantes alélicas. La secuencia de aminoácidos de un ejemplo de IL-13 humana se conoce en la técnica, p. ej., la secuencia de referencia P35225 de UniProt (sec. con núm. de ident.: 18). El término "IL-13" se usa en la presente descripción para referirse colectivamente a todas las isoformas y formas polimórficas de IL-13 humana conocidas.

El término "CD23", como se usa en la presente, a menos que se indique lo contrario, se refiere a cualquier CD23 maduro nativo que resulte del procesamiento de una proteína precursora de CD23 en una célula. El término incluye CD23 de cualquier origen vertebrado, incluidos mamíferos como primates (p. ej., humanos y monos cynomolgus o Rhesus) y roedores (p. ej., ratones y ratas), a menos que se indique lo contrario. El término también incluye variantes naturales de CD23, por ejemplo, variantes de empalme o variantes alélicas. La secuencia de aminoácidos de un ejemplo de CD23 humano se conoce en la técnica, por ejemplo, la secuencia de referencia P06734 de UniProt (sec. con núm. de ident.: 41). El término "CD23" se usa en la presente descripción para referirse colectivamente a todas las isoformas y formas polimórficas de CD23 humana conocidas.

El término "trastorno asociado con IL-4R" tal como se usa en la presente se refiere a un trastorno asociado con la señalización mediada por IL-4R, como por ejemplo trastornos asociados con la señalización de IL-4R de tipo 1 e IL-4R de tipo II. Tal trastorno asociado con IL-4R puede incluir, por ejemplo, trastornos

inflamatorios inmunitarios. Tales trastornos inflamatorios inmunitarios pueden incluir trastornos inflamatorios de tipo 2, como se describe en la presente. El trastorno asociado con IL-4R puede incluir además cáncer.

El término “anticuerpo”, como se usa en la presente descripción, se refiere a una molécula de inmunoglobulina que se une a un antígeno. Las modalidades de un anticuerpo incluyen un anticuerpo monoclonal, anticuerpo policlonal, anticuerpo humano, anticuerpo humanizado, anticuerpo quimérico, anticuerpo biespecífico o multiespecífico o anticuerpo conjugado. Los anticuerpos pueden ser de cualquier clase (p. ej., IgG, IgE, IgM, IgD, IgA) y cualquier subclase (p. ej., IgG1, IgG2, IgG3, IgG4).

Un anticuerpo ilustrativo es un anticuerpo de tipo inmunoglobulina G (IgG) compuesto por cuatro cadenas polipeptídicas: dos cadenas pesadas (HC) y dos cadenas ligeras (LC) que se entrecruzan mediante uniones disulfuro entre cadenas. La porción amino terminal de cada una de las cuatro cadenas polipeptídicas incluye una región variable de aproximadamente 100-125 o más aminoácidos principalmente responsables del reconocimiento antigénico. La porción carboxilo terminal de cada una de las cuatro cadenas polipeptídicas contiene una región constante principalmente responsable de la función efectora. Cada cadena pesada está compuesta por una región variable de la cadena pesada (VH) y una región constante de la cadena pesada. La región constante de la cadena pesada se refiere a una región de un anticuerpo, que comprende la región Fc y el dominio CH1 de la cadena pesada del anticuerpo. Cada cadena ligera se compone por una región variable de cadena ligera (VL) y una región constante de cadena ligera. El isotipo IgG puede

dividirse adicionalmente en subclases (p. ej., IgG1, IgG2, IgG3 e IgG4). La numeración de los residuos de aminoácidos en la región constante se basa en el índice EU como en Kabat. Kabat et.al. *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, 5th edition, Bethesda, MD: U.S. Dept. of Health and Human Services, Public Health Service, National Institutes of Health (1991). El término numeración del índice de EU o numeración de EU se usa indistintamente en la presente descripción.

Las regiones VH y VL se pueden subdividir adicionalmente en regiones de hipervariabilidad, llamadas regiones determinantes de complementariedad (CDR), intercaladas con regiones que son más conservadas, llamadas regiones marco (FR). Las CDR están expuestas en la superficie de la proteína y son regiones importantes del anticuerpo para la especificidad de unión al antígeno. Cada VH y VL se compone por tres CDR y cuatro FR, dispuestas desde el extremo amino terminal hasta el extremo carboxilo terminal en el siguiente orden: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, FR4. En la presente descripción, las tres CDR de la cadena pesada se denominan “HCDR1, HCDR2 y HCDR3”, y las tres CDR de la cadena ligera se denominan “LCDR1, LCDR2 y LCDR3”. Las CDR contienen la mayoría de los residuos que forman interacciones específicas con el antígeno. La asignación de residuos de aminoácidos a las CDR puede realizarse de acuerdo con esquemas bien conocidos, incluidos los descritos en Kabat (Kabat et al., “Sequences of Proteins of Immunological Interest”, National Institutes of Health, Bethesda, Md. (1991)), Chothia (Chothia et al., “Canonical structures for the hypervariable regions of immunoglobulins”, Journal of Molecular Biology, 196, 901-917 (1987); Al-Lazikani

et al., “Standard conformations for the canonical structures of immunoglobulins”, Journal of Molecular Biology, 273, 927-948 (1997)), North (North *et al*., “A New Clustering of Antibody CDR Loop Conformations”, Journal of Molecular Biology, 406, 228-256 (2011)), o IMGT (the international ImMunoGeneTics database available on at www.imgt.org; véase Lefranc et al., Nucleic Acids Res. 1999; 27:209-212). Las definiciones de CDR de North se utilizan para los anticuerpos que se unen específicamente a la IL-4Rα humana descrita en el presente descripción.

Las modalidades de la presente descripción también incluyen fragmentos de anticuerpo o fragmentos de unión a antígeno, que comprenden al menos una parte de un anticuerpo que retiene la capacidad de interactuar específicamente con un antígeno como fragmentos Fab, Fab', F(ab')2, Fv, scFv, scFab, Fvs unidos por disulfuro (sdFv), un fragmento Fd y anticuerpos lineales, que pueden estar, por ejemplo, fusionados con una región Fc o una región constante de cadena pesada de IgG.

fusionados con una región Fc o una región constante de cadena pesada de IgG.

El término “región Fc”, como se usa en la presente descripción, se refiere a una región de un anticuerpo, que comprende los dominios CH2 y CH3 de la cadena pesada del anticuerpo. Opcionalmente, la región Fc puede incluir una porción de la región bisagra o la región bisagra completa de la cadena pesada del anticuerpo. Las actividades biológicas, como la función efectora, son atribuibles a la región Fc, que varían con el isotipo del anticuerpo. Los ejemplos de funciones efectoras de los anticuerpos son la unión al receptor Fc, la citotoxicidad mediada por células dependientes de anticuerpos (ADCC), la fagocitosis mediada por células

dependientes de anticuerpos (ADCP), la unión a C1q, la citotoxicidad dependiente del complemento (CDC), la fagocitosis, la regulación a la baja de los receptores de la superficie celular (p. ej., el receptor de células B); y activación de células B.

El término “epítopo”, como se usa en la presente, se refiere a los residuos de aminoácidos de un antígeno, que están unidos por un anticuerpo. Un epítopo puede ser un epítopo lineal, un epítopo conformacional o un epítopo híbrido. El término “epítopo” puede usarse en referencia a un epítopo estructural. Un epítopo estructural, de acuerdo con algunas modalidades, puede usarse para describir la región de un antígeno que está cubierta por un anticuerpo (por ejemplo, la huella de un anticuerpo cuando se une al antígeno). En algunas modalidades, un epítopo estructural puede describir los residuos de aminoácidos del antígeno que están dentro de una proximidad específica (p. ej., dentro de un número específico de Angstroms) de un residuo de aminoácido del anticuerpo. El término “epítopo” también puede usarse en referencia a un epítopo funcional. Un epítopo funcional, de acuerdo con algunas modalidades, puede usarse para describir residuos de aminoácidos del antígeno que interactúan con residuos de aminoácidos del anticuerpo de una manera que contribuye a la energía de unión entre el antígeno y el anticuerpo. Se puede determinar un epítopo de acuerdo con diferentes técnicas experimentales, también denominadas “técnicas de mapeo de epítopos”. Se entiende que la determinación de un epítopo puede variar según las diferentes técnicas de mapeo de epítopos usadas y también puede variar basada en las diferentes condiciones experimentales usadas, p. ej., debido a los cambios

conformacionales o escisiones del antígeno inducidas por condiciones experimentales específicas. Las técnicas de mapeo de epítopos son conocidas en la técnica (p. ej., Rockberg and Nilvebrant, *Epitope Mapping Protocols: Methods in Molecular Biology*, Humana Press, 3rd ed. 2018; Holst et al., *Molecular Pharmacology* 1998, 53(1): 166-175), incluyendo, entre otros, la cristalografía de rayos X, la espectroscopia de resonancia magnética nuclear (NMR), la mutagénesis dirigida al sitio, la mutagénesis de intercambio de especies, la mutagénesis de barrido de alanina, la mutagénesis de impedimento estérico, el intercambio hidrógeno-deuterio (HDX) y los ensayos de bloqueo cruzado.

Los términos “unir” y “une” como se usan en la presente descripción pretenden significar, a menos que se indique lo contrario, la capacidad de una proteína o molécula para formar un enlace químico o interacción atractiva con otra proteína o molécula, lo que da como resultado la proximidad de las dos proteínas o moléculas según se determina por métodos comunes conocidos en la técnica.

El término “ácido nucleico” como se usa en la presente, se refiere a polímeros de nucleótidos, lo que incluye moléculas monocatenarias y/o bicatenarias que contienen nucleótidos, tales como moléculas de ADN, ADNc y ARN, que incorporan nucleótidos nativos, modificados y/o análogos. Los polinucleótidos de la presente descripción también pueden incluir sustratos incorporados en estos, por ejemplo, mediante ADN o ARN polimerasa o una reacción sintética.

El término “sujeto”, como se usa en la presente, se refiere a un mamífero, que incluye, pero no se limita a, un ser humano, chimpancé, simio, mono, res,

caballo, oveja, cabra, cerdo, conejo, perro, gato, rata, ratón, conejillo de indias y similares. Preferentemente, el sujeto es un ser humano.

El término “cantidad terapéuticamente efectiva”, como se usa en la presente, se refiere a una cantidad de una proteína o ácido nucleico o vector o composición que, tras la administración de una dosis única o múltiple al sujeto, proporciona el efecto deseado en el sujeto que se está diagnosticando o tratando. El término “cantidad terapéuticamente efectiva”, como se usa en la presente descripción, se refiere además a una cantidad o dosis de una proteína o ácido nucleico o vector o composición de la descripción, que provoca la respuesta biológica o médica de un sujeto, por ejemplo, la reducción o inhibición de una enzima o actividad de una proteína, o mejora los síntomas, alivia las condiciones, ralentiza o retrasa la progresión de la enfermedad, o evita una enfermedad, etc. En una modalidad no limitante, el término “una cantidad terapéuticamente efectiva” se refiere a la cantidad (a dosificaciones y por periodos de tiempo y para la vía de administración) de una proteína o ácido nucleico o vector o composición que, cuando se administra a un sujeto, es efectiva para aliviar, inhibir, prevenir y/o mejorar al menos parcialmente una afección, un trastorno o una enfermedad. Una cantidad efectiva de la proteína o el ácido nucleico o el vector o la composición puede variar de acuerdo con factores tales como el estado de la enfermedad, la edad, el sexo y el peso del individuo, y la capacidad de la proteína o el ácido nucleico o el vector o la composición para provocar una respuesta deseada en el individuo. Una cantidad efectiva también es aquella en la que cualquier efecto tóxico o

perjudicial de la proteína o ácido nucleico o vector o composición de la presente invención se ve compensado por los efectos terapéuticamente beneficiosos.

El término “inhibe”, como se usa en la presente descripción, se refiere, por ejemplo, a un reducción, descenso, ralentización, disminución, interrupción, paralización, anulación, antagonismo o bloqueo de una respuesta o actividad biológica, pero no indica necesariamente la eliminación total de una respuesta biológica.

El término “tratamiento” o “tratar”, como se usa en el presente documento, se refiere a todos los procesos en donde puede haber una ralentización, control, retraso o detención de la progresión de los trastornos o enfermedades descritos en la presente descripción, o mejora del trastorno o los síntomas de la enfermedad, pero no necesariamente indica una eliminación total de todos los síntomas de los trastornos o enfermedades. El tratamiento incluye la administración de una proteína o ácido nucleico o vector o composición para el tratamiento de una enfermedad o afección en un paciente, particularmente en un ser humano.

El término “aproximadamente” como se usa en la presente descripción, significa dentro del 5 %.

Como se usa en la presente descripción, el término “un”, “una”, “el/la” y términos similares usados en el contexto de la presente descripción (especialmente en el contexto de las reivindicaciones) debe construirse para cubrir tanto el singular como el plural, a menos que se indique lo contrario en la presente descripción o se contradiga claramente por el contexto.

“Agente quimioterapéutico” o “quimioterapéutico”, como se usa de manera intercambiable en la presente, es un agente químico o fármaco que destruye selectivamente las células y tejidos cancerosos. El agente quimioterapéutico puede incluir, entre otros, compuestos tales como compuestos de taxano, compuestos que actúan a través de mecanismos de taxano, compuestos de platino, compuestos de antraciclina, antimetabolitos, agentes alquilantes, compuestos de epipodofilotoxina, compuestos de camptotecina, inhibidores de topoisomerasa, inhibidores mitóticos o cualquier combinación de estos. Los agentes quimioterapéuticos se pueden administrar solos o en combinación con otros agentes terapéuticos.

El término “radiación ionizante”, como se usa en la presente, es radiación de ciertas longitudes de onda que se usa para destruir o dañar las células cancerosas. La radiación ionizante incluye radón, rayos X, rayos gamma y otras formas de radiación de alta energía. La radiación ionizante puede incluir radiación externa (o radiación de haz externo), radiación interna (o braquiterapia) o radiación sistémica.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

La **Figura 1** muestra la superposición de la estructura cristalina de rayos X de una porción Fab del anticuerpo IL-4Rα humano 8660 unido a ECD de IL-4Rα con la estructura cristalina de una porción Fab de dupilumab con diseño Crystal Kappa complejada con IL-4Rα humano (código de acceso pdb 6WGL).

La Figura 2 muestra las ubicaciones de residuos de aminoácidos del epítopo funcional (residuos Asp66 y Asp125 de IL-4Rα humano) en la estructura cristalina de la porción 5F3 Fab con diseño Crystal Kappa complejado con IL-4Rα ECD humano.

Las Figuras 3A-3B muestran la especificidad de unión de los anticuerpos 5F3 y 5559 IL-4Rα humanos a IL-4Rα humano (3A) e IL-4Rα de mono cynomolgus (3B) medida mediante ensayo MSD ELISA.

Las Figuras 4A-4C muestran la especificidad de unión de anticuerpos 5559 IL-4Rα humanos a IL-4Rα en células B humanas (4A y 4C) y células T (4B).

Las Figuras 5A-5B muestran que los anticuerpos 5F3, 8660 y 5559 IL-4Rα humanos bloquean la unión de IL-4 (5A) e IL-13 (5B) a IL-4Rα en un ensayo basado en células.

Las Figuras 6A-6B muestran que los anticuerpos 5559 IL-4Rα humanos inhiben la fosforilación de pSTAT6 inducida por IL-4 en células B (6B) y células T (6A) humanos primarios. La **Figura 6C** muestra que los anticuerpos 5559 IL-4Rα humanos inhiben la fosforilación de pSTAT6 inducida por IL-13 en linfocitos B humanos.

La **Figura 7** muestra que los anticuerpos 5559 IL-4Rα humanos inhiben la proliferación de linfocitos B inducida por IL-4.

Las **Figuras 8A-8B** muestran que los anticuerpos 5559 IL-4Rα humanos inhiben la expresión de CD23 inducida por IL-4 (8A) e IL-13 (8B) en células mieloides.

La **Figura 9** muestra que los anticuerpos 5559 IL-4Rα humanos no se unen al componente C1q del complemento en un ensayo ELISA.

Las **Figuras 10A-10B** muestran que los anticuerpos 5559 IL-4Rα humanos no inducen significativamente la actividad de ADCC en un ensayo basado en genes informadores (10A) o en un ensayo basado en células primarias (10B).

La **Figura 11** muestra que los anticuerpos 5559 IL-4Rα humanos no inducen actividad de CDC en células Daudi.

Las **Figuras 12A-12B** muestran termogramas de calorimetría diferencial de barrido (DSC) de anticuerpos 5559 IL-4Rα humanos.

La **Figura 13** muestra la superposición de la estructura cristalina de rayos X de una porción Fab del anticuerpo IL-4Rα humano 5559 unido a IL-4Rα ECD con la estructura cristalina de una porción Fab de dupilumab con diseño Crystal Kappa complejada con IL-4Rα humano (código de acceso pdb 6WGL).

La **Figura 14** muestra las localizaciones de los residuos de aminoácidos Asp66, Asp67 y Asp125 de la IL-4Rα humana (todos ellos identificados en el epítopo estructural; adicionalmente, Asp66 identificado en el epítopo funcional) en la estructura cristalina de la porción Fab 5559 con diseño de Crystal Kappa complejado con IL-4Rα ECD humano.

EJEMPLOS

Ejemplo 1: Generación e ingeniería de anticuerpos que se unen a la IL-4Rα humana (anticuerpos anti IL-4Rα humana).

Generación de anticuerpos: Para desarrollar anticuerpos específicos para IL-4R humana α, los ratones transgénicos con regiones variables de inmunoglobulina

humana se inmunizaron con el dominio extracelular (ECD) marcado con Fc de IL-4Rα humana y potenciado, alternativamente, con proteínas IL-4Rα ECD humanas etiquetadas con Fc y de mono cynomolgus. El cribado se realizó con ECD de IL-4Rα humano y de macaco cangrejero marcados con histidina para identificar la reactividad cruzada y, en ausencia o presencia de exceso de IL-4 soluble, para identificar los anticuerpos bloqueadores de IL-4. Los anticuerpos con reactividad cruzada se clonaron como Fab, se expresaron y purificaron mediante procedimientos estándares y se analizaron en una línea celular informadora, IL-4/IL-13 de riñón embrionario humano (HEK)-Blue (InvivoGen) para comprobar la actividad de bloqueo de la IL-4 y la IL-13. Los anticuerpos se seleccionaron y diseñaron en sus CDR, regiones flanqueantes de dominio variable e isotipo IgG para mejorar características tales como afinidad, estabilidad, solubilidad, viscosidad, hidrofobicidad, así como agregación reducida.

La secuencia de aminoácidos de ECD de IL-4Rα humano se proporciona mediante la sec. con núm. de ident.: 15, la secuencia de aminoácidos de ECD de IL-4Rα de macaco cangrejero se proporciona mediante la sec. con núm. de ident.: 16, la secuencia de aminoácidos de IL-4 humana se proporciona mediante la sec. con núm. de ident.: 17, y la secuencia de aminoácidos de IL-13 humana se proporciona mediante la sec. con núm. de ident.: 18.

Los anticuerpos de la invención se pueden sintetizar y purificar mediante métodos bien conocidos. Una célula huésped adecuada, tal como las células de ovario de hámster chino (CHO), puede transfectarse de manera transitoria o estable con un sistema de expresión para secretar anticuerpos mediante el uso de

una relación de vector HC:LC predeterminada si se usan dos vectores, o un sistema de vector único que codifica la cadena pesada y cadena ligera. Los medios clarificados, en los que se ha secretado el anticuerpo, pueden purificarse mediante el uso de las técnicas comúnmente usadas.

Ingeniería de los anticuerpos IL-4Rα: El anticuerpo IL-4Rα 5F3 IgG4PAA se diseñó como un Fab en vectores de expresión de células de mamífero usando un protocolo de mutagénesis de saturación de alto rendimiento y sitio específico para encontrar mutaciones que mejoren la afinidad y/o las propiedades biofísicas (tal como, estabilidad térmica, química o la solubilidad, reducir la agregación o la hidrofobicidad). El 5F3 IgG4PAA comprende las sustituciones de residuos de aminoácidos F234A y L235A en la región Fc de IgG4, que reducen la unión a FcγR, y una sustitución de aminoácidos S228P, que estabiliza la bisagra y evita el intercambio de brazos.

Brevemente para la ingeniería, cada aminoácido en las CDR de las cadenas VL y VH de 5F3 IgG4PAA fue mutado en reacciones de mutagénesis individuales generando un total de 18 variantes (excepto la cisteína), así como también de vuelta al residuo de aminoácido original (que constituye un control de tipo salvaje incrustado, WT), utilizando una serie de oligos directos e inversos dispuestos en una placa de 384 microtitulaciones. Las reacciones de mutagénesis dirigida al sitio se llevaron a cabo de acuerdo con procedimientos establecidos y la digestión del plásmido WT se realizó mediante incubación con la enzima de restricción DpnI. Los productos de la digestión se transformaron en *E. coli* y se aisló el ADN de los transformantes a granel tras la incubación durante la noche a 37 °C. El ADN de

cada reacción de mutagénesis de VL y VH individual se mezcló con la región variable del anticuerpo WT apropiado y se expresó en células CHO en una placa de 96 pocillos profundos. Los anticuerpos secretados se cuantificaron y normalizaron a un título consistente antes de la detección de la unión a IL4Rα en un formato ELISA con o sin un paso de desafío térmico. Además de evaluar los mutantes de CDR, se evaluaron de manera similar mutantes que convierten residuos atípicos de la línea germinal en las regiones flanqueantes en los aminoácidos más típicos.

Los aciertos se confirmaron mediante titulaciones ELISA, Octet o Biacore8K y luego, guiados por consideraciones basadas en la estructura, se seleccionaron, combinaron e introdujeron en un formato de anticuerpo de longitud completa y se evaluó la afinidad y las propiedades biofísicas usando butil-HIC, heparina, interacción de columna y cromatografía de exclusión por tamaño, calorimetría diferencial de barrido y unión a proteínas séricas mediante espectrometría de masas.

El análisis de unión por afinidad mostró que el anticuerpo 5F3 IgG4PAA tiene una afinidad moderada por IL-4Rα humano y de macaco cangrejero, con una K_D en el rango de 10^{-9} M. La mutagénesis de los residuos de aminoácidos de la CDR en la 5F3 IgG4PAA identificó sustituciones de la CDR: LCDR3 H91W, N92S, que mejoró significativamente la afinidad del anticuerpo resultante en el rango de 10^{-11} M.

Además, se identificaron sustituciones de residuos de aminoácidos que conducen a una estabilidad térmica mejorada en el ELISA de desafío térmico: VH: A23V, N92S, I31H; VL: G28D. Además, sustituciones de residuos de aminoácidos: VH: A23V, I58V; VL: Se encontró que G28D reduce la autoasociación e

hidrofobicidad mientras se mantuvo la afinidad. Sustitución de aminoácido: VH: Se encontró que I31H reduce la unión de la proteína sérica.

Además, el anticuerpo 5F3 IgG4PAA contiene una asparagina en la HC flanqueante 3 (N72) que se desamida en condiciones de estrés. El residuo de aminoácido N72 se sustituyó por el Asp de línea más germinal (N72D), lo que dio como resultado la eliminación de la desamidación.

El análisis de mutagénesis del 5F3 IgG4PAA identificó 7 residuos de aminoácidos para ingeniería. Estos 7 residuos de aminoácidos se sustituyeron de la siguiente manera: I31H, I58V, N72D en la región VH y H91W y N92S en la región VL combinadas para generar la variante de anticuerpo 8660; y además de estas 5 sustituciones, A23V en la región VH y G28D en la región VL se añadieron para generar las variantes de anticuerpos 5559. La Tabla 1 muestra las secuencias de aminoácidos de CDR de los anticuerpos ejemplificados.

Se generaron varias versiones de los anticuerpos 5559 y 8660 con diferentes estructuras de IgG, incluidas las proporcionadas en la Tabla 2. La ingeniería de los 7 residuos de aminoácidos dio como resultado que las variantes del anticuerpo 5559 tuvieran una afinidad significativamente mejorada y otras propiedades biofísicas, como estabilidad térmica, autoasociación reducida, hidrofobicidad y/o unión a proteínas séricas, manteniendo la afinidad.

Ingeniería de la región constante del anticuerpo para mejorar la viscosidad: La región constante de la cadena pesada del anticuerpo humano IL-4Rα de 5559 IgG4 se modificó ingeniería a través de un equilibrio de carga para mejorar la

viscosidad y mitigar la potencial interacción electrostática entre los dominios Fab y constantes del anticuerpo. Los dominios CH1, CH2 y CH3 en la región constante de HC de los anticuerpos IgG4 humanos, en comparación con la región constante de HC de la IgG1 humana, tienen puntos isoeléctricos (pI) más bajos debido a una distribución de carga desigual. En consecuencia, se identificaron cinco residuos de aminoácidos clave en los dominios CH1, CH2 y CH3 que afectan la viscosidad de los anticuerpos 5559 IgG4: 1) E137 (dominio CH1), 2) D203 (dominio CH1), 3) Q274 (dominio CH2), 4) Q355 (dominio CH3), y 5) E419 (dominio CH3). La posición análoga en una región constante de hIgG1 para estos 5 aminoácidos es diferente y se encontró que afecta el pI general de cada dominio.

Para hacer coincidir la pI de los dominios CH2 y CH3 de un anticuerpo IgG4 con un anticuerpo IgG1 y minimizar la introducción potencial de un péptido inmunogénico, los residuos en tres de las cinco posiciones identificadas en la región constante de IgG4 se convirtieron en el residuo correspondiente encontrado en una región constante de IgG1. Las sustituciones de residuos de aminoácidos incluyeron: la glutamina con carga neutra en la posición 274 (Q274K) sustituida por una lisina con carga positiva, la glutamina con carga neutra en la posición 355 (Q355R) sustituida por una arginina con carga positiva y el ácido glutámico con carga negativa en la posición 419 (E419Q) sustituido por una glutamina con carga neutra. La IgG4 Fc resultante se denominó “KRQ”.

También se construyó una región constante de IgG4 que comprende sustituciones en los 5 residuos de aminoácidos identificados con los que se encuentran en la IgG1 (E137G, D203N, Q274K, Q355R y E419Q), denominada “GNKRQ”.

El anticuerpo IgG4 KRQ e IgG4 GNKRQ también incluía la mutación S228P, que estabiliza la bisagra y evita el intercambio de brazos, denominada IgG4P. Se utilizó un dominio IgG4 CH1 de tipo salvaje junto con un dominio constante kappa humano para completar la construcción. Los anticuerpos se sintetizaron, expresaron y purificaron en esencia como se describe anteriormente.

Selección de la cadena principal IgG4P o IgG1A Se seleccionaron la cadena principal de IgG1A humana y/o de IgG4P humana para los 5559 anticuerpos ejemplificados porque proporcionaban una ventaja inesperada de unión a células B y células mieloides. Como se demuestra en la Tabla 5B y la Figura 4C, se encontró que los anticuerpos 5559 IgG4P y 5559 IgG1A IL-4Rα ejemplificados tenían una mayor afinidad de unión a los células B, en comparación con el anticuerpo nulo efector 5559 IgG1AAA, lo que indica que la porción Fc del anticuerpo 5559 que no está diseñado para ser efector nulo impactó positivamente en la unión de células B.

Tabla 1: Secuencias de aminoácidos CDR de anticuerpos IL-4Rα humanos ejemplificados

Anticuerpo contra IL-4Rα	**Secuencia CDR**					
	HCDR1	**HCDR2**	**HCDR3**	**LCDR1**	**LCDR2**	**LCDR3**
5F3 IgG4PAA	Sec. con núm. de ident.: 19	Sec. con núm. de ident.: 20	Sec. con núm. de ident.: 3	Sec. con núm. de ident.: 22	Sec. con núm. de ident.: 5	Sec. con núm. de ident.: 24
5559 (todas las variantes)	Sec. con núm. de ident.: 1	Sec. con núm. de ident.: 2	Sec. con núm. de ident.: 3	Sec. con núm. de ident.: 4	Sec. con núm. de ident.: 5	Sec. con núm. de ident.: 6

8660 (todas las variantes)	Sec. con núm. de ident.: 42	Sec. con núm. de ident.: 2	Sec. con núm. de ident.: 3	Sec. con núm. de ident.: 22	Sec. con núm. de ident.: 5	Sec. con núm. de ident.: 6

Tabla 2: Secuencias de aminoácidos de anticuerpos IL-4Rα humanos ejemplificados

Anticuerpo contra IL-4Rα	HC	LC	VH	VL
5F3 IgG4PAA	Sec. con núm. de ident.: 27	Sec. con núm. de ident.: 28	Sec. con núm. de ident.: 25	Sec. con núm. de ident.: 26
5559 IgG1A	Sec. con núm. de ident.: 33	Sec. con núm. de ident.: 10	Sec. con núm. de ident.: 7	Sec. con núm. de ident.: 8
5559 IgG1A 124C/378C	Sec. con núm. de ident.: 9	Sec. con núm. de ident.: 10	Sec. con núm. de ident.: 7	Sec. con núm. de ident.: 8
5559 IgG4P	Sec. con núm. de ident.: 37	Sec. con núm. de ident.: 10	Sec. con núm. de ident.: 7	Sec. con núm. de ident.: 8
5559 IgG4P 124C/378C	Sec. con núm. de ident.: 31	Sec. con núm. de ident.: 10	Sec. con núm. de ident.: 7	Sec. con núm. de ident.: 8
5559 IgG4P KRQ	Sec. con núm. de ident.: 35	Sec. con núm. de ident.: 10	Sec. con núm. de ident.: 7	Sec. con núm. de ident.: 8
5559 IgG4P KRQ 124C/378C	Sec. con núm. de ident.: 13	Sec. con núm. de ident.: 10	Sec. con núm. de ident.: 7	Sec. con núm. de ident.: 8
5559 IgG4P GNKRQ 124C/378C	Sec. con núm. de ident.: 50	Sec. con núm. de ident.: 10	Sec. con núm. de ident.: 7	Sec. con núm. de ident.: 8
5559 IgG1AAA 124C/378C	Sec. con núm. de ident.: 52	Sec. con núm. de ident.: 10	Sec. con núm. de ident.: 7	Sec. con núm. de ident.: 8
8660 IgG4P 124C/378C	Sec. con núm. de ident.: 46	Sec. con núm. de ident.: 47	Sec. con núm. de ident.: 44	Sec. con núm. de ident.: 45

Ejemplo 2: Epítopo estructural y funcional de los anticuerpos IL-4Rα humanos

El epítopo estructural de los anticuerpos anti-IL-4Rα ejemplificados se determinó mediante cristalografía de rayos X y el epítopo funcional de los anticuerpos anti-IL-4Rα ejemplificados se determinó mediante ELISA.

