

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(11) **036476**(13) **B1**

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ

(45) Дата публикации и выдачи патента
2020.11.13

(21) Номер заявки
201690485

(22) Дата подачи заявки
2014.09.15

(51) Int. Cl. **A61K 31/4045** (2006.01)
A61K 39/395 (2006.01)
A61P 35/02 (2006.01)

(54) КОМБИНАЦИЯ ЭПИГЕНЕТИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ И БИСПЕЦИФИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ, НАЦЕЛЕННЫХ НА CD33 И CD3, В ЛЕЧЕНИИ МИЕЛОИДНОГО ЛЕЙКОЗА

(31) **61/877,714**

(32) **2013.09.13**

(33) **US**

(43) **2016.08.31**

(86) **PCT/EP2014/069575**

(87) **WO 2015/036583 2015.03.19**

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
**ЭМДЖЕН ИНК. (US); ЭМДЖЕН
РИСЁЧ (МЮНИХ) ГМБХ (DE)**

(72) Изобретатель:
**Уолтер Роланд Б. (US), Зубклеве
Марион, Крупка Кристина (DE)**

(74) Представитель:
**Поликарпов А.В., Соколова М.В.,
Путинцев А.И., Черкас Д.А., Игнатъев
А.В. (RU)**

(56) **MAY KUNG SUTHERLAND ET AL.:**
"5-azacytidine enhances the anti-leukemic activity of
lintuzumab (SGN-33) in preclinical models of acute myeloid
leukemia", *MABS LANDES BIOSCIENCE*, vol. 24, 1
July 2010 (2010-07-01), pages 440-448, XP055096014, the
whole document

WALTER ROLAND B. ET AL.: "Phase II trial
of vorinostat and gemtuzumab ozogamicin as induction
and post-remission therapy in older adults with previously
untreated acute myeloid leukemia", *HAEMATOLOGICA
MAY* 2012, vol. 97, no. 5, May 2012 (2012-05), pages
739-742, XP002735057, ISSN: 1592-8721 the whole
document

AIGNER M. ET AL.: "T lymphocytes can be
effectively recruited for ex vivo and in vivo lysis of AML
blasts by a novel CD33/CD3-bispecific BiTE antibody
construct", *LEUKEMIA APR* 2013, vol. 27, no. 5, 14
December 2012 (2012-12-14), - April 2013 (2013-04), pages
1107-1115, XP002735058, ISSN: 1476-5551 the whole
document

MAISO P. ET AL.: "The Histone Deacetylase
Inhibitor LBH589 Is a Potent Antimyeloma
Agent that Overcomes Drug Resistance", *CANCER
RESEARCH, AMERICAN ASSOCIATION FOR
CANCER RESEARCH, US*, vol. 66, no. 11, 1 January
2006 (2006-01-01), pages 5781-5789, XP002407034, ISSN:
0008-5472, DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-05-4186 the
whole document

MAISO P. ET AL.: "The synergy of panobinostat
plus doxorubicin in acute myeloid leukemia suggests a
role for HDAC inhibitors in the control of DNA repair",
LEUKEMIA DEC 2009, vol. 23, no. 12, December
2009 (2009-12), pages 2265-2274, XP002735059, ISSN:
1476-5551 the whole document

JIANG XUE-JIE ET AL.: "Synergistic effect of
panobinostat and bortezomib on chemoresistant acute
myelogenous leukemia cells via AKT and NF-[kappa]B
pathways", *CANCER LETTERS* 30 DEC 2012, vol. 326,
no. 2, 30 December 2012 (2012-12-30), pages 135-142,
XP002735060, ISSN: 1872-7980 the whole document

ERIC SANCHEZ ET AL.: "The histone deacetylase
inhibitor LBH589 enhances the anti-myeloma effects
of chemotherapy in vitro and in vivo", *LEUKEMIA
RESEARCH, NEW YORK, NY, US*, vol. 35, no. 3, 28
June 2010 (2010-06-28), pages 373-379, XP028193637,
ISSN: 0145-2126, DOI: 10.1016/J.LEUKRES.2010.06.026
[retrieved on 2010-07-02] the whole document

DANIEL R. BUDMAN ET AL.: "The histone
deacetylase inhibitor panobinostat demonstrates marked
synergy with conventional chemotherapeutic agents in
human ovarian cancer cell lines", *INVESTIGATIONAL
NEW DRUGS; THE JOURNAL OF NEW ANTICANCER
AGENTS, KLUWER ACADEMIC PUBLISHERS, BO*,
vol. 29, no. 6, 9 June 2010 (2010-06-09), pages
1224-1229, XP019950756, ISSN: 1573-0646, DOI:
10.1007/S10637-010-9467-6 the whole document

SIMONA LAPUSAN ET AL.: "Phase I studies of
AVE9633, an anti-CD33 antibody-maytansinoid conjugate,
in adult patients with relapsed/refractory acute myeloid
leukemia", *INVESTIGATIONAL NEW DRUGS; THE
JOURNAL OF NEW ANTICANCER AGENTS, KLUWER
ACADEMIC PUBLISHERS, BO*, vol. 30, no. 3, 26 April
2011 (2011-04-26), pages 1121-1131, XP035052839, ISSN:
1573-0646, DOI: 10.1007/S10637-011-9670-0 page 1122,
right-hand column, paragraphs 2, 3

US-A1-2011038856

NAND SUCHA ET AL.: "Hydroxyurea, azacitidine
and gemtuzumab ozogamicin therapy in patients with
previously untreated non-M3 acute myeloid leukemia and
high-risk myelodysplastic syndromes in the elderly: results
from a pilot trial", *LEUKEMIA & LYMPHOMA NOV*
2008, vol. 49, no. 11, November 2008 (2008-11), pages
2141-2147, XP002737536, ISSN: 1029-2403 the whole
document

BROSS P.F. ET AL.: "Approval summary:
gemtuzumab ozogamicin in relapsed acute myeloid
leukemia", *CLINICAL CANCER RESEARCH :*
*AN OFFICIAL JOURNAL OF THE AMERICAN
ASSOCIATION FOR CANCER RESEARCH JUN* 2001,

036476 B1

036476 B1

- (57) Предложена комбинация эпигенетических факторов и биспецифических соединений, нацеленных на CD33 и CD3, в лечении миелоидного лейкоза, где эпигенетический фактор выбран из группы, состоящей из ингибиторов гистондеацетилазы (HDAC), ингибиторов ДНК-метилтрансферазы (DNMT) I, гидроксимочевины, гранулоцитарного колониестимулирующего фактора (G-CSF), ингибиторов гистондеметиلاзы и ATRA (полностью транс-ретиноевая кислота). Соответственно, согласно изобретению предложена фармацевтическая композиция, содержащая соединение, нацеленное на CD33, и по меньшей мере один эпигенетический фактор, и эпигенетический фактор для применения в уменьшении интенсивности и/или лечении миелоидного лейкоза, где данный эпигенетический фактор увеличивает чувствительность пациента к соединению, нацеленному на CD33. Кроме того, согласно изобретению предложено применение по меньшей мере одного эпигенетического фактора для увеличения чувствительности пациента с миелоидным лейкозом к лечению соединением, нацеленным на CD33, способ лечения миелоидного лейкоза, включающий введение пациенту, нуждающемуся в этом, по меньшей мере одного эпигенетического фактора и соединения, нацеленного на CD33, и набор, содержащий фармацевтическую композицию по изобретению или эпигенетический фактор по изобретению и биспецифическое соединение, нацеленное на CD33.

036476 B1

036476 B1

Область изобретения

Согласно настоящему изобретению предложена комбинация эпигенетических факторов и биспецифических соединений, нацеленных на CD33 и CD3, в лечении миелоидного лейкоза, где эпигенетический фактор выбран из группы, состоящей из следующих: ингибиторы гистондеацетилазы (HDAC), ингибиторы ДНК-метилтрансферазы (DNMT) I, гидроксимочевина, гранулоцитарный колониестимулирующий фактор (G-CSF), ингибиторы деметилазы гистонов и ATRA (полностью транс-ретиноевая кислота). Соответственно, согласно изобретению предложена фармацевтическая композиция, содержащая соединение, нацеленное на CD33, и по меньшей мере один эпигенетический фактор, и эпигенетический фактор для применения в уменьшении интенсивности и/или лечении миелоидного лейкоза, где данный эпигенетический фактор увеличивает чувствительность пациента к соединению, нацеленному на CD33. Кроме того, согласно изобретению предложено применение по меньшей мере одного эпигенетического фактора для повышения чувствительности пациента с миелоидным лейкозом к лечению соединением, нацеленным на CD33, способ лечения миелоидного лейкоза, включающий введение пациенту, нуждающемуся в этом, по меньшей мере одного эпигенетического фактора и соединения, нацеленного на CD33, и набор, содержащий фармацевтическую композицию по изобретению или эпигенетический фактор по изобретению и биспецифическое соединение, нацеленное на CD33.

Предшествующий уровень техники

Несмотря на некоторые постепенные улучшения на протяжении последних десятилетий с применением интенсивных терапий, включая традиционную химиотерапию многими агентами и трансплантацию аллогенных стволовых клеток (SCT), выживаемость пациентов с острым миелоидным лейкозом (AML) остается низкой, и пациенты подвергаются высокому риску заболеваемости и смертности, связанных с лечением. Например, хотя и оказалось, что SCT обеспечивает мощный противолейкозный эффект, который может приводить к устранению устойчивых к химиотерапии лейкозных клеток, у большого числа пациентов будет развиваться выраженное заболевание "трансплантат против хозяина" (GvH), которое, в конечном счете, будет смертельным для многих из них. Для многих пациентов, в частности тех, которым не подходят такие стратегии интенсивной терапии, срочно подбирают новые возможные методы лечения, включая иммунотерапевтические подходы. Многообещающей иммунотерапевтической стратегией, лишенной реакций GvH, является набор собственных Т-клеток пациента *in vivo* и повторное их нацеливание непосредственно на лейкозные клетки.

Данный подход стал осуществимым благодаря новому классу биспецифических одноцепочечных антител, которые направляют цитотоксические Т-лимфоциты к заданным поверхностным антигенам на опухолевых клетках (Bauearle et al. *Curr Opin Mol. Ther.* 2009; 11:22-30). Клиническое доказательство концепции было предоставлено с использованием блинатумаба, биспецифического антитела, направленного как на поверхностный антиген В-клеток CD19, так и на компонент CD3ε комплекса рецептора Т-клеток. Его терапевтическая эффективность была показана для пациентов с В-клеточными лимфомами и острым лимфобластным лейкозом (ALL) из клеток-предшественников В-лимфоцитов.

Острый миелоидный лейкоз (AML) служил в качестве парадигмы для терапевтического применения моноклональных антител из-за хорошо определенных антигенов клеточной поверхности и легкой доступности опухоли. Наиболее исследованной мишенью к настоящему времени является CD33 - молекула клеточной адгезии, зависящая от сиаловой кислоты, известная как антиген миелоидной дифференциации, находящийся на бластах AML у большинства пациентов и, возможно, на лейкозных стволовых клетках у некоторых из них. В то время как интактное гуманизованное антитело против CD33 линтузумаб индуцировало полную ремиссию у отдельных пациентов в исследовании фазы I и II одного агента, в исследовании фазы III при его объединении со схемой тройной химиотерапии не было обнаружено преимуществ для выживания.

Краткое изложение сущности изобретения

Согласно настоящему изобретению предложена фармацевтическая композиция, содержащая соединение, нацеленное на CD33, и по меньшей мере один эпигенетический фактор, где

(а) соединение, нацеленное на CD33, представляет собой биспецифическую конструкцию, содержащую первый связывающий домен, специфически связывающийся с CD33, и второй связывающий домен, специфически связывающийся с CD3; и

(б) по меньшей мере один эпигенетический фактор выбран из группы, состоящей из следующих: ингибиторы гистондеацетилазы (HDAC), ингибиторы ДНК-метилтрансферазы (DNMT) I, гидроксимочевина, гранулоцитарный колониестимулирующий фактор (G-CSF), ингибиторы гистонметилтрансферазы (HMT) и ATRA (полностью транс-ретиноевая кислота).

В одном воплощении фармацевтическая композиция по изобретению отличается тем, что по меньшей мере один эпигенетический фактор выбран из группы, включающей:

(а) ингибитор гистондеацетилазы (HDAC), выбранный из группы, состоящей из следующих: панобиностат, вориностат, ромидепсин, N-ацетилдиналин, белиностат, гивиностат, энтиностат, моцетиностат, EVP-0334, SRT501, CUDC-101, квизиностат, абексинастат, LAQ824 и вальпроевая кислота;

(б) ингибитор ДНК-метилтрансферазы (DNMT) I, выбранный из группы, состоящей из следующих: 5-азациитидин, децитабин, гидралазин, зебуларин, прокаинамид, (-)-эпигаллокатехин-3-галлат, MG98,

RG108 и SGI-110; и

(в) ингибитор гистонметилтрансферазы (HMT), выбранный из группы, состоящей из ингибитора деметилазы LSD1 (KDM1A) и хетоцина.

Согласно изобретению также предложена фармацевтическая композиция, где

(а) эпигенетический фактор вводят до введения соединения, нацеленного на CD33;

(б) эпигенетический фактор вводят после введения соединения, нацеленного на CD33; или

(в) эпигенетический фактор и соединение, нацеленное на CD33, вводят одновременно.

Согласно изобретению дополнительно предложена фармацевтическая композиция, где первую дозу эпигенетического фактора вводят до начала введения соединения, нацеленного на CD33.

Кроме того, согласно изобретению дополнительно предложена фармацевтическая композиция, где введение эпигенетического фактора продолжается во время введения соединения, нацеленного на CD33.

В одном воплощении фармацевтическая композиция по изобретению отличается тем, что биспецифическая конструкция представляет собой конструкцию биспецифического антитела.

В предпочтительном воплощении фармацевтической композиции по изобретению конструкция биспецифического антитела представляет собой конструкцию биспецифического однопочечного антитела.

Для фармацевтической композиции по изобретению также предпочтительно, что конструкция биспецифического антитела связывается с CD3 человека и яванского макака и с CD33 человека и яванского макака.

В одном воплощении фармацевтической композиции по изобретению конструкция биспецифического антитела содержит

первый связывающий домен, специфически связывающийся с CD33 и содержащий цепь VL, имеющую аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO: 6, 24, 42, 60, 78, 96, 114 и 132, и цепь VH, имеющую аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO: 1, 19, 37, 55, 73, 91, 109 и 127; и

второй связывающий домен, специфически связывающийся с CD3 и содержащий цепь VL, имеющую аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO: 154, 157, 160, 163, 166, 169 и 172, и цепь VH, имеющую аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO: 155, 158, 161, 164, 167, 170 и 173.

В предпочтительном воплощении фармацевтической композиции конструкция биспецифического антитела содержит аминокислотную последовательность, показанную в любой из SEQ ID NO: 13, 15, 17, 31, 33, 35, 49, 51, 53, 67, 69, 71, 85, 87, 89, 103, 105, 107, 121, 123, 125, 139, 141, 143, 148, 150, 152, 215, 217, 219, 221, 223, 225 и 227.

Фармацевтическая композиция по изобретению предназначена для лечения миелоидного лейкоза, экспрессирующего CD33. Предпочтительно миелоидный лейкоз выбран из группы, состоящей из следующих: острый миелобластный лейкоз, хронический нейтрофильный лейкоз, миелоидный дендритноклеточный лейкоз, хронический миелогенный лейкоз в фазе акселерации, острый миеломоноцитарный лейкоз, ювенильный миеломоноцитарный лейкоз, хронический миеломоноцитарный лейкоз, острый базофильный лейкоз, острый эозинофильный лейкоз, хронический эозинофильный лейкоз, острый мегакариобластный лейкоз, эссенциальный тромбоцитоз, острый эритроидный лейкоз, истинная полицитемия, миелодиспластический синдром, острый панмиелоз, остеобластокластома и острый бифенотипический лейкоз.

В альтернативном воплощении изобретения предложен эпигенетический фактор для применения в уменьшении интенсивности и/или лечении миелоидного лейкоза, где данный эпигенетический фактор повышает чувствительность пациента к соединению, нацеленному на CD33, где

(а) соединение, нацеленное на CD33, представляет собой биспецифическую конструкцию, содержащую первый связывающий домен, специфически связывающийся с CD33, и второй связывающий домен, специфически связывающийся с CD3; и

(б) по меньшей мере один эпигенетический фактор выбран из группы, состоящей из следующих: ингибиторы гистондеацетилазы (HDAC), ингибиторы ДНК-метилтрансферазы (DNMT) I, гидроксимочевина, гранулоцитарный колониестимулирующий фактор (G-CSF), ингибиторы гистонметилтрансферазы (HMT) и ATRA (полностью транс-ретиноевая кислота).

В одном воплощении эпигенетического фактора по изобретению эпигенетический фактор выбран из группы, включающей:

(а) ингибитор гистондеацетилазы (HDAC), выбранный из группы, состоящей из следующих: панобиностат, вориностат, ромидепсин, N-ацетилдиналин, белиностат, гивиностат, энтиностат, моцетиностат, EVP-0334, SRT501, CUDC-101, квизиностат, абексиностат, LAQ824 и вальпроевая кислота;

(б) ингибитор ДНК-метилтрансферазы (DNMT) I, выбранный из группы, состоящей из следующих: 5-азацитидин, децитабин, гидралазин, зебуларин, прокаинамид, (-)-эпигаллокатехин-3-галлат, MG98, RG108 и SGI-110; и

(в) ингибитор гистонметилтрансферазы (HMT), выбранный из группы, состоящей из ингибитора деметилазы LSD1 (KDM1A) и хетоцина.

Кроме того, в одном воплощении эпигенетического фактора по изобретению

- (а) эпигенетический фактор вводят до введения соединения, нацеленного на CD33;
- (б) эпигенетический фактор вводят после введения соединения, нацеленного на CD33; или
- (в) эпигенетический фактор и соединение, нацеленное на CD33, вводят одновременно.

Для эпигенетического фактора по изобретению является предпочтительным то, что первую дозу эпигенетического фактора вводят до начала введения соединения, нацеленного на CD33.

Предпочтительно введение эпигенетического фактора по изобретению продолжают во время введения соединения, нацеленного на CD33.

Для эпигенетического фактора по изобретению также является предпочтительным то, что биспецифическая конструкция представляет собой конструкцию биспецифического антитела.

В одном воплощении эпигенетического фактора по изобретению конструкция биспецифического антитела представляет собой конструкцию биспецифического однопочечного антитела.

Для эпигенетического фактора по изобретению является предпочтительным то, что конструкция биспецифического антитела связывается с CD3 и CD33 человека и яванского макака.

Для эпигенетического фактора по изобретению также является предпочтительным то, что конструкция биспецифического антитела содержит

первый связывающий домен, специфически связывающийся с CD33 и содержащий цепь VL, имеющую аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO: 6, 24, 42, 60, 78, 96, 114 и 132, и цепь VH, имеющую аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO: 1, 19, 37, 55, 73, 91, 109 и 127; и

второй связывающий домен, специфически связывающийся с CD3 и содержащий цепь VL, имеющую аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO: 154, 157, 160, 163, 166, 169 и 172, и цепь VH, имеющую аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO: 155, 158, 161, 164, 167, 170 и 173.

В одном воплощении эпигенетического фактора по изобретению конструкция биспецифического антитела содержит аминокислотную последовательность, показанную в любой из SEQ ID NO: 13, 15, 17, 31, 33, 35, 49, 51, 53, 67, 69, 71, 85, 87, 89, 103, 105, 107, 121, 123, 125, 139, 141, 143, 148, 150, 152, 215, 217, 219, 221, 223, 225 и 227.

В одном воплощении эпигенетического фактора по изобретению миелоидный лейкоз выбран из группы, состоящей из следующих: острый миелобластный лейкоз, хронический нейтрофильный лейкоз, миелоидный дендритноклеточный лейкоз, хронический миелогенный лейкоз в фазе акселерации, острый миеломоноцитарный лейкоз, ювенильный миеломоноцитарный лейкоз, хронический миеломоноцитарный лейкоз, острый базофильный лейкоз, острый эозинофильный лейкоз, хронический эозинофильный лейкоз, острый мегакариобластный лейкоз, эссенциальный тромбоцитоз, острый эритроидный лейкоз, истинная полицитемия, миелодиспластический синдром, острый панмиелоз, остеобластокластома и острый бифенотипический лейкоз.

В альтернативном воплощении изобретения предложено применение по меньшей мере одного эпигенетического фактора для повышения чувствительности пациента с миелоидным лейкозом к лечению соединением, нацеленным на CD33, где

(а) соединение, нацеленное на CD33, представляет собой биспецифическую конструкцию, содержащую первый связывающий домен, специфически связывающийся с CD33, и второй связывающий домен, специфически связывающийся с CD3; и

(б) по меньшей мере один эпигенетический фактор выбран из группы, состоящей из следующих: ингибиторы гистондеацетилазы (HDAC), ингибиторы ДНК-метилтрансферазы (DNMT) I, гидроксимочевина, гранулоцитарный колониестимулирующий фактор (G-CSF), ингибиторы гистондеметидазы и АТ-РА (полностью транс-ретиноевая кислота).

В одном воплощении применения по изобретению по меньшей мере один эпигенетический фактор выбран из группы, включающей:

(а) ингибитор гистондеацетилазы (HDAC), выбранный из группы, состоящей из следующих: пано-бинонатат, воринонатат, ромидепсин, N-ацетилдиналин, белинонатат, гивинонатат, энтинонатат, моцетинонатат, EVP-0334, SRT501, CUDC-101, квизинонатат, абексинонатат, LAQ824 и вальпроевая кислота;

(б) ингибитор ДНК-метилтрансферазы (DNMT) I, выбранный из группы, состоящей из следующих: 5-азациитидин, децитабин, гидралазин, зебуларин, прокаинамид, (-)-эпигаллокатехин-3-галлат, MG98, RG108 и SGI-110; и

(в) ингибитор гистонметилтрансферазы (HMT), выбранный из группы, состоящей из ингибитора деметилазы LSD1 (KDM1A) и хетоцина.

Также в одном воплощении применения по изобретению

- (а) эпигенетический фактор вводят до введения соединения, нацеленного на CD33;
- (б) эпигенетический фактор вводят после введения соединения, нацеленного на CD33; или
- (в) эпигенетический фактор и соединение, нацеленное на CD33, вводят одновременно.

В предпочтительном применении по любому из аспектов изобретения первую дозу эпигенетического фактора вводят до начала введения соединения, нацеленного на CD33.

Кроме того, в одном воплощении применения по изобретению введение эпигенетического фактора продолжают во время введения соединения, нацеленного на CD33.

В одном воплощении применения по изобретению биспецифическая конструкция представляет собой конструкцию биспецифического антитела.

В предпочтительном воплощении применения по изобретению конструкция биспецифического антитела представляет собой конструкцию биспецифического одноцепочечного антитела.

В одном воплощении применения по изобретению конструкция биспецифического антитела связывается с CD3 и CD33 человека и яванского макака.

Согласно одному воплощению применения по изобретению конструкция биспецифического антитела содержит

первый связывающий домен, специфически связывающийся с CD33 и содержащий цепь VL, имеющую аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO: 6, 24, 42, 60, 78, 96, 114 и 132, и цепь VH, имеющую аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO: 1, 19, 37, 55, 73, 91, 109 и 127; и

второй связывающий домен, специфически связывающийся с CD3 и содержащий цепь VL, имеющую аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO: 154, 157, 160, 163, 166, 169 и 172, и цепь VH, имеющую аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO: 155, 158, 161, 164, 167, 170 и 173.

В предпочтительном воплощении применения по изобретению конструкция биспецифического антитела содержит аминокислотную последовательность, показанную в любой из SEQ ID NO: 13, 15, 17, 31, 33, 35, 49, 51, 53, 67, 69, 71, 85, 87, 89, 103, 105, 107, 121, 123, 125, 139, 141, 143, 148, 150, 152, 215, 217, 219, 221, 223, 225 и 227.

Кроме того, в одном воплощении применения по изобретению миелоидный лейкоз выбран из группы, состоящей из следующих: острый миелобластный лейкоз, хронический нейтрофильный лейкоз, миелоидный дендритноклеточный лейкоз, хронический миелогенный лейкоз в фазе акселерации, острый миеломоноцитарный лейкоз, ювенильный миеломоноцитарный лейкоз, хронический миеломоноцитарный лейкоз, острый базофильный лейкоз, острый эозинофильный лейкоз, хронический эозинофильный лейкоз, острый мегакариобластный лейкоз, эссенциальный тромбоцитоз, острый эритроидный лейкоз, истинная полицитемия, миелодиспластический синдром, острый панмиелоз, остеобластокластома и острый бифенотипический лейкоз.

В другом альтернативном воплощении согласно изобретению предложен способ лечения миелоидного лейкоза, включающий введение пациенту, нуждающемуся в этом, по меньшей мере одного эпигенетического фактора и соединения, нацеленного на CD33, где

(а) соединение, нацеленное на CD33, представляет собой биспецифическую конструкцию, содержащую первый связывающий домен, специфически связывающийся с CD33, и второй связывающий домен, специфически связывающийся с CD3; и

(б) по меньшей мере один эпигенетический фактор выбран из группы, состоящей из следующих: ингибиторы гистондеацетилазы (HDAC), ингибиторы ДНК-метилтрансферазы (DNMT) I, гидроксимочевина, гранулоцитарный колониестимулирующий фактор (G-CSF), ингибиторы гистонметилтрансферазы (HMT) и ATRA (полностью транс-ретиноевая кислота).

В одном воплощении способа по изобретению по меньшей мере один эпигенетический фактор выбран из группы, включающей:

(а) ингибитор гистондеацетилазы (HDAC), выбранный из группы, состоящей из следующих: панобиностат, вориностат, ромидепсин, N-ацетилдиналин, белиностат, гивиностат, энтиностат, моцетиностат, EVP-0334, SRT501, CUDC-101, квизиностат, абексинастат, LAQ824 и вальпроевая кислота;

(б) ингибитор ДНК-метилтрансферазы (DNMT) I, выбранный из группы, состоящей из следующих: 5-азациитидин, децитабин, гидралазин, зебуларин, прокаинамид, (-)-эпигаллокатехин-3-галлат, MG98, RG108 и SGI-110; и

(в) ингибитор гистонметилтрансферазы (HMT), выбранный из группы, состоящей из ингибитора деметилазы LSD1 (KDM1A) и хетоцина.

Также в одном воплощении способа по изобретению

(а) эпигенетический фактор вводят до введения соединения, нацеленного на CD33;

(б) эпигенетический фактор вводят после введения соединения, нацеленного на CD33; или

(в) эпигенетический фактор и соединение, нацеленное на CD33, вводят одновременно.

В предпочтительном воплощении способа по изобретению первую дозу эпигенетического фактора вводят до начала введения соединения, нацеленного на CD33.

Для способа по изобретению также предпочтительным является то, что введение эпигенетического фактора продолжают во время введения соединения, нацеленного на CD33.

В одном воплощении способа по изобретению биспецифическая конструкция представляет собой конструкцию биспецифического антитела.

Для способа по изобретению предпочтительным является то, что конструкция биспецифического антитела представляет собой конструкцию биспецифического одноцепочечного антитела.

Для способа по изобретению более предпочтительным является то, что конструкция биспецифического антитела связывается с CD3 и CD33 человека и яванского макака.

В одном воплощении способа по изобретению конструкция биспецифического антитела содержит первый связывающий домен, специфически связывающийся с CD33 и содержащий цепь VL, имеющую аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO: 6, 24, 42, 60, 78, 96, 114 и 132, и цепь VH, имеющую аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO: 1, 19, 37, 55, 73, 91, 109 и 127; и

второй связывающий домен, специфически связывающийся с CD3 и содержащий цепь VL, имеющую аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO: 154, 157, 160, 163, 166, 169 и 172, и цепь VH, имеющую аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO: 155, 158, 161, 164, 167, 170 и 173.

Также в одном воплощении способа по изобретению конструкция биспецифического антитела содержит аминокислотную последовательность, показанную в любой из SEQ ID NO: 13, 15, 17, 31, 33, 35, 49, 51, 53, 67, 69, 71, 85, 87, 89, 103, 105, 107, 121, 123, 125, 139, 141, 143, 148, 150, 152, 215, 217, 219, 221, 223, 225 и 227.

Кроме того, в одном воплощении способа по изобретению миелоидный лейкоз выбран из группы, состоящей из следующих: острый миелобластный лейкоз, хронический нейтрофильный лейкоз, миелоидный дендритноклеточный лейкоз, хронический миелогенный лейкоз в фазе акселерации, острый миеломоноцитарный лейкоз, ювенильный миеломоноцитарный лейкоз, хронический миеломоноцитарный лейкоз, острый базофильный лейкоз, острый эозинофильный лейкоз, хронический эозинофильный лейкоз, острый мегакариобластный лейкоз, эссенциальный тромбоцитоз, острый эритроидный лейкоз, истинная полицитемия, миелодиспластический синдром, острый панмиелоз, остеобластокластома и острый бифенотипический лейкоз.

Согласно другому альтернативному воплощению изобретения предложен набор, содержащий фармацевтическую композицию по изобретению или эпигенетический фактор по изобретению, и биспецифическое соединение, нацеленное на CD33, содержащее первый связывающий домен, специфически связывающийся с CD33, и второй связывающий домен, специфически связывающийся с CD3, подлежащий применению в уменьшении интенсивности и/или лечении миелоидного лейкоза.

Краткое описание графических материалов

Фиг. 1 - эффект предварительной обработки панобиностатом на экспрессию CD33 и цитотоксичность, индуцированную AMG 330.

Родительские клетки OCI-AML3 и KG-1 α либо оставляли необработанными, либо предварительно обрабатывали панобиностатом в течение 72 ч. Затем количественно измеряли экспрессию CD33 и клетки обрабатывали с/без AMG 330 (0-250 пг/мл) и при разных соотношениях эффектор:клетка-мишень (Е:Т) с использованием Т-клеток здорового донора. Через 48 ч определяли число клеток и оценивали цитотоксичность с окрашиванием DAPI (4',6-диамидино-2-фенилиндола) для количественного измерения цитотоксичности, специфической в отношении лекарственного средства. Результаты показаны в виде среднего значения плюс/минус SEM (стандартная ошибка среднего значения) из 3 независимых экспериментов, проведенных в лунках в двойной повторности, с использованием одного здорового донора в качестве источника экзогенных Т-клеток.

Фиг. 2 - эффект предварительной обработки азациитидином на экспрессию CD33 и цитотоксичность, индуцированную AMG 330. Родительские клетки KG-1 α либо оставляли необработанными, либо предварительно обрабатывали азациитидином в течение 72 ч. Затем количественно измеряли экспрессию CD33 и клетки обрабатывали с/без AMG 330 (0-250 пг/мл) и при разных соотношениях эффектор:клетка-мишень (Е:Т) с использованием Т-клеток здорового донора. Через 48 ч определяли число клеток и оценивали цитотоксичность с окрашиванием DAPI для количественного измерения цитотоксичности, специфической в отношении лекарственного средства. Результаты показаны в виде среднего значения плюс/минус SEM из 3 независимых экспериментов, проведенных в лунках в двойной повторности, с использованием одного здорового донора в качестве источника экзогенных Т-клеток.