Ejemplo 2a. Determinación del epítopo estructural del 8660 Fab mediante cristalografía de rayos X

El epítopo físico del Fab del anticuerpo anti-IL-4Rα 8660 sobre IL-4Rα humano se determinó identificando las interfaces de interacción entre IL-4Rα humano y los anticuerpos ejemplificados. Brevemente, para determinar el epítopo estructural, se cocristalizó IL-4Rα ECD humana con una porción Fab 8660. La estructura del Fab 8660 complejada con IL-4Rα se determinó mediante la creación de una variante de IgG1 etiquetada con hexahistidina de la cadena pesada truncada después del dominio CH1 y la versión "Crystal Kappa" de la cadena ligera del Fab 8660 (véase, Lieu et al., "Rapid and Robust Antibody Fab Fragment Crystallization Utilizing Edge-to-edge Beta-sheet Packing," *PLoS One*, 15(9) (2020), que se incorpora en la presente descripción por referencia en su totalidad). La variante 8660 se coexpresó con una versión etiquetada con hexahistidina de IL-4Rα ECD humano que contenía una mutación C182L, el complejo se purificó después mediante cromatografía de afinidad con metal inmovilizado y se analizó usando pantallas estándares comercialmente disponibles para la cristalización. Se obtuvieron cristales y se recopilaron datos de difracción de rayos X en la fuente avanzada de fotones. Los datos de difracción se redujeron y resolvieron mediante sustitución molecular y se refinaron para producir una estructura de 2,8 Å del complejo Fab 8660 y IL-4Rα ECD ejemplificado. A partir de la estructura cristalina resultante, cualquier residuo de aminoácido de IL-4Rα dentro de 4,5 Å de un

átomo del Fab 8660 cocristalizado se contó como parte del epítopo (usando el software de visualización PyMOL [Schrödinger®]).

El análisis PyMOL demostró que los residuos de aminoácidos de IL-4Rα (con respecto a la sec. con núm. de ident.:15) que están dentro de los 4,5 ángstroms del Fab 8660 en el complejo de estructura cristalina comprenden el epítopo estructural para los anticuerpos ejemplificados. Específicamente, el análisis determinó que el epítopo estructural comprende los siguientes residuos de aminoácidos: Asp en la posición 12, Met en la posición 14, Ser en la posición 15, Ile en la posición 16, Tyr en la posición 37, Leu en la posición 39, Phe en la posición 41, Leu en la posición 43, Glu en la posición 45, His en la posición 47, Thr en la posición 48, Cys en la posición 49, Ile en la posición 50, His en la posición 62, Leu en la posición 64, Met en la posición 65, Asp en la posición 66, Asp en la posición 67, Val en la posición 69, Asp en la posición 72, Arg en la posición 99, Pro en la posición 121, Pro en la posición 123, Pro en la posición 124, Asp en la posición 125. El análisis determinó además que el epítopo estructural abarca los dominios 1 y 2 del dominio de tipo III de la fibronectina N-terminal del IL-4Rα. Además, el análisis determinó que los siguientes residuos de aminoácidos del epítopo estructural están ubicados en el dominio 2 de los dominios de tipo III de la fibronectina N-terminales del IL-4Rα: R99, P121, P123, P124, D125.

Además, la superposición del Fab 8660 ejemplificado y la estructura cristalina de un Fab de dupilumab con el diseño crystal kappa complejado con IL-4Rα humano (código de acceso pdb 6WGL) indicó que el Fab 8660 se unía a un nuevo epítopo en IL-4Rα en comparación a dupilumab (Figura 1).

Además, una alineación de la estructura cristalina del complejo IL-4Rα Fab 8660:IL-4Rα ejemplificado con complejos publicados de IL-4 e IL-13 y sus respectivos receptores (códigos de acceso pdb 3BPN y 3BPO) en el componente IL-4Rα en cada estructura (usando el software de visualización PyMOL) mostró que el epítopo del anticuerpo Fab 8660 ejemplificado se superpuso con los sitios de unión de IL-4 e IL-13 a IL-4Rα, lo que indica que la unión de los anticuerpos ejemplificados a IL-4Rα bloquearía físicamente la unión de las citocinas IL-4 e IL-13 a IL-4Rαcuando la porción de la variante Fab de los anticuerpos ejemplificados se une a IL-4Rα.

Ejemplo 2b. Determinación de epítopos funcionales de 5F3 IgG4PAA

El epítopo funcional del anticuerpo IL-4Rα humano 5F3 IgG4PAA ejemplificado se determinó mediante ELISA. Brevemente, se introdujeron treinta sustituciones de residuos de aminoácidos de superficie individualmente en el dominio extracelular (ECD) de IL-4Rα humano marcado con hexahistidina como sigue: K2D, E6R, K22D, P26R, T31R, F41A, L42G, L43G, E45R, G56R, D66R, A71R, Q82G, K87D, E94R, H107A, D108R, P124R, D125R, D143R, R148D, L155R, R160D, S164R, S168R, Q181R, P192R, K195D, o H197G. Cada proteína mutante que tenía una única sustitución de residuo de aminoácido como se describió anteriormente se expresó transitoriamente en células CHO y se purificó usando técnicas estándares de cromatografía de afinidad con metales inmovilizados. Las placas ELISA se recubrieron con 1 µg/ml de anticuerpo kappa antihumano de cabra (Southern Biotech, cat. núm. 2060-01) en PBS a 4 °C durante toda la noche, después se lavaron 3 veces en PBST y se bloquearon con caseína PBS durante 30 min a temperatura ambiente. Las

placas se lavaron 3 veces con PBST y el anticuerpo IL-4Rα humano 5F3 IgG4PAA ejemplificado se añadió a los pocillos a una concentración final de 1 µg/ml en PBS-caseína y se incubó durante 1 hora. Las placas se lavaron 3 veces con PBST, las proteínas mutantes IL-4Rα se diluyeron en serie 3 veces desde 1 µg/mL en PBS-caseína y se agregaron a la placa a 50 µL/pocillo y se incubaron durante 1 hora a temperatura ambiente. Las placas se lavaron 3 veces con PBST y una dilución de 5000 veces de conjugado de HRP de anticuerpo antihistidina (R&D Systems, Cat. núm. MAB050H) en PBS-caseína y se incubaron durante 1 hora a temperatura ambiente. Las placas se lavaron 3 veces, sustrato TMB (Pierce, Cat. núm. 34021) según las instrucciones del fabricante, la reacción se inactivó con H_2SO_4 y se leyó la absorbancia a 450 nm en un lector de placas ELISA. El epítopo funcional del anticuerpo se determinó como los residuos de aminoácidos mutados correspondientes a los pocillos que no mostraban señal de unión o mostraban una señal de unión significativamente reducida en comparación con los anticuerpos de control.

Los resultados, como se demuestra en la Tabla 3, muestran que el epítopo funcional para el anticuerpo 5F3 IgG4PAA ejemplificado comprende los residuos de aminoácidos D66 y D125. Entre los residuos de aminoácidos identificados en el epítopo estructural, las sustituciones de residuos de aminoácidos de D66R y D125R en el IL-4Rα mostraron un impacto significativamente negativo en la unión del 5F3 IgG4PAA ejemplificado al IL-4Rα mutado, respectivamente. Específicamente, la sustitución del residuo de aminoácido D66 del IL-4Rα por arginina redujo la unión del 5F3 IgG4PAA al IL-4Rα mutado por debajo de la del control (0,04 OD_{450} y 0,14 OD_{450},

respectivamente). Además, la sustitución del residuo de aminoácido D125 por arginina, que se encuentra cerca del residuo de aminoácido D66 en la estructura cristalina del IL-4Rα (véase la Figura 2), también mostró una unión significativamente reducida de OD_{450} 0,59. Las sustituciones de aminoácidos restantes estaban dentro del intervalo de unión positiva o fuera del epítopo estructural determinado.

Tabla 3a: Determinación del epítopo funcional de anticuerpos IL-4Rα humanos ejemplificados

Sustitución de aminoácido	ELISA (OD_{450})
K2D	1,48
E6R	1,08
K22D	0,64
P26R	1,40
T31R	1,61
F41A	1,53
L42G	1,20
L43G	1,69
E45R	1,15
G56R	1,43
D66R	***0,04***
A71R	1,35
Q82G	1,59
K87D	1,16
E94R	1,46
H107A	1,54
T108R	1,21
V110R	1,47
P124R	1,35
D125R	***0,59***
D143R	1,51
R148D	1,39
L155R	1,53

R160D	1,54
S164R	1,56
S168R	1,53
Q181R	1,30
P192R	1,33
K195D	1,06
H197G	1,02
Control de regulador (sin receptor)	0,14

Ejemplo 2c: Epítopo estructural de los anticuerpos IL-4Rα 5559 humanos

Determinación de epítopos estructurales de Fab 5559 por cristalografía de rayos X . El epítopo físico del Fab del anticuerpo 5559 sobre IL-4Rα humano se determinó en esencia como se describe anteriormente. Se obtuvieron cristales y se recopilaron datos de difracción de rayos X en la fuente avanzada de fotones. Los datos de difracción se redujeron y resolvieron mediante sustitución molecular y se refinaron para producir una estructura de 2,49 Å del complejo Fab 5559 y IL-4Rα ECD ejemplificado. A partir de la estructura cristalina resultante, cualquier residuo de aminoácido de IL-4Rα dentro de 4,5 Å de un átomo del Fab 5559 cocristalizado se contó como parte del epítopo (usando el software de simulación, modelado y visualización Molecular Operating Environment (MOE) [Chemical Computing Group], Coot (Licencia pública general) y el software de visualización PyMOL [Schrödinger®]).

Los análisis MOE, Coot y PyMOL demostraron que los residuos de aminoácidos de IL-4Rα (con respecto a la sec. con núm. de ident.:15) que están dentro de los 4,5 Å del Fab 5559 en el complejo de estructura cristalina comprenden el epítopo estructural. Específicamente, el análisis determinó que el

epítopo estructural comprende los siguientes residuos de aminoácidos: Asp en la posición 12, Met en la posición 14, Ser en la posición 15, Ile en la posición 16, Leu en la posición 39, Phe en la posición 41, Leu en la posición 42, Thr en la posición 48, Cys en la posición 49, Ile en la posición 50, Glu en la posición 52, His en la posición 62, Leu en la posición 64, Met en la posición 65, Asp en la posición 66, Asp en la posición 67, Val en la posición 68, Val en la posición 69, Asp en la posición 72, Arg en la posición 99, Pro en la posición 121, Pro en la posición 123, Pro en la posición 124, Asp en la posición 125, Pro en la posición 192. Asp en la posición 66 estaba bien coordinado y tenía interacciones entre 2,6 y 2,9 Å con la cadena pesada del Fab 5559. Asp en la posición 67 tuvo interacciones de mayor alcance entre 3,1 y 3,5 Å y demostró flexibilidad en su posición de unión, como lo demuestra la observación del exceso de densidad alrededor de su cadena lateral. El análisis determinó que el epítopo estructural abarca los dominios 1 y 2 del dominio de tipo III de la fibronectina N-terminal del IL-4Rα. Además, el análisis determinó que los siguientes residuos de aminoácidos del epítopo estructural están ubicados en el dominio 2 de los dominios de tipo III de la fibronectina N-terminales del IL-4Rα: R99, P121, P123, P124, D125, P192.

La superposición del Fab 5559 ejemplificado y la estructura cristalina de un Fab de dupilumab con el diseño crystal kappa complejado con IL-4Rα humano (código de acceso pdb 6WGL) mostró que el Fab 5559 se unía a un nuevo epítopo en IL-4Rα en comparación a dupilumab (Figura 13).

Una alineación de la estructura cristalina del complejo IL-4Rα 5559 Fab:IL-4Rα ejemplificado con complejos publicados de IL-4 e IL-13 y sus respectivos receptores (códigos de acceso pdb 3BPN y 3BPO) en el IL-4Rα en cada estructura (usando el software de visualización PyMOL) mostró que el epítopo del anticuerpo Fab 5559 ejemplificado se superpuso con los sitios de unión de IL-4 e IL-13 a IL-4Rα. Esto indicó que la unión de los anticuerpos 5559 ejemplificados bloquearía físicamente la unión de las citocinas IL-4 e IL-13 a IL-4Rα.

Ejemplo 2d. Determinación de epítopos funcionales de los anticuerpos IL-4Rα 5559 humanos

El epítopo funcional del anticuerpo IL-4Rα humano 5559 IgG4P KRQ ejemplificado se determinó mediante ELISA. Brevemente, se introdujeron treinta sustituciones de residuos de aminoácidos de superficie individualmente en el dominio extracelular (ECD) de IL-4Rα humano marcado con hexahistidina como sigue: K2D, E6R, K22D, P26R, T31R, F41A, L42G, L43G, E45R, E52R, G56R, D66R, A71R, Q82G, K87D, E94R, H107A, D108R, P124R, D125R, D143R, R148D, L155R, R160D, S164R, S168R, Q181R, P192R, K195D, o H197G. Cada proteína mutante que tenía una única sustitución de residuo de aminoácido como se describió anteriormente se expresó transitoriamente en células CHO y se purificó usando técnicas estándares de cromatografía de afinidad con metales inmovilizados. Las placas de ELISA se recubrieron con 1 µg/ml de anticuerpo anti-IgG Fc humano de cabra (Jackson ImmunoResearch Laboratories, cat. núm. 109-005-098) en PBS a 4 °C durante toda la noche, después se lavaron 3 veces en PBST y se bloquearon con caseína PBS

durante 1 hora a temperatura ambiente. A continuación, las placas se lavaron 3 veces con PBST y el anticuerpo IL-4Rα humano 5559 IgG4P KRQ ejemplificado se añadió a los pocillos a una concentración final de 1 µg/mL en PBS-caseína y se incubó durante 1 hora a temperatura ambiente. Las placas se lavaron 3 veces con PBST, las proteínas mutantes IL-4Rα se diluyeron en serie 5 veces desde 1 µg/mL por 3 puntos en PBS-caseína y se agregaron a la placa a 50 µL/pocillo y se incubaron durante 1 hora a temperatura ambiente. Las placas se lavaron 3 veces con PBST y una dilución de 1000 veces de conjugado de HRP de anticuerpo antihistidina (R&D Systems, cat. núm. MAB050H) en PBS-caseína y se incubaron durante 45 minutos a temperatura ambiente. Las placas se lavaron 3 veces, sustrato TMB (Pierce, Cat. núm. 34028) según las instrucciones del fabricante, la reacción se inactivó con H_2SO_4 y se leyó la absorbancia a 450 nm en un lector de placas ELISA. El epítopo funcional del anticuerpo se determinó como los residuos de aminoácidos mutados correspondientes a los pocillos que no mostraban señal de unión o mostraban una señal de unión significativamente reducida en comparación con el control de tipo silvestre.

Los resultados, como se demuestra en la Tabla 4, muestran que el epítopo funcional para el anticuerpo 5559 IgG4P KRQ ejemplificado comprende el residuo de aminoácido D66. La sustitución de residuos de aminoácidos de D66 a D66R en el IL-4Rα redujo la unión de 5559 IgG4P KRQ al IL-4Rα D66R por debajo del control negativo (OD_{450} 0,047 y OD_{450} 0,063, respectivamente). El residuo de aminoácido D66 está ubicado cerca de los residuos del epítopo estructural D67 y D125 en la estructura

cristalina del IL-4Rα (Figura 14). Las sustituciones de aminoácidos restantes estaban dentro del intervalo de unión positiva o fuera del epítopo estructural determinado.

Tabla 3b: Determinación de epítopos funcionales de anticuerpos IL-4Rα 5559 humana ejemplificada

Sustitución de aminoácidos	1 µg/ml ELISA (OD_{450})	0,2 µg/ml ELISA (OD_{450})	0,04 µg/ml ELISA (OD_{450})
K2D	2,049	1,6064	1,0949
E6R	2,245	1,5049	0,9155
K22D	1,668	1,2977	0,5927
P26R	1,663	1,5241	0,8826
T31R	1,638	1,4901	0,9938
F41A	1,765	1,5448	1,1513
L42G	1,708	1,4848	0,9646
L43G	1,703	1,6986	1,3486
E45R	1,699	1,8614	1,5755
E52R	1,731	1,7126	1,0989
G56R	1,728	1,7032	1,1731
D66R	***0,047***	***0,0425***	***0,0529***
A71R	1,698	1,5651	0,9069
Q82G	1,742	1,5318	1,1029
K87D	1,748	1,5643	0,9115
E94R	1,733	1,6389	1,0337
H107A	1,889	1,8353	1,422
T108R	1,883	1,8157	1,4055
P124R	1,845	1,6964	1,1568
D125R	1,792	1,6089	1,0142
D143R	1,754	1,6923	1,2744
R148D	1,756	1,6005	1,0356
L155R	1,785	1,6802	1,1405
R160D	1,905	1,6992	1,2009
S164R	1,920	1,7747	1,4032
S168R	1,882	1,7138	1,1808
Q181R	1,909	1,7146	1,1669

P192R	1,939	1,749	1,2217
K195D	1,913	1,6531	0,992
H197G	1,851	1,6017	0,9666
Receptor de tipo salvaje	1,910	1,8555	1,6475
Control de regulador (sin receptor)	0,063	0,0625	0,0625

Ejemplo 3. Afinidad de unión y actividad funcional de los anticuerpos IL-4Rα humanos

Afinidad de unión: La afinidad de unión de los anticuerpos anti-IL-4Rα ejemplificados a IL-4Rα humana y de mono cynomolgus se midió usando un ensayo de unión ELISA de Meso Scale Discovery (MSD) de competencia. Se mezcló una concentración constante de cada anticuerpo con una serie de diluciones de 3 veces de IL-4Rα para dar una concentración final de 10 pM para cada anticuerpo 5559 y 100 pM para 5F3 y diluciones que comenzaron con 10 nM IL-4Rα para anticuerpos 5559 y 200 nM IL-4Rα para 5F3 y la mezcla se incubó a 37 °C durante 4 días. Una placa de matriz múltiple de 96 pocillos (Meso Scale Diagnostics, Cat. núm. L15XA-3) se recubrió a 4 °C durante toda la noche con 0,5 µg/ml de IL-4Rα ECD humano o de mono cynomolgus etiquetado con hexahistidina en solución salina tamponada con fosfato (PBS). Después del recubrimiento, las placas se lavaron 10 veces con 200 µl de PBST (PBS con 0,05 % de Tween® 20) y se bloquearon con 150 µl/pocillo de regulador de bloqueo de caseína PBS (Pierce, cat. núm. 37528) a 37 °C durante 1 hora. Las placas se lavaron 10 veces como antes y se transfirieron 50 µl de la serie de dilución de anticuerpo preincubado: IL-4Rα a los pocillos y se incubaron a 37 °C con agitación de 300 rpm durante 150 segundos. Las placas se lavaron 10 veces con

PBST, 50 µL de 1 µg/mL de anticuerpo antihumano sulfo-tag 20 (Meso Scale Diagnostics, Cat. núm. R32AJ-1) y las placas se incubaron a 37 °C con agitación de 300 rpm durante 30 minutos. Las placas se lavaron 10 veces con PBST, se añadieron 150 µl/pocillo de regulador de lectura 1X T a los pocillos y se analizaron en un SECTOR® Imager 6000 (Meso Scale Diagnostics) 15 min después de la adición del regulador. La KD aparente se determina ajustando una curva sigmoidal a la respuesta de electroquimioluminiscencia (ECL) frente a log (concentración de IL-4Rα soluble) usando GraphPad Prism 9. Los datos se grafican con valores ECL normalizados.

Los resultados, como se demuestra en la Tabla 4 y las Figuras 3A y 3B, muestran que las variantes del anticuerpo anti-IL-4Rα 5559 ejemplificadas tenían un aumento significativo en la afinidad de unión a IL4-Rαtanto humano como de mono cynomolgus en comparación con el anticuerpo 5F3 IgG4PAA. Específicamente, la afinidad de unión a IL4-Rα humano de las respectivas variantes de anticuerpos 5559 fueron 5559 IgG1A 124C/378C (45,08 pM), 5559 IgG4P KRQ 124C/378C (20,82 pM) y 5559 IgG4P 124C/378C (24,63 pM) en comparación con 5F3 IgG4PAA (1993 pM).

Tabla 4: Afinidades de unión de anticuerpos IL-4Rα humanos ejemplificados a IL-4Rα humano y de mono cynomolgus

Anticuerpo contra IL-4Rα	**Especies IL4-Rα**	**K_D (pM)**
5F3 IgG4PAA	Humano	1993
	Mono cynomolgus	1326
5559 IgG1A 124C/378C	Humano	45,08
	Mono cynomolgus	38,88
5559 IgG4P KRQ 124C/378C	Humano	20,82
	Mono cynomolgus	23,32
5559 IgG4P 124C/378C	Humano	24,63

	Mono cynomolgus	31,52

Unión a células B y células T: La unión de los anticuerpos IL-4Rα humanos ejemplificados a las células B y las células T se probó en un ensayo de clasificación de células activadas por fluorescencia (FACS). Se aislaron PBMC humanas de muestras de sangre humana mediante métodos de centrifugación en gradiente de densidad estándar Ficoll-Paque™ plus (GE HEALTHCARE). Las células recién aisladas las PBMC se resuspendieron a 2×10^6 células/ml y se dejaron reposar durante 15 minutos a temperatura ambiente; a continuación, se sembraron a 100 µl/pocillo en una placa de 96 pocillos de fondo redondo (COSTAR®) y se lavaron con regulador FACS (PBS con un 2 % de suero bovino fetal de Corning®). Los anticuerpos IL-4Rα humanos ejemplificados y los respectivos anticuerpos IgG de control conjugados con Alexa Fluor® 647 según el protocolo del fabricante (Thermo Fisher Scientific) se añadieron a los pocillos a 66,67 nM y se diluyeron 4 veces por duplicado. Volumen equivalente de cóctel de anticuerpos 2X que contiene: Se añadió a los pocillos un volumen equivalente de cóctel de anticuerpos 2X que contenía: TruStain FcX™ humano, anticuerpo anti-CD3 humano FITC, anticuerpo anti-CD4 humano Alexa Fluor® 700 (todos de Biolegend®) y anticuerpo monoclonal CD20 (2H7), PerCP-Cyanine5,5 (Thermo Fisher Scientific). Las células se incubaron a 4 °C durante 30 minutos, se lavaron dos veces con regulador FACS y se resuspendieron en un volumen final de 100 µl de regulador FACS. Se añadió colorante de viabilidad, SytoxTM blue (Thermo Fisher Scientific), y las muestras se analizaron mediante un citómetro de flujo (LSRFortessaTM X-20; BD

BIOSCIENCES). El análisis de datos se realizó con el software FlowJo y el análisis estadístico se realizó con GraphPad Prism 9. Los datos representan la media ± SEM del porcentaje de células que expresan IL-4Rα de las poblaciones de células CD20 B y linfocitos T positivos para CD4 de seis donantes. Las curvas se generaron ajustando una curva sigmoidal del log(concentración de Ab) frente al porcentaje de células positivas que expresan IL-4Rα de las poblaciones de células individuales.

Los resultados, como se demuestra en la Tabla 5A y las Figuras 4A y 4B, muestran que los anticuerpos IL-4Rα ejemplificados 5559 IgG1A 124C/378C y 5559 IgG4P KRQ 124C/378C se unieron con afinidad comparable a los linfocitos B aislados de PBMC humanas (EC_{50} de 0,14 nM y 0,15 nM, respectivamente) y linfocitos T CD4 (EC_{50} de 28,7 nM y 26,3 nM, respectivamente). Además, los resultados mostraron que las sustituciones de residuos de aminoácidos de KRQ y las sustituciones de residuos de aminoácidos de 124C/378C no afectaron la unión de los anticuerpos anti-IL-4Rα 5559 ejemplificados a los linfocitos B o T.

Además, como se demuestra en la Tabla 5B y la Figura 4C, el anticuerpo nulo efector 5559 IgG1AAA 124C/378C mostró una afinidad inesperadamente reducida por los linfocitos B (EC_{50} de 1,07 nM) en comparación con el anticuerpo 5559 IgG1A 124C/378C (EC_{50} de 0,27 nM), lo que indica que la porción Fc del anticuerpo puede afectar la unión del anticuerpo IL-4Rα ejemplificado a los linfocitos B.

Tabla 5A: Unión de anticuerpos IL-4Rα humanos ejemplificados a células B y T

Anticuerpo contra IL-4Rα	Células B EC_{50} (nM)	Células T EC_{50} (nM)
5559 IgG1A 124C/378C	0,14	28,7
5559 IgG4P KRQ 124C/378C	0,15	26,3

Tabla 5B: Unión de anticuerpos contra IL-4Rα humano ejemplificados a células B

Anticuerpo	Células B EC_{50} (nM)
5559 IgG1A 124C/378C	0,27
5559 IgG1AAA 124C/378C	1,07

Actividad de bloqueo de citocinas IL-4 e IL-13 basada en células: La actividad antagonista de los anticuerpos anti-IL-4Rα ejemplificados hacia IL-4 e IL-13 se realizó con la línea celular que expresa IL-4R y IL-13R HEK-Blue (InvivoGen) mediante la medición de la actividad de fosfatasa alcalina embrionaria secretada (SEAP). Las células HEK-Blue se colocaron en placas durante toda la noche a 5×10^4 células/pocillo en 50 µl de medio de crecimiento en una placa recubierta de polilisina. Anticuerpos IL-4Rα ejemplificados(5F3 IgG4PAA, 5559 IgG4P 124C/378C, 5559 IgG4P KRQ 124C/378C, 5559 IgG1A 124C/378C y 8660 IgG4P 124C/378C) se prepararon en una placa de baja unión a proteínas Greiner de 96 pocillos en diluciones de 4 veces a partir de 20 µg/mL en medio de cultivo. La serie de diluciones se mezcló con un volumen igual de IL-4 o IL-13 humana recombinante (Eli Lilly) en medios de crecimiento. Se añadieron 50 µl de la mezcla a las placas con células HEK-Blue hasta una concentración final de 100 pg/ml de IL-4 humana o 10 ng/ml de IL-13 humana y, a continuación, las placas se incubaron durante toda la noche en una incubadora de cultivo de tejidos a 37 °C. Se transfirieron 20 µL de sobrenadante de las placas incubadas durante la noche a una placa tratada con cultivo de tejidos de 96 pocillos y se agregaron 180 µL por pocillo de QUANTI-

Blue™ (InvivoGen), y la mezcla se incubó durante 45 min a 37 °C. La actividad de la fosfatasa alcalina embrionaria secretada (SEAP) se midió a 650 nm en un lector de microplacas SpectraMax (Molecular Devices). Los resultados se informaron como densidad óptica (OD) a 650 nm y el análisis estadístico se realizó con GraphPad Prism 9. IC_{50}, y las curvas se generaron ajustando una curva sigmoidal del logaritmo (concentración de Ab) frente a OD a 650 nm para cada anticuerpo ejemplificado.

Los resultados, como se demuestra en la Tabla 6 y las Figuras 5A y 5B, muestran que los anticuerpos IL-4Rα 5559 IgG1A 124C/378C, 5559 IgG4P KRQ 124C/378C y 8660 IgG4P 124C/378C ejemplificados inhibieron tanto la actividad de SEAP inducida por IL-4 (Figura 5A) como por IL-13 (Figura 5B) de una manera dependiente de la dosis. Específicamente, como se muestra en la Tabla 6 y la Figura 5A, la inhibición de la actividad de SEAP inducida por IL-4 para los anticuerpos 5559 IgG1A 124C/378C, 5559 IgG4P KRQ 124C/378C, y 8660 IgG4P 124C/378C resultó en valores IC_{50} de 0,07, 0,08 y 0,03 nM, respectivamente. Además, como se muestra en la Tabla 6 y la Figura 5B, la inhibición de la actividad de SEAP inducida por IL-13 para los anticuerpos 5559 IgG1A 124C/378C, 5559 IgG4P KRQ 124C/378C y 8660 IgG4P 124C/378C dio como resultado valores IC_{50} comparables de 0,51, 0,67 y 0,24 nM, respectivamente.