Фиг. 3 - зависимость от концентрации гидроксимочевины повышающая регуляция CD33 на клетках AML A) HL-60 и Б) PL21.

Фиг. 4 - зависимость от гидроксимочевины повышающая регуляция CD33 на клетках первичного AML от пациента 2.

Фиг. 5 - зависимость от G-CSF повышающая регуляция CD33 на клетках AML KG1 α после 10 суток инкубации.

Фиг. 6 - зависимость от G-CSF повышающая регуляция CD33 на клетках первичного AML от пациента 1 после 10 суток инкубации.

Подробное описание изобретения

Определения.

Необходимо отметить, что формы в единственном числе, в том виде, как они здесь используются, включают ссылки во множественном числе, если контекст явно не указывает иное. Таким образом, на-

пример, ссылка на "реактив" включает один или более чем один из таких разных реактивов, и ссылка на "способ" включает ссылку на эквивалентные стадии и способы, известные обычным специалистам в данной области, которые могли бы быть модифицированы или послужить заменой описанным здесь способам.

Если не указано иное, термин "по меньшей мере", предшествующий серии элементов, следует понимать как относящийся к каждому элементу в серии. Специалисты в данной области узнают или смогут установить с использованием не более чем общепринятого экспериментирования многие эквиваленты конкретных воплощений описанного здесь изобретения. Подразумевается, что такие эквиваленты охватываются настоящим изобретением.

Термин "и/или" во всех случаях использования включает значение "и", "или" и "все или любая другая комбинация элементов, связанных указанным термином".

Термин "примерно" или "приблизительно" в том виде, как он здесь используется, означает в пределах $\pm 20\%$, предпочтительно в пределах $\pm 15\%$, более предпочтительно в пределах $\pm 10\%$ и наиболее предпочтительно в пределах $\pm 5\%$ данного значения или интервала.

Во всем данном описании изобретения и формуле изобретения, которая следует далее, если контекст не требует иного, слово "содержать" и такие вариации, как "содержит" и "содержащий", следует понимать как подразумевающие включение изложенного целого числа или стадии, или группы целых чисел, или стадий, но не исключение любого другого целого числа или стадии, или группы целых чисел, или стадий. Термин "закрывающий в себе", при использовании здесь, может быть заменен термином "содержащий" или "включающий" или иногда, при использовании здесь, термином "имеющий".

Фраза "состоящий из", при использовании здесь, исключает любой элемент, стадию или ингредиент, не уточненные в заявленном элементе. Фраза "по существу состоящий из", при использовании здесь, не исключает веществ или стадий, которые существенно не влияют на основные и новые характеристики заявленного.

В каждом приведенном здесь случае любой из терминов "содержащий", "по существу состоящий из" и "состоящий из" может быть заменен любым из двух других терминов.

Термин "соединение, нацеленное на CD33" определяет в контексте настоящего изобретения связывающую молекулу, способную специфически связываться с внеклеточным доменом молекулы клеточной поверхности CD33. Как упомянуто выше, CD33, молекула клеточной адгезии, зависящая от сиаловой кислоты, известна как антиген миелоидной дифференциации, находящийся на бластных клетках AML у большинства пациентов. Как очевидно из описания воплощений изобретения, соединение, нацеленное на CD33, в контексте изобретения представляет собой биспецифическое соединение, содержащее, по меньшей мере, связывающий домен в отношении внеклеточного домена молекулы клеточной поверхности CD33 и в отношении внеклеточного домена молекулы CD3, экспрессируемой на Т-клетках. Подчеркивается, что соединение, нацеленное на CD33, в контексте изобретения содержит, по меньшей мере, связывающий домен в отношении CD33 и CD3, и также может содержать один или более чем один дополнительный связывающий домен в отношении других структур-мишеней, что приводит к три- или мультиспецифическому соединению. Другими словами, термин "соединение, нацеленное на CD33" в контексте настоящего описания указывает любую молекулу, способную к (специфическому) связыванию, взаимодействию или распознаванию молекулы-мишени CD33 на поверхности клетки-мишени и CD3 на поверхности Т-клетки. Такие молекулы или конструкции могут включать белковые части и небелковые части (например, химические линкеры или химические сшивающие агенты, такие как глутаральдегид).

Термин "связывающая молекула" в контексте настоящего изобретения указывает любую молекулу, способную к (специфическому) связыванию молекулы-мишени, взаимодействию с ней или распознаванию такой молекулы.

Связывающая молекула, в общем, предоставляет каркас для указанного одного или более чем одного связывающего домена, так что указанные связывающие домены могут связываться/взаимодействовать с поверхностной молекулой на клетке-мишени и рецепторным комплексом CD3 на Т-клетке. Например, такой каркас мог бы быть предоставлен белком А, в частности его Z-доменом (аффитела), ImmE7 (иммунные белки), BPTI/APPI (домены Куница), Ras-связывающим белком AF-6 (PDZ-домены), хариботоксином (токсин скорпиона), CTLA-4, Mip-23 (ноттины), липокалинами (антикалинами), неокарциностатином, доменом фибронектина, доменом анкириновых консенсусных повторов (Stumpp et al., *Curr. Opin. Drug. Discov. Devel.* 10(2), 153-159 (2007)) или тиоредоксином (Skerra, *Curr. Opin. Biotechnol.* 18, 295-304 (2005); Hosse et al., *Protein Sci.* 15, 14-27 (2006); Nicaise et al., *Protein Sci.* 13, 1882-1891 (2004); Nygren and Uhlen, *Curr. Opin. Struc. Biol.* 7, 463-469 (1997)). Предпочтительной связывающей молекулой является антитело, более предпочтительно биспецифическое антитело.

Термин "одноцепочечная связывающая молекула" определяет в связи с настоящим изобретением то, что раскрытые связывающие молекулы в их простейшей форме являются мономерами. Молекулы или конструкции могут включать белковые части и небелковые части (например, химические линкеры или химические сшивающие агенты, такие как глутаральдегид). Таким образом, одноцепочечная связывающая молекула согласно изобретению может содержать непептидные линкеры, предпочтительно для свя-

звания по меньшей мере двух из связывающих доменов. Также в соответствии с данным изобретением здесь определены пептидные линкеры.

Определение термина "антитело" включает такие воплощения, как моноклональные, химерные, одноцепочечные, гуманизированные и человеческие антитела, а также фрагменты антител, подобные, среди прочих, фрагментам Fab. Фрагменты или производные антитела дополнительно включают фрагменты F(ab')₂, Fv, scFv или однодоменные антитела, такие как доменные антитела или нанотела, антитела с одним переменным доменом, или единичный переменный домен иммуноглобулина, содержащий просто один переменный домен, который может представлять собой V_HH, V_H или V_L, который специфически связывается с антигеном или эпитопом, независимо от других V областей или доменов; см., например, Harlow and Lane (1988) и (1999), процитированные в данном документе; Kontermann and Dübel, *Antibody Engineering*, Springer, 2nd ed. 2010 и Little, *Recombinant Antibodies for Immunotherapy*, Cambridge University Press 2009. Такой единичный переменный домен иммуноглобулина охватывает не только полипептид единичного переменного домена выделенного антитела, но также и большие полипептиды, которые содержат один или более чем один мономер последовательности полипептида единичного переменного домена антитела.

Одновалентные фрагменты антитела в соответствии с приведенным выше определением описывают воплощение связывающего домена в связи с данным изобретением. Такие одновалентные фрагменты антитела связываются со специфическим антигеном и также могут быть обозначены как "антигенсвязывающий домен", "антигенсвязывающий фрагмент" или "связывающая область антитела".

В соответствии с данным определением все вышеописанные воплощения термина "антитело" могут быть включены в термин "конструкция антитела". Указанный термин также включает диатела или антитела с двойной аффинностью и повторным нацеливанием (DART). Дополнительно рассматриваются (биспецифические) одноцепочечные диатела, тандемные диатела (Tandab), "минитела", иллюстрируемые примером структуры, которая является следующей: (V_H-V_L-CH₃)₂, (scFv-CH₃)₂ или (scFv-CH₃-scFv)₂, антитела Fc DART, антитела IgG DART и мультитела, такие как триатела. Единичные переменные домены иммуноглобулинов охватывают не только полипептид единичного переменного домена выделенного антитела, но также и большие полипептиды, которые содержат один или более чем один мономер последовательности полипептида единичного переменного домена антитела.

В данной области известны разные методики, и они могут быть использованы для получения таких конструкций антитела (антител и/или фрагментов). Таким образом, производные (антитела) могут быть продуцированы пептидомиметиками. Кроме того, методики, описанные для получения одноцепочечных антител (см., среди прочих, патент США 4946778, Kontermann and Dübel (2010), процитированный в данном документе, и документ Little (2009), процитированный в данном документе), могут быть адаптированы для получения одноцепочечных антител, специфичных в отношении выбранного(ных) полипептида(дов). Также для экспрессии гуманизированных антител, специфичных в отношении полипептидов и слитых белков по данному изобретению, можно использовать трансгенных животных. Для получения моноклональных антител можно использовать любую методику, обеспечивающую антитела, продуцируемые непрерывными культурами линий клеток. Примеры таких методик включают методику гибридомы (Köhler and Milstein *Nature* 256 (1975), 495-497), методику триомы, методику гибридомы на основе человеческих В-клеток (Kozbor, *Immunology Today* 4 (1983), 72) и методику EBV-гибридомы для получения человеческих моноклональных антител (Cole et al., *Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy*, Alan R. Liss, Inc. (1985), 77-96). Поверхностный плазмонный резонанс в том виде, в котором он используется в системе BIAcore, можно использовать для увеличения эффективности фаговых антител, которые связываются с эпитопом полипептида-мишени, таким как CD3 эпислон (Schier, *Human Antibodies Hybridomas* 7 (1996), 97-105; Malmberg, *J. Immunol. Methods* 183 (1995), 7-13). В контексте данного изобретения также рассматривается то, что термин "антитело" включает конструкции антитела, которые могут экспрессироваться у хозяина, как описано здесь ниже, например конструкции антитела, которые, среди прочих, могут быть трансфицированы и/или трансдуцированы посредством вирусов или плазмидных векторов.

Кроме того, термин "антитело" в том виде, как он здесь используется, также относится к описанным здесь производным или вариантам антител, которые демонстрируют такую же специфичность, что и описанные антитела. Примеры "вариантов антитела" включают гуманизированные варианты антител, не являющихся человеческими, антитела с "созревшей аффинностью" (см., например, Hawkins et al. *J. Mol. Biol.* 254, 889-896 (1992) и Lowman et al., *Biochemistry* 30, 10832-10837 (1991)) и мутанты антител с измененной(ными) эффекторной(ными) функцией(ями) (см., например, патент США 5648260, Kontermann and Dübel (2010), процитированную в данном документе, и Little (2009), процитированную в данном документе).

Термины "антигенсвязывающий домен", "антигенсвязывающий фрагмент" и "область связывания антитела" при использовании здесь относятся к части молекулы антитела, которая содержит аминокислоты, ответственные за специфические связывания между антителом и антигеном. Часть антигена, которая специфически распознается и связывается антителом, именуется "эпитоп", как описано здесь выше. Как упомянуто выше, антигенсвязывающий домен может типично содержать переменную область легкой цепи антитела (V_L) и переменную область тяжелой цепи антитела (V_H); однако он не обяза-

тельно содержит обе. Фрагменты Fd, например, имеют две области VH и часто сохраняют некоторую антигенсвязывающую функцию интактного антигенсвязывающего домена. Примеры антигенсвязывающих фрагментов антитела включают: (1) фрагмент Fab, одновалентный фрагмент, имеющий домены VL, VH, CL и CH1; (2) фрагмент F(ab')₂, двухвалентный фрагмент, имеющий два фрагмента Fab, связанных дисульфидной связью в шарнирной области; (3) фрагмент Fd, имеющий два домена VH и CH1; (4) фрагмент Fv, имеющий домены VL и VH одного плеча антитела, (5) фрагмент dAb (Ward et al., (1989) Nature 341 :544-546), который имеет домен VH; (6) выделенную гипервариабельную область (CDR) и (7) одноцепочечный Fv (scFv). Несмотря на то, что два домена фрагмента Fv, VL и VH кодируются отдельными генами, они могут быть соединены с использованием способов генной инженерии посредством синтетического линкера, который позволяет делать их в виде одной цепи белка, в которой области VL и VH образуют пару с формированием одновалентных молекул (известных как одноцепочечный Fv (scFv); см., например, Huston et al. (1988) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85:5879-5883). Эти фрагменты антител получают с использованием традиционных методик, известных специалистам в данной области, и данные фрагменты оценивают в отношении функции таким же способом, что и интактные антитела.

В случае, когда используется (синтетический) линкер, данный линкер предпочтительно имеет достаточную длину и последовательность для обеспечения того, чтобы каждый из первого и второго доменов мог независимо друг от друга сохранять их дифференциальные специфичности связывания. Наиболее предпочтительно и как задокументировано в приложенных примерах, конструкция антитела по изобретению представляет собой "конструкцию биспецифического одноцепочечного антитела", более предпочтительно биспецифический одноцепочечный Fv (scFv). Биспецифические одноцепочечные молекулы известны в данной области и описаны в WO 99/54440, Mack, J. Immunol. (1997), 158, 3965-3970, Mack, PNAS, (1995), 92, 7021-7025, Kufer, Cancer Immunol. Immunother, (1997), 45, 193-197, Löffler, Blood, (2000), 95, 6, 2098-2103, Brühl, Immunol., (2001), 166, 2420-2426, Kipriyanov, J. Mol. Biol., (1999), 293, 41-56. Одним примером соединения, нацеленного на CD33, в контексте настоящего изобретения, которое представляет собой биспецифическую одноцепочечную молекулу, является AMG330, которое также было использовано в приложенных примерах.

Указанные вариабельные домены, содержащиеся в описанных здесь конструкциях антител, могут быть соединены дополнительными линкерными последовательностями. Термин "пептидный линкер" согласно настоящему изобретению определяет аминокислотную последовательность, посредством которой аминокислотные последовательности первого домена и второго домена конструкции антитела по изобретению связаны друг с другом. Существенной технической характеристикой такого пептидного линкера является то, что указанный пептидный линкер не имеет какой-либо полимеризационной активности. Предпочтительные аминокислотные остатки для пептидного линкера включают Gly, Ser и Thr, и он характеризуется длиной от 5 до 25 аминокислотных остатков. Среди подходящих пептидных линкеров находятся линкеры, описанные в патентах США 4751180 и 4935233 или в WO 88/09344. Предпочтительное воплощение пептидного линкера характеризуется аминокислотной последовательностью Gly-Gly-Gly-Gly-Ser, т.е. Gly₄Ser, или ее полимерами, т.е. (Gly₄Ser)_x, где x представляет собой целое число 1 или более чем 1. Характеристики указанного пептидного линкера, которые включают отсутствие стимуляции образования вторичных структур, известны в данной области и описаны, например, в Dall'Acqua et al. (Biochem. (1998) 37, 9266-9273), Cheadle et al. (Mol. Immunol. (1992) 29, 21-30) и Raag and Whitlow (FASEB (1995) 9(1), 73-80). Пептидные линкеры, которые также не стимулируют образования каких-либо вторичных структур, являются предпочтительными. Связывание указанных доменов друг с другом можно обеспечить, например, с использованием генной инженерии, как описано в примерах. Способы получения слитых и связанных функциональным образом биспецифических одноцепочечных конструкций и проведения их экспрессии в клетках млекопитающих или бактерий хорошо известны в данной области (например, WO 99/54440 или Sambrook et al., Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, New York, 2001).