Tabla 6: Actividad de bloqueo de IL-4 e IL-13 basada en células por anticuerpos IL-4Rα humanos ejemplificados

Anticuerpo contra IL-4Rα	**IL-4 IC_{50} (nM)**	**IL-13 IC_{50} (nM)**
5F3 IgG4PAA	3,45	>35
5559 IgG1A 124C/378C	0,07	0,51

5559 IgG4P KRQ 124C/378C	0,08	0,67
8660 IgG4P 124C/378C	0,03	0,24

Inhibición de la fosforilación de pSTAT6 inducida por IL-4 e IL-13 en PBMC humanas: La inhibición de la fosforilación de pSTAT6 de IL-4R mediada por IL-4 e IL-13 por los anticuerpos anti-IL-4Rα ejemplificados se evaluó en células B y/o T primarios. Se aislaron PBMC humanas de muestras de sangre humana mediante métodos de centrifugación en gradiente de densidad estándar Ficoll-Paque™ plus (GE HEALTHCARE). Las células aisladas se resuspendieron a 100-300 millones de células en 100 ml de medio completo (RPMI-1640 con 10 % de FBS, 1 % de solución de penicilina-estreptomicina, de Corning®, y 1 % de GlutaMAXTM y 0,1 % de β-mercaptoetanol de GibcoTM) en un matraz T175 (FALCON) y se estimularon con 2 µg/ml de PHA (SIGMA), 0,5 µg/ml de LPS (SIGMA) y 100 ng/ml de IL-6 humana recombinante durante la noche. Las células se lavaron con medio fresco y se sembraron a 5×10^4 a 2×10^5 células/pocillo en placas de fondo redondo de 96 pocillos (Corning®) en 100 µl de medio completo que contenían los anticuerpos ejemplificados a 10 µg/ml diluidos a la baja en una dilución cuádruple y titulación de 11 puntos. Las células se incubaron con los anticuerpos durante 30 minutos a temperatura ambiente y luego se estimularon con 120 ng/mL (concentración 6X) de IL-4 recombinante humana o IL-13 recombinante humana (R&D SYSTEMS) en 20 µL de medio completo durante 12 minutos a temperatura ambiente. La estimulación se detuvo mediante la adición de 120 µl de regulador 1X Lyse/Fix (BD BIOSCIENCES) durante 5 minutos, luego las placas se centrifugaron a 2000 rpm durante 2 minutos y se aspiró el sobrenadante. Los

sedimentos celulares se resuspendieron en 100 µL de metanol enfriado con hielo (SIGMA) y se colocaron en hielo durante 20 minutos y se lavaron con DPBS que contenía FBS al 2 % (Corning®). Las células se resuspendieron en 50 µl de cóctel de anticuerpos contra las siguientes proteínas: CD4, CD33, CD8 y CD3 (Thermo Fisher Scientific), STAT6 fosforilada (Biolegend®) y CD20 (BD BIOSCIENCES) y se incubaron durante 30 minutos a temperatura ambiente y después se lavaron con DPBS que contenía un 2 % de FBS. Las muestras de células se analizaron utilizando un citómetro de flujo. El análisis se realizó con el software FlowJo y el análisis estadístico se realizó con GraphPad Prism 9. Las curvas se generaron ajustando una curva sigmoidal del log (concentración de Ab) frente al porcentaje de inhibición de STAT6 fosforilado de las poblaciones de células individuales de dos donantes.

Los resultados, como se demuestra en la Tabla 7 y las Figuras 6A y 6B, muestran que los anticuerpos IL-4Rα ejemplificados inhibieron la fosforilación de STAT6 inducida por IL-4 tanto en los linfocitos T CD4+ (Figura 6A) como en los linfocitos B (Figura 6B) de una manera dependiente de la dosis. Específicamente, los valores IC_{50} para la inhibición de la fosforilación de pSTAT6 inducida por IL-4 por los anticuerpos 5559 IgG1A 124C/378C y 5559 IgG4P KRQ 124C/378C ejemplificados fueron 0,07 µg/ml en los células T CD4, y 0,05 µg/ml en los células B para ambos anticuerpos.

Además, los resultados, como se demuestra en la Tabla 8 y la Figura 6C, muestran que los anticuerpos IL-4Rα ejemplificados también inhibían la fosforilación de STAT6 inducida por IL-13 en linfocitos B (Figura 6C) de una manera dependiente

de la dosis. Específicamente, los valores IC_{50} para la inhibición de la fosforilación de pSTAT6 inducida por IL-13 en linfocitos B por los anticuerpos 5559 IgG1A 124C/378C y 5559 IgG4P KRQ 124C/378C fue de 0,06 µg/mL para ambos anticuerpos.

Tabla 7: Inhibición de la fosforilación de STAT6 inducida por IL-4 en células T y B humanos mediante anticuerpos IL4Rα humanos ejemplificados

Anticuerpo contra IL-4Rα	Inhibición de la fosforilación de STAT6	
	Linfocitos T IC_{50} (nM)	Células B IC_{50} (nM)
5559 IgG1A 124C/378C	0,07	0,05
5559 IgG4P KRQ 124C/378C	0,07	0,05

Tabla 8: Inhibición de la fosforilación de STAT6 inducida por IL-13 en células B humanos mediante anticuerpos IL4Rα humanos ejemplificados

Anticuerpo contra IL-4Rα	Inhibición de la fosforilación de STAT6 en células B IC_{50} (µg/ml)
5559 IgG1A 124C/378C	0,06
5559 IgG4P KRQ 124C/378C	0,06

Inhibición de la proliferación de células B inducida por IL-4. La inhibición de la proliferación de células B por los anticuerpos IL-4Rα humanos ilustrados se evaluó en células B primarias aisladas de PBMC humanas. Las PBMC humanas se aislaron de muestras de sangre humana mediante métodos estándar de centrifugación en gradiente de densidad Ficoll-PaqueTM plus (GE HEALTHCARE), y las células B primarias se aislaron de la suspensión de PBMC mediante selección negativa con el kit EasySepTM Human Naïve B cell Enrichment de acuerdo con el protocolo del fabricante (STEMCELL™ Technologies). Las células B primarias humanas aisladas se

resuspendieron a 1 × 10^6 células/ml y se sembraron en placas de poliestireno de 96 pocillos, fondo en U, en medio completo (RPMI-1640 con 10 % de suero bovino fetal, 1X MEM-aminoácidos no esenciales, 1 mM de piruvato sódico, 1X solución de penicilina-estreptomicina (todo de Corning®) y 1X GlutaMAXTM (GibcoTM), 0,1 % de β-mercaptoetanol (Life Technologies). Las células se pretrataron con anticuerpos anti-IL-4Rα o control de isotipo durante 0,5-1 hora a 66,67 nM diluidos 4 veces y titulación de 10 puntos. Las células se estimularon con anticuerpo humano de CD40/TNFRSF5 (200 ng/ml; R&D SYSTEMS) y con proteína humana recombinante IL-4 (5 ng/ml; R&D SYSTEMS) durante 2 días a 37 °C con 5 % de CO_2. Después, las células se pulsaron con [^{3}H] -timidina (1 m Ci timidina/pocillo; PerkinElmer®) durante 18 horas a 37 °C y nivel de incorporación de [^{3}H]-timidina se midió con un contador de microplacas (MicroBeta²; PerkinElmer®) y se expresa como un recuento celular por minuto (CCPM). El análisis estadístico se realizó con GraphPad Prism 9 y las curvas se generaron se generaron ajustando una curva sigmoidal del log(concentración de Ab) frente al CCPM.

Los resultados, como se demuestra en la Tabla 9 y la Figura 7, muestran que los anticuerpos IL-4Rα ejemplificados inhibían la proliferación de células B inducida por IL-4 de una manera dependiente de la dosis. Específicamente, la IC_{50} para la inhibición de la proliferación de linfocitos B inducida por IL-4 por los anticuerpos 5559 IgG1A 124C/378C y 5559 IgG4P KRQ 124C/378C fue de 0,95 nM y 1,32 nM, respectivamente.

Tabla 9: Inhibición de la proliferación de células B inducida por IL-4 por anticuerpos IL4Rα humanos ejemplificados

Anticuerpo contra IL-4Rα	Inhibición de la proliferación de células B IC_{50} (nM)
5559 IgG1A 124C/378C	0,95
5559 IgG4P KRQ 124C/378C	1,32

Inhibición de la expresión de CD23 inducida por IL-4 e IL-13 en células mieloides:

La inhibición de la expresión de CD23 inducida por IL-4 e IL-13 por los anticuerpos IL 4Rα humanos ejemplificados se evaluó en células mieloides. Se aislaron PBMC humanas de muestras de sangre humana mediante métodos de centrifugación en gradiente de densidad estándar Ficoll-Paque™ plus (GE HEALTHCARE). Las células se sembraron a razón de 2×10^5 células/pocillo en una placa de fondo plano de 96 pocillos. Se añadieron a los pocillos 50 µL de anticuerpos diluidos en serie 3X y se incubaron a 37 °C con CO_2 al 5 % durante 30 minutos. A continuación, se añadieron a los pocillos 50 µL de estimulación 3X de IL-4 o IL-13 humana recombinante (R&D SYSTEMS) en medios completos hasta una concentración final de 10 ng/mL. Las placas se incubaron a 37 °C con un 5 % de CO_2 durante 48 horas, las células se lavaron y se resuspendieron en regulador FACS que contenía anticuerpo anti CD33 humano TruStain FcX™, anticuerpo anti CD3 humano Violeta brillante 785™, anticuerpo anti CD3 humano FITC (de Biolegend®), anticuerpo monoclonal CD20 (2H7) PerCP-Cyanine5,5, y anticuerpo monoclonal CD23 (EBVCS2), APC (de Thermo Fisher Scientific). Las células se incubaron a 4 °C durante 30 minutos, se lavaron dos veces con regulador FACS y se resuspendieron en un volumen final de 100 µL de

regulador FACS. Se añadió a los pocillos colorante de viabilidad azul Sytox™ (Thermo Fisher Scientific) y las muestras se analizaron mediante un citómetro de flujo (LSRFortessa™ X-20; BD BIOSCIENCES). El análisis de datos se realizó con el software FlowJo. Las células mieloides se identificaron como células Sytox™ blue, CD3 y CD20 negativas, CD33 positivas. Los datos se presentaron como ajustes de curvas sigmoidales del porcentaje de inhibición frente al log(concentración de Ab) de dos donantes y el análisis estadístico se realizó con GraphPad Prism 9.

Los resultados, como se demuestra en la Tabla 10 y las Figuras 8A y 8B, muestran que los anticuerpos IL-4Rα ejemplificados inhibieron la expresión de CD23 inducida tanto por IL-4 (Figura 8A) como por IL-13 (Figura 8B) en células mieloides. Específicamente, los valores IC_{50} para la inhibición de la expresión de CD23 inducida por IL-4 por los anticuerpos 5559 IgG1A 124C/378C and 5559 IgG4P KRQ 124C/378C fueron 4,44 nM y 18,25 nM, respectivamente. Además, los valores IC_{50} para la inhibición de la expresión de CD23 inducida por IL-13 por los anticuerpos 5559 IgG1A 124C/378C and 5559 IgG4P KRQ 124C/378C fueron 1,28 nM y 5,37 nM, respectivamente.

Tabla 10. Inhibición de la expresión de CD23 inducida por IL-4 e IL-13 en células mieloides por anticuerpos IL-4Rα humanos ejemplificados

Anticuerpo contra IL-4Rα	**Inhibición de la expresión de CD23**	
	IL-4 IC_{50} (nM)	**IL-13 IC_{50} (nM)**
5559 IgG1A 124C/378C	4,44	1,28
5559 IgG4P KRQ 124C/378C	18,25	5,37

Ejemplo 4. Actividad de función efectora de los anticuerpos IL-4Rα humanos

Unión al receptor Fcγ humano. La afinidad de unión de los anticuerpos anti-IL-4Rα ejemplificados a los receptores Fcγ humanos se evaluó mediante un análisis de resonancia de plasmón superficial (SPR). Se preparó un chip CM5 serie S (Cytiva P/N BR100530) usando el método de acoplamiento de amina EDC/NHS del fabricante (Cytiva P/N BR100050). Brevemente, las superficies de las 4 celdas de flujo (FC) se activaron inyectando una mezcla 1:1 de EDC/NHS durante 7 minutos a 10 µl/minuto. La proteína A (Calbiochem P/N 539202) se diluyó a 100 µg/ml en acetato 10 mM, regulador de pH 4,5 y se inmoviliza durante aproximadamente 4000 RU en las 4 FC mediante inyección de 7 minutos a una velocidad de flujo de 10 µl/minuto. Los sitios sin reaccionar se bloquearon con una inyección de etanolamina de 7 minutos a 10 µl/minuto. Se usaron inyecciones de 2 x 10 µl de glicina pH 1,5 para eliminar cualquier proteína asociada de manera no covalente. El regulador de ejecución fue 1x HBS-EP+ (TEKNOVA, P/N H8022). Los dominios extracelulares (ECD) de FcγR -FcγRI (CD64), FcγRIIA_131R y FcγRIIA_131H (CD32a), FcγRIIIA_158V, FcγRIIIA_158F (CD16a) y FcγRIIb (CD32b) se produjeron a partir de la expresión estable de células CHO y se purificaron usando IgG Sepharose y cromatografía de exclusión por tamaño. Para la unión de FcγRI, los anticuerpos se diluyeron a 2,5 µg/ml en amortiguador de procesamiento y se capturaron aproximadamente 150 RU de cada anticuerpo en las FC 2 a 4 (RU capturadas). FC1 era el FC de referencia, por lo que no se capturó ningún anticuerpo en FC1. FcγRI ECD se diluyó a 200 nM en

amortiguador de corrida y a continuación se diluye dos veces en serie en amortiguador de corrida a 0,78 nM. Se inyectaron inyecciones duplicadas de cada concentración sobre todas las FC a 40 µl/minuto durante 120 segundos seguido de una fase de disociación de 1200 segundos. La regeneración se realizó inyectando 15 µl de glicina 10 mM, pH 1,5, a 30 µl/minuto sobre todas las FC. Los datos sustraídos de referencia se recopilaron como FC2 FC1, FC3-FC1 y FC4-FC1 y las mediciones se obtuvieron a 25 °C. La afinidad (KD) se calculó usando un análisis de equilibrio en estado estacionario con el software de evaluación Scrubber 2 Biacore o un modelo de “unión 1:1 (Langmuir)” en la evaluación BIA. Para la unión a FcγRIIa, FcγRIIb y FcγRIIIa, los anticuerpos se diluyeron a 5 µg/ml en regulador de corrida, y se capturaron aproximadamente 500 RU de cada anticuerpo en las FC 2 a 4. FC1 fue la FC de referencia. Los ECD del receptor Fcγ se diluyeron a 10 µM en el regulador de corrida y después se diluyeron 2 veces en serie en el regulador de corrida a 39 nM. Se inyectaron inyecciones duplicadas de cada concentración sobre todas las FC a 40 µl/minuto durante 60 segundos, seguido de una fase de disociación de 120 segundos. La regeneración se realizó inyectando 15 µl de glicina 10 mM, pH 1,5, a 30 µl/minuto sobre todas las FC. Los datos sustraídos de referencia se recopilaron como FC2-FC1, FC3-FC1 y FC4-FC1, y las mediciones se obtuvieron a 25 °C. La afinidad (KD) se calculó usando el análisis de equilibrio en estado estacionario con el software de evaluación Scrubber 2 Biacore. Cada receptor se analizó al menos dos veces.

Los resultados, como se demuestra en la Tabla 11, resumen las afinidades de unión (K_D) de los anticuerpos IL-4Rα 5559 IgG4P KRQ 124C/378C and 5559 IgG1A 124C/378C ejemplificados a ECD de receptores FcγRI, FcγRIIa, FcγRIIb y FcγRIIIa humanos.

Tabla 11. Afinidades de unión de anticuerpos IL-4Rα humanos ejemplificados a receptores Fcγ humanos

Receptor Fcγ	Hu IgG1		Hu IgG4 SP		5559 IgG4P KRQ 124C/378C		5559 IgG1A 124C/378C	
	Media K_D	Desviación estándar	Media K_D	Desviación estándar	Media K_D	Desviación estándar	Media K_D	Desviación estándar
FcγRI	52,1 pM	2,1	418,7 pM	16,5	442,3 pM	21,4	42,8 pM	3,9
FcγRIIA_131H	0,68 μM	0	5,31 μM	0,03	3,75 μM	0,11	1,24 μM	0,01
FcγRIIA_131R	0,74 μM	0	2,31 μM	0,07	1,67 μM	0,06	0,78 μM	0,03
FcγRIIb	3,11 μM	0,1	2,78 μM	0,42	2,05 μM	0,2	3,02 μM	0,34
FcγRIIIA_158V	0,20 μM	0,01	7,35 μM	0,84	6,22 μM	0,8	0,44 μM	0,01
FcγRIIIA_158F	1,29 μM	0,04	>10 μM		>10 μM		2,63 μM	0,18

Unión C1q La unión de los anticuerpos anti-IL-4Rα ejemplificados a C1q humano fue evaluada por ELISA. Se recubrieron microplacas de 96 pocillos con 100 μl/pocillo de cada anticuerpo ejemplificado diluido en DPBS (HyClone de Dulbecco) de 10 μg/mL a 0,19 μg/mL, y se incubaron durante la noche a 4 °C. Se eliminó el reactivo de recubrimiento, las placas se bloquearon con 200 μl/pocillo de regulador de bloqueo de caseína (Thermo) y se incubaron durante 2 horas a temperatura ambiente (TA). Las placas se lavaron 3 veces con regulador de lavado (1 x TBE con Tween 20 al 0,05 %) y se añadieron 10 μg/mL de C1q humano (MS Biomedical) diluido en reactivo de bloqueo de caseína a 100 μL/pocillo y se incubaron durante 3 horas a TA. Los anticuerpos de control de

isotipo IgG1 humanizada e IgG4P humanizada se utilizaron como controles positivo y negativo respectivamente. Las placas se lavaron tres veces con amortiguador de lavado y se agregó 100 µl/cavidad de una dilución 1:800 veces de anti-C1q-HRP humano en oveja (Abcam núm. ab46191) en bloqueador de caseína y se incubó durante 1 hora a TA. Luego las placas se lavaron 6 veces con amortiguador de lavado y se agregó 100 µl/cavidad de sustrato TMB (Pierce) a cada cavidad y se incubó durante 7 minutos. Se añadieron 100 µl/pocillo de HCl 1 N para detener la reacción. La densidad óptica se midió inmediatamente a 450 nm en un lector de microplacas colorimétrico. Los datos se analizaron utilizando el software de adquisición y análisis de datos SoftMax Pro 7.1.

Los resultados, como se demuestra en la Figura 9, muestran que los anticuerpos ejemplificados 5559 IgG1A 124C/378C, y 5559 IgG4P KRQ 124C/378C no se unieron al componente del complemento C1q.

Citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos (ADCC): Los ensayos ADCC in vitro de los anticuerpos ejemplificados se evaluaron con un ensayo ADCC basado en un gen informador o con un ensayo ADCC basado en células NK y Th2 humanas primarias.

Para el ensayo ADCC basado en el gen informador, se usaron células Daudi (ATCC, núm. CCL-213) que expresan IL-4Rα humano y CD20 humano como línea celular diana y células Jurkat que expresan FcγRIIIa (V158)-NFAT-Luc funcional (Eli Lilly and Company) como línea celular efectora. Todos los anticuerpos y células de prueba se diluyeron en medio de ensayo que contenía

RPMI-1640 (sin rojo fenol) con aminoácidos no esenciales (NEAA) 0,1 mM, piruvato de sodio 1 mM, L-glutamina 2 mM, 500 U/ml de penicilina-estreptomicina, y 0,1 % p/v de BSA. Primero se diluyeron los anticuerpos de prueba a una concentración 3X de 3,3 µg/ml y después se diluyeron en serie 7 veces en una proporción de 1:4. Se tomaron alícuotas de 50 µl/pocillo de cada anticuerpo por duplicado en una placa de 96 pocillos de fondo blanco opaco (Costar, núm. 3917). El anticuerpo CD20 se utilizó como control positivo. Se añadieron células diana Daudi a las placas a 5×10^4 células/pocillo en alícuotas de 50 µl y se incubaron durante 1 hora a 37 °C. Se agregaron células Jurkat V158 a los pocillos a 150.000 células/pocillo en alícuotas de 50 µl y se incubaron durante 4 horas a 37 °C, seguido de la adición de 100 µl/pocillo de sustrato de luciferasa One-Glo (Promega, núm. E8130). Los contenidos de las placas se mezclaron mediante el uso de un agitador de placas a baja velocidad, se incubaron a temperatura ambiente durante 5 minutos y la señal de luminiscencia se leyó en un lector de microplacas BioTek (BioTek Instruments) mediante el uso de integración de 0,2 cps. Los datos se analizaron con GraphPad Prism 9 y las unidades relativas de luminiscencia (RLU) para cada concentración de anticuerpo se representaron gráficamente en un formato de dispersión de concentración de anticuerpo frente a RLU. Los resultados fueron representativos de dos experimentos independientes.

Para el ensayo de ADCC basado en células NK y Th2 humanas primarias, se usaron linfocitos B humanos primarios y linfocitos Th2 humanas cocultivadas con células NK humanas primarias. Las células B primarias humanas, las células NK y las

células T CD4 ingenuas se aislaron a partir de PBMC humanas recién purificadas mediante selección negativa inmunomagnética, de acuerdo con los protocolos del fabricante (Human B cell Enrichment Kit, Stemcell Technologies núm. 19054; Kit de aislamiento de células NK humanas, Stemcell Technologies núm. 17955; Kit II de aislamiento de células T CD4 sin tratamiento previo humano, Stemcell Technologies núm. 17555). Las células Th2 humanas se diferenciaron in vitro, por cultivo de células T CD4 vírgenes purificados con CD3 antihumano (BioXCell núm. BE0001-2), CD28 antihumano (BioLegend núm. 302934), IFNγ antihumano (R&D Systems núm. MAB285-500), IL-2 humana recombinante (R&D Systems núm. 202-IL-050/CF) e IL-4 humana recombinante (R&D Systems núm. 6507-IL-100/CF), durante 14 días. Se utilizó la tinción de citometría de flujo para evaluar la pureza celular en un analizador de células BD LSRFortessa. Se confirmó que las células NK eran $CD56^+$ (CD56-PE/Dazzle-594 antihumano, BioLegend núm. 318348) y $FcγRIII^+$ (anti-CD16-SuperBright-702 humano, Fisher Scientific núm. 67-0168-42), se confirmó que los linfocitos B eran $CD19^+$ (anti-CD19-PE-Cy5 humano, Fisher Scientific núm. 15-0199-42) e $IL\text{-}4Rα^+$ (5559-Alexa Fluor-647, Lilly), y se confirmó que las células Th2 eran $CD4^+$ (anti-CD4-eFluor-450 humano, Fisher Scientific núm. 48-0047-42), $GATA3^+$ (anti GATA3-PerCP/Cyanine5,5 humano, BioLegend núm. 653812) e $IL\text{-}4Rα^+$. Se trataron $5 × 10^4$ linfocitos B o células Th2/pocillo con 30 µg/mL o 5 µg/mL de anticuerpo 5559 IgG1 A 124C/378C, respectivamente, y se cocultivaron con 250 000 células NK durante 24 horas, a 37 °C. Los pocillos de control positivo se trataron con un anticuerpo anti-CD52 humano (Eli Lilly and Company). La ADCC se midió usando el ensayo de

citotoxicidad CytoTox-Glo (Promega núm. G9292), según el protocolo del fabricante. La luminiscencia relativa se detectó utilizando un lector multimodo de imágenes Biotek Cytation 5. Los datos son representativos de tres réplicas técnicas por donante. El análisis estadístico se realizó con GraphPad Prism 9. Los datos representan la media + DE de las unidades relativas de luminiscencia. Las diferencias de tratamiento se evaluaron usando ANOVA unidireccional para cada tipo de célula individualmente y las comparaciones grupales contra el grupo No Ab se evaluaron usando la prueba de Tukey para comparaciones múltiples, con un nivel de significancia de 0,05.

Los resultados del ensayo basado en el gen informador, como se demuestra en la Figura 10A, muestran que los anticuerpos IL-4Rα ejemplificados 5559 IgG1A 124C/378C, 5559 IgG4P KRQ 124C/378C y 5559 IgG4P 124C/378C carecían significativamente o no tenían actividad ADCC, cuando se compara con el control positivo.

Además, los resultados del ensayo ADCC basado en células NK y Th2 humanas primarias, como se demuestra en la Figura 10B, muestran que el anticuerpo IL-4Rα 5559 IgG1A 124C/378C ejemplificado no indujo actividad ADCC en células B humanas primarias y células Th2 humanas en comparación con el control positivo que demostró una actividad ADCC significativa tanto en células B humanos primarios ($p<0,0001$) como en células Th2 ($p=0,032$) en comparación con los grupos de control negativo.

Citotoxicidad celular dependiente del complemento (CDC): Los ensayos CDC in vitro de los anticuerpos ejemplificados se realizaron utilizando células Daudi

(ATCC, núm. CCL-213). Todos los anticuerpos, el complemento y las células de la prueba se diluyeron en un medio de ensayo que consistía en RPMI-1640 (sin rojo de fenol) con aminoácidos no esenciales (NEAA) 0,1 mM, piruvato de sodio 1 mM, L-glutamina 2 mM, 500 U/ml de penicilina-estreptomicina y 0,1 % p/v de BSA. Primero se diluyeron los anticuerpos de prueba a una concentración 3X de 100 µg/ml y después se diluyeron en serie 7 veces en una proporción de 1:4. Se tomaron alícuotas de 50 µL/pocillo de cada anticuerpo (incluido el anticuerpo de control positivo CD20) por duplicado en una placa de 96 pocillos de fondo blanco opaco (Costar, núm. 3917). Se añadieron células diana Daudi a 5×10^4 células/pocillo a 50 µl/pocillo y se incubaron durante 1 hora a 37 °C. Después, el complemento de suero humano (Quidel, núm. A113) rápidamente descongelado en un baño de agua a 37 °C se diluyó 1:6 en medio de ensayo y se añadió a la placa de ensayo a 50 µl/pocillo. La placa se incubó durante 2 horas a 37 °C, seguido de la adición de 100 µl/pocillo de sustrato CellTiter Glo (Promega, núm. G7571). Los contenidos de las placas se mezclaron mediante el uso de un agitador de placas a baja velocidad, se incubaron a temperatura ambiente durante 5 minutos y la señal de luminiscencia se leyó en un lector de microplacas BioTek (BioTek Instruments) mediante el uso de integración de 0,2 cps. Los datos se analizaron con GraphPad Prism 9 y las unidades relativas de luminiscencia (RLU) para cada concentración de anticuerpo se representaron gráficamente en un formato de dispersión de concentración de anticuerpo frente a RLU. Los resultados son representativos de dos experimentos independientes.

Los resultados como se demuestra en la Figura 11, muestran que los anticuerpos IL-4Rα ejemplificados 5559 IgG1A 124C/378C, 5559 IgG4P KRQ 124C/378C y 5559 IgG4P 124C/378C no indujeron actividad de CDC en comparación con el control positivo.

Ejemplo 5. Propiedades biofísicas de los anticuerpos IL-4Rα humanos

Se evaluaron las propiedades biofísicas de los anticuerpos IL-4Rα humanos 5559 IgG1A, 5559 IgG1A 124C/378C, 5559 IgG4P 124C/378C, and 5559 IgG4P KRQ 124C/378C ejemplificados.

Agregación del cultivo celular: Los anticuerpos ejemplificados se expresaron transitoriamente en células CHO. Los títulos de anticuerpos y el porcentaje de especies de alto peso molecular (% HMW) después de la purificación por cromatografía de afinidad con proteína A se enumeran en la Tabla 12. Los resultados, como se demuestra en la Tabla 12, muestran que la incorporación de las cisteínas manipuladas en los anticuerpos ejemplificados, o la introducción de las mutaciones KRQ en el anticuerpo 5559 IgG4P ejemplificado, no tuvo un impacto significativo en el título de anticuerpos o la agregación de anticuerpos.

Viscosidad: Las muestras de anticuerpos ejemplificados se concentraron a aproximadamente 125 mg/ml en una matriz reguladora de formulación común a pH 6 que contenía histidina 5 mM con excipientes. La viscosidad de cada anticuerpo se midió usando VROC® initium (RheoSense) a 15 °C usando el promedio de 9 mediciones repetidas. Como se demuestra en la Tabla 12, los resultados muestran

que los anticuerpos 5559 IgG4P KRQ 124C/378C y 5559 IgG4P GNKRQ 124C/378C exhibieron una viscosidad significativamente mejorada de 11,6 cP y 9,6 cP respectivamente, en comparación con el 5559 IgG4P 124C/378C que carece de las sustituciones de residuos de aminoácidos KRQ. Los resultados mostraron además que los anticuerpos 5559 IgG4P KRQ 124C/378C y 5559 IgG4P GNKRQ 124C/378C tenían una viscosidad comparable a la del anticuerpo 5559 IgG1A 124C/378C. La baja viscosidad de los anticuerpos ejemplificados indicó una propiedad deseable de capacidad de desarrollo de los anticuerpos.

Estabilidad térmica: Se usó calorimetría diferencial de barrido (DSC) para evaluar la estabilidad de los anticuerpos ejemplificados frente a la desnaturalización térmica. Las temperaturas de fusión térmica de los anticuerpos en PBS, regulador de pH 7,2 se enumeran en la Tabla 12. Aunque las temperaturas de transición térmica para cada dominio no se resolvieron bien en las construcciones IgG1 o IgG4P, los datos, como se demuestra en la Tabla 12 y las Figuras 12A y 12B, muestran que la incorporación de las cisteínas diseñadas en los anticuerpos ejemplificados, o la introducción de las mutaciones KRQ en el anticuerpo 5559 IgG4P ejemplificado no afectaron negativamente a la estabilidad térmica de los anticuerpos ni alteraron su integridad estructural.

Agregación sobre estrés de temperatura: La estabilidad de la solución de los anticuerpos ejemplificados con el tiempo se evaluó a aproximadamente 100 mg/ml en un regulador común de histidina 5 mM pH 6,0 con excipientes. Las muestras concentradas se incubaron durante un período de 4 semanas a 5 °C y 35 °C,

respectivamente. Después de la incubación, las muestras se analizaron para determinar el porcentaje de especies de alto peso molecular (% HMW) con cromatografía de exclusión por tamaño (SEC). Los resultados ejemplares, como se demuestra en la Tabla 12, muestran que la incorporación de las cisteínas manipuladas en los anticuerpos ejemplificados, o la introducción de las mutaciones KRQ en el anticuerpo 5559 IgG4P ejemplificado, no impactó en el perfil de agregación de los anticuerpos durante un período de tiempo de 4 semanas a 5 °C o 35 °C; específicamente, los resultados ejemplares muestran que los anticuerpos tienen una estabilidad de solución comparable.