Для пептидных линкеров, которые соединяют по меньшей мере два связывающих домена в конструкции антитела по изобретению, предпочтительными являются пептидные линкеры, которые содержат лишь небольшое число аминокислотных остатков, например 12 аминокислотных остатков или менее. Таким образом, пептидный линкер из 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6 или 5 аминокислотных остатков является предпочтительным. Рассматриваемый пептидный линкер с менее чем 5 аминокислотами содержит 4, 3, 2 или одну аминокислоту(ты), где обогащенные Gly линкеры являются предпочтительными. Особенно предпочтительной "одной" аминокислотой в контексте указанного "пептидного линкера" является Gly. Соответственно, указанный пептидный линкер может состоять из одной аминокислоты Gly.

Термин "моноклональное антитело" в том виде, как он здесь используется, относится к антителу, полученному из популяции, по существу, гомогенных антител, т.е. индивидуальные антитела, составляющие популяцию, являются идентичными, за исключением возможных встречающихся в природе мутаций и/или посттрансляционных модификаций (например, изомеризации, амидирования), которые могут присутствовать в небольшом количестве. Моноклональные антитела являются высокоспецифичными, направленными против одного антигенного сайта. Кроме того, в отличие от традиционных препаратов (поликлональных) антител, которые типично включают разные антитела, направленные против раз-

ных детерминант (эпитопов), каждое моноклональное антитело направлено против одной детерминанты на антигене. Помимо их специфичности моноклональные антитела имеют преимущество в том, что они синтезируются культурой гибридомы, будучи не загрязненными другими иммуноглобулинами. Модификатор "моноклональное" указывает на характер антитела, как полученного из, по существу, гомогенной популяции антител, и его не следует истолковывать как требующий получения антитела каким-либо конкретным способом. Например, моноклональные антитела, подлежащие применению согласно настоящему изобретению, можно получать способом гибридомы, впервые описанным Kohler et al., Nature, 256: 495 (1975), или можно получать способами генной инженерии (см., например, патент США №4816567). "Моноклональные антитела" также можно выделять из библиотек фаговых антител с использованием методик, описанных, например, в Clackson et al., Nature, 352: 624-628 (1991) и Marks et al., J. Mol. Biol., 222: 581-597 (1991).

Термин "человеческое антитело" включает антитела, имеющие переменные и константные области, по существу, соответствующие последовательностям иммуноглобулинов человеческой зародышевой линии, известным в данной области, включающим, например, последовательности, описанные Kabat et al. (См. Kabat et al. (1991), процитированную в данном документе). Человеческие антитела по изобретению могут включать аминокислотные остатки, не кодируемые последовательностями иммуноглобулинов человеческой зародышевой линии (например, мутации, введенные случайным или сайт-специфичным мутагенезом *in vitro*, или посредством соматической мутации *in vivo*), например, в CDR и, в частности, в CDR3. Человеческое антитело может иметь по меньшей мере одно, два, три, четыре, пять или более чем пять положений, в которых осуществляется замена на аминокислотный остаток, который не кодируется последовательностью иммуноглобулина человеческой зародышевой линии. Подчеркивается, что в определении человеческих антител в том виде, как оно здесь используется, также рассматриваются полностью человеческие антитела, которые включают только неискусственные и/или не измененные генетически человеческие последовательности антител, такие как последовательности, которые могут быть получены с использованием методики с применением таких систем, как Xenotise.

Примеры "вариантов антитела" включают гуманизированные варианты антител, не являющихся человеческими, антитела "с созревшей аффинностью" (см., например, Hawkins et al. J. Mol. Biol. 254, 889-896 (1992) и Lowman et al., Biochemistry 30, 10832-10837 (1991)) и мутанты антител с измененной(ыми) эффекторной(ыми) функцией(ями) (см., например, патент США 5648260, Kontermann and Dübel (2010), процитированную в данном документе, и Little (2009), процитированную в данном документе).

Термин "антитело, полученное *in vitro*" в том виде, как он здесь используется, относится к антителу, где всю переменную область или ее часть (например, по меньшей мере одну CDR) получают при селекции неиммунной клетки (например посредством фагового дисплея *in vitro*, белкового чипа или любого другого способа, в котором последовательности-кандидаты можно тестировать на их способность связываться с антигеном). Данный термин, таким образом, предпочтительно исключает последовательности, полученные геномной перестройкой в иммунной клетке.

Образование пары VH и VL формирует один антигенсвязывающий сайт. Домен CH, расположенный ближе всего к VH, обозначают CH1. Каждая L цепь связывается с H цепью одной ковалентной дисульфидной связью, тогда как две H цепи связываются друг с другом одной или более чем одной дисульфидной связью, в зависимости от изотипа цепи H. Домены VH и VL состоят из четырех областей с относительно консервативными последовательностями, называемыми каркасными областями (FR1, FR2, FR3 и FR4), которые образуют каркас для трех областей гипервариабельных последовательностей (области, определяющие комплементарность, CDR). CDR содержат большинство остатков, ответственных за специфичные взаимодействия антитела с антигеном. CDR называют CDR1, CDR2 и CDR3. Соответственно, элементы в виде CDR на тяжелой цепи называются H1, H2 и H3, тогда как элементы в виде CDR на легкой цепи называются L1, L2 и L3.

Термин "вариабельный" относится к частям доменов иммуноглобулина, которые демонстрируют вариабельность в их последовательности, и которые участвуют в определении специфичности и аффинности связывания конкретного антитела (т.е. "вариабельный(ые) домен(ы)"). Вариабельность неравномерно распределена по всем вариабельным доменам антител; она концентрируется в субдоменах каждой из вариабельных областей тяжелой и легкой цепи. Данные субдомены называются "гипервариабельные" области или "области, определяющие комплементарность" (CDR). Более консервативные (т.е. негипервариабельные) части вариабельных доменов называются "каркасные" области (FRM). Каждый из вариабельных доменов встречающихся в природе тяжелой и легкой цепей содержит четыре FRM области, главным образом, принимающие конфигурацию β -складчатого слоя, соединенные тремя гипервариабельными областями, которые образуют петли, соединяющие и в некоторых случаях образующие часть β -складчатого слоя. Гипервариабельные области в каждой цепи удерживаются вместе в непосредственной близости посредством FRM и с гипервариабельными областями из другой цепи способствуют образованию антигенсвязывающего сайта (см. Kabat et al., процитированную в данном документе). Константные домены не участвуют непосредственно в связывании антигена, но демонстрируют разные эффекторные функции, такие как, например, антителозависимая клеточная цитотоксичность и активация компле-

мента.

Термин "CDR" в единственном и во множественном числе относится к гипервариабельной области (CDR), три из которых определяют характер связывания вариабельной области легкой цепи (CDRL1, CDRL2 и CDRL3), и три определяют характер связывания вариабельной области тяжелой цепи (CDRH1, CDRH2 и CDRH3). CDR способствуют функциональной активности молекулы антитела и отделены друг от друга аминокислотными последовательностями, которые содержат каркасные области. Точные определительные границы и длины CDR подпадают под разные классификации и системы нумерации. CDR могут, следовательно, именоваться по Kabat, Chothia, контактному или любым другим определениям границ, включая описанную здесь систему нумерации. Несмотря на отличающиеся границы, каждая из данных систем имеет некоторую степень перекрытия в том, что составляет так называемые "гипервариабельные области" в пределах вариабельных последовательностей. Определения CDR согласно данным системам, следовательно, могут отличаться по длине и граничным областям относительно смежной каркасной области. См., например, Kabat, Chothia и/или MacCallum (Kabat et al., процитированная в данном документе; Chothia et al., *J. Mol. Biol.* 1987, 196: 901 и MacCallum et al., *J. Mol. Biol.* 1996, 262: 732). Однако предпочтительной является нумерация согласно так называемой системе Kabat. CDR3 легкой цепи и особенно CDR3 тяжелой цепи могут составлять самые важные детерминанты в связывании антигенов в пределах вариабельных областей легкой и тяжелой цепи. В некоторых конструкциях антитела CDR3 тяжелой цепи, по-видимому, составляет главную область контакта между антигеном и антителом. Для изменения связывающих свойств антитела или определения того, какие остатки способствуют связыванию антигена, можно использовать схемы селекции *in vitro*, в которых изменяется одна CDR3.

Фраза "по существу, состоящий из" означает то, что аминокислотная последовательность может отличаться примерно на 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14 или 15% относительно изложенной SEQ ID NO: последовательности и все еще сохраняет биологическую активность, как здесь описано.

В некоторых воплощениях описанные здесь связывающие молекулы представляют собой выделенные белки или, по существу, чистые белки. "Выделенный" белок не сопровождается, по меньшей мере, некоторым количеством вещества, с которым он обычно ассоциирован в его природном состоянии, например, составляя по меньшей мере примерно 5% или по меньшей мере примерно 50% по массе от общего белка в данном образце. Понятно, что выделенный белок может составлять от 5 до 99,9% по массе от общего содержания белка в зависимости от обстоятельств. Например, белок может образоваться в значительно большей концентрации посредством применения индуцибельного промотора или промотора, обеспечивающего высокую экспрессию, так что белок образуется с повышенными концентрационными уровнями. Данное определение включает продукцию антигенсвязывающего белка в широком спектре организмов и/или клеток-хозяев, которые известны в данной области.

Для аминокислотных последовательностей идентичность и/или сходство последовательности определяется посредством применения стандартных методик, известных в данной области, включающих алгоритм локальной идентичности последовательности Smith и Waterman, 1981, *Adv. Appl. Math.* 2:482, алгоритм выравнивания идентичности последовательности Needleman и Wunsch, 1970, *J. Mol. Biol.* 48:443, способ поиска сходства Pearson и Lipman, 1988, *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A.* 85:2444, компьютеризированные воплощения данных алгоритмов (GAP, BESTFIT, FASTA и TFASTA в программном пакете Wisconsin Genetics, Genetics Computer Group, 575 Science Drive, Madison, Wis.), программу the Best Fit sequence, описанную Devereux et al., 1984, *Nucl. Acid Res.* 12:387-395, но не ограничиваясь ими, предпочтительно с использованием установок по умолчанию или с непосредственной проверкой. Предпочтительно процентная идентичность рассчитывается посредством FastDB на основе следующих параметров: штраф за несовпадение - 1; штраф за пробел - 1; штраф за размер пробела - 0,33 и штраф за соединение - 30, "Current Methods in Sequence Comparison and Analysis", *Macromolecule Sequencing and Synthesis, Selected Methods and Applications*, pp. 127-149 (1988), Alan R. Liss, Inc.

Примером полезного алгоритма является PILEUP. PILEUP создает множественное выравнивание последовательностей из группы родственных последовательностей с использованием постепенных парных выравниваний. Он также может построить древо, показывающее кластерные связи, используемые для создания выравнивания. В PILEUP используется упрощение способа прогрессивного выравнивания Feng & Doolittle, 1987, *J. Mol. Evol.* 35:351-360; данный способ аналогичен способу, описанному Higgins и Sharp, 1989, *CABIOS* 5:151-153. Полезные параметры PILEUP включают штраф за делецию по умолчанию (default gap weight) 3,00, штраф за продолжение делеции по умолчанию (default gap length weight) 0,10 и оцениваемые концевые делеции (weighted end gaps).

Другим примером полезного алгоритма является алгоритм BLAST, описанный в Altschul et al., 1990, *J. Mol. Biol.* 215:403-410; Altschul et al., 1997, *Nucleic Acids Res.* 25:3389-3402 и Karin et al., 1993, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 90:5873-5787. Особенно полезной программой BLAST является программа WU-BLAST-2, которая была получена из Altschul et al., 1996, *Methods in Enzymology* 266:460-480. В WU-BLAST-2 используются несколько параметров поиска, большинство из которых установлены на значения по умолчанию. Корректируемые параметры установлены со следующими значениями: ширина перекрытия равна 1, доля перекрытия равна 0,125, пороговая длина слова (T) равна 11. Параметры HSP S и HSP S2 представляют собой динамические значения и устанавливаются самой программой в

зависимости от состава конкретной последовательности и состава конкретной базы данных, относительно которой осуществляется поиск интересующей последовательности; однако значения можно корректировать для увеличения чувствительности.

Дополнительным полезным алгоритмом является BLAST с пробелами, описанный Altschul et al., 1993, Nucl. Acids Res. 25:3389-3402. В BLAST с пробелами используются баллы замены BLOSUM-62; параметр порога T установлен на 9; способ двух совпадений для запуска удлинений без пробелов, взимание за длины пробелов k платы $10+k$; X_i , установленный на 16, и X_g , установленный на 40, для стадии поиска в базе данных и на 67 для стадии получения результатов алгоритмов. Выравнивания с пробелами запускаются баллом, соответствующим примерно 22 бит.

В общем, гомология, сходство или идентичность аминокислот между индивидуальными вариантами CDR составляют по меньшей мере 80% по отношению к описанным здесь последовательностям и более типично предпочтительно повышенные гомологии или идентичности по меньшей мере 85, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99 и почти 100%. Аналогичным образом, "процент (%) идентичности последовательности нуклеиновой кислоты" по отношению к последовательности нуклеиновой кислоты идентифицированных здесь связывающих белков определяется как процентная доля нуклеотидных остатков в последовательности-кандидате, которые являются идентичными нуклеотидным остаткам в кодирующей последовательности антигенсвязывающего белка. В конкретном способе используется модуль BLASTN WU-BLAST-2, установленный на параметры по умолчанию, с шириной перекрытия и долей перекрытия, установленными на 1 и 0,125 соответственно.

В общем, гомология, сходство или идентичность последовательности нуклеиновой кислоты между нуклеотидными последовательностями, кодирующими индивидуальные варианты CDR, и описанными здесь нуклеотидными последовательностями составляют по меньшей мере 80% и более типично предпочтительно возрастающие гомологии или идентичности по меньшей мере 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98 или 99% и почти 100%.

Таким образом, "вариант CDR" представляет собой CDR с определенной гомологией, сходством или идентичностью с родительской CDR по изобретению, и он имеет аналогичную биологическую функцию, включающую по меньшей мере 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98 или 99% специфичности и/или активности родительской CDR, но не ограничиваясь ими.

В то время как сайт или область для введения изменения аминокислотной последовательности являются преддетерминированными, мутация сама по себе не должна быть преддетерминированной. Например, для оптимизации эффективности мутации в данном сайте можно проводить случайный мутагенез в кодоне- или области-мишени и подвергать скринингу экспрессируемый антигенсвязывающий белок с вариантами CDR на оптимальную комбинацию желательной активности. Хорошо известны методики получения замещающих мутаций в заданных сайтах в ДНК, имеющей известную последовательность, например мутагенез с праймером M13 и мутагенез посредством ПЦР (полимеразная цепная реакция). Скрининг мутантов осуществляется с использованием анализов активностей антигенсвязывающих белков, таких как связывание с выбранной молекулой поверхности клетки на клетке-мишени.