Tabla 12. Propiedades biofísicas ejemplares de anticuerpos IL-4Rα humanos ejemplificados

	5559 IgG1A	**5559 IgG1A 124C/378C**	**5559 IgG4P 124C/378C**	**5559 IgG4P KRQ 124C/378C**	**5559 IgG4P GNKRQ 124C/378C**
Título de tCHO (g/L)	1,0	1,0	1,1	0,9	
% de HMW posterior a la cromatografía de proteína A	0,8	0,9	1,2	1	
Viscosidad (cP)	7,9	9,2	43	11,6	8,7
T_{inicio} (°C)	60,8	61,3	59,0	59,1	
Tm1 (°C)	69,8	69,5	69,8	69,9	
Tm2 (°C)	81,7	83,4	-	-	
% HMW después de 4 semanas de incubación a 5 ºC	0,8	1,4	0,1	0,2	
% HMW después de 4 semanas de incubación a 35 °C	1,7	3,0	2,4	2,2	

LISTADO DE SECUENCIAS

5559 IgG1A 124C/378C

Sec. con núm. de ident.: 1 HCDR1 (North) para 5559 IgG1A, 5559 IgG1A 124C/378C, 5559 IgG4P, 5559 IgG4P 124C/378C, 5559 IgG4P KRQ, 5559 IgG4P KRQ 124C/378C, 5559 IgG4P GNKRQ 124C/378C, y 5559 IgG1AAA 124C/378C

VASGFTFSHSSMN

Sec. con núm. de ident.: 2 HCDR2 (North) para 5559 IgG1A, 5559 IgG1A 124C/378C, 5559 IgG4P, 5559 IgG4P 124C/378C, 5559 IgG4P KRQ, 5559 IgG4P KRQ 124C/378C, 8660 IgG4P 124C/378C, 5559 IgG4P GNKRQ 124C/378C, y 5559 IgG1AAA 124C/378C

YISRATGAVY

Sec. con núm. de ident.: 3 HCDR3 (North) para 5559 IgG1A, 5559 IgG1A 124C/378C, 5559 IgG4P, 5559 IgG4P 124C/378C, 5559 IgG4P KRQ, 5559 IgG4P KRQ 124C/378C, 8660 IgG4P 124C/378C, 5559 IgG4P GNKRQ 124C/378C, 5559 IgG1AAA 124C/378C, y 5F3 IgG4PAA

AREPVFDY

Sec. con núm. de ident.: 4 LCDR1 (North) para 5559 IgG1A, 5559 IgG1A 124C/378C, 5559 IgG4P, 5559 IgG4P 124C/378C, 5559 IgG4P KRQ, 5559 IgG4P KRQ 124C/378C, 5559 IgG4P GNKRQ 124C/378C, y 5559 IgG1AAA 124C/378C

RASQDISNYLA

Sec. con núm. de ident.: 5 LCDR2 (North) para 5559 IgG1A, 5559 IgG1A 124C/378C, 5559 IgG4P, 5559 IgG4P 124C/378C, 5559 IgG4P KRQ, 5559 IgG4P KRQ 124C/378C, 8660 IgG4P 124C/378C, 5559 IgG4P GNKRQ 124C/378C, 5559 IgG1AAA 124C/378C, y 5F3 IgG4PAA

YAASSLQS

Sec. con núm. de ident.: 6 LCDR3 (North) para 5559 IgG1A, 5559 IgG1A 124C/378C, 5559 IgG4P, 5559 IgG4P 124C/378C, 5559 IgG4P KRQ, 5559 IgG4P KRQ 124C/378C, 8660 IgG4P 124C/378C, 5559 IgG4P GNKRQ 124C/378C, y 5559 IgG1AAA 124C/378C

LQWSSYPRT

Sec. con núm. de ident.: 7 VH para 5559 IgG1A, 5559 IgG1A 124C/378C, 5559 IgG4P, 5559 IgG4P 124C/378C, 5559 IgG4P KRQ, 5559 IgG4P KRQ 124C/378C, 5559 IgG4P GNKRQ 124C/378C, y 5559 IgG1AAA 124C/378C

QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCVASGFTFSHSSMNWVRQAPGKGLEWVSYISR
ATGAVYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRDEDTAVYYCAREPVFDYWGQ
GTLVTVSS

Sec. con núm. de ident.: 8 VL para 5559 IgG1A, 5559 IgG1A 124C/378C, 5559 IgG4P, 5559 IgG4P 124C/378C, 5559 IgG4P KRQ, 5559 IgG4P KRQ 124C/378C, 5559 IgG4P GNKRQ 124C/378C, y 5559 IgG1AAA 124C/378C

DIQMTQSPSAMSASVGDRVTITCRASQDISNYLAWFQQKPGKVPTRLIYAASSLQ
SGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPEDFATYYCLQWSSYPRTFGQGTKVEIK

Sec. con núm. de ident.: 9 HC para 5559 IgG1A 124C/378C

QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCVASGFTFSHSSMNWVRQAPGKGLEWVSYISRAT
GAVYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRDEDTAVYYCAREPVFDYWGQGTL
VTVSSASTKGPCVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVH
TFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHT
CPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDG
VEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCAVSNKALPAPIEKTISK
AKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDICVEWESNGQPENNYKT
TPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

Sec. con núm. de ident.: 10 LC para 5559 IgG1A, 5559 IgG1A 124C/378C, 5559 IgG4P, 5559 IgG4P 124C/378C, 5559 IgG4P KRQ, 5559 IgG4P KRQ 124C/378C, 5559 IgG4P GNKRQ 124C/378C, y 5559 IgG1AAA 124C/378C

DIQMTQSPSAMSASVGDRVTITCRASQDISNYLAWFQQKPGKVPTRLIYAASSLQ
SGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPEDFATYYCLQWSSYPRTFGQGTKVEIKRTV

AAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTE
QDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

Sec. con núm. de ident.: 11 HC ADN para 5559 IgG1A 124C/378C

CAGGTACAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCC
TGAGACTCTCCTGTGTCGCCTCTGGATTCACCTTCAGTCATTCTAGCATGAACTG
GGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTTTCATACATTAGTCGTG
CTACTGGTGCCGTCTACTACGCAGACTCTGTAAAGGGCCGATTCACCATCTCCA
GAGATAATGCCAAAAACTCACTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGACGAGG
ACACGGCTGTGTATTACTGTGCGAGAGAGCCGGTTTTTGACTACTGGGGCCAGG
GAACCCTGGTCACCGTCTCCTCAGCTAGCACCAAGGGCCCATGCGTCTTCCCC
CTGGCACCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCT
GGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCGTGGAACTCAGGCGCAC
TGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCCTACAGTCCTCAGGACTCTACT
CCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTAC
ATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAG
CCCAAATCTTGTGACAAAACTCACACATGCCCACCGTGCCCAGCACCTGAACTC
CTGGGGGGACCGTCAGTCTTCCTCTTCCCCCCAAAACCCAAGGACACCCTCATG
ATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGA
CCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTATGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAA
GACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCC
TCACCGTCCTGCACCAAGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCGCCGTC

TCCAACAAAGCCCTCCCAGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGG
CAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATGAC
CAAGAACCAAGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACAT
CTGCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACTACAAGACCACGC
CTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCCTCTATTCCAAGCTCACCGTGG
ACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAG
GCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGCAAA

Sec. con núm. de ident.: 12 LC ADN para 5559 IgG1A, 5559 IgG1A 124C/378C, 5559 IgG4P, 5559 IgG4P 124C/378C, 5559 IgG4P KRQ, 5559 IgG4P KRQ 124C/378C, 5559 IgG4P GNKRQ 124C/378C, y 5559 IgG1AAA 124C/378C

GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCTGCCATGTCTGCATCTGTGGGAGACAGA
GTCACCATCACTTGTCGGGCGAGTCAGGACATTAGCAATTATTTAGCCTGGTTTC
AGCAGAAACCAGGGAAAGTCCCTACGCGCCTGATCTATGCTGCATCCAGTTTGC
AAAGTGGGGTCCCATCAAGGTTCAGCGGCAGTGGATCTGGGACAGAATTCACTC
TCACAATCAGCAGCCTGCAGCCTGAAGATTTTGCAACTTATTACTGTCTACAGTG
GTCCAGTTACCCTCGGACGTTCGGCCAAGGGACCAAGGTGGAAATCAAACGGA
CCGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAAT
CTGGAACTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCCA
AAGTACAGTGGAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGT
GTCACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCCTGAC

GCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCA
TCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGC

5559 IgG4P KRQ 124C/378C

Sec. con núm. de ident.: 1 HCDR1 (North) para 5559 IgG1A, 5559 IgG1A 124C/378C, 5559 IgG4P, 5559 IgG4P 124C/378C, 5559 IgG4P KRQ, 5559 IgG4P KRQ 124C/378C, 5559 IgG4P GNKRQ 124C/378C, y 5559 IgG1AAA 124C/378C

VASGFTFSHSSMN

Sec. con núm. de ident.: 2 HCDR2 (North) para 5559 IgG1A, 5559 IgG1A 124C/378C, 5559 IgG4P, 5559 IgG4P 124C/378C, 5559 IgG4P KRQ, 5559 IgG4P KRQ 124C/378C, 8660 IgG4P 124C/378C, 5559 IgG4P GNKRQ 124C/378C, y 5559 IgG1AAA 124C/378C

YISRATGAVY

Sec. con núm. de ident.: 3 HCDR3 (North) para 5559 IgG1A, 5559 IgG1A 124C/378C, 5559 IgG4P, 5559 IgG4P 124C/378C, 5559 IgG4P KRQ, 5559 IgG4P KRQ 124C/378C, 8660 IgG4P 124C/378C, 5559 IgG4P GNKRQ 124C/378C, 5559 IgG1AAA 124C/378C, y 5F3 IgG4PAA

AREPVFDY

Sec. con núm. de ident.: 4 LCDR1 (North) para 5559 IgG1A, 5559 IgG1A 124C/378C, 5559 IgG4P, 5559 IgG4P 124C/378C, 5559 IgG4P KRQ, 5559 IgG4P KRQ 124C/378C, 5559 IgG4P GNKRQ 124C/378C, y 5559 IgG1AAA 124C/378C

RASQDISNYLA

Sec. con núm. de ident.: 5 LCDR2 (North) para 5559 IgG1A, 5559 IgG1A 124C/378C, 5559 IgG4P, 5559 IgG4P 124C/378C, 5559 IgG4P KRQ, 5559 IgG4P KRQ 124C/378C, 8660 IgG4P 124C/378C, 5559 IgG4P GNKRQ 124C/378C, 5559 IgG1AAA 124C/378C, y 5F3 IgG4PAA

YAASSLQS

Sec. con núm. de ident.: 6 LCDR3 (North) para 5559 IgG1A, 5559 IgG1A 124C/378C, 5559 IgG4P, 5559 IgG4P 124C/378C, 5559 IgG4P KRQ, 5559 IgG4P KRQ 124C/378C, 8660 IgG4P 124C/378C, 5559 IgG4P GNKRQ 124C/378C, y 5559 IgG1AAA 124C/378C

LQWSSYPRT

Sec. con núm. de ident.: 7 VH para 5559 IgG1A, 5559 IgG1A 124C/378C, 5559 IgG4P, 5559 IgG4P 124C/378C, 5559 IgG4P KRQ, 5559 IgG4P KRQ 124C/378C, 5559 IgG4P GNKRQ 124C/378C, y 5559 IgG1AAA 124C/378C

QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCVASGFTFSHSSMNWVRQAPGKGLEWVSYISR
ATGAVYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRDEDTAVYYCAREPVFDYWGQ
GTLVTVSS

Sec. con núm. de ident.: 8 VL para 5559 IgG1A, 5559 IgG1A 124C/378C, 5559 IgG4P, 5559 IgG4P 124C/378C, 5559 IgG4P KRQ, 5559 IgG4P KRQ 124C/378C, 5559 IgG4P GNKRQ 124C/378C, y 5559 IgG1AAA 124C/378C

DIQMTQSPSAMSASVGDRVTITCRASQDISNYLAWFQQKPGKVPTRLIYAASSLQ
SGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPEDFATYYCLQWSSYPRTFGQGTKVEIK

Sec. con núm. de ident.: 13 HC para 5559 IgG4P KRQ 124C/378C

QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCVASGFTFSHSSMNWVRQAPGKGLEWVSYISRA
TGAVYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRDEDTAVYYCAREPVFDYWGQGT
LVTVSSASTKGPCVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGV
HTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPC
PPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVKFNWYVDG
VEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIS
KAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDICVEWESNGQPENNYK
TTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLG

Sec. con núm. de ident.: 10 LC para 5559 IgG1A, 5559 IgG1A 124C/378C, 5559 IgG4P, 5559 IgG4P 124C/378C, 5559 IgG4P KRQ, 5559 IgG4P KRQ 124C/378C, 5559 IgG4P GNKRQ 124C/378C, y 5559 IgG1AAA 124C/378C

DIQMTQSPSAMSASVGDRVTITCRASQDISNYLAWFQQKPGKVPTRLIYAASSLQ
SGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPEDFATYYCLQWSSYPRTFGQGTKVEIKRTV
AAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTE
QDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

Sec. con núm. de ident.: 14 HC ADN para 5559 IgG4P KRQ 124C/378C

CAGGTACAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCC
TGAGACTCTCCTGTGTCGCCTCTGGATTCACCTTCAGTCATTCTAGCATGAACTG
GGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTTTCATACATTAGTCGTG
CTACTGGTGCCGTCTACTACGCAGACTCTGTAAAGGGCCGATTCACCATCTCCA
GAGATAATGCCAAAAACTCACTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGACGAGG
ACACGGCTGTGTATTACTGTGCGAGAGAGCCGGTTTTTGACTACTGGGGCCAGG
GAACCCTGGTCACCGTCTCCTCAGCCTCCACCAAGGGCCCATGCGTCTTCCCG
CTAGCGCCCTGCTCCAGGAGCACCTCCGAGAGCACAGCCGCCCTGGGCTGCCT
GGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCGTGGAACTCAGGCGCCC
TGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCCTACAGTCCTCAGGACTCTACT
CCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACGAAGACCTAC
ACCTGCAACGTAGATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGA
GTCCAAATATGGTCCCCCATGCCCACCCTGCCCAGCACCTGAGTTCCTGGGGG

GACCATCAGTCTTCCTGTTCCCCCCAAAACCCAAGGACACTCTCATGATCTCCC
GGACCCCTGAGGTCACGTGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCAGGAAGACCCCGA
GGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGATGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAA
GCCGCGGGAGGAGCAGTTCAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCG
TCCTGCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAAC
AAAGGCCTCCCGTCCTCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCC
CGAGAGCCACAGGTGTACACCCTGCCCCCATCCCGAGAGGAGATGACCAAGAA
CCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTACCCCAGCGACATCTGCGT
GGAGTGGGAAAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACTACAAGACCACGCCTCCCG
TGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCCTCTACAGCAGGCTAACCGTGGACAAGA
GCAGGTGGCAGCAGGGGAATGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTG
CACAACCACTACACACAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCTGGGT

Sec. con núm. de ident.: 12 LC ADN para 5559 IgG1A, 5559 IgG1A 124C/378C, 5559 IgG4P, 5559 IgG4P 124C/378C, 5559 IgG4P KRQ, 5559 IgG4P KRQ 124C/378C, 5559 IgG4P GNKRQ 124C/378C, y 5559 IgG1AAA 124C/378C

GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCTGCCATGTCTGCATCTGTGGGAGACAGA
GTCACCATCACTTGTCGGGCGAGTCAGGACATTAGCAATTATTTAGCCTGGTTTC
AGCAGAAACCAGGGAAAGTCCCTACGCGCCTGATCTATGCTGCATCCAGTTTGC
AAAGTGGGGTCCCATCAAGGTTCAGCGGCAGTGGATCTGGGACAGAATTCACTC
TCACAATCAGCAGCCTGCAGCCTGAAGATTTTGCAACTTATTACTGTCTACAGTG
GTCCAGTTACCCTCGGACGTTCGGCCAAGGGACCAAGGTGGAAATCAAACGGA

CCGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAAT
CTGGAACTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCCA
AAGTACAGTGGAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGT
GTCACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCCTGAC
GCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCA
TCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGC

Sec. con núm. de ident.: 15 Dominio extracelular de IL-4Rα humano

MKVLQEPTCVSDYMSISTCEWKMNGPTNCSTELRLLYQLVFLLSEAHTCIPENNG
GAGCVCHLLMDDVVSADNYTLDLWAGQQLLWKGSFKPSEHVKPRAPGNLTVHT
NVSDTLLLTWSNPYPPDNYLYNHLTYAVNIWSENDPADFRIYNVTYLEPSLRIAAS
TLKSGISYRARVRAWAQCYNTTWSEWSPSTKWHNSYREPFEQH

Sec. con núm. de ident.: 16 Dominio extracelular de IL-4Rα de mono cynomolgus

MKVLQEPTCVSDYMSISTCEWKMGGPTNCSAELRLLYQLVFQSSETHTCVPENN
GGVGCVCHLLMDDVVSMDNYTLDLWAGQQLLWKGSFKPSEHVKPRAPGNLTVH
TNVSDTVLLTWSNPYPPDNYLYNDLTYAVNIWSENDPAYSRIHNVTYLKPTLRIPA
STLKSGISYRARVRAWAQHYNTTWSEWSPSTKWYNSYREPFEQR

Sec. con núm. de ident.: 17 (IL-4 humano)

MGLTSQLLPPLFFLLACAGNFVHGHKCDITLQEIIKTLNSLTEQKTLCTELTVTDIFA
ASKNTTEKETFCRAATVLRQFYSHHEKDTRCLGATAQQFHRHKQLIRFLKRLDRN
LWGLAGLNSCPVKEANQSTLENFLERLKTIMREKYSKCSS

Sec. con núm. de ident.: 18 (IL-13 humano)
MHPLLNPLLLALGLMALLLTTVIALTCLGGFASPGPVPPSTALRELIEELVNITQNQK
APLCNGSMVWSINLTAGMYCAALESLINVSGCSAIEKTQRMLSGFCPHKVSAGQF
SSLHVRDTKIEVAQFVKDLLLHLKKLFREGRFN

<u>5F3 IgG4PAA</u>

Sec. con núm. de ident.: 19 HCDR1 (North) para 5F3 IgG4PAA
AASGFTFSISSMN

Sec. con núm. de ident.: 20 HCDR2 (North) para 5F3 IgG4PAA
YISRATGAIY

Sec. con núm. de ident.: 3 HCDR3 (North) para 5559 IgG1A, 5559 IgG1A 124C/378C, 5559 IgG4P, 5559 IgG4P 124C/378C, 5559 IgG4P KRQ, 5559 IgG4P KRQ 124C/378C, 8660 IgG4P 124C/378C, 5559 IgG4P GNKRQ 124C/378C, 5559 IgG1AAA 124C/378C, y 5F3 IgG4PAA
AREPVFDY

Sec. con núm. de ident.: 22 LCDR1 (North) para 5F3 IgG4PAA y 8660 IgG4P 124C/378C

RASQGISNYLA

Sec. con núm. de ident.: 5 LCDR2 (North) para 5559 IgG1A, 5559 IgG1A 124C/378C, 5559 IgG4P, 5559 IgG4P 124C/378C, 5559 IgG4P KRQ, 5559 IgG4P KRQ 124C/378C, 8660 IgG4P 124C/378C, 5559 IgG4P GNKRQ 124C/378C, 5559 IgG1AAA 124C/378C, y 5F3 IgG4PAA

YAASSLQS

Sec. con núm. de ident.: 24 LCDR3 (North) para 5F3 IgG4PAA

LQHNSYPRT

Sec. con núm. de ident.: 25 VH para 5F3 IgG4PAA

QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSISSMNWVRQAPGKGLEWVSYISRA
TGAIYYADSVKGRFTISRNNAKNSLYLQMNSLRDEDTAVYYCAREPVFDYWGQG
TLVTVSS

Sec. con núm. de ident.: 26 VL para 5F3 IgG4PAA

DIQMTQSPSAMSASVGDRVTITCRASQGISNYLAWFQQKPGKVPTRLIYAASSLQ
SGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPEDFATYYCLQHNSYPRTFGQGTKVEIK

Sec. con núm. de ident.: 27 HC para 5F3 IgG4PAA

QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSISSMNWVRQAPGKGLEWVSYISRAT
GAIYYADSVKGRFTISRNNAKNSLYLQMNSLRDEDTAVYYCAREPVFDYWGQGTL
VTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVH
TFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCP
PCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGV
EVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISK
AKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT
TPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLG

Sec. con núm. de ident.: 28 LC para 5F3 IgG4PAA

DIQMTQSPSAMSASVGDRVTITCRASQGISNYLAWFQQKPGKVPTRLIYAASSLQ
SGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPEDFATYYCLQHNSYPRTFGQGTKVEIKRTVA
APSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTE
QDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

Sec. con núm. de ident.: 29 HC ADN para 5F3 IgG4PAA

CAGGTACAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCC
TGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCACCTTCAGTATCTCTAGCATGAACTG
GGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTTTCATACATTAGTCGTG
CTACTGGTGCCATATACTACGCAGACTCTGTAAAGGGCCGATTCACCATCTCCA
GAAACAATGCCAAAAACTCACTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGACGAGG

ACACGGCTGTGTATTACTGTGCGAGAGAGCCGGTTTTTGACTACTGGGGCCAGG
GAACCCTGGTCACCGTCTCCTCAGCTTCTACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCGC
TAGCGCCCTGCTCCAGGAGCACCTCCGAGAGCACAGCCGCCCTGGGCTGCCTG
GTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCGTGGAACTCAGGCGCCCT
GACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCCTACAGTCCTCAGGACTCTACTC
CCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACGAAGACCTACA
CCTGCAACGTAGATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGT
CCAAATATGGTCCCCCATGCCCACCCTGCCCAGCACCTGAGGCCGCCGGGGGA
CCATCAGTCTTCCTGTTCCCCCCAAAACCCAAGGACACTCTCATGATCTCCCGG
ACCCCTGAGGTCACGTGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCAGGAAGACCCCGAGG
TCCAGTTCAACTGGTACGTGGATGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGC
CGCGGGAGGAGCAGTTCAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTC
CTGCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAA
AGGCCTCCCGTCCTCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCC
GAGAGCCACAGGTGTACACCCTGCCCCCATCCCAGGAGGAGATGACCAAGAAC
CAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTACCCCAGCGACATCGCCGT
GGAGTGGGAAAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACTACAAGACCACGCCTCCCG
TGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCCTCTACAGCAGGCTAACCGTGGACAAGA
GCAGGTGGCAGGAGGGGAATGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTG
CACAACCACTACACACAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCTGGGT

Sec. con núm. de ident.: 30 LC ADN para 5F3 IgG4PAA

GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCTGCCATGTCTGCATCTGTGGGAGACAGA
GTCACCATCACTTGTCGGGCGAGTCAGGGCATTAGCAATTATTTAGCCTGGTTT
CAGCAGAAACCAGGGAAAGTCCCTACGCGCCTGATCTATGCTGCATCCAGTTTG
CAAAGTGGGGTCCCATCAAGGTTCAGCGGCAGTGGATCTGGGACAGAATTCACT
CTCACAATCAGCAGCCTGCAGCCTGAAGATTTTGCAACTTATTACTGTCTACAGC
ATAATAGTTACCCTCGGACGTTCGGCCAAGGGACCAAGGTGGAAATCAAACGAA
CTGTGGCGGCGCCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAAT
CCGGAACTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCCA
AAGTACAGTGGAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGT
GTCACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCCTGAC
GCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCA
TCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGC

<u>5559 IgG4P 124C/378C</u>

Sec. con núm. de ident.: 1 HCDR1 (North) para 5559 IgG1A, 5559 IgG1A 124C/378C, 5559 IgG4P, 5559 IgG4P 124C/378C, 5559 IgG4P KRQ, 5559 IgG4P KRQ 124C/378C, 5559 IgG4P GNKRQ 124C/378C, y 5559 IgG1AAA 124C/378C

VASGFTFSHSSMN

Sec. con núm. de ident.: 2 HCDR2 (North) para 5559 IgG1A, 5559 IgG1A 124C/378C, 5559 IgG4P, 5559 IgG4P 124C/378C, 5559 IgG4P KRQ, 5559 IgG4P

KRQ 124C/378C, 8660 IgG4P 124C/378C, 5559 IgG4P GNKRQ 124C/378C, y 5559 IgG1AAA 124C/378C

YISRATGAVY

Sec. con núm. de ident.: 3 HCDR3 (North) para 5559 IgG1A, 5559 IgG1A 124C/378C, 5559 IgG4P, 5559 IgG4P 124C/378C, 5559 IgG4P KRQ, 5559 IgG4P KRQ 124C/378C, 8660 IgG4P 124C/378C, 5559 IgG4P GNKRQ 124C/378C, 5559 IgG1AAA 124C/378C, y 5F3 IgG4PAA

AREPVFDY

Sec. con núm. de ident.: 4 LCDR1 (North) para 5559 IgG1A, 5559 IgG1A 124C/378C, 5559 IgG4P, 5559 IgG4P 124C/378C, 5559 IgG4P KRQ, 5559 IgG4P KRQ 124C/378C, 5559 IgG4P GNKRQ 124C/378C, y 5559 IgG1AAA 124C/378C

RASQDISNYLA

Sec. con núm. de ident.: 5 LCDR2 (North) para 5559 IgG1A, 5559 IgG1A 124C/378C, 5559 IgG4P, 5559 IgG4P 124C/378C, 5559 IgG4P KRQ, 5559 IgG4P KRQ 124C/378C, 8660 IgG4P 124C/378C, 5559 IgG4P GNKRQ 124C/378C, 5559 IgG1AAA 124C/378C, y 5F3 IgG4PAA

YAASSLQS

Sec. con núm. de ident.: 6 LCDR3 (North) para 5559 IgG1A, 5559 IgG1A 124C/378C, 5559 IgG4P, 5559 IgG4P 124C/378C, 5559 IgG4P KRQ, 5559 IgG4P KRQ 124C/378C, 8660 IgG4P 124C/378C, 5559 IgG4P GNKRQ 124C/378C, y 5559 IgG1AAA 124C/378C

LQWSSYPRT

Sec. con núm. de ident.: 7 VH para 5559 IgG1A, 5559 IgG1A 124C/378C, 5559 IgG4P, 5559 IgG4P 124C/378C, 5559 IgG4P KRQ, 5559 IgG4P KRQ 124C/378C, 5559 IgG4P GNKRQ 124C/378C, y 5559 IgG1AAA 124C/378C

QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCVASGFTFSHSSMNWVRQAPGKGLEWVSYISR
ATGAVYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRDEDTAVYYCAREPVFDYWGQ
GTLVTVSS

Sec. con núm. de ident.: 8 VL para 5559 IgG1A, 5559 IgG1A 124C/378C, 5559 IgG4P, 5559 IgG4P 124C/378C, 5559 IgG4P KRQ, 5559 IgG4P KRQ 124C/378C, 5559 IgG4P GNKRQ 124C/378C, y 5559 IgG1AAA 124C/378C

DIQMTQSPSAMSASVGDRVTITCRASQDISNYLAWFQQKPGKVPTRLIYAASSLQ
SGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPEDFATYYCLQWSSYPRTFGQGTKVEIK

Sec. con núm. de ident.: 31 HC para 5559 IgG4P 124C/378C

QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCVASGFTFSHSSMNWVRQAPGKGLEWVSYISRA
TGAVYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRDEDTAVYYCAREPVFDYWGQGT

LVTVSSASTKGPCVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGV
HTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPC
PPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDG
VEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIS
KAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDICVEWESNGQPENNYK
TTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLG

Sec. con núm. de ident.: 10 LC para 5559 IgG1A, 5559 IgG1A 124C/378C, 5559 IgG4P, 5559 IgG4P 124C/378C, 5559 IgG4P KRQ, 5559 IgG4P KRQ 124C/378C, 5559 IgG4P GNKRQ 124C/378C, y 5559 IgG1AAA 124C/378C

DIQMTQSPSAMSASVGDRVTITCRASQDISNYLAWFQQKPGKVPTRLIYAASSLQ
SGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPEDFATYYCLQWSSYPRTFGQGTKVEIKRTV
AAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTE
QDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

Sec. con núm. de ident.: 32 HC ADN para 5559 IgG4P 124C/378C

CAGGTACAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCC
TGAGACTCTCCTGTGTCGCCTCTGGATTCACCTTCAGTCATTCTAGCATGAACTG
GGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTTTCATACATTAGTCGTG
CTACTGGTGCCGTCTACTACGCAGACTCTGTAAAGGGCCGATTCACCATCTCCA
GAGATAATGCCAAAAACTCACTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGACGAGG
ACACGGCTGTGTATTACTGTGCGAGAGAGCCGGTTTTTGACTACTGGGGCCAGG

GAACCCTGGTCACCGTCTCCTCAGCCTCCACCAAGGGCCCATGCGTCTTCCCG
CTAGCGCCCTGCTCCAGGAGCACCTCCGAGAGCACAGCCGCCCTGGGCTGCCT
GGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCGTGGAACTCAGGCGCCC
TGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCCTACAGTCCTCAGGACTCTACT
CCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACGAAGACCTAC
ACCTGCAACGTAGATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGA
GTCCAAATATGGTCCCCCATGCCCACCCTGCCCAGCACCTGAGTTCCTGGGGG
GACCATCAGTCTTCCTGTTCCCCCCAAAACCCAAGGACACTCTCATGATCTCCC
GGACCCCTGAGGTCACGTGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCAGGAAGACCCCGA
GGTCCAGTTCAACTGGTACGTGGATGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAA
GCCGCGGGAGGAGCAGTTCAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCG
TCCTGCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAAC
AAAGGCCTCCCGTCCTCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCC
CGAGAGCCACAGGTGTACACCCTGCCCCCATCCCAGGAGGAGATGACCAAGAA
CCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTACCCCAGCGACATCTGCGT
GGAGTGGGAAAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACTACAAGACCACGCCTCCCG
TGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCCTCTACAGCAGGCTAACCGTGGACAAGA
GCAGGTGGCAGGAGGGGAATGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTG
CACAACCACTACACACAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCTGGGT

Sec. con núm. de ident.: 12 LC ADN para 5559 IgG1A, 5559 IgG1A 124C/378C, 5559 IgG4P, 5559 IgG4P 124C/378C, 5559 IgG4P KRQ, 5559 IgG4P KRQ 124C/378C, 5559 IgG4P GNKRQ 124C/378C, y 5559 IgG1AAA 124C/378C

GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCTGCCATGTCTGCATCTGTGGGAGACAGA
GTCACCATCACTTGTCGGGCGAGTCAGGACATTAGCAATTATTTAGCCTGGTTTC
AGCAGAAACCAGGGAAAGTCCCTACGCGCCTGATCTATGCTGCATCCAGTTTGC
AAAGTGGGGTCCCATCAAGGTTCAGCGGCAGTGGATCTGGGACAGAATTCACTC
TCACAATCAGCAGCCTGCAGCCTGAAGATTTTGCAACTTATTACTGTCTACAGTG
GTCCAGTTACCCTCGGACGTTCGGCCAAGGGACCAAGGTGGAAATCAAACGGA
CCGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAAT
CTGGAACTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCCA
AAGTACAGTGGAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGT
GTCACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCCTGAC
GCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCA
TCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGC

<u>5559 IgG1A</u>

Sec. con núm. de ident.: 1 HCDR1 (North) para 5559 IgG1A, 5559 IgG1A 124C/378C, 5559 IgG4P, 5559 IgG4P 124C/378C, 5559 IgG4P KRQ, 5559 IgG4P KRQ 124C/378C, 5559 IgG4P GNKRQ 124C/378C, y 5559 IgG1AAA 124C/378C

VASGFTFSHSSMN

Sec. con núm. de ident.: 2 HCDR2 (North) para 5559 IgG1A, 5559 IgG1A 124C/378C, 5559 IgG4P, 5559 IgG4P 124C/378C, 5559 IgG4P KRQ, 5559 IgG4P KRQ 124C/378C, 8660 IgG4P 124C/378C, 5559 IgG4P GNKRQ 124C/378C, y 5559 IgG1AAA 124C/378C

YISRATGAVY

Sec. con núm. de ident.: 3 HCDR3 (North) para 5559 IgG1A, 5559 IgG1A 124C/378C, 5559 IgG4P, 5559 IgG4P 124C/378C, 5559 IgG4P KRQ, 5559 IgG4P KRQ 124C/378C, 8660 IgG4P 124C/378C, 5559 IgG4P GNKRQ 124C/378C, 5559 IgG1AAA 124C/378C, y 5F3 IgG4PAA

AREPVFDY

Sec. con núm. de ident.: 4 LCDR1 (North) para 5559 IgG1A, 5559 IgG1A 124C/378C, 5559 IgG4P, 5559 IgG4P 124C/378C, 5559 IgG4P KRQ, 5559 IgG4P KRQ 124C/378C, 5559 IgG4P GNKRQ 124C/378C, y 5559 IgG1AAA 124C/378C

RASQDISNYLA

Sec. con núm. de ident.: 5 LCDR2 (North) para 5559 IgG1A, 5559 IgG1A 124C/378C, 5559 IgG4P, 5559 IgG4P 124C/378C, 5559 IgG4P KRQ, 5559 IgG4P KRQ 124C/378C, 8660 IgG4P 124C/378C, 5559 IgG4P GNKRQ 124C/378C, 5559 IgG1AAA 124C/378C, y 5F3 IgG4PAA

YAASSLQS

Sec. con núm. de ident.: 6 LCDR3 (North) para 5559 IgG1A, 5559 IgG1A 124C/378C, 5559 IgG4P, 5559 IgG4P 124C/378C, 5559 IgG4P KRQ, 5559 IgG4P KRQ 124C/378C, 8660 IgG4P 124C/378C, 5559 IgG4P GNKRQ 124C/378C, y 5559 IgG1AAA 124C/378C

LQWSSYPRT

Sec. con núm. de ident.: 7 VH para 5559 IgG1A, 5559 IgG1A 124C/378C, 5559 IgG4P, 5559 IgG4P 124C/378C, 5559 IgG4P KRQ, 5559 IgG4P KRQ 124C/378C, 5559 IgG4P GNKRQ 124C/378C, y 5559 IgG1AAA 124C/378C

QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCVASGFTFSHSSMNWVRQAPGKGLEWVSYISR
ATGAVYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRDEDTAVYYCAREPVFDYWGQ
GTLVTVSS

Sec. con núm. de ident.: 8 VL para 5559 IgG1A, 5559 IgG1A 124C/378C, 5559 IgG4P, 5559 IgG4P 124C/378C, 5559 IgG4P KRQ, 5559 IgG4P KRQ 124C/378C, 5559 IgG4P GNKRQ 124C/378C, y 5559 IgG1AAA 124C/378C

DIQMTQSPSAMSASVGDRVTITCRASQDISNYLAWFQQKPGKVPTRLIYAASSLQ
SGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPEDFATYYCLQWSSYPRTFGQGTKVEIK

Sec. con núm. de ident.: 33 HC para 5559 IgG1A

QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCVASGFTFSHSSMNWVRQAPGKGLEWVSYISRAT
GAVYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRDEDTAVYYCAREPVFDYWGQGTL
VTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVH
TFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHT
CPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDG
VEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCAVSNKALPAPIEKTISK
AKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT
PPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

Sec. con núm. de ident.: 10 LC para 5559 IgG1A, 5559 IgG1A 124C/378C, 5559 IgG4P, 5559 IgG4P 124C/378C, 5559 IgG4P KRQ, 5559 IgG4P KRQ 124C/378C, 5559 IgG4P GNKRQ 124C/378C, y 5559 IgG1AAA 124C/378C

DIQMTQSPSAMSASVGDRVTITCRASQDISNYLAWFQQKPGKVPTRLIYAASSLQ
SGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPEDFATYYCLQWSSYPRTFGQGTKVEIKRTV
AAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTE
QDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

Sec. con núm. de ident.: 34 HC ADN para 5559 IgG1A

CAGGTACAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCC
TGAGACTCTCCTGTGTCGCCTCTGGATTCACCTTCAGTCATTCTAGCATGAACTG
GGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTTTCATACATTAGTCGTG
CTACTGGTGCCGTCTACTACGCAGACTCTGTAAAGGGCCGATTCACCATCTCCA

GAGATAATGCCAAAAACTCACTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGACGAGG
ACACGGCTGTGTATTACTGTGCGAGAGAGCCGGTTTTTGACTACTGGGGCCAGG
GAACCCTGGTCACCGTCTCCTCAGCTAGCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCC
CTGGCACCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCT
GGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCGTGGAACTCAGGCGCCC
TGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCCTACAGTCCTCAGGACTCTACT
CCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTAC
ATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAG
CCCAAATCTTGTGACAAAACTCACACATGCCCACCGTGCCCAGCACCTGAACTC
CTGGGGGGACCGTCAGTCTTCCTCTTCCCCCCAAAACCCAAGGACACCCTCATG
ATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGA
CCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTATGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAA
GACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCC
TCACCGTCCTGCACCAAGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCGCCGTC
TCCAACAAAGCCCTCCCAGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGG
CAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATGAC
CAAGAACCAAGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACAT
CGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACTACAAGACCACG
CCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCCTCTATTCCAAGCTCACCGTG
GACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGA
GGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGCAAA

Sec. con núm. de ident.: 12 LC ADN para 5559 IgG1A, 5559 IgG1A 124C/378C, 5559 IgG4P, 5559 IgG4P 124C/378C, 5559 IgG4P KRQ, 5559 IgG4P KRQ 124C/378C, 5559 IgG4P GNKRQ 124C/378C, y 5559 IgG1AAA 124C/378C

GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCTGCCATGTCTGCATCTGTGGGAGACAGA
GTCACCATCACTTGTCGGGCGAGTCAGGACATTAGCAATTATTTAGCCTGGTTTC
AGCAGAAACCAGGGAAAGTCCCTACGCGCCTGATCTATGCTGCATCCAGTTTGC
AAAGTGGGGTCCCATCAAGGTTCAGCGGCAGTGGATCTGGGACAGAATTCACTC
TCACAATCAGCAGCCTGCAGCCTGAAGATTTTGCAACTTATTACTGTCTACAGTG
GTCCAGTTACCCTCGGACGTTCGGCCAAGGGACCAAGGTGGAAATCAAACGGA
CCGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAAT
CTGGAACTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCCA
AAGTACAGTGGAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGT
GTCACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCCTGAC
GCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCA
TCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGC

<u>5559 IgG4P KRQ</u>

Sec. con núm. de ident.: 1 HCDR1 (North) para 5559 IgG1A, 5559 IgG1A 124C/378C, 5559 IgG4P, 5559 IgG4P 124C/378C, 5559 IgG4P KRQ, 5559 IgG4P KRQ 124C/378C, 5559 IgG4P GNKRQ 124C/378C, y 5559 IgG1AAA 124C/378C

VASGFTFSHSSMN

Sec. con núm. de ident.: 2 HCDR2 (North) para 5559 IgG1A, 5559 IgG1A 124C/378C, 5559 IgG4P, 5559 IgG4P 124C/378C, 5559 IgG4P KRQ, 5559 IgG4P KRQ 124C/378C, 8660 IgG4P 124C/378C, 5559 IgG4P GNKRQ 124C/378C, y 5559 IgG1AAA 124C/378C

YISRATGAVY

Sec. con núm. de ident.: 3 HCDR3 (North) para 5559 IgG1A, 5559 IgG1A 124C/378C, 5559 IgG4P, 5559 IgG4P 124C/378C, 5559 IgG4P KRQ, 5559 IgG4P KRQ 124C/378C, 8660 IgG4P 124C/378C, 5559 IgG4P GNKRQ 124C/378C, 5559 IgG1AAA 124C/378C, y 5F3 IgG4PAA

AREPVFDY

Sec. con núm. de ident.: 4 LCDR1 (North) para 5559 IgG1A, 5559 IgG1A 124C/378C, 5559 IgG4P, 5559 IgG4P 124C/378C, 5559 IgG4P KRQ, 5559 IgG4P KRQ 124C/378C, 5559 IgG4P GNKRQ 124C/378C, y 5559 IgG1AAA 124C/378C

RASQDISNYLA

Sec. con núm. de ident.: 5 LCDR2 (North) para 5559 IgG1A, 5559 IgG1A 124C/378C, 5559 IgG4P, 5559 IgG4P 124C/378C, 5559 IgG4P KRQ, 5559 IgG4P KRQ 124C/378C, 8660 IgG4P 124C/378C, 5559 IgG4P GNKRQ 124C/378C, 5559 IgG1AAA 124C/378C, y 5F3 IgG4PAA

YAASSLQS

Sec. con núm. de ident.: 6 LCDR3 (North) para 5559 IgG1A, 5559 IgG1A 124C/378C, 5559 IgG4P, 5559 IgG4P 124C/378C, 5559 IgG4P KRQ, 5559 IgG4P KRQ 124C/378C, 8660 IgG4P 124C/378C, 5559 IgG4P GNKRQ 124C/378C, y 5559 IgG1AAA 124C/378C

LQWSSYPRT

Sec. con núm. de ident.: 7 VH para 5559 IgG1A, 5559 IgG1A 124C/378C, 5559 IgG4P, 5559 IgG4P 124C/378C, 5559 IgG4P KRQ, 5559 IgG4P KRQ 124C/378C, 5559 IgG4P GNKRQ 124C/378C, y 5559 IgG1AAA 124C/378C

QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCVASGFTFSHSSMNWVRQAPGKGLEWVSYISR
ATGAVYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRDEDTAVYYCAREPVFDYWGQ
GTLVTVSS

Sec. con núm. de ident.: 8 VL para 5559 IgG1A, 5559 IgG1A 124C/378C, 5559 IgG4P, 5559 IgG4P 124C/378C, 5559 IgG4P KRQ, 5559 IgG4P KRQ 124C/378C, 5559 IgG4P GNKRQ 124C/378C, y 5559 IgG1AAA 124C/378C

DIQMTQSPSAMSASVGDRVTITCRASQDISNYLAWFQQKPGKVPTRLIYAASSLQ
SGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPEDFATYYCLQWSSYPRTFGQGTKVEIK

Sec. con núm. de ident.: 35 HC para 5559 IgG4P KRQ

QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCVASGFTFSHSSMNWVRQAPGKGLEWVSYISRA
TGAVYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRDEDTAVYYCAREPVFDYWGQGT
LVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGV
HTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPC
PPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVKFNWYVDG
VEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIS
KAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK
TTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLG

Sec. con núm. de ident.: 10 LC para 5559 IgG1A, 5559 IgG1A 124C/378C, 5559 IgG4P, 5559 IgG4P 124C/378C, 5559 IgG4P KRQ, 5559 IgG4P KRQ 124C/378C, 5559 IgG4P GNKRQ 124C/378C, y 5559 IgG1AAA 124C/378C

DIQMTQSPSAMSASVGDRVTITCRASQDISNYLAWFQQKPGKVPTRLIYAASSLQ
SGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPEDFATYYCLQWSSYPRTFGQGTKVEIKRTV
AAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTE
QDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

Sec. con núm. de ident.: 36 HC ADN para 5559 IgG4P KRQ

CAGGTACAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCC
TGAGACTCTCCTGTGTCGCCTCTGGATTCACCTTCAGTCATTCTAGCATGAACTG
GGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTTTCATACATTAGTCGTG
CTACTGGTGCCGTCTACTACGCAGACTCTGTAAAGGGCCGATTCACCATCTCCA

GAGATAATGCCAAAAACTCACTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGACGAGG
ACACGGCTGTGTATTACTGTGCGAGAGAGCCGGTTTTTGACTACTGGGGCCAGG
GAACCCTGGTCACCGTCTCCTCAGCCTCCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCG
CTAGCGCCCTGCTCCAGGAGCACCTCCGAGAGCACAGCCGCCCTGGGCTGCCT
GGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCGTGGAACTCAGGCGCCC
TGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCCTACAGTCCTCAGGACTCTACT
CCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACGAAGACCTAC
ACCTGCAACGTAGATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGA
GTCCAAATATGGTCCCCCATGCCCACCCTGCCCAGCACCTGAGTTCCTGGGGG
GACCATCAGTCTTCCTGTTCCCCCCAAAACCCAAGGACACTCTCATGATCTCCC
GGACCCCTGAGGTCACGTGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCAGGAAGACCCCGA
GGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGATGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAA
GCCGCGGGAGGAGCAGTTCAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCG
TCCTGCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAAC
AAAGGCCTCCCGTCCTCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCC
CGAGAGCCACAGGTGTACACCCTGCCCCCATCCCGAGAGGAGATGACCAAGAA
CCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTACCCCAGCGACATCGCCG
TGGAGTGGGAAAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACTACAAGACCACGCCTCCC
GTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCCTCTACAGCAGGCTAACCGTGGACAAG
AGCAGGTGGCAGCAGGGGAATGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCT
GCACAACCACTACACACAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCTGGGT

Sec. con núm. de ident.: 12 LC ADN para 5559 IgG1A, 5559 IgG1A 124C/378C, 5559 IgG4P, 5559 IgG4P 124C/378C, 5559 IgG4P KRQ, 5559 IgG4P KRQ 124C/378C, 5559 IgG4P GNKRQ 124C/378C, y 5559 IgG1AAA 124C/378C

GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCTGCCATGTCTGCATCTGTGGGAGACAGA
GTCACCATCACTTGTCGGGCGAGTCAGGACATTAGCAATTATTTAGCCTGGTTTC
AGCAGAAACCAGGGAAAGTCCCTACGCGCCTGATCTATGCTGCATCCAGTTTGC
AAAGTGGGGTCCCATCAAGGTTCAGCGGCAGTGGATCTGGGACAGAATTCACTC
TCACAATCAGCAGCCTGCAGCCTGAAGATTTTGCAACTTATTACTGTCTACAGTG
GTCCAGTTACCCTCGGACGTTCGGCCAAGGGACCAAGGTGGAAATCAAACGGA
CCGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAAT
CTGGAACTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCCA
AAGTACAGTGGAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGT
GTCACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCCTGAC
GCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCA
TCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGC

<u>5559 IgG4P</u>

Sec. con núm. de ident.: 1 HCDR1 (North) para 5559 IgG1A, 5559 IgG1A 124C/378C, 5559 IgG4P, 5559 IgG4P 124C/378C, 5559 IgG4P KRQ, 5559 IgG4P KRQ 124C/378C, 5559 IgG4P GNKRQ 124C/378C, y 5559 IgG1AAA 124C/378C

VASGFTFSHSSMN

Sec. con núm. de ident.: 2 HCDR2 (North) para 5559 IgG1A, 5559 IgG1A 124C/378C, 5559 IgG4P, 5559 IgG4P 124C/378C, 5559 IgG4P KRQ, 5559 IgG4P KRQ 124C/378C, 8660 IgG4P 124C/378C, 5559 IgG4P GNKRQ 124C/378C, y 5559 IgG1AAA 124C/378C

YISRATGAVY

Sec. con núm. de ident.: 3 HCDR3 (North) para 5559 IgG1A, 5559 IgG1A 124C/378C, 5559 IgG4P, 5559 IgG4P 124C/378C, 5559 IgG4P KRQ, 5559 IgG4P KRQ 124C/378C, 8660 IgG4P 124C/378C, 5559 IgG4P GNKRQ 124C/378C, 5559 IgG1AAA 124C/378C, y 5F3 IgG4PAA

AREPVFDY

Sec. con núm. de ident.: 4 LCDR1 (North) para 5559 IgG1A, 5559 IgG1A 124C/378C, 5559 IgG4P, 5559 IgG4P 124C/378C, 5559 IgG4P KRQ, 5559 IgG4P KRQ 124C/378C, 5559 IgG4P GNKRQ 124C/378C, y 5559 IgG1AAA 124C/378C

RASQDISNYLA

Sec. con núm. de ident.: 5 LCDR2 (North) para 5559 IgG1A, 5559 IgG1A 124C/378C, 5559 IgG4P, 5559 IgG4P 124C/378C, 5559 IgG4P KRQ, 5559 IgG4P KRQ 124C/378C, 8660 IgG4P 124C/378C, 5559 IgG4P GNKRQ 124C/378C, 5559 IgG1AAA 124C/378C, y 5F3 IgG4PAA

YAASSLQS

Sec. con núm. de ident.: 6 LCDR3 (North) para 5559 IgG1A, 5559 IgG1A 124C/378C, 5559 IgG4P, 5559 IgG4P 124C/378C, 5559 IgG4P KRQ, 5559 IgG4P KRQ 124C/378C, 8660 IgG4P 124C/378C, 5559 IgG4P GNKRQ 124C/378C, y 5559 IgG1AAA 124C/378C

LQWSSYPRT

Sec. con núm. de ident.: 7 VH para 5559 IgG1A, 5559 IgG1A 124C/378C, 5559 IgG4P, 5559 IgG4P 124C/378C, 5559 IgG4P KRQ, 5559 IgG4P KRQ 124C/378C, 5559 IgG4P GNKRQ 124C/378C, y 5559 IgG1AAA 124C/378C

QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCVASGFTFSHSSMNWVRQAPGKGLEWVSYISR
ATGAVYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRDEDTAVYYCAREPVFDYWGQ
GTLVTVSS

Sec. con núm. de ident.: 8 VL para 5559 IgG1A, 5559 IgG1A 124C/378C, 5559 IgG4P, 5559 IgG4P 124C/378C, 5559 IgG4P KRQ, 5559 IgG4P KRQ 124C/378C, 5559 IgG4P GNKRQ 124C/378C, y 5559 IgG1AAA 124C/378C

DIQMTQSPSAMSASVGDRVTITCRASQDISNYLAWFQQKPGKVPTRLIYAASSLQ
SGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPEDFATYYCLQWSSYPRTFGQGTKVEIK

Sec. con núm. de ident.: 37 HC para 5559 IgG4P

QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCVASGFTFSHSSMNWVRQAPGKGLEWVSYISRA
TGAVYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRDEDTAVYYCAREPVFDYWGQGT
LVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGV
HTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPC
PPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDG
VEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIS
KAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK
TTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLG

Sec. con núm. de ident.: 10 LC para 5559 IgG1A, 5559 IgG1A 124C/378C, 5559 IgG4P, 5559 IgG4P 124C/378C, 5559 IgG4P KRQ, 5559 IgG4P KRQ 124C/378C, 5559 IgG4P GNKRQ 124C/378C, y 5559 IgG1AAA 124C/378C

DIQMTQSPSAMSASVGDRVTITCRASQDISNYLAWFQQKPGKVPTRLIYAASSLQ
SGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPEDFATYYCLQWSSYPRTFGQGTKVEIKRTV
AAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTE
QDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

Sec. con núm. de ident.: 38 HC ADN para 5559 IgG4P

CAGGTACAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCC
TGAGACTCTCCTGTGTCGCCTCTGGATTCACCTTCAGTCATTCTAGCATGAACTG
GGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTTTCATACATTAGTCGTG
CTACTGGTGCCGTCTACTACGCAGACTCTGTAAAGGGCCGATTCACCATCTCCA

GAGATAATGCCAAAAACTCACTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGACGAGG
ACACGGCTGTGTATTACTGTGCGAGAGAGCCGGTTTTTGACTACTGGGGCCAGG
GAACCCTGGTCACCGTCTCCTCAGCCTCCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCG
CTAGCGCCCTGCTCCAGGAGCACCTCCGAGAGCACAGCCGCCCTGGGCTGCCT
GGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCGTGGAACTCAGGCGCCC
TGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCCTACAGTCCTCAGGACTCTACT
CCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACGAAGACCTAC
ACCTGCAACGTAGATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGA
GTCCAAATATGGTCCCCCATGCCCACCCTGCCCAGCACCTGAGTTCCTGGGGG
GACCATCAGTCTTCCTGTTCCCCCCAAAACCCAAGGACACTCTCATGATCTCCC
GGACCCCTGAGGTCACGTGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCAGGAAGACCCCGA
GGTCCAGTTCAACTGGTACGTGGATGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAA
GCCGCGGGAGGAGCAGTTCAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCG
TCCTGCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAAC
AAAGGCCTCCCGTCCTCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCC
CGAGAGCCACAGGTGTACACCCTGCCCCCATCCCAGGAGGAGATGACCAAGAA
CCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTACCCCAGCGACATCGCCG
TGGAGTGGGAAAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACTACAAGACCACGCCTCCC
GTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCCTCTACAGCAGGCTAACCGTGGACAAG
AGCAGGTGGCAGGAGGGGAATGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCT
GCACAACCACTACACACAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCTGGGT

Sec. con núm. de ident.: 12 LC ADN para 5559 IgG1A, 5559 IgG1A 124C/378C, 5559 IgG4P, 5559 IgG4P 124C/378C, 5559 IgG4P KRQ, 5559 IgG4P KRQ 124C/378C, 5559 IgG4P GNKRQ 124C/378C, y 5559 IgG1AAA 124C/378C

GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCTGCCATGTCTGCATCTGTGGGAGACAGA
GTCACCATCACTTGTCGGGCGAGTCAGGACATTAGCAATTATTTAGCCTGGTTTC
AGCAGAAACCAGGGAAAGTCCCTACGCGCCTGATCTATGCTGCATCCAGTTTGC
AAAGTGGGGTCCCATCAAGGTTCAGCGGCAGTGGATCTGGGACAGAATTCACTC
TCACAATCAGCAGCCTGCAGCCTGAAGATTTTGCAACTTATTACTGTCTACAGTG
GTCCAGTTACCCTCGGACGTTCGGCCAAGGGACCAAGGTGGAAATCAAACGGA
CCGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAAT
CTGGAACTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCCA
AAGTACAGTGGAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGT
GTCACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCCTGAC
GCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCA
TCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGC

Sec. con núm. de ident.: 39 IL-4Rα humano

MGWLCSGLLFPVSCLVLLQVASSGNMKVLQEPTCVSDYMSISTCEWKMNGPTNC
STELRLLYQLVFLLSEAHTCIPENNGGAGCVCHLLMDDVVSADNYTLDLWAGQQLL
WKGSFKPSEHVKPRAPGNLTVHTNVSDTLLLTWSNPYPPDNYLYNHLTYAVNIWS
ENDPADFRIYNVTYLEPSLRIAASTLKSGISYRARVRAWAQCYNTTWSEWSPSTKW
HNSYREPFEQHLLLGVSVSCIVILAVCLLCYVSITKIKKEWWDQIPNPARSRLVAIIIQ

DAQGSQWEKRSRGQEPAKCPHWKNCLTKLLPCFLEHNMKRDEDPHKAAKEMPF
QGSGKSAWCPVEISKTVLWPESISVVRCVELFEAPVECEEEEEVEEEKGSFCASPE
SSRDDFQEGREGIVARLTESLFLDLLGEENGGFCQQDMGESCLLPPSGSTSAHMP
WDEFPSAGPKEAPPWGKEQPLHLEPSPPASPTQSPDNLTCTETPLVIAGNPAYRS
FSNSLSQSPCPRELGPDPLLARHLEEVEPEMPCVPQLSEPTTVPQPEPETWEQILR
RNVLQHGAAAAPVSAPTSGYQEFVHAVEQGGTQASAVVGLGPPGEAGYKAFSSL
LASSAVSPEKCGFGASSGEEGYKPFQDLIPGCPGDPAPVPVPLFTFGLDREPPRSP
QSSHLPSSSPEHLGLEPGEKVEDMPKPPLPQEQATDPLVDSLGSGIVYSALTCHLC
GHLKQCHGQEDGGQTPVMASPCCGCCCGDRSSPPTTPLRAPDPSPGGVPLEASL
CPASLAPSGISEKSKSSSSFHPAPGNAQSSSQTPKIVNFVSVGPTYMRVS

Sec. con núm. de ident.: 40 IL-4Rα de mono cynomolgus

MGWLCSGLLFPVSCLVLLQVASSGCSCVSPGSMKVLQEPTCVSDYMSISTCEWKM
GGPTNCSAELRLLYQLVFQSSETHTCVPENNGGVGCVCHLLMDDVVSMDNYTLDL
WAGQQLLWKGSFKPSEHVKPRAPGNLTVHTNVSDTVLLTWSNPYPPDNYLYNDLT
YAVNIWSENDPAYSRIHNVTYLKPTLRIPASTLKSGISYRARVRAWAQHYNTTWSEW
SPSTKWYNSYREPFEQRLLWGVSAACVFILFFCLSCYFSVTKIKKEWWDQIPNPARS
HLVAIIIQDAQESQWEKRSRGQEAAKCPYWKNCLTKLLPCFLEHNMKRDEDPHKAV
KDLPFRGSGKSAWCPVEISKTVLWPESISVVRCVELFEAPVECKEEEEVEEEKGSFC
TSSESNRDDFQEGREGIVARLTESLFLDLLGGENGGFFQQDMGESCLLPPLGSTSA
HVPWDEFPSAGSKEVPPWGKEQPLHQEPSPPASPTQSPDNPTCTEMPLVISSNPA
YRSFSNSLSQSPCPRELGPDPLLARHLEEVDPEMPCAPQLSEPTTVAPAEPETWEQ

ILRRNVLQHGAAAAPASAPTSGYREFVHAVQQGGIQASAVAGLGPPGEAGYKAFSS
LLASSAVSPGECGFGASSGEEGYKPFQDLTPGCPGDPAPVPVPLFTFGLDREPPHS
PQSSHLPSNSPEHLALEPGEKVEDMQKPPLPPEQATDPLGDSLGSGIVYSALTCHL
CGHLKQCHGQEDGGQAPVVASPCCGCCCGDRSSPPTTPLRAPDPSLGGVPLEAS
LCPASLAPSGISEKSKSSLSFHPAPGSAQSSSQTPQIVNFVSVGPTCMRVS

Sec. con núm. de ident.: 41 (CD23 humano)

MEEGQYSEIEELPRRRCCRRGTQIVLLGLVTAALWAGLLTLLLLWHWDTTQSLKQ
LEERAARNVSQVSKNLESHHGDQMAQKSQSTQISQELEELRAEQQRLKSQDLEL
SWNLNGLQADLSSFKSQELNERNEASDLLERLREEVTKLRMELQVSSGFVCNTC
PEKWINFQRKCYYFGKGTKQWVHARYACDDMEGQLVSIHSPEEQDFLTKHASHT
GSWIGLRNLDLKGEFIWVDGSHVDYSNWAPGEPTSRSQGEDCVMMRGSGRWN
DAFCDRKLGAWVCDRLATCTPPASEGSAESMGPDSRPDPDGRLPTPSAPLHS
8660 IgG4P 124C/378C

Sec. con núm. de ident.: 42 HCDR1 (North) para 8660 IgG4P 124C/378C

AASGFTFSHSSMN

Sec. con núm. de ident.: 2 HCDR2 (North) para 5559 IgG1A, 5559 IgG1A 124C/378C, 5559 IgG4P, 5559 IgG4P 124C/378C, 5559 IgG4P KRQ, 5559 IgG4P KRQ 124C/378C, 8660 IgG4P 124C/378C, 5559 IgG4P GNKRQ 124C/378C, y 5559 IgG1AAA 124C/378C

YISRATGAVY

Sec. con núm. de ident.: 3 HCDR3 (North) para 5559 IgG1A, 5559 IgG1A 124C/378C, 5559 IgG4P, 5559 IgG4P 124C/378C, 5559 IgG4P KRQ, 5559 IgG4P KRQ 124C/378C, 8660 IgG4P 124C/378C, 5559 IgG4P GNKRQ 124C/378C, 5559 IgG1AAA 124C/378C, y 5F3 IgG4PAA

AREPVFDY

Sec. con núm. de ident.: 22 LCDR1 (North) para 5F3 IgG4PAA y 8660 IgG4P 124C/378C

RASQGISNYLA

Sec. con núm. de ident.: 5 LCDR2 (North) para 5559 IgG1A, 5559 IgG1A 124C/378C, 5559 IgG4P, 5559 IgG4P 124C/378C, 5559 IgG4P KRQ, 5559 IgG4P KRQ 124C/378C, 8660 IgG4P 124C/378C, 5559 IgG4P GNKRQ 124C/378C, 5559 IgG1AAA 124C/378C, y 5F3 IgG4PAA

YAASSLQS

Sec. con núm. de ident.: 6 LCDR3 (North) para 5559 IgG1A, 5559 IgG1A 124C/378C, 5559 IgG4P, 5559 IgG4P 124C/378C, 5559 IgG4P KRQ, 5559 IgG4P KRQ 124C/378C, 8660 IgG4P 124C/378C, 5559 IgG4P GNKRQ 124C/378C, y 5559 IgG1AAA 124C/378C