Термин "аминокислота" или "аминокислотный остаток" типично относится к аминокислоте, имеющей признанное в данной области определение, такой как аминокислота, выбранная из группы, состоящей из следующих: аланин (Ala или A); аргинин (Arg или R); аспарагин (Asn или N); аспарагиновая кислота (Asp или D); цистеин (Cys или C); глутамин (Gln или Q); глутаминовая кислота (Glu или E); глицин (Gly или G); гистидин (His или H); изолейцин (Ile или I); лейцин (Leu или L); лизин (Lys или K); метионин (Met или M); фенилаланин (Phe или F); пролин (Pro или P); серин (Ser или S); треонин (Thr или T); триптофан (Trp или W); тирозин (Tyr или Y) и валин (Val или V), хотя можно использовать и модифицированные, синтетические или редкие аминокислоты, по желанию. В общем, аминокислоты можно классифицировать как имеющие неполярную боковую цепь (например Ala, Cys, Ile, Leu, Met, Phe, Pro, Val); отрицательно заряженную боковую цепь (например Asp, Glu); положительно заряженную боковую цепь (например Arg, His, Lys) или незаряженную полярную боковую цепь (например Asn, Cys, Gln, Gly, His, Met, Phe, Ser, Thr, Trp и Tyr). Термин "гипервариабельная область" (также известные как "области, определяющие комплементарность" или CDR) при использовании здесь относится к аминокислотным остаткам антитела, которые находятся (обычно три или четыре короткие области с крайней вариабельностью последовательности) в пределах домена V-области иммуноглобулина, который образует антигенсвязывающий сайт, и являются главными детерминантами специфичности в отношении антигена. Существуют по меньшей мере два способа идентификации остатков CDR: (1) подход, основанный на межвидовой вариабельности последовательности (т.е. Kabat et al., процитированная в данном документе); и (2) подход, основанный на кристаллографических исследованиях комплексов антиген-антитело (Chothia, C. et al., J. Mol. Biol. 196: 901-917 (1987)). Однако в той степени, в которой две методики идентификации остатков определяют области перекрывающихся, но не идентичных участков, их можно объединять для определения гибридной CDR. Однако, в общем, остатки CDR предпочтительно идентифицируются согласно так называемой системе (нумерации) Kabat.

Термин "каркасная область" относится к известным в данной области частям вариабельной области антитела, которые существуют между более дивергентными (т.е. гипервариабельными) CDR. Такие кар-

касные области типично называются каркасы 1-4 (FR1, FR2, FR3 и FR4), и они предоставляют каркас для презентации шести CDR (трех из тяжелой цепи и трех из легкой цепи) в трехмерном пространстве с образованием антигенсвязывающей поверхности.

Типично CDR образуют петлевую структуру, которая может быть классифицирована как каноническая структура. Термин "каноническая структура" относится к конформации главной цепи, которую принимают антигенсвязывающие (CDR) петли. Из сравнительных структурных исследований обнаружили, что пять из шести антигенсвязывающих петель имеют только ограниченный репертуар доступных конформаций. Каждая каноническая структура может быть охарактеризована торсионными углами полипептидного остова. Соответствующие петли между антителами могут, следовательно, иметь очень сходные трехмерные структуры, несмотря на высокую вариабельность аминокислотной последовательности в большинстве частей петель (Chothia and Lesk, *J. Mol. Biol.*, 1987, 196: 901; Chothia et al., *Nature*, 1989, 342: 877; Martin and Thornton, *J. Mol. Biol.*, 1996, 263: 800, каждая из которых включена посредством ссылки во всей ее полноте). Кроме того, существует связь между принятой структурой петли и окружающей ее аминокислотной последовательностью. Конформация конкретного канонического класса определяется длинной петли и аминокислотными остатками, находящимися в ключевых положениях в пределах петли, а также в пределах консервативного каркаса (т.е. вне петли). Приписывание к конкретному каноническому классу, следовательно, может быть сделано на основе присутствия данных ключевых аминокислотных остатков. Термин "каноническая структура" также может включать соображения относительно линейной последовательности антитела, например, как каталогизировано Kabat (Kabat et al., процитированная в данном документе). Схема (система) нумерации Kabat является общепринятым стандартом нумерации аминокислотных остатков вариабельного домена антитела и представляет собой предпочтительную схему, применяемую в настоящем изобретении, как также упоминается здесь в других местах. Для определения канонической структуры антитела также можно использовать дополнительные структурные факторы. Например, те различия, которые полностью не отражаются нумерацией Kabat, могут быть описаны системой нумерации Chothia et al. и/или выявлены другими методиками, например кристаллографией и дву- или трехмерным компьютерным моделированием. Соответственно, последовательность данного антитела может быть помещена в канонический класс, что обеспечивает, среди других вещей, идентификацию подходящих основных последовательностей (например, на основе желания включить множество канонических структур в библиотеку). Нумерация по Kabat аминокислотных последовательностей антитела и структурные соображения, описанные Chothia et al., процитированной в данном документе, и их значения для построения канонических аспектов структуры антитела описаны в литературе.

CDR3 типично является наибольшим источником молекулярного разнообразия в пределах связывающего сайта антитела. Например, H3 может состоять всего лишь из двух аминокислотных остатков или из более чем 26 аминокислот. Субъединичные структуры и трехмерные конфигурации разных классов иммуноглобулинов хорошо известны в данной области. Относительно обзора структуры антитела, см. *Antibodies: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory, eds. Harlow et al., 1988. Специалисту в данной области будет понятно, что каждая структура субъединицы, например, структура CH, VH, CL, VL, CDR, FR содержит активные фрагменты, например часть субъединицы VH, VL или CDR, которая связывается с антигеном, т.е. антигенсвязывающий фрагмент, или, например, часть субъединицы CH, которая связывается с и/или активирует, например, рецептор Fc и/или комплемент. CDR типично относятся к CDR по Kabat, как описано в *Sequences of Proteins of immunological Interest*, US Department of Health and Human Services (1991), eds. Kabat et al. Другим стандартом характеристики антигенсвязывающего сайта является отнесение к гипервариабельным петлям, как описано Chothia. См., например, Chothia, et al. (1987; *J. Mol. Biol.* 227:799-817) и Tomlinson et al. (1995) *EMBO J.* 14: 4628-4638. Еще одним стандартом является определение AbM, используемое в программе моделирования антител AbM от Oxford Molecular. См., в общем, например, *Protein Sequence and Structure Analysis of Antibody Variable Domains*. In *Antibody Engineering Lab. Manual*. (Ed.: Duebel, S. and Kontermann, R., Springer-Verlag, Heidelberg). Воплощения, описанные по отношению к CDR по Kabat, в качестве альтернативы можно применять с использованием связей, описанных аналогичным образом по отношению к гипервариабельным петлям по Chothia или по отношению к петлям, определенным AbM.

Последовательность генов антитела после сборки и соматической мутации сильно варьирует, и оценивается, что эти варьирующие гены кодируют 10^{10} разных молекул антител (*Immunoglobulin Genes*, 2nd ed., eds. Jonio et al., Academic Press, San Diego, CA, 1995). Соответственно, иммунная система предоставляет репертуар иммуноглобулинов. Термин "репертуар" относится по меньшей мере к одной нуклеотидной последовательности, происходящей целиком или частично по меньшей мере из одной последовательности, кодирующей по меньшей мере один иммуноглобулин. Данная(ые) последовательность(и) может(гут) быть получена(ы) перестройкой *in vivo* сегментов V, D и J тяжелых цепей и сегментов V и J легких цепей. В качестве альтернативы последовательность(и) может(гут) быть получена(ы) из клетки в ответ на то, из-за чего происходит перестройка, например, на стимуляцию *in vitro*. В качестве альтернативы часть или вся(все) последовательность(и) может(гут) быть получена(ы) сплайсингом ДНК, синтезом нуклеотидов, мутагенезом и другими способами, см., например, патент США 5565332. Репертуар

может включать только одну последовательность или может включать множество последовательностей, включая последовательности в генетически разнообразной коллекции.

Также предусмотрено, что описанное здесь соединение, нацеленное на CD33, помимо его функции связывания с молекулой CD33 клеточной поверхности на клетке-мишени и с CD3 на клеточной поверхности Т-клетки, может иметь дополнительную функцию. В данном формате соединение представляет собой многофункциональное соединение посредством нацеливания на клетки через связывание с CD33 на клеточной поверхности клетки-мишени, опосредование активности цитотоксической Т-клетки через связывание с CD3 и обеспечение дополнительной функции, такой как антителозависимая клеточная цитотоксичность, опосредованная полностью функциональным константным доменом Fc, через рекрутирование эффекторных клеток, подобных клеткам NK (естественные киллеры), домен, увеличивающий период полувыведения, такой как альбуминсвязывающий домен или модифицированный константный домен Fc, не имеющий антителозависимой клеточной цитотоксичности, но увеличивающий молекулярную массу соединения, предоставление метки (флуоресцентной и т.д.), терапевтический агент, такой как, например, токсин или радиоизотоп, и/или средства для увеличения периода полувыведения в сыворотке и т.д.

Термин "эпитоп" относится к сайту на антигене, с которым специфически связывается связывающий домен, такой как антитело или иммуноглобулин, или производное или фрагмент антитела, или иммуноглобулин. Эпитоп является антигенным, и, таким образом, "эпитоп" иногда здесь также называется "антигенной структурой" или "антигенной детерминантой". Таким образом, связывающий домен представляет собой "сайт взаимодействия с антигеном". Также понятно, что указанное связывание/взаимодействие определяет "специфическое распознавание". В одном примере указанный связывающий домен, который (специфически) связывается с/взаимодействует с данным эпитопом-мишенью CD33 на молекуле клеточной поверхности на клетке-мишени или с CD3, представляет собой антитело или иммуноглобулин, и указанный связывающий домен представляет собой область VH и/или VL антитела или иммуноглобулина.

"Эпитопы" могут формироваться смежными аминокислотами или несмежными аминокислотами, помещенными рядом посредством третичного сворачивания белка. "Линейный эпитоп" представляет собой эпитоп, где первичная аминокислотная последовательность содержит распознаваемый эпитоп. Линейный эпитоп типично включает по меньшей мере 3, или по меньшей мере 4 и чаще по меньшей мере 5 или по меньшей мере 6, или по меньшей мере 7, например от примерно 8 до примерно 10 аминокислот в уникальной последовательности.

"Конформационный эпитоп" в отличие от линейного эпитопа представляет собой эпитоп, в котором первичная последовательность аминокислот, составляющих эпитоп, не является единственным определяющим компонентом распознаваемого эпитопа (например, эпитоп, в котором первичная последовательность аминокислот не обязательно распознается связывающим доменом). Типично конформационный эпитоп содержит увеличенное число аминокислот относительно линейного эпитопа. В том, что касается распознавания конформационных эпитопов, связывающий домен распознает трехмерную структуру антигена, предпочтительно пептида или белка, или его фрагмента (в контексте настоящего изобретения антиген для одного из связывающих доменов содержится в пределах молекулы клеточной поверхности на клетке-мишени). Например, при сворачивании молекулы белка с образованием трехмерной структуры определенные аминокислоты и/или остов полипептида, образующий конформационный эпитоп, становятся расположенными рядом друг с другом, обеспечивая распознавание антителом эпитопа. Способы определения конформации эпитопа включают рентгеноструктурный анализ, двумерную спектроскопию ядерного магнитного резонанса (2Д-ЯМР), сайт-направленное спиновое мечение и спектроскопию электронного парамагнитного резонанса (ЭПР), но не ограничиваются ими. Кроме того, в предложенных примерах описан дополнительный способ характеристики данного связывающего домена посредством сортировки, который включает анализ того, связывается ли данный связывающий домен с одним или более чем одним кластером эпитопов данного белка, в частности с молекулой клеточной поверхности на клетке-мишени.

Термин "кластер эпитопов" в том виде, как он здесь используется, обозначает совокупность эпитопов, лежащих в определенном смежном отрезке антигена. Кластер эпитопов может содержать один, два или более чем два эпитопа. Идею кластера эпитопов также используют в характеристике свойств связывающих молекул по изобретению.

Термины "способный к связыванию с", "специфически распознающий", "направленный на" и "реагирующий с" согласно данному изобретению означают то, что связывающий домен способен специфически взаимодействовать с одним или более чем одним, предпочтительно по меньшей мере с двумя, более предпочтительно по меньшей мере с тремя и наиболее предпочтительно по меньшей мере с четырьмя аминокислотами эпитопа.

Термины "специфически взаимодействующий", "специфически связывающийся" или "специфически связываются (есть)" в том виде, как они здесь используются, означают то, что связывающийся домен демонстрирует заметное сродство в отношении конкретного белка или антигена и, обычно, не демонстрирует существенную реактивность с белками или антигенами, отличными от CD33 или CD3. «Замет-

ное сродство" включает связывание со сродством примерно 10^{-6} М (KD) или сильнее. Предпочтительно связывание считается специфичным, когда сродство связывания составляет примерно от 10^{-12} до 10^{-8} М, от 10^{-12} до 10^{-9} М, от 10^{-12} до 10^{-10} М, от 10^{-11} до 10^{-8} М, предпочтительно от примерно 10^{-11} до 10^{-9} М. То, реагирует ли или связывается ли специфически связывающий домен с мишенью, можно легко протестировать, среди прочего, путем сравнения реакции указанного связывающего домена с белком-мишенью или антигеном с реакцией указанного связывающего домена с белками или антигенами, отличными от CD33 или CD3. Предпочтительно связывающий домен по изобретению, по существу, не связывается или не способен к связыванию с белками или антигенами, отличными от CD33 или CD3 (т.е. первый связывающий домен не способен связываться с белками, отличными от CD33, и второй связывающий домен не способен связываться с белками, отличными от CD3).

Термин "по существу, не связывается" или "не способен к связыванию" означает то, что связывающий домен по настоящему изобретению не связывается с другим белком или антигеном, отличным от CD33 или CD3, т.е. не демонстрирует реактивность более чем 30%, предпочтительно не более чем 20%, более предпочтительно не более чем 10%, особенно предпочтительно не более чем 9, 8, 7, 6 или 5% с белками или антигенами, отличным от CD33 или CD3, при этом связывание с CD33 или CD3 соответственно принято за 100%.

Считается, что специфическое связывание осуществляется специфичными мотивами в аминокислотной последовательности связывающего домена и антигена. Таким образом, связывание достигается в результате их первичной, вторичной и/или третичной структуры, а также в результате вторичных модификаций указанных структур. Специфическое взаимодействие сайта, взаимодействующего с антигеном, с его специфическим антигеном может приводить к простому связыванию указанного сайта с антигеном. Кроме того, специфическое взаимодействие сайта, взаимодействующего с антигеном, с его специфическим антигеном, альтернативно или дополнительно, может приводить к инициации сигнала, например, из-за индукции изменения конформации антигена, олигомеризации антигена и т.д.

Белки (включая их фрагменты, предпочтительно биологически активные фрагменты, и пептиды, обычно имеющие меньше чем 30 аминокислот) содержат одну или более аминокислот, связанных друг с другом через ковалентную пептидную связь (что приводит к образованию цепи аминокислот). Термин "полипептид" в том виде, как он здесь используется, описывает группу молекул, которые состоят из более чем 30 аминокислот. Полипептиды могут дополнительно образовывать мультимеры, такие как димеры, тримеры и высшие олигомеры, т.е. состоящие из более чем одной полипептидной молекулы. Полипептидные молекулы, образующие такие димеры, тримеры и т.д., могут быть идентичными или неидентичными. Соответствующие структуры более высокого порядка таких мультимеров называются, следовательно, гомо- или гетеродимерами, гомо- или гетеротримерами и т.д. Примером гетеромультимера является молекула антитела, которая в ее форме, встречающейся в природе, состоит из двух идентичных легких полипептидных цепей и двух идентичных тяжелых полипептидных цепей. Термины "полипептид" и "белок" также относятся к полипептидам/белкам, модифицированным в природе, где модификация осуществляется, например, посттрансляционными модификациями, подобными гликозилированию, ацетилированию, фосфорилированию и т.п. Полипептид, при ссылке на него в данном документе, также может быть химически модифицирован, например ПЭГилирован. Такие модификации хорошо известны в данной области.

Термин "выделенный", при использовании для описания соединения, нацеленного на CD33, раскрытого в данном документе, означает соединение, которое было идентифицировано, отделено и/или выделено от компонента его среды получения. Предпочтительно выделенное соединение свободно от ассоциации со всеми другими компонентами из среды его получения. Загрязняющие компоненты его среды получения, такие как компоненты, происходящие из рекомбинантных трансфицированных клеток, представляют собой вещества, которые типично мешали бы диагностическим или терапевтическим применениям полипептида, и они могут включать ферменты, гормоны и другие белковые или небелковые растворенные вещества. В предпочтительных воплощениях соединение будет очищено (1) до достаточной степени для получения по меньшей мере 15 остатков N-концевой или внутренней аминокислотной последовательности посредством применения секвенатора с вращающейся чашкой, или (2) до гомогенности посредством SDS-PAGE (электрофорез в полиакриламидном геле с додецилсульфатом натрия) при невозстанавливающих или восстанавливающих условиях с использованием окрашивания кумасси синим или предпочтительно серебром. Обычно, однако, выделенное соединение будет получено посредством по меньшей мере одной стадии очистки.

Рассматриваются модификации аминокислотной последовательности описанного здесь соединения, нацеленного на CD33. Например, может быть желательным улучшение аффинности связывания и/или других биологических свойств соединения. Варианты аминокислотной последовательности соединений, нацеленных на CD33, получают введением подходящих нуклеотидных замен в нуклеиновую кислоту соединений или посредством пептидного синтеза.

Такие модификации включают, например, делеции, и/или вставки, и/или замены остатков в пределах аминокислотных последовательностей соединения. Любая комбинация делеции, вставки и замены сделана для получения конечной конструкции, при условии, что конечная конструкция обладает жела-

тельными характеристиками. Аминокислотные замены также могут изменять посттрансляционные процессы соединения, такие как изменение числа или положения сайтов гликозилирования. Предпочтительно в CDR могут быть заменены 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 аминокислот, тогда как в каркасных областях (FR) могут быть заменены 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 или 25 аминокислот. Замены предпочтительно представляют собой консервативные замены, как здесь описано. Дополнительно или альтернативно, 1, 2, 3, 4, 5 или 6 аминокислот могут быть вставлены или удалены в каждой из CDR (естественно, в зависимости от их длины), тогда как в каждой из FR могут быть вставлены или удалены 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 или 25 аминокислот.

Полезный способ идентификации определенных остатков или областей соединений, нацеленных на CD33, которые являются предпочтительными местами для мутагенеза, называется "мутагенезом на основе аланинового сканирования", как описано Cunningham and Wells в *Science*, 244: 1081-1085 (1989). Здесь в пределах соединения идентифицируют остаток или группу остатков-мишеней (например, заряженных остатков, таких как arg, asp, his, lys и glu) и заменяют нейтральной или отрицательно заряженной аминокислотой (наиболее предпочтительно аланином или полиаланином) для того, чтобы повлиять на взаимодействие аминокислот с эпитопом.

Те положения аминокислот, которые демонстрируют функциональную чувствительность к заменам, затем уточняют введением дополнительных или других вариантов в или на расстоянии от сайтов замены. Таким образом, в то время как сайт для введения изменения аминокислотной последовательности является заданным, природа мутации как таковой не должна быть заданной. Например, для анализа эффективности мутации в данном сайте проводится мутагенез на основе ala сканирования или случайный мутагенез в кодоне-мишени или области-мишени, и экспрессируемые варианты соединения подвергаются скринингу на желательную активность.

Предпочтительно вставки аминокислотной последовательности включают амино- и/или карбокси-концевые слияния, варьирующие по длине от 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 остатков до полипептидов, содержащих сто или более остатков, а также вставки внутри последовательности одиночных или многих аминокислотных остатков. Вариант со вставкой соединения, нацеленного на CD33, включает слияние с N- или C-концом антитела фермента или слияние с полипептидом, который увеличивает период полувыведения антитела в сыворотке.

Другим типом варианта является вариант с аминокислотной заменой. Данные варианты предпочтительно имеют по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 аминокислотных остатков в соединении, замененных другим остатком. Сайты, представляющие наибольший интерес для мутагенеза путем замены, включают CDR тяжелой и/или легкой цепи, в частности гипервариабельные области, но также рассматриваются и изменения FR в тяжелой и/или легкой цепи.

Например, если последовательность CDR охватывает 6 аминокислот, предусматривается, что заменяется одна, две или три из данных аминокислот. Аналогично, если последовательность CDR охватывает 15 аминокислот, предусматривается, что заменяются одна, две, три, четыре, пять или шесть из данных аминокислот.

В общем, если аминокислоты заменяются в одной или более чем одной или во всех CDR тяжелой и/или легкой цепи, предпочтительно, чтобы полученная тогда "измененная" последовательность была по меньшей мере на 60%, более предпочтительно на 65%, даже более предпочтительно на 70%, особенно предпочтительно на 75%, еще более предпочтительно на 80% идентичной "исходной" последовательности CDR. Это означает то, что степень, в которой она идентична "измененной" последовательности, зависит от длины CDR. Например, CDR, имеющая 5 аминокислот, предпочтительно на 80% идентична ее измененной последовательности для того, чтобы имела место по меньшей мере одна аминокислотная замена. Соответственно, CDR соединения, нацеленного на CD33, могут иметь разные степени идентичности с их измененными последовательностями, например, CDRL1 может иметь 80%, тогда как CDRL3 может иметь 90%.

Предпочтительные замены (или замещения) представляют собой консервативные замены. Однако рассматривается любая замена (включающая неконсервативную замену или одну или более чем одну из "типичных замен", перечисленных в табл. 1 ниже), при условии, что соединение, нацеленное на CD33, сохраняет свою способность связываться с CD33 через первый связывающий домен и с CD3ε через второй связывающий домен, и/или его CDR имеют идентичность с полученной тогда измененной последовательностью (по меньшей мере 60%-ную, более предпочтительно 65%-ную, даже более предпочтительно 70%-ную, особенно предпочтительно 75%-ную, еще более предпочтительно 80%-ную идентичность с "исходной" последовательностью CDR).

Консервативные замены показаны в табл. 1 под заголовком "предпочтительные замены". Если такие замены приводят к изменению биологической активности, тогда могут быть введены более существенные замены, обозначенные в табл. 1 "типичные замены", или как дополнительно описано ниже по отношению к классам аминокислот, и продукты могут быть подвергнуты скринингу на желательную характеристику.

Аминокислотные замены

Исходная	Типичные замены	Предпочтительные замены
Ala (A)	val, leu, ile	val
Arg (R)	lys, gln, asn	lys
Asn (N)	gln, his, asp, lys, arg	gln
Asp (D)	glu, asn	glu
Cys (C)	ser, ala	ser
Gln (Q)	asn, glu	asn
Glu (E)	asp, gln	asp
Gly (G)	ala	ala
His (H)	asn, gln, lys, arg	arg
Ile (I)	leu, val, met, ala, phe	leu
Leu (L)	норлейцин, ile, val, met, ala	ile
Lys (K)	arg, gln, asn	arg
Met (M)	leu, phe, ile	leu
Phe (F)	leu, val, ile, ala, tyr	tyr
Pro (P)	ala	ala
Ser (S)	thr	thr
Thr (T)	ser	ser
Trp (W)	tyr, phe	tyr
Tyr (Y)	trp, phe, thr, ser	phe
Val (V)	ile, leu, met, phe, ala	leu

Существенные модификации в биологических свойствах описанного здесь соединения, нацеленного на CD33, осуществляются путем отбора замен, которые значительно отличаются по их эффекту на поддержание (а) структуры полипептидного основа в области замены, например в виде складчатого слоя или спиральной конформации, (б) заряда или гидрофобности молекулы в сайте-мишени или (в) объема боковой цепи. Встречающиеся в природе остатки делят на группы на основе общих свойств боковой цепи: (1) гидрофобные: норлейцин, met, ala, val, leu, ile; (2) нейтральные гидрофильные: cys, ser, thr; (3) кислотные: asp, glu; (4) основные: asn, gln, his, lys, arg; (5) остатки, которые влияют на ориентацию цепи: gly, pro; и (6) ароматические: trp, tyr, phe.

Неконсервативные замены повлекут за собой замену члена одного из данных классов на другой класс. Любой остаток цистеина, не участвующий в поддержании правильной конформации соединения, нацеленного на CD33, может быть заменен, обычно серином, для улучшения окислительной стабильности молекулы и предотвращения неправильного сшивания. Наоборот, связь(и) цистеина могут быть добавлены в соединение, в случае, если соединение представляет собой антитело, для улучшения его стабильности (особенно когда антитело представляет собой фрагмент антитела, такой как фрагмент Fv).

Особенно предпочтительный тип варианта с заменами включает замену одного или более чем одного остатка гипервариабельной области родительского антитела (например, гуманизированного или человеческого антитела). Обычно образующийся вариант(ы), отобранный(ые) для дальнейшей разработки, будет(ут) иметь улучшенные биологические свойства относительно родительского антитела, из которого они получены. Удобный способ получения таких вариантов с заменами включает созревание аффинности с использованием фагового дисплея. Вкратце, несколько сайтов гипервариабельной области (например, 6-7 сайтов) подвергают мутации с получением всех возможных аминокислотных замен в каждом сайте. Варианты антитела, полученные таким образом, подвергают дисплею моновалентно из частиц нитчатого фага в виде слияний с продуктом гена III M13, упакованных в каждую частицу. Варианты, подвергающиеся фаговому дисплею, затем подвергают скринингу на их биологическую активность (например, сродство связывания), как здесь раскрыто. Для того чтобы идентифицировать сайты-кандидаты гипервариабельной области для модификации, можно проводить мутагенез на основе аланинового сканирования для идентификации остатков гипервариабельной области, значимо способствующих связыванию антигена. Альтернативно или дополнительно, может быть полезным анализ кристаллической структуры комплекса антиген-антитело для идентификации контактных точек между связывающим доменом и, например, человеческим CD33 или CD3. Такие контактные остатки и смежные остатки являются кандидатами на замену согласно разработанным здесь методикам. Как только получены такие варианты, группу вариантов подвергают скринингу, как здесь описано, и антитела с превосходящими свойствами в одном или более чем одном релевантном анализе могут быть отобраны для дальнейшей разработки.

Здесь рассматриваются другие модификации соединения, нацеленного на CD33. Например, соединение, нацеленное на CD33, может быть связано с одним из множества небелковых полимеров, например, полиэтиленгликолем, полипропиленгликолем, полиоксипалкиленами или сополимерами полиэтиленгликоля и полипропиленгликоля. Соединение, нацеленное на CD33, также может быть инкапсулировано в микрокапсулах, полученных, например, методиками коацервации или полимеризации на границе раздела фаз (например в гидроксиметилцеллюлозных или желатиновых микрокапсулах и по-

ли(метилметакрилатных) микрокапсулах соответственно), в коллоидных системах доставки лекарственного средства (например, липосомах, альбуминовых микросферах, микроэмульсиях, наночастицах и нанокапсулах) или в макроэмульсиях. Такие методики раскрыты в Remington's Pharmaceutical Sciences, 16th edition, Oslo, A., Ed., (1980).

Раскрытое здесь соединение, нацеленное на CD33, также может быть приготовлено в виде иммунолипосом. "Липосома" представляет собой маленькую везикулу, состоящую из разных типов липидов, фосфолипидов и/или поверхностно-активного вещества, которая является полезной для доставки лекарственного средства млекопитающему. Компоненты липосомы обычно организованы в двухслойное образование, аналогичное организации липидов биологических мембран. Липосомы, содержащие соединение, получают способами, известными в данной области, как, например, описано в Epstein et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 82: 3688 (1985); Hwang et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 77: 4030 (1980); патентах США №№ 4485045 и 4544545; и WO 97/38731, опубликованной 23 октября, 1997 г. Липосомы с увеличенным временем циркуляции раскрыты в патенте США № 5013556. Особенно полезные липосомы могут быть получены способом обращенно-фазового упаривания с использованием липидной композиции, содержащей фосфатидилхолин, холестерин и дериватизированный PEG (полиэтиленгликоль) фосфатидилэтаноламин (PEG-PE). Липосомы выталкивают через фильтры с определенным размером пор с получением липосом с желательным диаметром. Фрагменты Fab' антитела по настоящему изобретению можно конъюгировать с липосомами, как описано в Martin et al. J. Biol. Chem. 257: 286-288 (1982), посредством реакции дисульфидного обмена. В липосоме возможно содержится химиотерапевтический агент. См. Gabizon et al. J. National Cancer Inst. 81 (19) 1484 (1989).

При использовании методик генной инженерии соединение, нацеленное на CD33, может продуцироваться внутриклеточно, в периплазматическое пространство, либо непосредственно секретироваться в среду. При внутриклеточной продукции конструкции антитела, в качестве первой стадии удаляют обломки в виде частиц, либо клетки-хозяева, либо лизированные фрагменты, например, посредством центрифугирования или ультрафильтрации. Carter et al., Bio/Technology 10: 163-167 (1992) описывают методику выделения антител, которые секретируются в периплазматическое пространство *E. coli*.

Соединения, нацеленные на CD33, полученные из клеток, можно очищать с использованием, например, хроматографии на гидроксипатите, гель-электрофореза, диализа и аффинной хроматографии, причем аффинная хроматография является предпочтительной методикой очистки.

Описанные здесь соединения, нацеленные на CD33, могут быть предоставлены в форме слитого белка, содержащего по меньшей мере два связывающих домена, с пептидными линкерами или без них (спейсерные пептиды). Среди подходящих пептидных линкеров находятся линкеры, описанные в патентах США 4751180 и 4935233 или WO 88/09344.

Другой способ получения описанных здесь соединений, нацеленных на CD33, в форме производных конструкции олигомерного антитела включает применение лейциновой молнии. Домены в виде лейциновой молнии представляют собой пептиды, которые стимулируют олигомеризацию белков, в которых они находятся. Лейциновые молнии были исходно идентифицированы в нескольких ДНК-связывающих белках (Landschulz et al., 1988, Science 240:1759) и с тех пор были обнаружены во множестве других белков. Среди известных лейциновых молний находятся встречающиеся в природе пептиды и их производные, которые димеризуются или тримеризуются. Примеры доменов в виде лейциновой молнии, подходящих для получения растворимых олигомерных белков, описаны в заявке PCT WO 94/10308, и лейциновая молния, происходящая из поверхностно-активного белка легкого D (SPD), описанная в Norpe et al., 1994, FEBS Letters 344:191, является тем самым включенной посредством ссылки. Применение модифицированной лейциновой молнии, которая обеспечивает стабильную тримеризацию гетерологичного белка, слитого с ней, описано в Fanslow et al., 1994, Semin. Immunol. 6:267-78. В одном подходе рекомбинантные слитые белки, содержащие фрагмент антитела против CD33 и CD3 или производное, слитые с пептидом лейциновой молнии, экспрессируются в подходящих клетках-хозяевах, и растворимые олигомерные фрагменты антитела против CD33 и CD3 или производные, которые образуются, выделяют из супернатанта культуры.

Ковалентные модификации антигенсвязывающих белков включены в объем данного изобретения и обычно, но не всегда, осуществляются посттрансляционно. Например, в молекулу вводят несколько типов ковалентных модификаций антигенсвязывающего белка путем проведения взаимодействия специфических аминокислотных остатков антигенсвязывающего белка с органическим дериватирующим агентом, который способен взаимодействовать с выбранными боковыми цепями N- или C-концевых остатков.

Цистеинильные остатки чаще всего реагируют с α -галогенацетатами (и соответствующими аминами), такими как хлоруксусная кислота или хлорацетамид, с получением карбоксиметильных или карбоксиамидометильных производных. Цистеинильные остатки также дериватируются реакцией с бромтрифторацетоном, α -бром- β -(5-имидозоил)пропионовой кислотой, хлорацетилфосфатом, N-алкилмалеимидами, 3-нитро-2-пиридилдисульфидом, метил-2-пиридилдисульфидом, п-хлорртутьбензоатом, 2-хлорртуть-4-нитрофенолом или хлор-7-нитробензо-2-окса-1,3-диазолом.