LQWSSYPRT

Sec. con núm. de ident.: 44 VH para 8660 IgG4P 124C/378C

QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHSSMNWVRQAPGKGLEWVSYISR
ATGAVYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRDEDTAVYYCAREPVFDYWGQ
GTLVTVSS

Sec. con núm. de ident.: 45 VL para8660 IgG4P 124C/378C

DIQMTQSPSAMSASVGDRVTITCRASQGISNYLAWFQQKPGKVPTRLIYAASSLQ
SGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPEDFATYYCLQWSSYPRTFGQGTKVEIK

Sec. con núm. de ident.: 46 HC para8660 IgG4P 124C/378C

QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHSSMNWVRQAPGKGLEWVSYISRA
TGAVYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRDEDTAVYYCAREPVFDYWGQGT
LVTVSSASTKGPCVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGV
HTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPC
PPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDG
VEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIS
KAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDICVEWESNGQPENNYK
TTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLG

Sec. con núm. de ident.: 47 LC para8660 IgG4P 124C/378C

DIQMTQSPSAMSASVGDRVTITCRASQGISNYLAWFQQKPGKVPTRLIYAASSLQ
SGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPEDFATYYCLQWSSYPRTFGQGTKVEIKRTV
AAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTE
QDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

Sec. con núm. de ident.: 48 HC ADN para 8660 IgG4P 124C/378C

CAGGTACAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCC
TGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCACCTTCAGTCATTCTAGCATGAACTG
GGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTTTCATACATTAGTCGTG
CTACTGGTGCCGTCTACTACGCAGACTCTGTAAAGGGCCGATTCACCATCTCCA
GAGATAATGCCAAAAACTCACTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGACGAGG
ACACGGCTGTGTATTACTGTGCGAGAGAGCCGGTTTTTGACTACTGGGGCCAGG
GAACCCTGGTCACCGTCTCCTCAGCCTCCACCAAGGGCCCATGCGTCTTCCCG
CTAGCGCCCTGCTCCAGGAGCACCTCCGAGAGCACAGCCGCCCTGGGCTGCCT
GGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCGTGGAACTCAGGCGCCC
TGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCCTACAGTCCTCAGGACTCTACT
CCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACGAAGACCTAC
ACCTGCAACGTAGATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGA
GTCCAAATATGGTCCCCCATGCCCACCCTGCCCAGCACCTGAGTTCCTGGGGG
GACCATCAGTCTTCCTGTTCCCCCCAAAACCCAAGGACACTCTCATGATCTCCC
GGACCCCTGAGGTCACGTGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCAGGAAGACCCCGA
GGTCCAGTTCAACTGGTACGTGGATGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAA

GCCGCGGGAGGAGCAGTTCAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCG
TCCTGCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAAC
AAAGGCCTCCCGTCCTCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCC
CGAGAGCCACAGGTGTACACCCTGCCCCCATCCCAGGAGGAGATGACCAAGAA
CCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTACCCCAGCGACATCTGCGT
GGAGTGGGAAAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACTACAAGACCACGCCTCCCG
TGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCCTCTACAGCAGGCTAACCGTGGACAAGA
GCAGGTGGCAGGAGGGGAATGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTG
CACAACCACTACACACAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCTGGGT

Sec. con núm. de ident.: 49 LC ADN para8660 IgG4P 124C/378C

GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCTGCCATGTCTGCATCTGTGGGAGACAGA
GTCACCATCACTTGTCGGGCGAGTCAGGGCATTAGCAATTATTTAGCCTGGTTT
CAGCAGAAACCAGGGAAAGTCCCTACGCGCCTGATCTATGCTGCATCCAGTTTG
CAAAGTGGGGTCCCATCAAGGTTCAGCGGCAGTGGATCTGGGACAGAATTCACT
CTCACAATCAGCAGCCTGCAGCCTGAAGATTTTGCAACTTATTACTGTCTACAGT
GGTCCAGTTACCCTCGGACGTTCGGCCAAGGGACCAAGGTGGAAATCAAACGG
ACCGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAAT
CTGGAACTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCCA
AAGTACAGTGGAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGT
GTCACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCCTGAC

GCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCA
TCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGC

5559 IgG4P GNKRQ 124C/378C

Sec. con núm. de ident.: 1 HCDR1 (North) para 5559 IgG1A, 5559 IgG1A 124C/378C, 5559 IgG4P, 5559 IgG4P 124C/378C, 5559 IgG4P KRQ, 5559 IgG4P KRQ 124C/378C, 5559 IgG4P GNKRQ 124C/378C, y 5559 IgG1AAA 124C/378C

VASGFTFSHSSMN

Sec. con núm. de ident.: 2 HCDR2 (North) para 5559 IgG1A, 5559 IgG1A 124C/378C, 5559 IgG4P, 5559 IgG4P 124C/378C, 5559 IgG4P KRQ, 5559 IgG4P KRQ 124C/378C, 8660 IgG4P 124C/378C, 5559 IgG4P GNKRQ 124C/378C, y 5559 IgG1AAA 124C/378C

YISRATGAVY

Sec. con núm. de ident.: 3 HCDR3 (North) para 5559 IgG1A, 5559 IgG1A 124C/378C, 5559 IgG4P, 5559 IgG4P 124C/378C, 5559 IgG4P KRQ, 5559 IgG4P KRQ 124C/378C, 8660 IgG4P 124C/378C, 5559 IgG4P GNKRQ 124C/378C, 5559 IgG1AAA 124C/378C, y 5F3 IgG4PAA

AREPVFDY

Sec. con núm. de ident.: 4 LCDR1 (North) para 5559 IgG1A, 5559 IgG1A 124C/378C, 5559 IgG4P, 5559 IgG4P 124C/378C, 5559 IgG4P KRQ, 5559 IgG4P KRQ 124C/378C, 5559 IgG4P GNKRQ 124C/378C, y 5559 IgG1AAA 124C/378C

RASQDISNYLA

Sec. con núm. de ident.: 5 LCDR2 (North) para 5559 IgG1A, 5559 IgG1A 124C/378C, 5559 IgG4P, 5559 IgG4P 124C/378C, 5559 IgG4P KRQ, 5559 IgG4P KRQ 124C/378C, 8660 IgG4P 124C/378C, 5559 IgG4P GNKRQ 124C/378C, 5559 IgG1AAA 124C/378C, y 5F3 IgG4PAA

YAASSLQS

Sec. con núm. de ident.: 6 LCDR3 (North) para 5559 IgG1A, 5559 IgG1A 124C/378C, 5559 IgG4P, 5559 IgG4P 124C/378C, 5559 IgG4P KRQ, 5559 IgG4P KRQ 124C/378C, 8660 IgG4P 124C/378C, 5559 IgG4P GNKRQ 124C/378C, y 5559 IgG1AAA 124C/378C

LQWSSYPRT

Sec. con núm. de ident.: 7 VH para 5559 IgG1A, 5559 IgG1A 124C/378C, 5559 IgG4P, 5559 IgG4P 124C/378C, 5559 IgG4P KRQ, 5559 IgG4P KRQ 124C/378C, 5559 IgG4P GNKRQ 124C/378C, y 5559 IgG1AAA 124C/378C

QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCVASGFTFSHSSMNWVRQAPGKGLEWVSYISR
ATGAVYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRDEDTAVYYCAREPVFDYWGQ
GTLVTVSS

Sec. con núm. de ident.: 8 VL para 5559 IgG1A, 5559 IgG1A 124C/378C, 5559 IgG4P, 5559 IgG4P 124C/378C, 5559 IgG4P KRQ, 5559 IgG4P KRQ 124C/378C, 5559 IgG4P GNKRQ 124C/378C, y 5559 IgG1AAA 124C/378C

DIQMTQSPSAMSASVGDRVTITCRASQDISNYLAWFQQKPGKVPTRLIYAASSLQ
SGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPEDFATYYCLQWSSYPRTFGQGTKVEIK

Sec. con núm. de ident.: 50 HC para 5559 IgG4P GNKRQ 124C/378C

QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCVASGFTFSHSSMNWVRQAPGKGLEWVSYISRA
TGAVYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRDEDTAVYYCAREPVFDYWGQGT
LVTVSSASTKGPCVFPLAPCSRSTSGSTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGV
HTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVNHKPSNTKVDKRVESKYGPPC
PPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVKFNWYVDG
VEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIS
KAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDICVEWESNGQPENNYK
TTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLG

Sec. con núm. de ident.: 10 LC para 5559 IgG1A, 5559 IgG1A 124C/378C, 5559 IgG4P, 5559 IgG4P 124C/378C, 5559 IgG4P KRQ, 5559 IgG4P KRQ 124C/378C, 5559 IgG4P GNKRQ 124C/378C, y 5559 IgG1AAA 124C/378C

DIQMTQSPSAMSASVGDRVTITCRASQDISNYLAWFQQKPGKVPTRLIYAASSLQ
SGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPEDFATYYCLQWSSYPRTFGQGTKVEIKRTV
AAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTE
QDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

Sec. con núm. de ident.: 51 HC ADN para5559 IgG4P GNKRQ 124C/378C

CAGGTACAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCC
TGAGACTCTCCTGTGTCGCCTCTGGATTCACCTTCAGTCATTCTAGCATGAACTG
GGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTTTCATACATTAGTCGTG
CTACTGGTGCCGTCTACTACGCAGACTCTGTAAAGGGCCGATTCACCATCTCCA
GAGATAATGCCAAAAACTCACTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGACGAGG
ACACGGCTGTGTATTACTGTGCGAGAGAGCCGGTTTTTGACTACTGGGGCCAGG
GAACCCTGGTCACCGTCTCCTCAGCCTCCACCAAGGGCCCATGCGTCTTCCCG
CTAGCGCCCTGCTCCAGGAGCACCTCCGGCAGCACAGCCGCCCTGGGCTGCCT
GGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCGTGGAACTCAGGCGCCC
TGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCCTACAGTCCTCAGGACTCTACT
CCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACGAAGACCTAC
ACCTGCAACGTAAACCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGA
GTCCAAATATGGTCCCCCATGCCCACCCTGCCCAGCACCTGAGTTCCTGGGGG

GACCATCAGTCTTCCTGTTCCCCCCAAAACCCAAGGACACTCTCATGATCTCCC
GGACCCCTGAGGTCACGTGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCAGGAAGACCCCGA
GGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGATGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAA
GCCGCGGGAGGAGCAGTTCAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCG
TCCTGCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAAC
AAAGGCCTCCCGTCCTCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCC
CGAGAGCCACAGGTGTACACCCTGCCCCCATCCCGAGAGGAGATGACCAAGAA
CCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTACCCCAGCGACATCTGCGT
GGAGTGGGAAAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACTACAAGACCACGCCTCCCG
TGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCCTCTACAGCAGGCTAACCGTGGACAAGA
GCAGGTGGCAGCAGGGGAATGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTG
CACAACCACTACACACAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCTGGGT

Sec. con núm. de ident.: 12 LC ADN para 5559 IgG1A, 5559 IgG1A 124C/378C, 5559 IgG4P, 5559 IgG4P 124C/378C, 5559 IgG4P KRQ, 5559 IgG4P KRQ 124C/378C, 5559 IgG4P GNKRQ 124C/378C, y 5559 IgG1AAA 124C/378C

GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCTGCCATGTCTGCATCTGTGGGAGACAGA
GTCACCATCACTTGTCGGGCGAGTCAGGACATTAGCAATTATTTAGCCTGGTTTC
AGCAGAAACCAGGGAAAGTCCCTACGCGCCTGATCTATGCTGCATCCAGTTTGC
AAAGTGGGGTCCCATCAAGGTTCAGCGGCAGTGGATCTGGGACAGAATTCACTC
TCACAATCAGCAGCCTGCAGCCTGAAGATTTTGCAACTTATTACTGTCTACAGTG
GTCCAGTTACCCTCGGACGTTCGGCCAAGGGACCAAGGTGGAAATCAAACGGA

CCGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAAT
CTGGAACTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCCA
AAGTACAGTGGAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGT
GTCACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCCTGAC
GCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCA
TCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGC

<u>5559 IgG1AAA 124C/378C</u>

Sec. con núm. de ident.: 1 HCDR1 (North) para 5559 IgG1A, 5559 IgG1A 124C/378C, 5559 IgG4P, 5559 IgG4P 124C/378C, 5559 IgG4P KRQ, 5559 IgG4P KRQ 124C/378C, 5559 IgG4P GNKRQ 124C/378C, y 5559 IgG1AAA 124C/378C

VASGFTFSHSSMN

Sec. con núm. de ident.: 2 HCDR2 (North) para 5559 IgG1A, 5559 IgG1A 124C/378C, 5559 IgG4P, 5559 IgG4P 124C/378C, 5559 IgG4P KRQ, 5559 IgG4P KRQ 124C/378C, 8660 IgG4P 124C/378C, 5559 IgG4P GNKRQ 124C/378C, y 5559 IgG1AAA 124C/378C

YISRATGAVY

Sec. con núm. de ident.: 3 HCDR3 (North) para 5559 IgG1A, 5559 IgG1A 124C/378C, 5559 IgG4P, 5559 IgG4P 124C/378C, 5559 IgG4P KRQ, 5559 IgG4P

KRQ 124C/378C, 8660 IgG4P 124C/378C, 5559 IgG4P GNKRQ 124C/378C, 5559 IgG1AAA 124C/378C, y 5F3 IgG4PAA

AREPVFDY

Sec. con núm. de ident.: 4 LCDR1 (North) para 5559 IgG1A, 5559 IgG1A 124C/378C, 5559 IgG4P, 5559 IgG4P 124C/378C, 5559 IgG4P KRQ, 5559 IgG4P KRQ 124C/378C, 5559 IgG4P GNKRQ 124C/378C, y 5559 IgG1AAA 124C/378C

RASQDISNYLA

Sec. con núm. de ident.: 5 LCDR2 (North) para 5559 IgG1A, 5559 IgG1A 124C/378C, 5559 IgG4P, 5559 IgG4P 124C/378C, 5559 IgG4P KRQ, 5559 IgG4P KRQ 124C/378C, 8660 IgG4P 124C/378C, 5559 IgG4P GNKRQ 124C/378C, 5559 IgG1AAA 124C/378C, y 5F3 IgG4PAA

YAASSLQS

Sec. con núm. de ident.: 6 LCDR3 (North) para 5559 IgG1A, 5559 IgG1A 124C/378C, 5559 IgG4P, 5559 IgG4P 124C/378C, 5559 IgG4P KRQ, 5559 IgG4P KRQ 124C/378C, 8660 IgG4P 124C/378C, 5559 IgG4P GNKRQ 124C/378C, y 5559 IgG1AAA 124C/378C

LQWSSYPRT

Sec. con núm. de ident.: 7 VH para 5559 IgG1A, 5559 IgG1A 124C/378C, 5559 IgG4P, 5559 IgG4P 124C/378C, 5559 IgG4P KRQ, 5559 IgG4P KRQ 124C/378C, 5559 IgG4P GNKRQ 124C/378C, y 5559 IgG1AAA 124C/378C

QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCVASGFTFSHSSMNWVRQAPGKGLEWVSYISR
ATGAVYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRDEDTAVYYCAREPVFDYWGQ
GTLVTVSS

Sec. con núm. de ident.: 8 VL para 5559 IgG1A, 5559 IgG1A 124C/378C, 5559 IgG4P, 5559 IgG4P 124C/378C, 5559 IgG4P KRQ, 5559 IgG4P KRQ 124C/378C, 5559 IgG4P GNKRQ 124C/378C, y 5559 IgG1AAA 124C/378C

DIQMTQSPSAMSASVGDRVTITCRASQDISNYLAWFQQKPGKVPTRLIYAASSLQ
SGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPEDFATYYCLQWSSYPRTFGQGTKVEIK

Sec. con núm. de ident.: 52 HC para 5559 IgG1AAA 124C/378C

QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCVASGFTFSHSSMNWVRQAPGKGLEWVSYISRAT
GAVYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRDEDTAVYYCAREPVFDYWGQGTL
VTVSSASTKGPCVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVH
TFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHT
CPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDG
VEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALAAPIEKTISK
AKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDICVEWESNGQPENNYKT
TPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

Sec. con núm. de ident.: 10 LC para 5559 IgG1A, 5559 IgG1A 124C/378C, 5559 IgG4P, 5559 IgG4P 124C/378C, 5559 IgG4P KRQ, 5559 IgG4P KRQ 124C/378C, 5559 IgG4P GNKRQ 124C/378C, y 5559 IgG1AAA 124C/378C

DIQMTQSPSAMSASVGDRVTITCRASQDISNYLAWFQQKPGKVPTRLIYAASSLQ
SGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPEDFATYYCLQWSSYPRTFGQGTKVEIKRTV
AAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTE
QDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

Sec. con núm. de ident.: 53 HC ADN para 5559 IgG1AAA 124C/378C

CAGGTACAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCC
TGAGACTCTCCTGTGTCGCCTCTGGATTCACCTTCAGTCATTCTAGCATGAACTG
GGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTTTCATACATTAGTCGTG
CTACTGGTGCCGTCTACTACGCAGACTCTGTAAAGGGCCGATTCACCATCTCCA
GAGATAATGCCAAAAACTCACTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGACGAGG
ACACGGCTGTGTATTACTGTGCGAGAGAGCCGGTTTTTGACTACTGGGGCCAGG
GAACCCTGGTCACCGTCTCCTCAGCTAGCACCAAGGGCCCATGCGTCTTCCCC
CTGGCACCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCT
GGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCGTGGAACTCAGGCGCAC
TGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCCTACAGTCCTCAGGACTCTACT
CCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTAC
ATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAG

CCCAAATCTTGTGACAAAACTCACACATGCCCACCGTGCCCAGCACCTGAAGCC
GCCGGGGGACCGTCAGTCTTCCTCTTCCCCCCAAAACCCAAGGACACCCTCAT
GATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAG
ACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTATGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCA
AGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTC
CTCACCGTCCTGCACCAAGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGT
CTCCAACAAAGCCCTCGCCGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGG
GCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATGA
CCAAGAACCAAGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACA
TCTGCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACTACAAGACCACG
CCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCCTCTATTCCAAGCTCACCGTG
GACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGA
GGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGCAAA

Sec. con núm. de ident.: 12 LC ADN para 5559 IgG1A, 5559 IgG1A 124C/378C, 5559 IgG4P, 5559 IgG4P 124C/378C, 5559 IgG4P KRQ, 5559 IgG4P KRQ 124C/378C, 5559 IgG4P GNKRQ 124C/378C, y 5559 IgG1AAA 124C/378C

GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCTGCCATGTCTGCATCTGTGGGAGACAGA
GTCACCATCACTTGTCGGGCGAGTCAGGACATTAGCAATTATTTAGCCTGGTTTC
AGCAGAAACCAGGGAAAGTCCCTACGCGCCTGATCTATGCTGCATCCAGTTTGC
AAAGTGGGGTCCCATCAAGGTTCAGCGGCAGTGGATCTGGGACAGAATTCACTC
TCACAATCAGCAGCCTGCAGCCTGAAGATTTTGCAACTTATTACTGTCTACAGTG

GTCCAGTTACCCTCGGACGTTCGGCCAAGGGACCAAGGTGGAAATCAAACGGA
CCGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAAT
CTGGAACTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCCA
AAGTACAGTGGAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGT
GTCACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCCTGAC
GCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCA
TCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGC

REIVINDICACIONES:

1. Un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de este que se une específicamente a un epítopo de IL-4Rα humano, en donde el epítopo comprende uno o más residuos de aminoácidos seleccionados de:
   i. D12, M14, S15, I16, Y37, L39, F41, L42, L43, E45, H47, T48, C49, I50, E52, H62, L64, M65, D66, D67, V68, V69, D72, R99, P121, P123, P124, D125, P192 (las posiciones de los residuos de aminoácidos corresponden a la sec. con núm. de ident.: 15);
   ii. D12, M14, S15, I16, Y37, L39, F41, L43, E45, H47, T48, C49, I50, H62, L64, M65, D66, D67, V69, D72, R99, P121, P123, P124, D125 (las posiciones de los residuos de aminoácidos corresponden a la sec. con núm. de ident.: 15); o
   iii. D12, M14, S15, I16, L39, F41, L42, T48, C49, I50, E52, H62, L64, M65, D66, D67, V68, V69, D72, R99, P121, P123, P124, D125, P192 (las posiciones de los residuos de aminoácidos corresponden a la sec. con núm. de ident.: 15).

2. El anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de este de la reivindicación 1, en donde el epítopo comprende uno o más residuos de aminoácidos seleccionados de D12, M14, S15, I16, Y37, L39, T48, C49, I50, E52, H62, M65, R99, P121, P123, P124, D125, P192.

3. El anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de este de una cualquiera de las reivindicaciones 1-2, en donde el epítopo comprende uno o más residuos de aminoácidos seleccionados de R99, P121, P123, P124, D125, P192.

4. El anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de este de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el epítopo comprende al menos uno o más residuos de aminoácidos seleccionados de D66, D67 y D125.

5. El anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de este de la reivindicación 1, en donde el epítopo comprende al menos uno de los residuos de aminoácidos seleccionados de D66 y D67.

6. El anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de este de la reivindicación 1, en donde el epítopo comprende al menos uno de los residuos de aminoácidos seleccionados de D66 y DI25.

7. El anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de este de la reivindicación 1, en donde el epítopo comprende el residuo de aminoácido D66.

8. El anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de este de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, en donde el anticuerpo inhibe la unión de IL-4 humana a IL-4Rα humano.

9. El anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de este de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, en donde el anticuerpo inhibe la unión de IL-13 humana a IL-4Rα humano.

10. Un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de este que se une específicamente a IL-4Rα humano, en donde el anticuerpo comprende una región variable de cadena pesada (VH) y una región variable de cadena ligera (VL), en donde la VH comprende regiones determinantes de complementariedad de la cadena pesada HCDR1, HCDR2, y HCDR3, y la VL comprende regiones determinantes de complementariedad de la cadena ligera LCDR1, LCDR2, y LCDR3, en donde:

    la HCDR1 comprende la sec. con núm. de ident.: 1;

    la HCDR2 comprende la sec. con núm. de ident.: 2;

    la HCDR3 comprende la sec. con núm. de ident.: 3;

    la LCDR1 comprende la sec. con núm. de ident.: 4;

    la LCDR2 comprende la sec. con núm. de ident.: 5; y

    la LCDR3 comprende la sec. con núm. de ident.: 6.

11. El anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de este de la reivindicación 10, en donde la VH comprende la sec. con núm. de ident.: 7 y la VL comprende la sec. con núm. de ident.: 8.

12. Un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de este que se une específicamente a IL-4Rα humano, en donde el anticuerpo comprende una región variable de cadena pesada (VH) y una región variable de cadena ligera (VL), en donde la VH comprende regiones determinantes de complementariedad de la cadena pesada HCDR1, HCDR2, y HCDR3, y la VL comprende regiones determinantes de complementariedad de la cadena ligera LCDR1, LCDR2, y LCDR3, en donde:

    la HCDR1 comprende la sec. con núm. de ident.: 42;

    la HCDR2 comprende la sec. con núm. de ident.: 2;

    la HCDR3 comprende la sec. con núm. de ident.: 3;

    la LCDR1 comprende la sec. con núm. de ident.: 22;

    la LCDR2 comprende la sec. con núm. de ident.: 5; y

    la LCDR3 comprende la sec. con núm. de ident.: 6.

13. El anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de este de la reivindicación 12, en donde la VH comprende la sec. con núm. de ident.: 44 y la VL comprende la sec. con núm. de ident.: 45.

14. El anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de este de cualquiera de las reivindicaciones 10 a 13, en donde el anticuerpo comprende:
    i. una cadena pesada (HC) que comprende la sec. con núm. de ident.: 33 y una cadena ligera (LC) que comprende la sec. con núm. de ident.: 10;
    ii. una cadena pesada (HC) que comprende la sec. con núm. de ident.: 35 y una cadena ligera (LC) que comprende la sec. con núm. de ident.: 10;
    iii. una cadena pesada (HC) que comprende la sec. con núm. de ident.: 9 y una cadena ligera (LC) que comprende la sec. con núm. de ident.: 10;
    iv. una cadena pesada (HC) que comprende la sec. con núm. de ident.: 13 y una cadena ligera (LC) que comprende la sec. con núm. de ident.: 10;
    v. una cadena pesada (HC) que comprende la sec. con núm. de ident.: 31 y una cadena ligera (LC) que comprende la sec. con núm. de ident.: 10;
    vi. una cadena pesada (HC) que comprende la sec. con núm. de ident.: 37 y una cadena ligera (LC) que comprende la sec. con núm. de ident.: 10;
    vii. una cadena pesada (HC) que comprende la sec. con núm. de ident.: 52 y una cadena ligera (LC) que comprende la sec. con núm. de ident.: 10;
    viii. una cadena pesada (HC) que comprende la sec. con núm. de ident.: 50 y una cadena ligera (LC) que comprende la sec. con núm. de ident.: 10; o
    ix. una cadena pesada (HC) que comprende la sec. con núm. de ident.: 46 y una cadena ligera (LC) que comprende la sec. con núm. de ident.: 47.

15. El anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de este de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 13, en donde el anticuerpo comprende un isotipo IgG1 humano.

16. El anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de este de la reivindicación 15, en donde el anticuerpo comprende una alanina en el residuo de aminoácido 322 (numeración de la EU).

17. El anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de este de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 13, en donde el anticuerpo comprende un isotipo IgG4 humano.

18. El anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de este de la reivindicación 17, en donde el anticuerpo comprende uno o más de los siguientes:

    una glicina en el residuo de aminoácido 137 (numeración de la UE);
    una asparagina en el residuo de aminoácido 203 (numeración de la UE);
    una lisina en el residuo de aminoácido 274 (numeración de la EU);
    una arginina en el residuo de aminoácido 355 (numeración de la EU); o
    una glutamina en el residuo de aminoácido 419 (numeración de la EU);

19. El anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de este de la reivindicación 17, en donde el anticuerpo comprende:

una lisina en el residuo de aminoácido 274 (numeración de la EU), una arginina en el residuo de aminoácido 355, y una glutamina en el residuo de aminoácido 419 (numeración de la EU).

20. El anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de este de la reivindicación 17, en donde el anticuerpo comprende:

una glicina en el residuo de aminoácido 137 (numeración de la EU), una asparagina en el residuo de aminoácido 203 (numeración de la EU), una lisina en el residuo de aminoácido 274 (numeración de la EU), una arginina en el residuo de aminoácido 355, y una glutamina en el residuo de aminoácido 419 (numeración de la EU).

21. Un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de este que se une específicamente a IL-4Rα humano, en donde el anticuerpo comprende una región variable de cadena pesada (VH) y una región variable de cadena ligera (VL), en donde la VH comprende regiones determinantes de complementariedad de la cadena pesada HCDR1, HCDR2, y HCDR3, y la VL comprende regiones determinantes de complementariedad de la cadena ligera LCDR1, LCDR2, y LCDR3, en donde:

la HCDR1 comprende la sec. con núm. de ident.: 19;

la HCDR2 comprende la sec. con núm. de ident.: 20;

la HCDR3 comprende la sec. con núm. de ident.: 3;

la LCDR1 comprende la sec. con núm. de ident.: 22;

la LCDR2 comprende la sec. con núm. de ident.: 5; y

la LCDR3 comprende la sec. con núm. de ident.: 24.

22. El anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de este de la reivindicación 21, en donde la VH comprende la sec. con núm. de ident.: 25 y la VL comprende la sec. con núm. de ident.: 26.

23. El anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de este de una cualquiera de las reivindicaciones 21 o 22, en donde el anticuerpo comprende una HC que comprende la sec. con núm. de ident.: 27 y una LC que comprende la sec. con núm. de ident.: 28.

24. El anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de este de una cualquiera de las reivindicaciones 14-20, o 23, en donde el anticuerpo comprende:

    una cisteína en el residuo de aminoácido 124 (numeración de EU);

    una cisteína en el residuo de aminoácido 378 (numeración de EU); o

    una cisteína en el residuo de aminoácido 124 (numeración de la UE) y cisteína en el residuo de aminoácido 378 (numeración de la EU).

25. Un ácido nucleico que comprende una secuencia que codifica las sec. con núms. de ident.: 9, 10, 13, 27, 28, 31, 33, 35, 37, 46, 47, 50 o 52.

26. Un vector que comprende el ácido nucleico de la reivindicación 25.

27. El vector de la reivindicación 26, en donde el vector comprende una primera secuencia de ácidos nucleicos que codifica las sec. con núms. de ident.: 9, 13, 31, 33, 35, 37, 46, 50, o 52 y una segunda secuencia de ácidos nucleicos que codifica las sec. con núms. de ident.: 10 o 47.

28. El vector de la reivindicación 26, en donde el vector comprende una primera secuencia de ácidos nucleicos que codifica la sec. con núm. de ident.: 27, y una segunda secuencia de ácidos nucleicos que codifica la sec. con núm. de ident.: 28.

29. Una composición que comprende un primer vector que comprende una secuencia de ácidos nucleicos que codifica las sec. con núms. de ident.: 9, 13, 31, 33, 35, 37, 46, 50 o 52 y un segundo vector que comprende una secuencia de ácidos nucleicos que codifica las sec. con núms. de ident.: 10 o 47.

30. Una composición que comprende un primer vector que comprende una secuencia de ácidos nucleicos que codifica la sec. con núm. de ident.: 27, y un segundo vector que comprende una secuencia de ácidos nucleicos que codifica la sec. con núm. de ident.: 28.

31. Una célula que comprende el vector de una cualquiera de las reivindicaciones 26 o 28.

32. La célula de la reivindicación 31, en donde la célula es una célula de mamífero.

33. Un proceso para producir un anticuerpo o un fragmento de unión al antígeno de este que comprende cultivar la célula de una cualquiera de las reivindicaciones 31 a 32, en condiciones tales que el anticuerpo se expresa y recuperar el anticuerpo expresado del medio de cultivo.

34. Un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de este producido por el proceso de la reivindicación 33.

35. Un conjugado de anticuerpo-fármaco que comprende el anticuerpo de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 24, o 34.

36. Una composición farmacéutica que comprende el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de este de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 24, o 34, y un excipiente, diluyente, o portador farmacéuticamente aceptable.