Гистидильные остатки дериватизируют реакцией с диэтилпирокарбонатом при pH 5,5-7,0, так как данный агент является относительно специфичным в отношении гистидильной боковой цепи. Парабромфенацилбромид также является полезным; реакцию предпочтительно проводят в 0,1M какодilate натрия при pH 6,0.

Лизинильные и аминоконцевые остатки подвергают взаимодействию с ангидридами янтарной или других карбоновых кислот. Дериватизация данными агентами имеет эффект обращения заряда лизинильных остатков. Другие подходящие реактивы для дериватизации α -аминосодержащих остатков включают имидоэфиры, такие как метилпиколинимидат; пиридоксальфосфат; пиридоксаль; хлорборгидрид; тринитробензолсульфовая кислота; O-метилизочевина; 2,4-пентандион, и реакцию с глиоксилом, катализируемую трансаминазой.

Аргинильные остатки модифицируются реакцией с одним или несколькими традиционными реактивами, среди которых находятся фенилглиоксаль, 2,3-бутандион, 1,2-циклогександион и нингидрин. Дериватизация аргининовых остатков требует того, чтобы реакция проводилась в щелочных условиях из-за высокого рКа гуанидиновой функциональной группы. Кроме того, данные реактивы могут взаимодействовать с группами лизина, а также с ϵ -аминогруппой аргинина.

Можно осуществить специфическую модификацию тирозильных остатков, при этом особый интерес представляет введение спектральных меток в тирозильные остатки посредством реакции с ароматическими diaзониевыми соединениями или тетранитрометаном. Чаще всего используют N-ацетилимидазол и тетранитрометан с образованием O-ацетилтирозильных соединений и 3-нитропроизводных соответственно. Тирозильные остатки йодируют с использованием ^{125}I или ^{131}I для получения меченых белков для применения в радиоиммуноанализе, причем подходящим является описанный выше хлораминовый метод.

Карбоксильные боковые группы (аспартильную и глутамильную) селективно модифицируют реакцией с карбодиимидами ($\text{R}'\text{-N}=\text{C}=\text{N-R}'$), где R и R', возможно, представляют собой разные алкильные группы, такие как 1-циклогексил-3-(2-морфолинил-4-этил)карбодиимид или 1-этил-3-(4-азония-4,4-диметилпентил)карбодиимид. Кроме того, аспартильные и глутамильные остатки превращают до аспаргинильных и глутаминильных остатков посредством реакции с ионами аммония.

Дериватизация бифункциональными агентами является полезной для сшивания антигенсвязывающих белков с нерастворимой в воде поддерживающей матрицей или поверхностью для применения во множестве способов. Обычно используемые сшивающие агенты включают, например, 1,1-бис(диазоацетил)-2-фенилэтан, глутаральдегид, N-гидроксисукцинимидные сложные эфиры, например сложные эфиры 4-азидосалициловой кислоты, гомобифункциональные имидоэфиры, включающие дисукцинимидиловые сложные эфиры, такие как 3,3'-дитиобис(сукцинимидилпропионат), и бифункциональные малеимиды, такие как бис-N-малеимида-1,8-октан. Дериватирующие агенты, такие как метил-3-[(п-азидофенил)дитио]пропиоимидат, дают фотоактивируемые промежуточные соединения, которые способны образовать сшивки при наличии света. В качестве альтернативы для иммобилизации белка используют реакционноспособные нерастворимые в воде матрицы, такие как углеводы, активированные бромцианом, и реакционноспособные субстраты, описанные в патентах США №№ 3969287; 3691016; 4195128; 4247642; 4229537 и 4330440.

Глутаминильные и аспарагинильные остатки часто дезамидируют до соответствующих глутамильных и аспартильных остатков соответственно. В качестве альтернативы данные остатки дезамидируют при умеренно кислотных условиях. Любая форма данных остатков попадает в объем данного изобретения.

Другие модификации включают гидроксирование пролина и лизина, фосфорилирование гидроксильных групп серильных или треонильных остатков, метилирование α -аминогрупп боковых цепей лизина, аргинина и гистидина (Т.Е. Creighton, *Proteins: Structure and Molecular Properties*, W.H. Freeman & Co., San Francisco, 1983, pp. 79-86), ацетилирование N-концевого амина и амидирование любой C-концевой карбоксильной группы.

Другой тип ковалентной модификации антигенсвязывающего белка, включенный в объем данного изобретения, включает изменение картины гликозилирования белка. Как известно в данной области, картины гликозилирования могут зависеть или от последовательности белка (например, присутствия или отсутствия конкретных гликозилируемых остатков аминокислот, обсуждаемых ниже), или от клетки или организма-хозяина, в которых продуцируется белок. Конкретные экспрессионные системы обсуждаются ниже.

Гликозилирование полипептидов типично является либо N-связанным, либо O-связанным. Термин "N-связанное" относится к присоединению углеводной группировки к боковой цепи остатка аспарагина. Трипептидные последовательности аспарагин-X-серин и аспарагин-X-треонин, где X представляет собой любую аминокислоту, кроме пролина, представляют собой последовательности распознавания для ферментативного присоединения углеводной группировки к боковой цепи аспарагина. Таким образом, присутствие любой из этих трипептидных последовательностей в полипептиде создает потенциальный сайт гликозилирования. O-связанное гликозилирование относится к присоединению одного из сахаров N-ацетилгалактозамина, галактозы или ксилозы к гидроксикаминокислоте, чаще всего к серину или треони-

ну, хотя также могут использоваться 5-гидроксипролин или 5-гидроксилизин.

Добавление сайтов гликозилирования к антигенсвязывающему белку удобным образом осуществляют путем изменения аминокислотной последовательности таким образом, что она содержит одну или более чем одну из вышеописанных трипептидных последовательностей (для сайтов N-связанного гликозилирования). Изменение также можно осуществлять добавлением или заменой одного или более чем одного остатка серина или треонина относительно исходной последовательности (для сайтов O-связанного гликозилирования). Для простоты, аминокислотную последовательность антигенсвязывающего белка предпочтительно изменяют посредством изменений на уровне ДНК, в частности посредством мутирования ДНК, кодирующей полипептид-мишень, по заранее выбранным основаниям, таким образом, что получают кодоны, которые будут транслироваться в желательные аминокислоты.

Другим средством увеличения числа углеводных группировок на антигенсвязывающем белке является химическое или ферментативное связывание гликозидов с белком. Данные методики имеют преимущество в том, что они не требуют продукции белка в клетке-хозяине, которая имеет гликозилирующие способности в отношении N- и O-связанного гликозилирования. В зависимости от используемого способа связывания, сахар(а) может(гут) быть присоединен(ы) к (а) аргинину и гистидину, (б) свободным карбоксильным группам, (в) свободным сульфгидрильным группам, таким как свободные сульфгидрильные группы цистеина, (г) свободным гидроксильным группам, таким как свободные гидроксильные группы серина, треонина или гидроксипролина, (д) ароматическим остаткам, таким как ароматические остатки фенилаланина, тирозина или триптофана, или (е) амидной группе глутамина. Данные способы описаны в WO 87/05330, опубликованной 11 сентября 1987 г., и в Aplin и Wriston, 1981, CRC Crit. Rev. Biochem., pp. 259-306.

Удаление углеводных группировок, присутствующих на исходном антигенсвязывающем белке, может осуществляться химически или ферментативно. Химическое дегликозилирование требует воздействия на белок соединения трифторметансульфоновой кислоты или эквивалентного соединения. Данная обработка приводит к отщеплению большинства или всех сахаров, за исключением связывающего сахара (N-ацетилглюкозамин или N-ацетилгалактозамин), оставляя полипептид интактным. Химическое дегликозилирование описано Nakimuddin et al., 1987, Arch. Biochem. Biophys. 259:52 и Edge et al., 1981, Anal. Biochem. 118:131. Ферментативное отщепление углеводных группировок на полипептидах может достигаться применением целого ряда эндо- и экзогликозидаз, как описано Thotakura et al., 1987, Meth. Enzymol. 138:350. Гликозилирование в потенциальных сайтах гликозилирования можно предотвращать применением соединения туникамицина, как описано Duskin et al., 1982, J. Biol. Chem. 257:3105. Туникамицин блокирует образование белок-N-гликозидных связей.

Другой тип ковалентной модификации антигенсвязывающего белка включает связывание антигенсвязывающего белка с разными небелковыми полимерами, включая, без ограничения, разные полиолы, такие как полиэтиленгликоль, полипропиленгликоль или полиоксиалкилены, способом, изложенным в патентах США №№ 4640835; 4496689; 4301144; 4670417; 4791192 или 4179337. Кроме того, как известно в данной области, аминокислотные замены можно осуществлять в разных положениях в пределах антигенсвязывающего белка для облегчения добавления полимеров, таких как PEG.

В некоторых воплощениях описанная здесь ковалентная модификация антигенсвязывающих белков включает добавление одной или более чем одной метки.

Термин "группа мечения" означает любую выявляемую метку. Примеры подходящих групп мечения включают следующие: радиоизотопы или радионуклиды (например ^3H , ^{14}C , ^{15}N , ^{35}S , ^{90}Y , ^{99}Tc , ^{111}In , ^{125}I , ^{131}I), флуоресцентные группы (например, FITC (флуоресцеин изотиоцианат), родамин, люминофоры на основе комплекса лантанидов), ферментативные группы (например, пероксидаза хрена, β -галактозидаза, люцифераза, щелочная фосфатаза), хемилюминисцентные группы, биотинильные группы или заранее определенные полипептидные эпитопы, распознаваемые вторичным репортером (например, парные последовательности лейциновой молнии, сайты связывания вторичных антител, домены связывания металлов, эпитопные метки), но не ограничиваются ими. В некоторых воплощениях метящую группу связывают с антигенсвязывающим белком через ручки спейсера разной длины для уменьшения потенциальных стерических препятствий. В данной области известны разные способы мечения белков, и они могут использоваться в осуществлении настоящего изобретения.

В общем, метки делятся на множество классов в зависимости от анализа, которым их следует выявлять: а) изотопные метки, которые могут быть радиоактивными или тяжелыми изотопами; б) магнитные метки (например, магнитные частицы); в) окислительно-восстановительные активные молекулы; г) оптические красители; ферментативные группы (например, пероксидаза хрена, β -галактозидаза, люцифераза, щелочная фосфатаза); д) биотинилированные группы и е) заданные полипептидные эпитопы, распознаваемые вторичным репортером (например, парные последовательности лейциновой молнии, сайты связывания для вторичных антител, домены связывания металлов, эпитопные метки и т.д.). В некоторых воплощениях группу мечения связывают с антигенсвязывающим белком через ручки спейсера разной длины для уменьшения потенциальных стерических препятствий. В данной области известны разные способы мечения белков, и они могут использоваться в осуществлении настоящего изобретения.

Конкретные метки включают оптические красители, включающие хромофоры, фосфоры и флуорофоры, причем последние являются специфическими во многих случаях, но не ограничиваются ими. Флуорофоры могут быть либо "низкомолекулярными" флуоресцирующими агентами, либо белковыми флуоресцирующими агентами.

Под "флуоресцентной меткой" подразумевается любая молекула, которую можно выявлять посредством присущих ей флуоресцентных свойств. Подходящие флуоресцентные метки включают флуоресцеин, родамин, тетраметилродамин, эозин, эритрозин, кумарин, метилкумарины, пирен, малахитовый зеленый, стилбен, люцифер желтый (Lucifer Yellow), Cascade BlueJ, тexasский красный (Texas Red), IAE-DANS, EDANS, BODIPY FL, LC Red 640, Cy 5, Cy 5.5, LC Red 705, орегонский зеленый (Oregon green), красители на основе Alexa-Fluor (Alexa Fluor 350, Alexa Fluor 430, Alexa Fluor 488, Alexa Fluor 546, Alexa Fluor 568, Alexa Fluor 594, Alexa Fluor 633, Alexa Fluor 660, Alexa Fluor 680), каскадный синий (Cascade Blue), каскадный желтый (Cascade Yellow) и R-фикоэритрин (PE) (Molecular Probes, Eugene, OR), FITC, родамин и тexasский красный (Pierce, Rockford, IL), Cy5, Cy5.5, Cy7 (Amersham Life Science, Pittsburgh, PA). Подходящие оптические красители, включая флуорофоры, описаны Richard P. Haugland в Molecular Probes Handbook, явным образом включенной сюда посредством ссылки.

Подходящие белковые флуоресцентные метки также включают зеленый флуоресцентный белок (GFP), включающий GFP видов *Renilla*, *Ptilosarcus* или *Aequorea* (Chalfie et al., 1994, *Science* 263:802-805), EGFP (усиленный зеленый флуоресцентный белок) (Clontech Laboratories, Inc., номер доступа Genbank U55762), синий флуоресцентный белок (BFP, Quantum Biotechnologies, Inc. 1801 de Maisonneuve Blvd. West, 8th Floor, Montreal, Quebec, Canada H3H 1J9; Stauber, 1998, *Biotechniques* 24:462-471; Heim et al., 1996, *Curr. Biol.* 6:178-182), усиленный желтый флуоресцентный белок (EYFP, Clontech Laboratories, Inc.), люциферазу (Ichiki et al., 1993, *J. Immunol.* 150:5408-5417), β -галактозидазу (Nolan et al., 1988, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 85:2603-2607) и *Renilla* (WO 92/15673, WO 95/07463, WO 98/14605, WO 98/26277, WO 99/49019, патенты США №№ 5292658, 5418155, 5683888, 5741668, 5777079, 5804387, 5874304, 5876995, 5925558), но не ограничиваются ими. Все процитированные выше ссылки явным образом включены сюда посредством ссылки.

Описанное здесь соединение, нацеленное на CD33, также может содержать дополнительные домены, которые, например, являются полезными при выделении молекулы или относятся к адаптированному фармакокинетическому профилю молекулы.

Домены, полезные для выделения конструкции антитела, могут быть выбраны из пептидных мотивов или вторично введенных группировок, которые могут захватываться в способе выделения, например, на колонке для выделения. Неограничивающие воплощения таких дополнительных доменов включают пептидные мотивы, известные как Мус-метка, НАТ-метка, НА-метка, ТАР-метка, GST-метка, хитинсвязывающий домен (CBD-метка), белок, связывающий мальтозу (MBD-метка), Flag-метка, Strep-метка и их варианты (например StrepII-метка) и His-метка. Предпочтительно, что все раскрытые здесь конструкции антитела, охарактеризованные идентифицированными CDR, содержат домен с His-меткой, который обычно известен как повтор следующих друг за другом остатков His в аминокислотной последовательности молекулы, предпочтительно шести остатков His.

Термин "эпигенетический фактор" в связи с настоящим изобретением определяет соединение, которое способно изменять экспрессию гена или клеточный фенотип популяции клеток при введении. Понятно, что такое изменение относится к одной или более чем одной функционально релевантной модификации генома без участия изменения последовательности нуклеиновой кислоты. Примерами таких модификаций являются метилирование ДНК и модификация гистонов, которые обе являются важными для регуляции экспрессии генов без изменения лежащей в основе последовательности ДНК. Конкретные примеры эпигенетических факторов, подходящих в подходе комбинированной терапии согласно изобретению, выбраны из группы, состоящей из ингибиторов гистондеацетилазы (HDAC), ингибиторов ДНК-метилтрансферазы (DNMT) I, гидроксимочевины, гранулоцитарного колониестимулирующего фактора (G-CSF), ингибиторов деметилазы гистонов и ATRA (полностью транс-ретиноевая кислота).