37. Un método para tratar un trastorno asociado con IL-4R, en un sujeto que lo necesita, que comprende administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente efectiva del anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de este de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 24, o 34, o la composición farmacéutica de la reivindicación 36.

38. El método de la reivindicación 37, en donde el trastorno asociado con IL-4R es un trastorno inflamatorio inmunitario.

39. El método de la reivindicación 38, en donde el trastorno inflamatorio inmunitario es un trastorno inflamatorio de tipo 2.

40. El método de la reivindicación 39, en donde el trastorno inflamatorio de tipo 2 se selecciona de dermatitis atópica, esofagitis eosinofílica, poliposis nasal, asma, rinosinusitis crónica (CRS), enfermedad alérgica, enfermedad pulmonar obstructiva crónica (COPS) o urticaria espontánea crónica (CSU).

41. El método de la reivindicación 37, en donde el trastorno asociado con IL-4R es cáncer.

42. El anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de este de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 24, o 34, para usar en terapia.

43. El anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de este de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 24, o 34, o la composición farmacéutica de la reivindicación 36, para usar en el tratamiento de un trastorno asociado con IL-4R.

44. El anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de este o composición farmacéutica para usar de acuerdo con la reivindicación 43, en donde el trastorno asociado con IL-4R es un trastorno inflamatorio inmunitario.

45. El anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de este o composición farmacéutica para usar de acuerdo con la reivindicación 44, en donde el trastorno inflamatorio inmunitario es un trastorno inflamatorio de tipo 2.

46. El anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de este o la composición farmacéutica para usar de acuerdo con la reivindicación 45, en donde el trastorno inflamatorio de tipo 2 se selecciona de dermatitis atópica, esofagitis eosinofílica, poliposis nasal, asma, rinosinusitis crónica (RSC), enfermedad alérgica, enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), o urticaria espontánea crónica (UCE).

47. El anticuerpo o composición farmacéutica para usar de acuerdo con la reivindicación 43, en donde el trastorno asociado con IL-4R es cáncer.

48. Uso del anticuerpo de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 24, o 34, en la fabricación de un medicamento para el tratamiento de un trastorno asociado con IL-4R.

49. El uso de la reivindicación 48, en donde el trastorno asociado con IL-4R es un trastorno inflamatorio inmunitario.

50. El uso de la reivindicación 49, en donde el trastorno inflamatorio inmunitario es un trastorno inflamatorio de tipo 2.

51. El uso de la reivindicación 50, en donde el trastorno inflamatorio de tipo 2 se selecciona de dermatitis atópica, esofagitis eosinofílica, poliposis nasal, asma, rinosinusitis crónica (CRS), enfermedad alérgica, enfermedad pulmonar obstructiva crónica (COPD), o urticaria espontánea crónica (CSU).

52. El uso de la reivindicación 51, en donde el trastorno asociado con IL-4R es cáncer.

RESUMEN

La presente descripción se relaciona con anticuerpos que se unen específicamente a IL-4Rα humano, composiciones que comprenden tales anticuerpos IL-4Rα y métodos para usar tales anticuerpos IL-4Rα.

FIG. 1

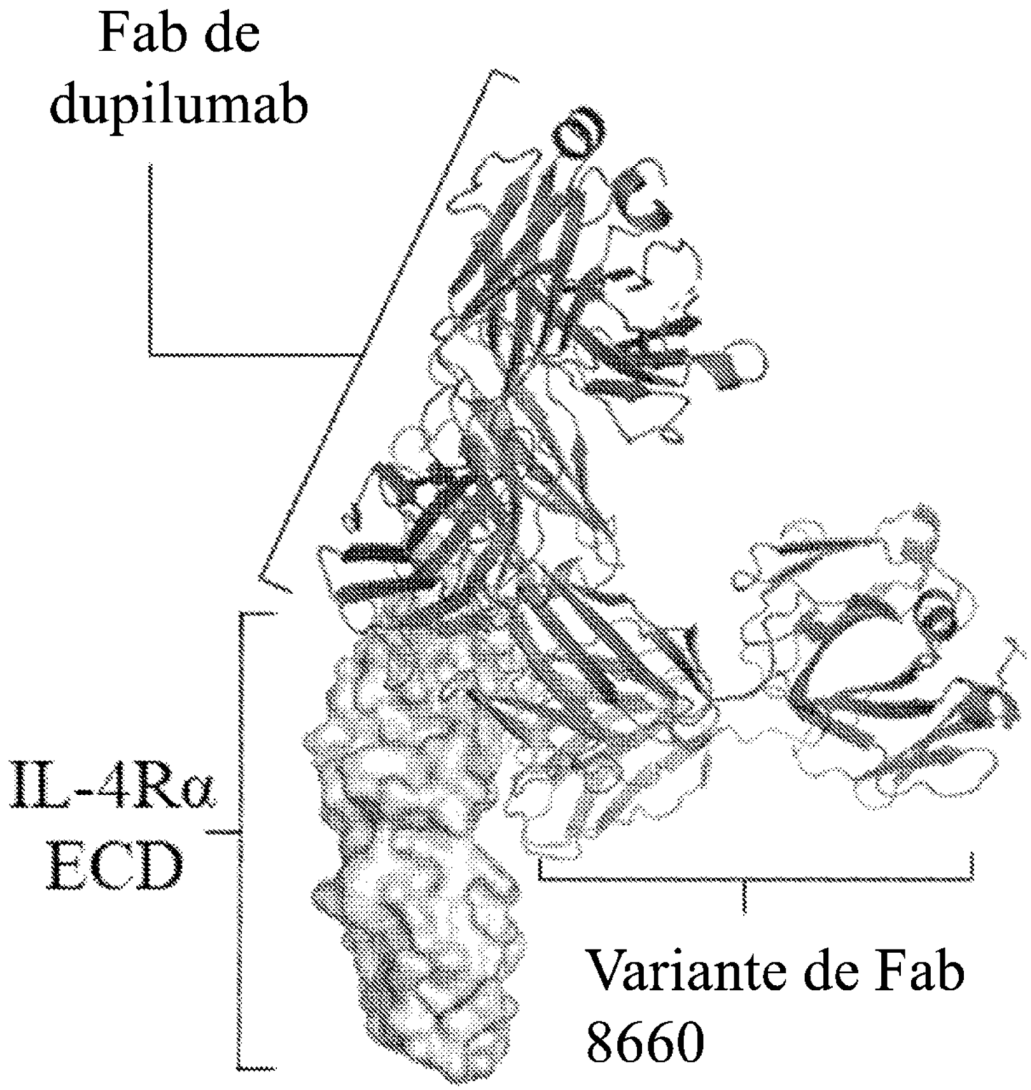


FIG. 2

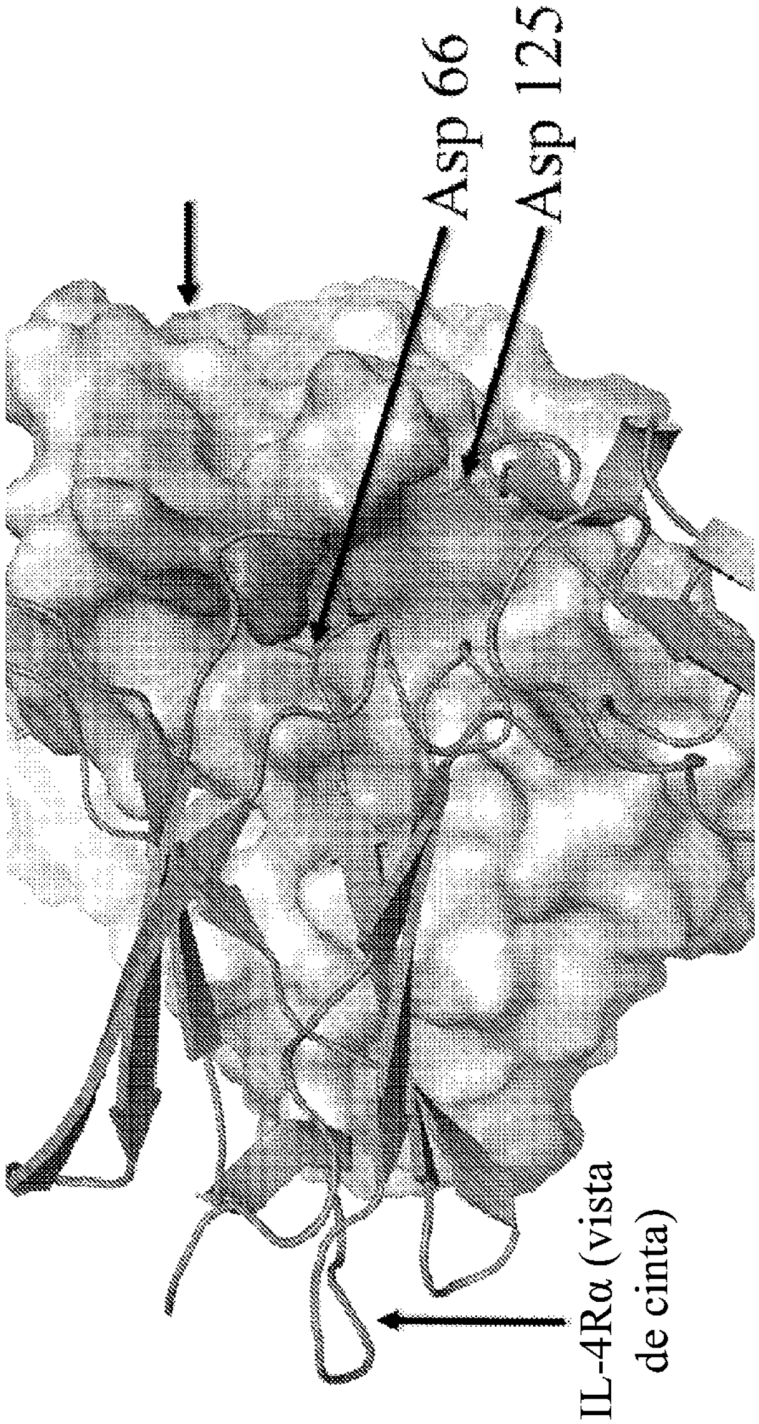


FIG. 3A

Afinidades de unión de anticuerpos IL4Rα a IL-4Rα humano ejemplificados

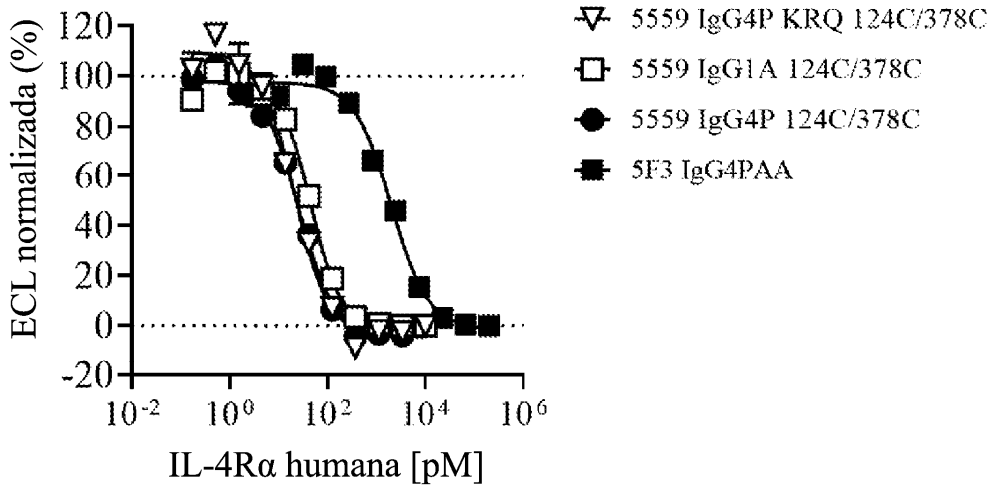


FIG. 3B

Afinidad de unión de anticuerpos IL-4Ra a IL-4Ra de mono cynomolgus ejemplificados

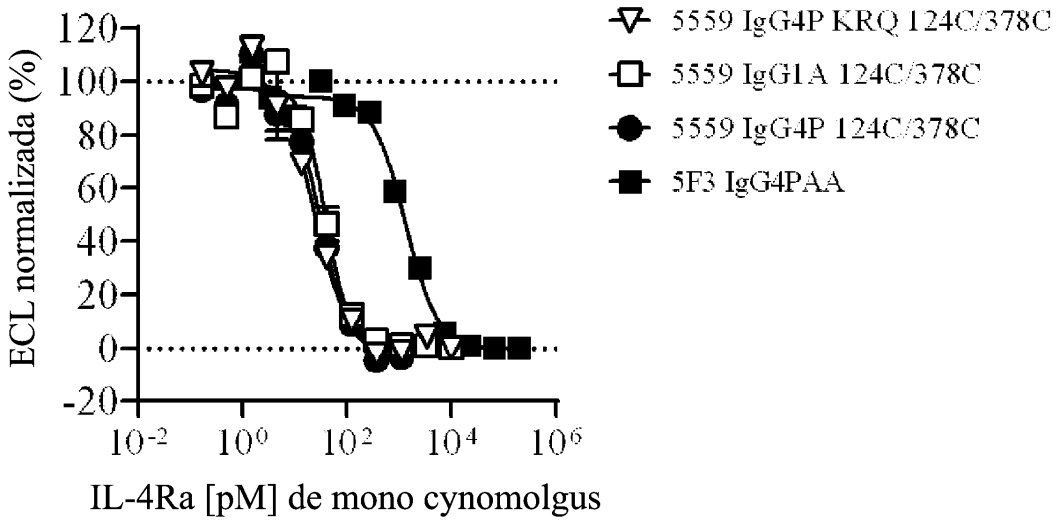


FIG. 4A

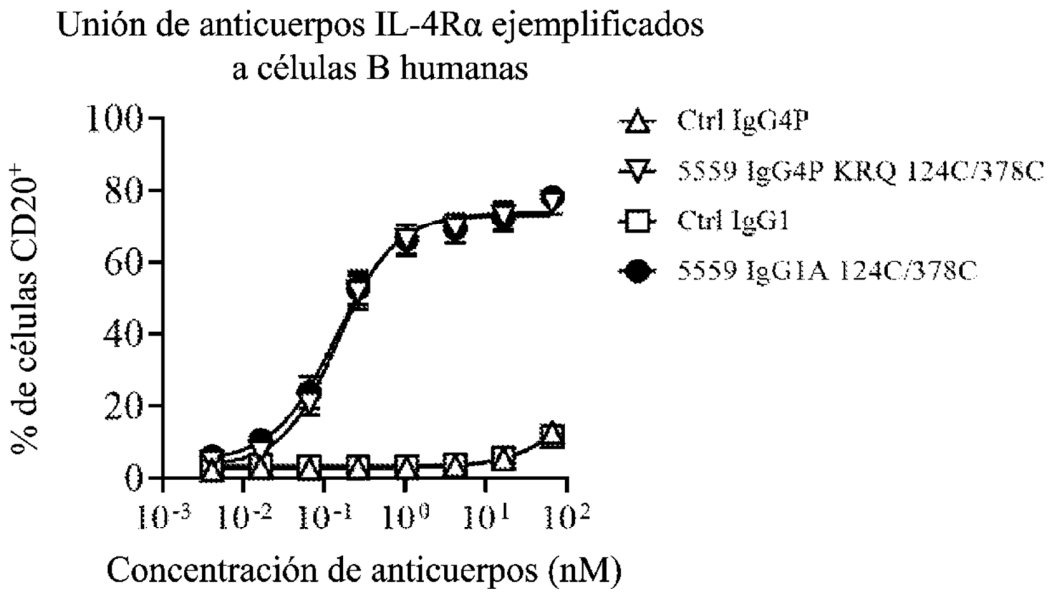

Unión de anticuerpos IL-4Rα ejemplificados
a células B humanas
% de células CD20+
100
80
60
40
20
0
10-3 10-2 10-1 100 101 102
Concentración de anticuerpos (nM)
Ctrl IgG4P
5559 IgG4P KRQ 124C/378C
Ctrl IgG1
5559 IgG1A 124C/378C

FIG. 4B

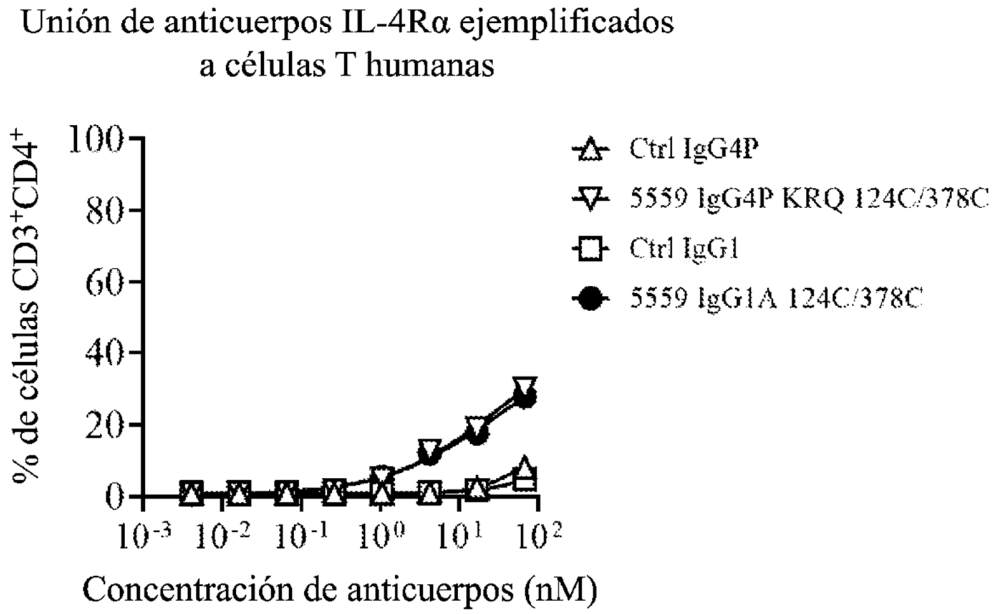

Unión de anticuerpos IL-4Rα ejemplificados
a células T humanas
% de células CD3+CD4+
100
80
60
40
20
0
10-3 10-2 10-1 100 101 102
Concentración de anticuerpos (nM)
Ctrl IgG4P
5559 IgG4P KRQ 124C/378C
Ctrl IgG1
5559 IgG1A 124C/378C

FIG. 4C

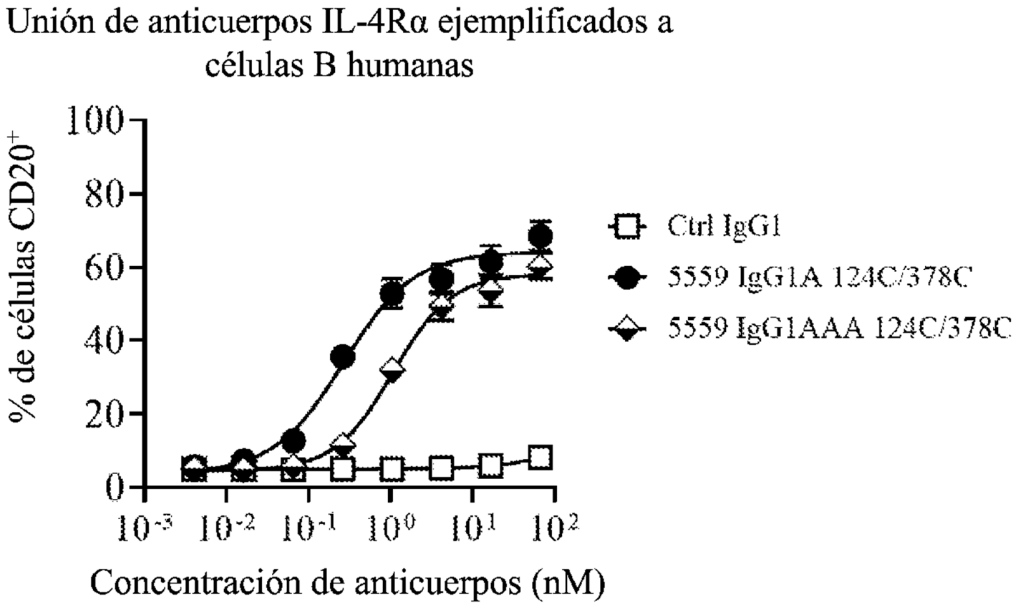

Unión de anticuerpos IL-4Rα ejemplificados a células B humanas
% de células CD20+
100
80
60
40
20
0
10-3
10-2
10-1
100
101
102
Concentración de anticuerpos (nM)
Ctrl IgG1
5559 IgG1A 124C/378C
5559 IgG1AAA 124C/378C

FIG. 5A

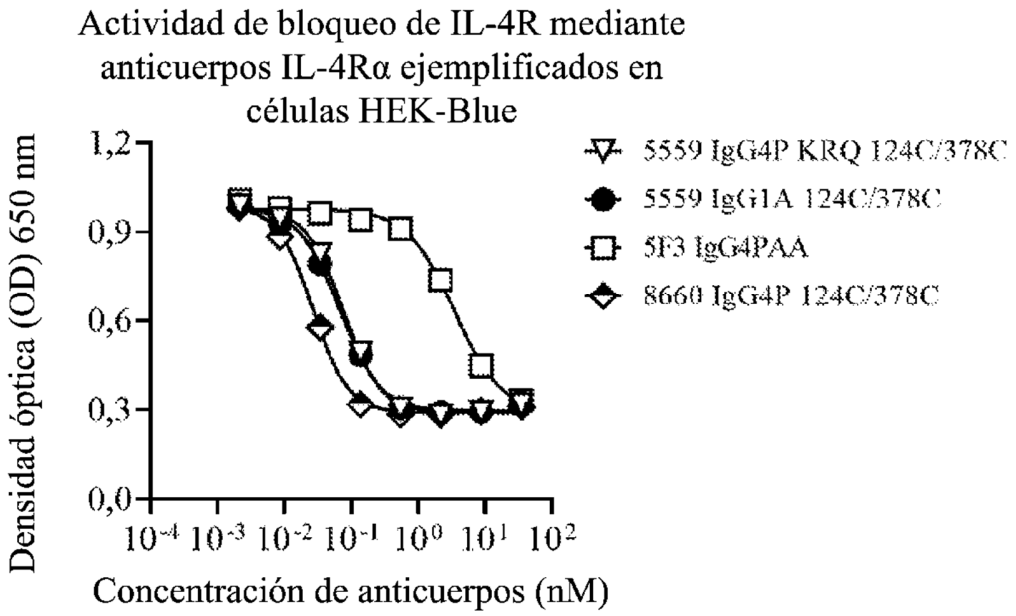

Actividad de bloqueo de IL-4R mediante anticuerpos IL-4Rα ejemplificados en células HEK-Blue
Densidad óptica (OD) 650 nm
1,2
0,9
0,6
0,3
0,0
10-4 10-3 10-2 10-1 100 101 102
Concentración de anticuerpos (nM)
5559 IgG4P KRQ 124C/378C
5559 IgG1A 124C/378C
5F3 IgG4PAA
8660 IgG4P 124C/378C

FIG. 5B

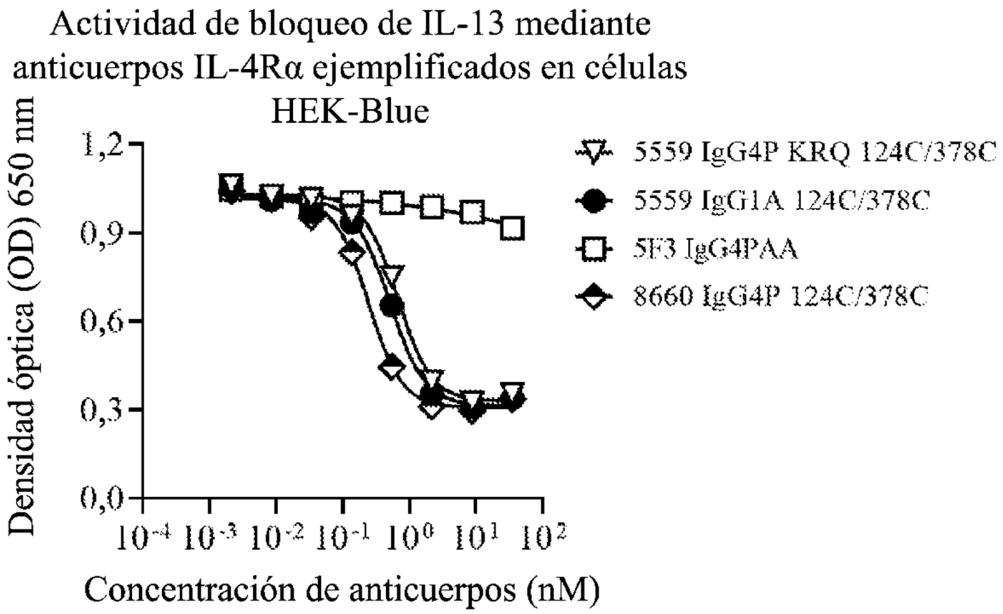

Actividad de bloqueo de IL-13 mediante anticuerpos IL-4Rα ejemplificados en células HEK-Blue
Densidad óptica (OD) 650 nm
1,2
0,9
0,6
0,3
0,0
10-4 10-3 10-2 10-1 100 101 102
Concentración de anticuerpos (nM)
5559 IgG4P KRQ 124C/378C
5559 IgG1A 124C/378C
5F3 IgG4PAA
8660 IgG4P 124C/378C

FIG. 6A

Inhibición de la fosforilación de pSTAT6 inducida por IL-4 en células T humanas

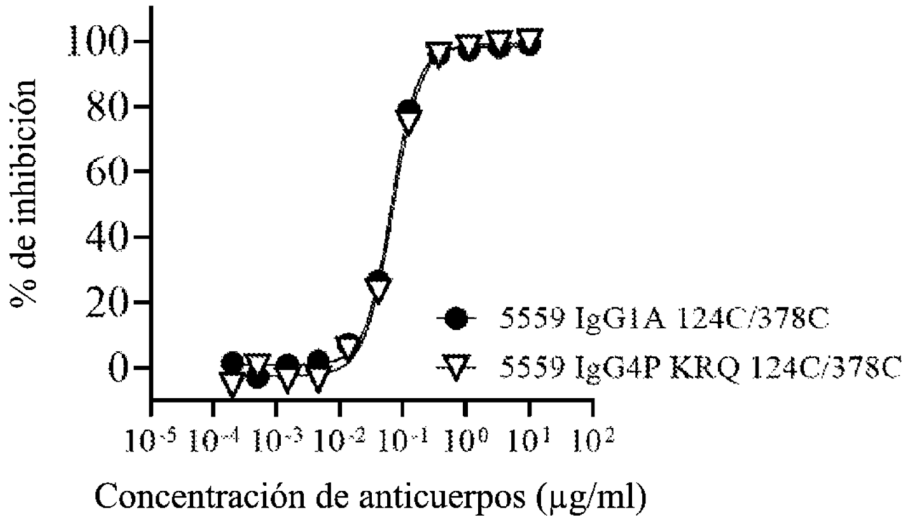


FIG. 6B

Inhibición de la fosforilación de pSTAT6 inducida por IL-4 en células B humanas

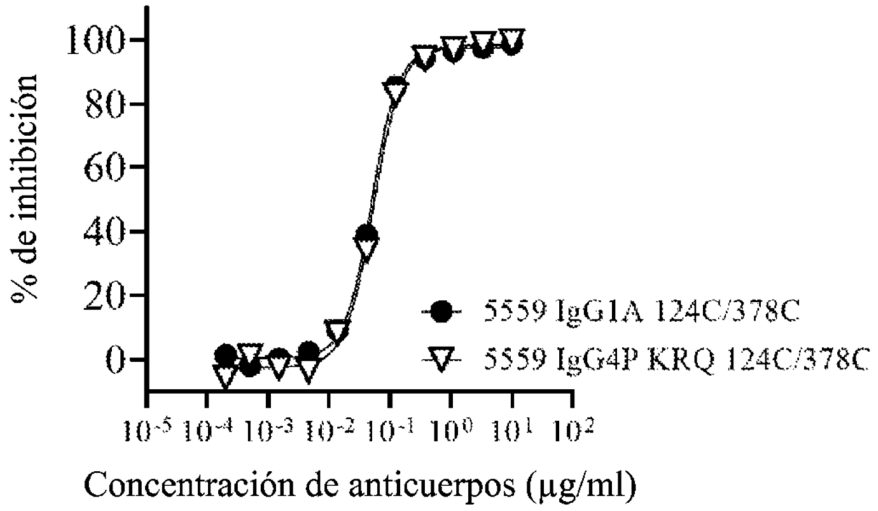


FIG. 6C

Inhibición de la fosforilación de pSTAT6 inducida por IL-13
en células B humanas

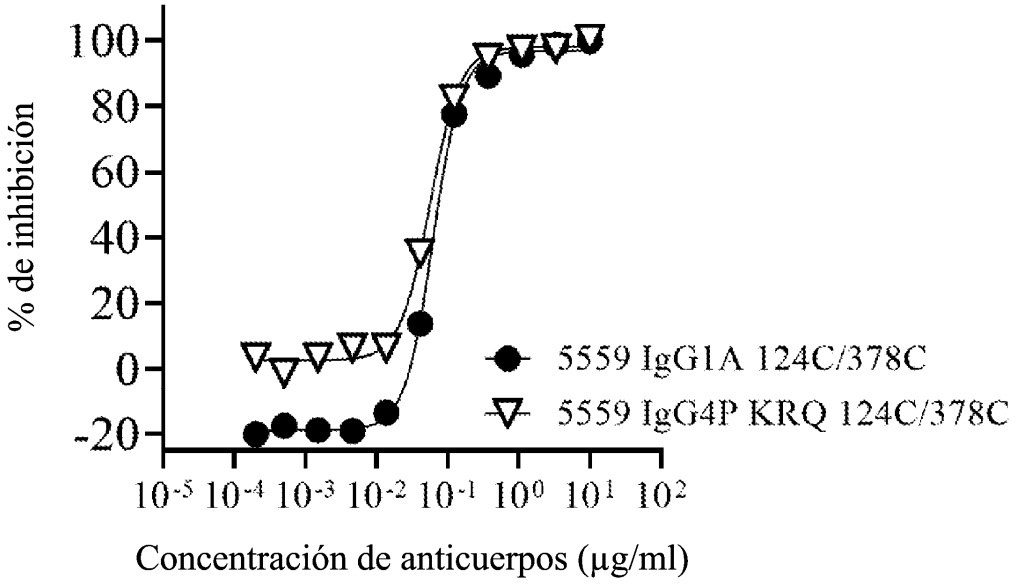


FIG. 7

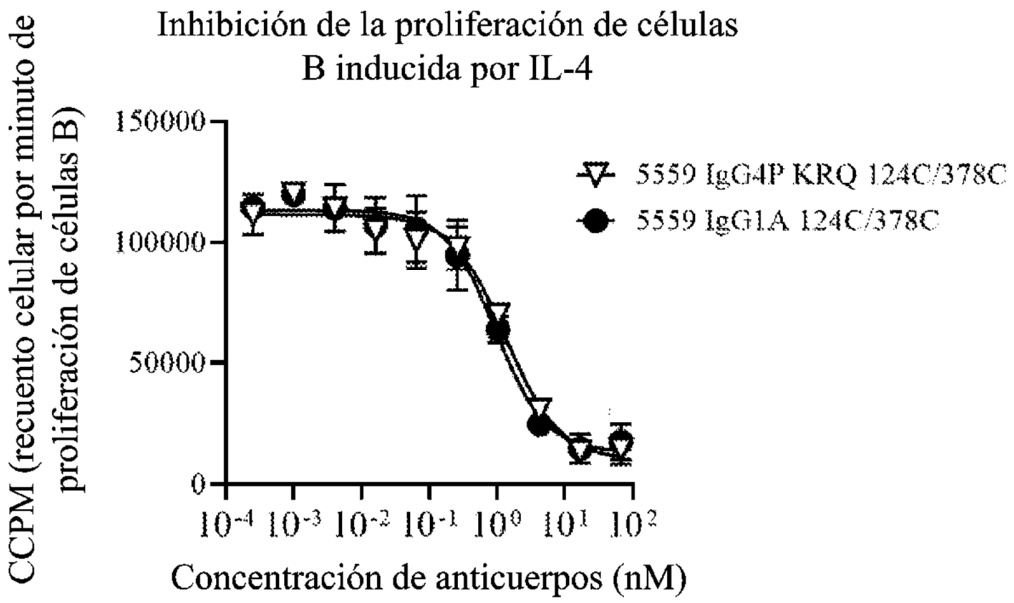

Inhibición de la proliferación de células B inducida por IL-4
CCPM (recuento celular por minuto de proliferación de células B)
150000
100000
50000
0
5559 IgG4P KRQ 124C/378C
5559 IgG1A 124C/378C
10-4 10-3 10-2 10-1 100 101 102
Concentración de anticuerpos (nM)

FIG. 8A

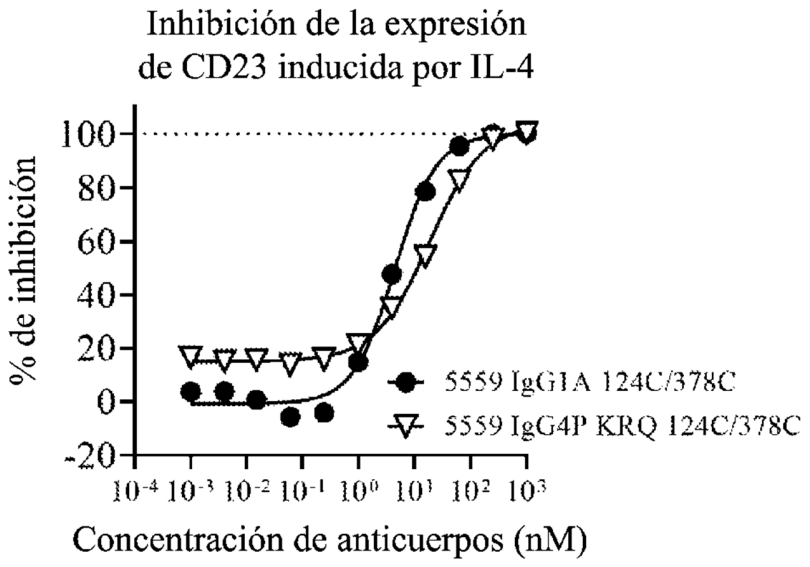

Inhibición de la expresión
de CD23 inducida por IL-4
% de inhibición
100
80
60
40
20
0
-20
5559 IgG1A 124C/378C
5559 IgG4P KRQ 124C/378C
10-4 10-3 10-2 10-1 100 101 102 103
Concentración de anticuerpos (nM)

FIG. 8B

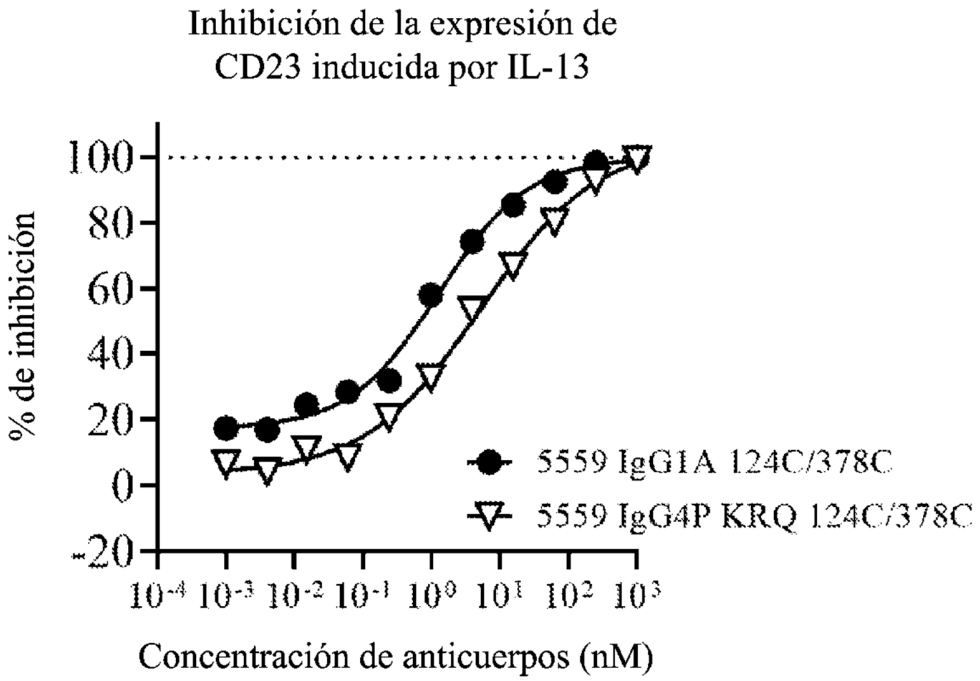

Inhibición de la expresión de
CD23 inducida por IL-13
% de inhibición
100
80
60
40
20
0
-20
5559 IgG1A 124C/378C
5559 IgG4P KRQ 124C/378C
10-4 10-3 10-2 10-1 100 101 102 103
Concentración de anticuerpos (nM)

FIG. 9

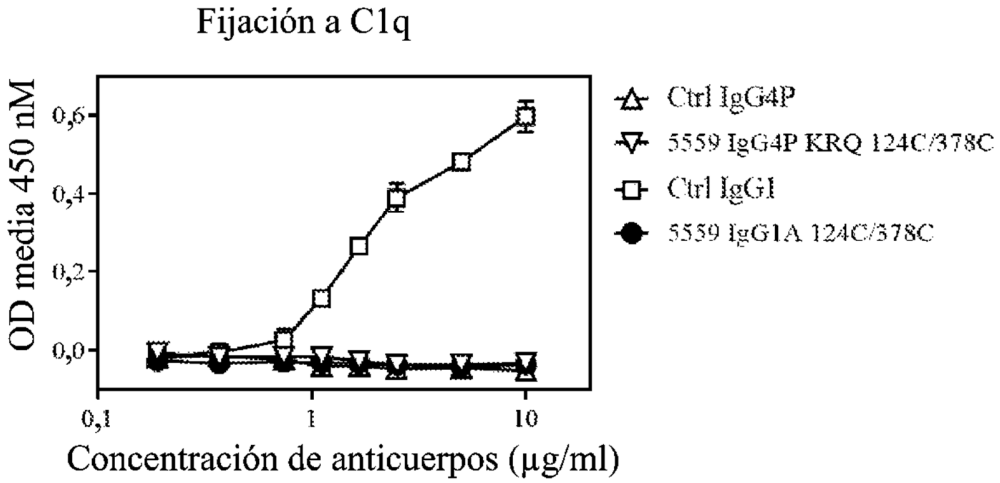

Fijación a C1q
OD media 450 nM
0,6
0,4
0,2
0,0
0,1
1
10
Concentración de anticuerpos (µg/ml)
Ctrl IgG4P
5559 IgG4P KRQ 124C/378C
Ctrl IgG1
5559 IgG1A 124C/378C

FIG. 10A

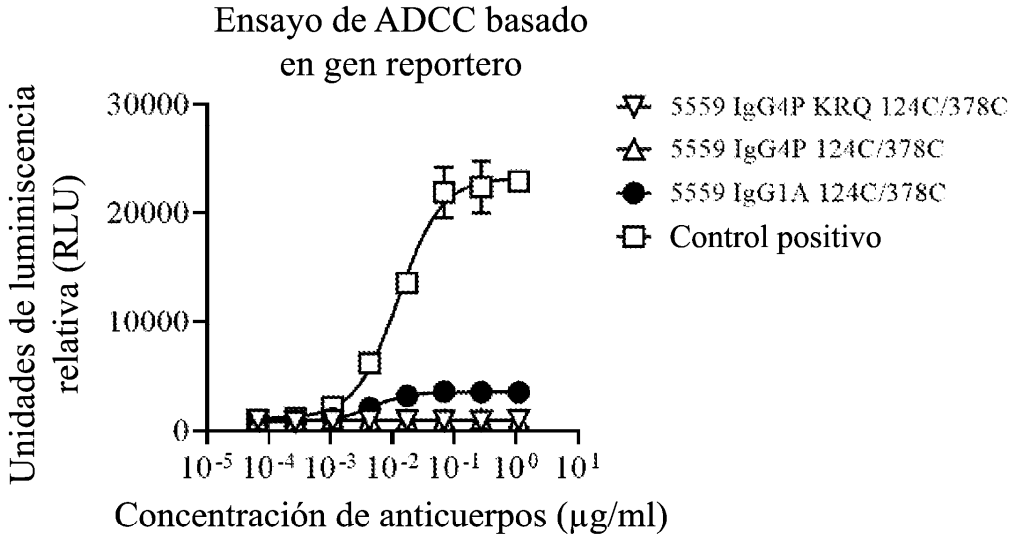


FIG. 10B

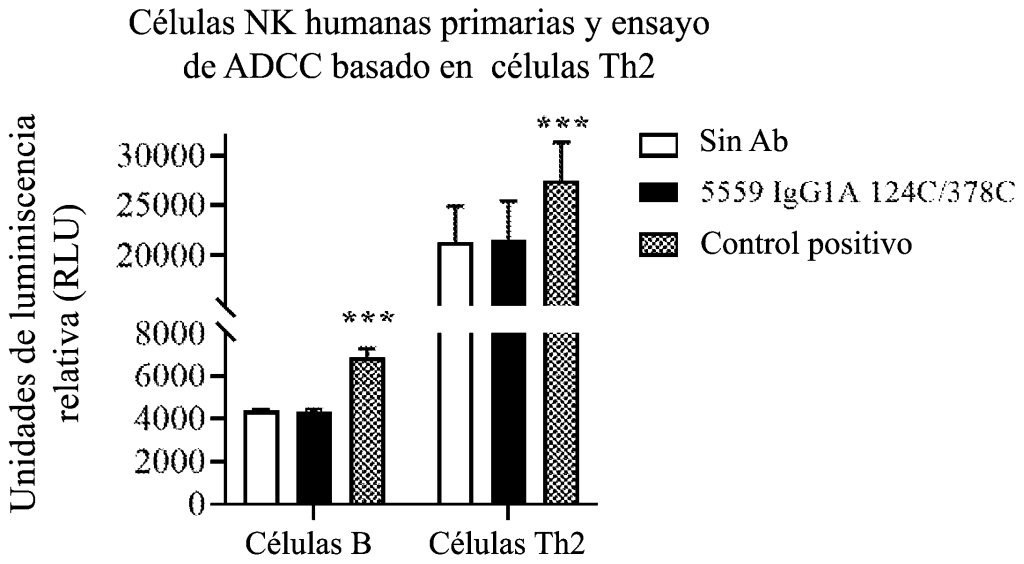


FIG. 11

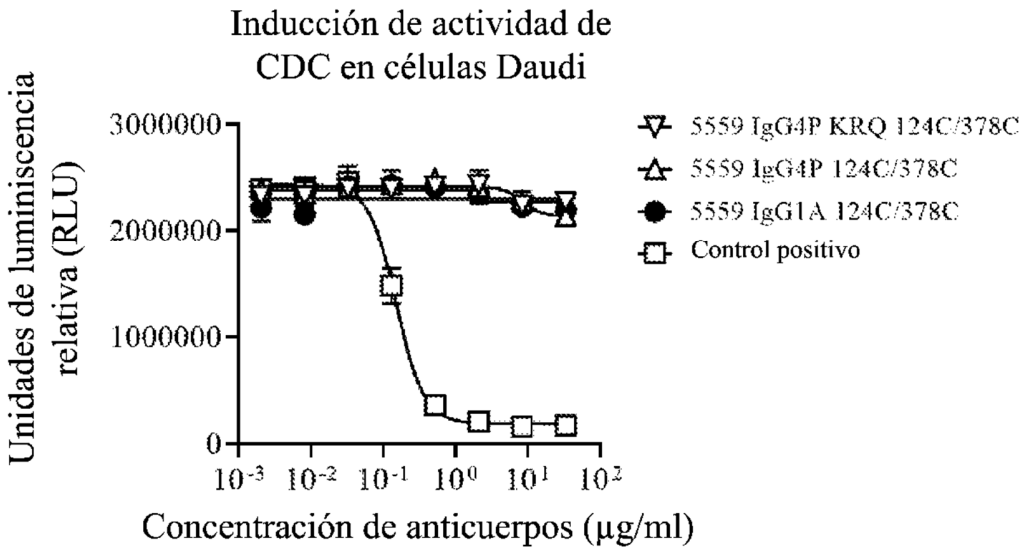

Inducción de actividad de
CDC en células Daudi
Unidades de luminiscencia
relativa (RLU)
3000000
2000000
1000000
0
10-3
10-2
10-1
100
101
102
Concentración de anticuerpos (µg/ml)
5559 IgG4P KRQ 124C/378C
5559 IgG4P 124C/378C
5559 IgG1A 124C/378C
Control positivo

Fig. 12A

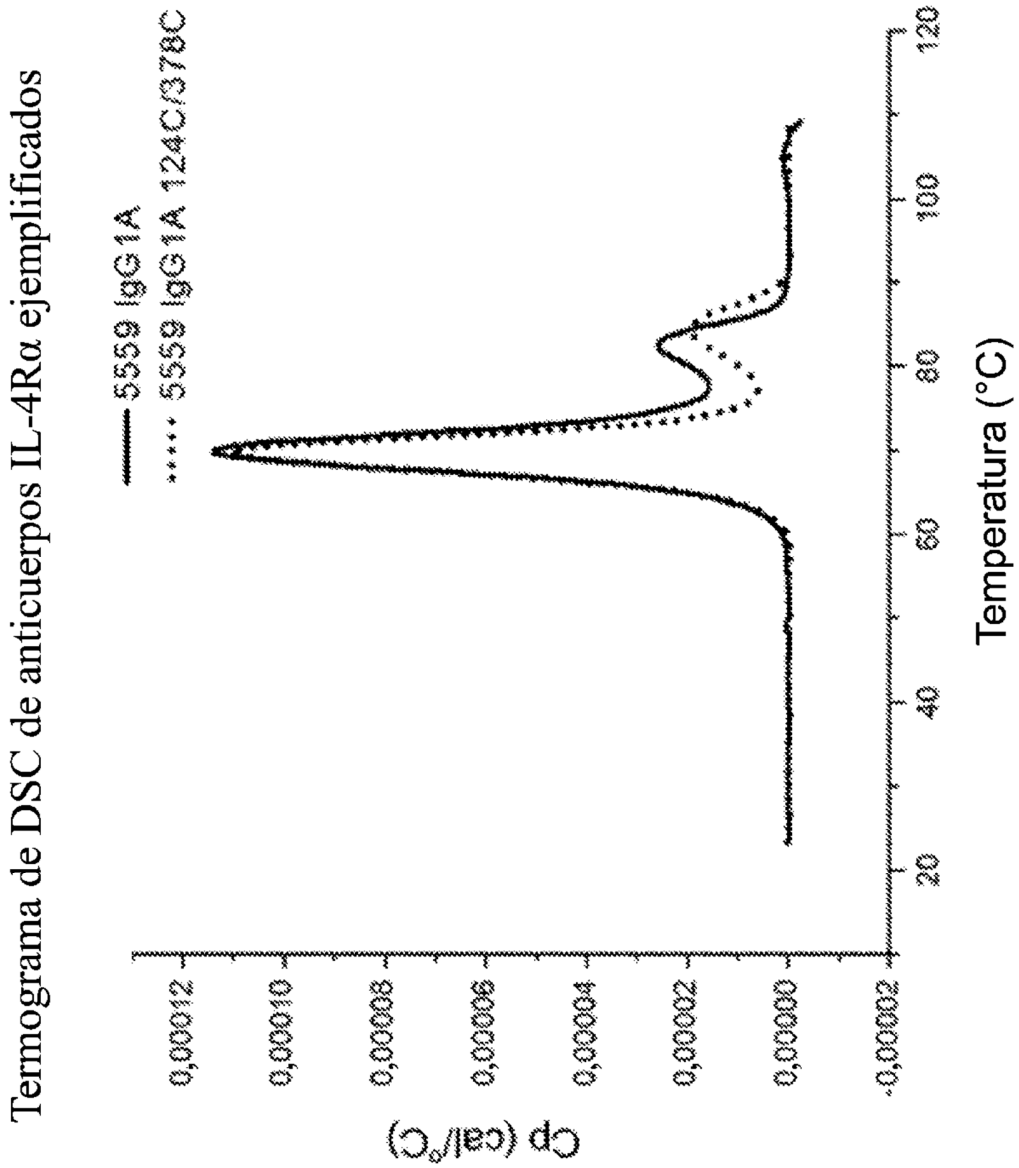

Termograma de DSC de anticuerpos IL-4Rα ejemplificados
5559 IgG1A
5559 IgG1A 124C/378C
Cp (cal/°C)
0,00012
0,00010
0,00008
0,00006
0,00004
0,00002
0,00000
-0,00002
20
40
60
80
100
120
Temperatura (°C)

FIG. 12B

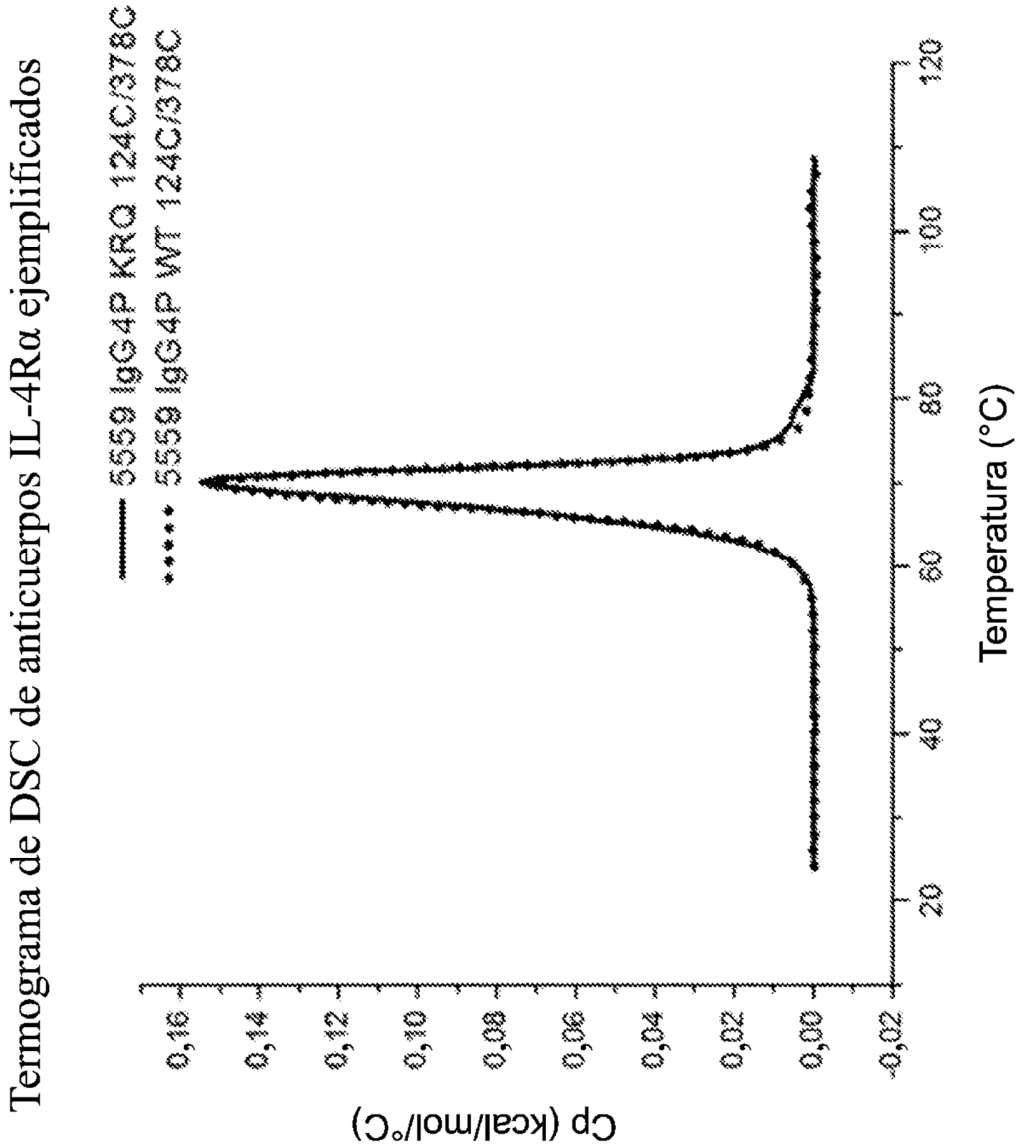

Termograma de DSC de anticuerpos IL-4Rα ejemplificados
5559 IgG4P KRQ 124C/378C
5559 IgG4P WT 124C/378C
Cp (kcal/mol/°C)
0,16
0,14
0,12
0,10
0,08
0,06
0,04
0,02
0,00
-0,02
20
40
60
80
100
120
Temperatura (°C)

FIG. 13

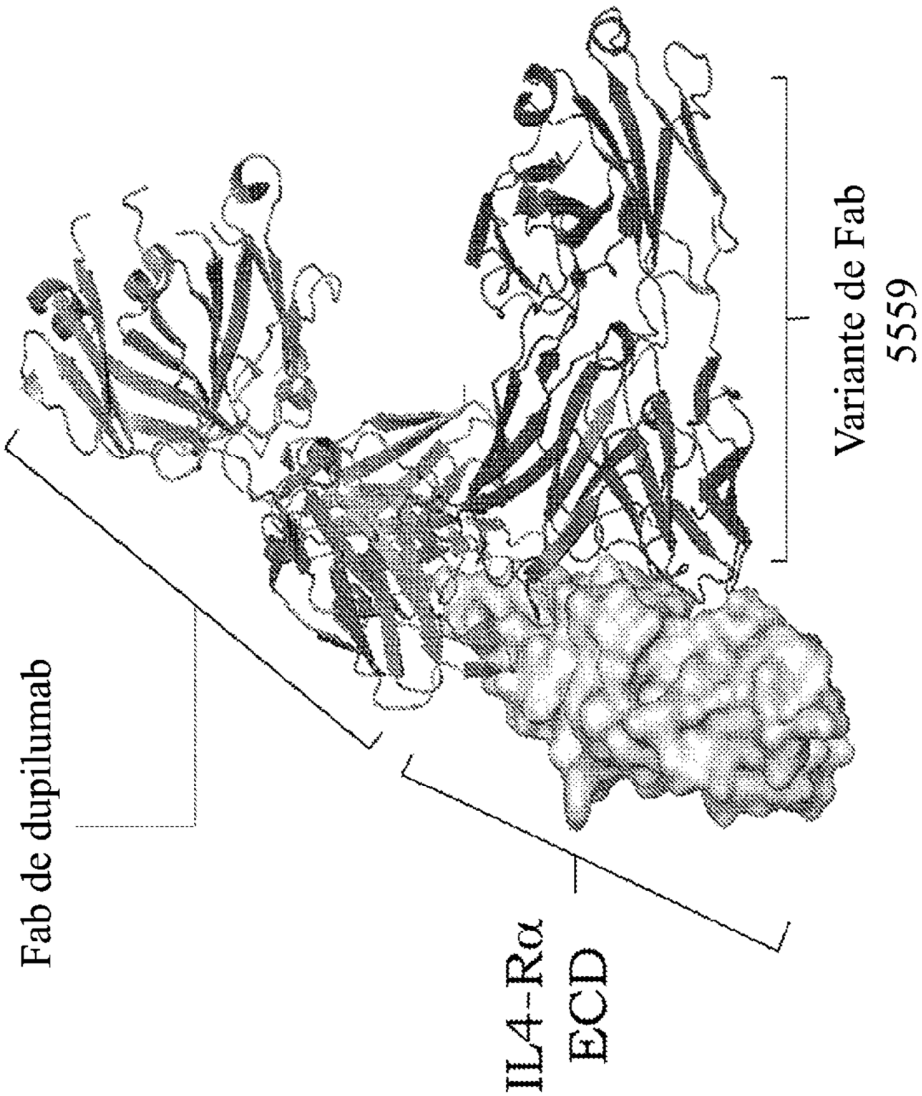
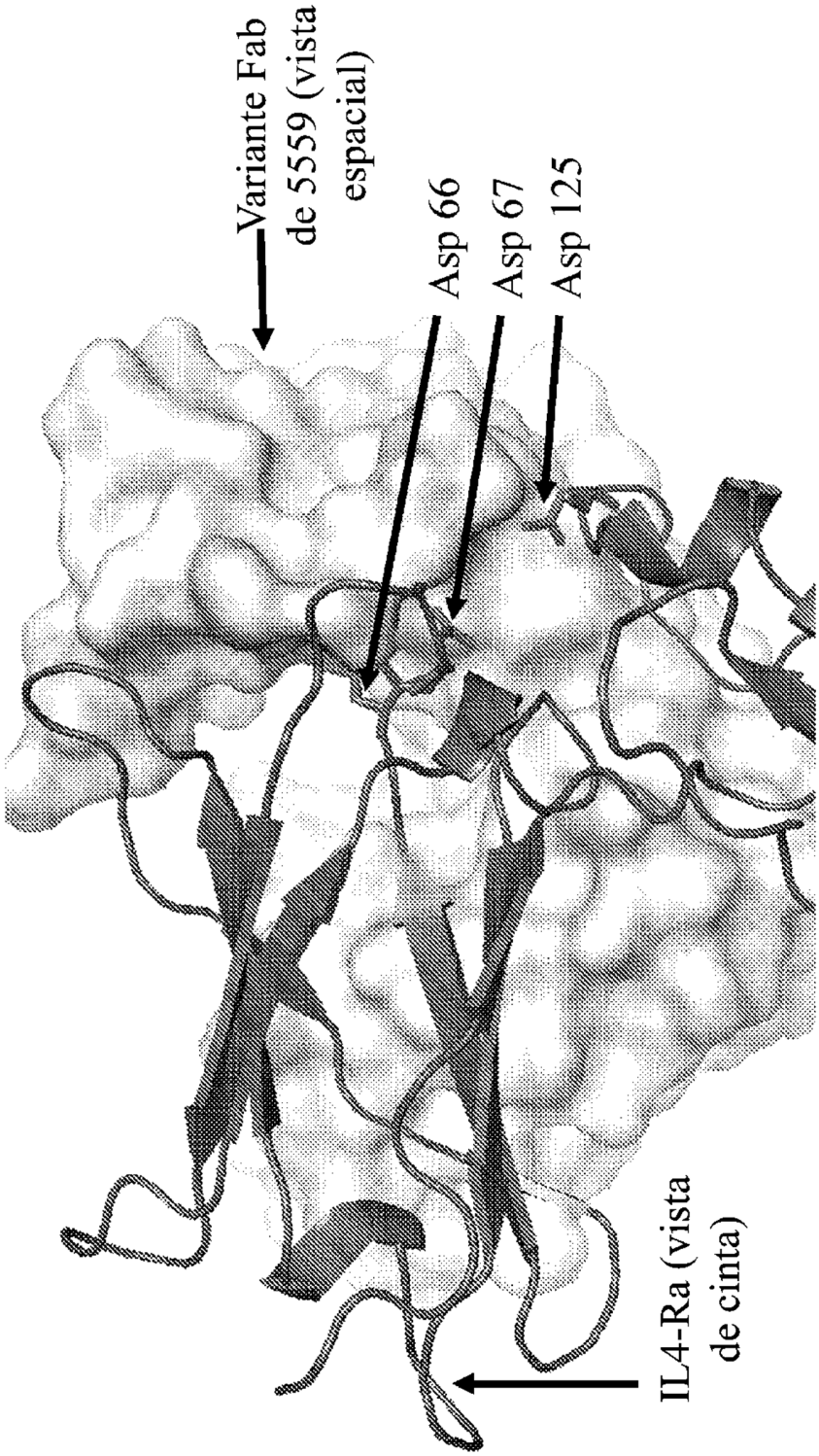


FIG. 14


Variante Fab de 5559 (vista espacial)
Asp 66
Asp 67
Asp 125
IL4-Ra (vista de cinta)