Гистондеацетилазы (HDAC) представляют собой класс ферментов, которые удаляют ацетильные группы от аминокислоты ϵ -N-ацетиллизина на гистоне. Деацетилованный гистон подходит для более плотного обертывания ДНК, что отрицательно влияет на экспрессию генов в области обернутой ДНК. Соответственно, ингибиторы HDAC ингибируют ферментативное деацетилирование гистона и обеспечивают экспрессию или усиление экспрессии тех генов, которые расположены в области ацетилированного гистона. Неограничивающие примеры ингибиторов HDAC в связи с данным изобретением включают панобиностат, вориностат, ромидепсин, N-ацетилдиналин, белиностат, гивиностат, энтиностат, моцетиностат, EVP-0334, SRT501, CUDC-101, квизиностат, абексиностат, LAQ824 и вальпроевую кислоту.

ДНК-метилтрансфераза (DNMT) I представляет собой фермент, который катализирует перенос метильной группы на ДНК. Степень метилирования ДНК также является решающей для экспрессии генов. Неограничивающие примеры ингибиторов DNMT I в связи с данным изобретением включают 5-азациитидин, децитабин, гидралазин, зебуларин, прокаинамид, (-)-эпигаллокатехин-3-галлат, MG98, RG108 и SGI-110.

Гистонметилтрансферазы (HMT) представляют собой гистон-модифицирующие ферменты, которые

катализируют перенос одной, двух или трех метильных групп на остатки лизина и аргинина гистоновых белков. Метилирование гистонов является биологически важным, так как оно представляет собой важнейшую эпигенетическую модификацию хроматина, которая определяет экспрессию генов, стабильность генома, созревание стволовых клеток, развитие линии клеток, генетический импринтинг, метилирование ДНК и митоз клетки. Неограничивающие примеры ингибиторов HMT в связи с данным изобретением включают ингибитор деметилазы LSD1 (KDM1A) и хетоцин.

АТРА (полностью транс-ретиноевая кислота) представляет собой витамин А в форме карбоновой кислоты, и она также известна как третиноин.

Гидроксимочевина также известна как гидроксикарбамид и используется в качестве антинеопластического лекарственного средства. Описано, что данное соединение уменьшает продукцию дезоксирибонуклеотидов посредством ингибирования фермента рибонуклеотидредуктазы.

Гранулоцитарный колониестимулирующий фактор (G-CSF или GCSF), также известный как колониестимулирующий фактор 3 (CSF 3), представляет собой гликопротеин, стимулирующий костный мозг к продуцированию гранулоцитов и стволовых клеток и к их высвобождению в кровотоки. Функционально он представляет собой цитокин и гормон, тип колониестимулирующего фактора, и продуцируется целым рядом разных тканей. Фармацевтические аналоги встречающегося в природе G-CSF называются филграстим и ленограстим.

Термин "нуклеиновая кислота" хорошо известен специалисту и охватывает ДНК (такую как кДНК) и РНК (такую как мРНК). Нуклеиновая кислота может быть двухцепочечной и одноцепочечной, линейной и кольцевой. Указанная молекула нуклеиновой кислоты предпочтительно содержится в векторе, который предпочтительно содержится в клетке-хозяине. Указанная клетка-хозяин, например, после трансформации или трансфекции описанной здесь последовательностью нуклеиновой кислоты, способна экспрессировать соединение, нацеленное на CD33. Для этой цели молекулу нуклеиновой кислоты связывают функциональным образом с контрольными последовательностями.

Вектор представляет собой молекулу нуклеиновой кислоты, используемую в качестве носителя для переноса (чужеродного) генетического материала в клетку. Термин "вектор" охватывает плазмиды, вирусы, космиды и искусственные хромосомы, но не ограничивается ими. В общем, полученные в результате генной инженерии векторы содержат точку начала репликации, сайт множественного клонирования и селективируемый маркер. Сам вектор обычно представляет собой нуклеотидную последовательность, обычно последовательность ДНК, которая содержит вставку (трансген) и большую последовательность, которая служит в качестве "каркаса" вектора. Современные векторы могут содержать дополнительные элементы, помимо трансгенной вставки и каркаса: промотор, генетический маркер, ген устойчивости к антибиотику, ген-репортер, последовательность нацеливания, метку для очистки белка. Векторы, именуемые экспрессионными векторами (экспрессионными конструкциями), конкретно предназначены для экспрессии трансгена в клетке-мишени и обычно имеют контрольные последовательности, такие как последовательность промотора, которая управляет экспрессией трансгена. Вставку вектора в клетку-мишень обычно называют "трансформацией" для бактерий, "трансфекцией" для эукариотических клеток, однако, вставка вирусного вектора также называется "трансдукцией".

Подразумевается, что термин "клетка-хозяин" в том виде, как он здесь используется, относится к клетке, в которую нуклеиновая кислота, кодирующая описанное здесь соединение, нацеленное на CD33, вводят посредством трансформации, трансфекции и т.п. Следует понимать, что такие термины относятся не только к клетке конкретного субъекта, но также к потомству или потенциальному потомству такой клетки. Поскольку определенные модификации могут происходить в последующих поколениях либо из-за мутации, либо влияния окружающей среды, такое потомство, на самом деле, может не быть идентичным клетке-хозяину, но все еще включенным в пределы объема данного термина, в том виде, как он здесь используется.

Термин "экспрессия" в том виде, как он здесь используется, включает любую стадию, участвующую в получении описанного здесь соединения, нацеленного на CD33, включая транскрипцию, посттранскрипционную модификацию, трансляцию, посттрансляционную модификацию и секрецию, но не ограничиваясь ими.

Термин "контрольные последовательности" относится к последовательностям ДНК, необходимым для экспрессии связанной функциональным образом кодирующей последовательности в конкретном организме-хозяине. Контрольные последовательности, которые подходят для прокариот, например, включают промотор, возможно, последовательность оператора и сайт связывания рибосомы. Известно, что эукариотические клетки используют промоторы, сигналы полиаденилирования и энхансеры.

Нуклеиновая кислота "связана функциональным образом", когда она помещена в функциональную связь с другой последовательностью нуклеиновой кислоты. Например, ДНК предпоследовательности или секреторной лидерной последовательности связана функциональным образом с ДНК полипептида, если она экспрессируется в виде предбелка, который участвует в секреции полипептида; промотор или энхансер связан функциональным образом с кодирующей последовательностью, если он влияет на транскрипцию последовательности; или сайт связывания рибосомы связан функциональным образом с кодирующей последовательностью, если он расположен так, чтобы облегчать трансляцию. В общем, фраза

"связан функциональным образом" означает то, что связанные последовательности ДНК являются смежными и, в случае секреторной лидерной последовательности, смежными и в фазе считывания. Однако энхансеры не должны быть смежными. Связывание осуществляется посредством лигирования в удобных рестрикционных сайтах. Если такие сайты не существуют, согласно традиционной практике используются синтетические олигонуклеотидные адаптеры или линкеры.

Подразумевается, что термины "клетка-хозяин", "клетка-мишень" или "клетка-реципиент" включают любую индивидуальную клетку или культуру клеток, которая может быть или была/были реципиентами для векторов или включения экзогенных молекул нуклеиновой кислоты, полинуклеотидов и/или белков. Также подразумевается, что он включает потомство одной клетки, и данное потомство не обязательно может быть полностью идентичным (по морфологии или по набору геномной или общей ДНК) с исходной родительской клеткой из-за природной, случайной или преднамеренной мутации. Данные клетки могут быть прокариотическими или эукариотическими и включают бактерии, дрожжевые клетки, клетки животных и клетки млекопитающих, например мышинные, крысиные, клетки макака или человеческие, но не ограничиваются ими.

Подходящие эукариотические клетки-хозяева включают дрожжи, клетки грибов, насекомых и клетки млекопитающих.

Описанное здесь соединение, нацеленное на CD33, может быть получено в бактериях. После экспрессии соединения, нацеленное на CD33, предпочтительно конструкцию антитела, выделяют из пасты клеток *E. coli* в растворимой фракции, и его можно очищать посредством, например, аффинной хроматографии и/или гель-фильтрации. Конечную очистку можно проводить аналогично способу очистки антитела, экспрессируемого, например, в клетках CHO (яичники китайского хомяка).

Помимо прокариот, эукариотические микробы, такие как нитчатые грибы или дрожжи, являются подходящими хозяевами для клонирования или экспрессии для описанного здесь соединения, нацеленного на CD33. *Saccharomyces cerevisiae* или обычные пекарские дрожжи являются чаще всего используемыми среди низших эукариотических микроорганизмов-хозяев. Однако общедоступными и полезными здесь являются целый ряд других родов, видов и штаммов, такие как *Schizosaccharomyces pombe*, хозяева рода *Kluveromyces*, такие как, например, *K. lactis*, *K. fragilis* (ATCC 12424), *K. bulgaricus* (ATCC 16045), *K. wickerhamii* (ATCC 24178), *K. waltii* (ATCC 56500), *K. drosophilorum* (ATCC 36906), *K. thermotolerans* и *K. marxianus*; *Yarrowia* (EP 402 226); *Pichia pastoris* (EP 183 070); *Candida*; *Trichoderma reesia* (EP 244 234); *Neurospora crassa*; *Schwanniomycetes*, такие как *Schwanniomycetes occidentalis*; и нитчатые грибы, такие как, например, хозяева родов *Neurospora*, *Penicillium*, *Tolypocladium* и *Aspergillus*, как, например, *A. nidulans* и *A. niger*.

Здесь описаны подходящие клетки-хозяева для экспрессии гликозилированных соединений, нацеленных на CD33, предпочтительно конструкции антител, происходящие от антител, происходят из многоклеточных организмов. Примеры клеток беспозвоночных включают клетки растений и насекомых. Были идентифицированы многочисленные бакуловирусные штаммы и варианты и соответствующие пермиссивные клетки-хозяева насекомых из таких хозяев, как *Spodoptera frugiperda* (гусеница), *Aedes aegypti* (комар), *Aedes albopictus* (комар), *Drosophila melanogaster* (плодовая мушка) и *Bombyx mori*. Общедоступными являются множество вирусных штаммов для трансфекции, например, вариант L-1 NPV *Autographa californica* и NPV *Bombyx* топ штамма Bm-5, и такие вирусы могут здесь использоваться в качестве вируса по изобретению, особенно для трансфекции клеток *Spodoptera frugiperda*.

В качестве хозяев также могут использоваться культуры растительных клеток хлопка, кукурузы, картофеля, сои, петунии, томата, арабидопсиса и табака. Специалистам в данной области известны клонирующие и экспрессионные векторы, полезные в продукции белков в культуре растительных клеток. См., например, Hiatt et al., *Nature* (1989) 342: 76-78, Owen et al. (1992) *Bio/Technology* 10: 790-794, Artsaenko et al. (1995) *The Plant J* 8: 745-750 и Fecker et al. (1996) *Plant Mol Biol* 32: 979-986.

Однако наибольший интерес был к клеткам позвоночных, и размножение клеток позвоночных в культуре (культура тканей) стало рутинной процедурой. Примерами полезных линий клеток-хозяев млекопитающих являются линия клеток почки обезьяны CV1, трансформированных SV40 (COS-7, ATCC (Американская коллекция типовых клеточных культур) CRL 1651); линия клеток человеческой эмбриональной почки (293 или клетки 293, субклонированные для роста в суспензионной культуре, Graham et al., *J. Gen Virol.* 36 : 59 (1977)); клетки почки новорожденного хомяка (BHK, ATCC CCL 10); клетки яичника китайского хомяка/-DHFR (негативные по дегидрофолатредуктазе) (CHO, Urlaub et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 77: 4216 (1980)); мышинные клетки сертоли (TM4, Mather, *Biol. Reprod.* 23: 243-251 (1980)); клетки почки обезьяны (CV1 ATCC CCL 70); клетки почки африканской зеленой мартышки (VERO-76, ATCC CRL1587); клетки человеческой карциномы шейки матки (HELA, ATCC CCL 2); клетки почки собаки (MDCK, ATCC CCL 34); клетки печени серой крысы (BRL 3A, ATCC CRL 1442); клетки легкого человека (W138, ATCC CCL 75); клетки печени человека (Hep G2, 1413 8065); клетки опухоли молочной железы мыши (MMT 060562, ATCC CCL5 1); клетки TRI (Mather et al., *Annals N. Y Acad. Sci.* 383: 44-68 (1982)); клетки MRC 5; клетки FS4 и линия человеческой гепатомы (Hep G2).

При использовании методик генной инженерии описанное здесь соединение, нацеленное на CD33, может быть продуцировано внутриклеточно, в периплазматическом пространстве или может непосред-

ственно секретироваться в среду. При внутриклеточной продукции конструкции антитела в качестве первой стадии обломки в виде частиц, либо клетки-хозяева, либо лизированные фрагменты удаляют, например, центрифугированием или ультрафильтрацией. Carter et al., Bio/Technology 10: 163-167 (1992) описывают методику выделения антител, которые секретированы в периплазматическое пространство *E. coli*. Вкратце, пасту клеток оттаивают в присутствии ацетата натрия (pH 3,5), EDTA (этилендиаминтетрауксусная кислота) и фенолметилсульфонилфторида (PMSF) в течение примерно 30 мин. Обломки клеток можно удалять центрифугированием. При секреции антитела в среду супернатанты из таких экспрессионных систем обычно сначала концентрируют с использованием имеющегося в продаже фильтра для концентрирования белка, например, блока для ультрафильтрации от Amicon или Millipore Pellicon. На любой из предыдущих стадий для ингибирования протеолиза может быть включен ингибитор протеазы, такой как PMSF, и для предупреждения роста случайных загрязнений могут быть включены антибиотики.

Описанное здесь соединение, нацеленное на CD33, полученное из клеток-хозяев, можно очищать с использованием, например, хроматографии на гидроксипатите, гель-электрофореза, диализа и аффинной хроматографии, причем аффинная хроматография является предпочтительной методикой очистки.

Матрицей, к которой присоединен аффинный лиганд, чаще всего является агароза, но доступны и другие матрицы. Механически стабильные матрицы, такие как стекло с контролируемым размером пор или поли(стиролдивинил)бензол, обеспечивают большие скорости тока и более короткое время переработки, чем те, которые могут быть достигнуты с агарозой. Когда описанное здесь соединение, нацеленное на CD33, содержит домен CH3, полезной для очистки является Bakerbond ABXMresin (J.T. Baker, Phillipsburg, NJ). В зависимости от антитела, подлежащего выделению, также доступны другие методики очистки белка, такие как фракционирование на ионообменной колонке, осаждение этанолом, ВЭЖХ (высокоэффективная жидкостная хроматография) с обращенной фазой, хроматография на диоксиде кремния, хроматография на гепарине SEPHAROSE™, хроматография на анионо- или катионообменной смоле (как, например, на колонке с полиаспарагиновой кислотой), хроматофокусировка, SDS-PAGE (электрофорез в полиакриламидном геле с додецилсульфатом натрия) и осаждение сульфатом аммония.

Термин "культивирование" относится к *in vitro* поддержанию, дифференциации, росту, пролиферации и/или размножению клеток при подходящих условиях в среде.

Термин "фармацевтическая композиция" в том виде, как он здесь используется, относится к композиции для введения пациенту, предпочтительно пациенту-человеку. Конкретная предпочтительная фармацевтическая композиция по данному изобретению содержит соединение, нацеленное на CD33, и по меньшей мере один эпигенетический фактор либо в одной единой композиции, либо в отдельных композициях. Предпочтительно фармацевтическая композиция содержит подходящие композиции носителей, стабилизаторов и/или эксципиентов. В предпочтительном воплощении фармацевтическая композиция содержит композицию для парентерального, чрескожного, внутрисосудового, внутриартериального, подбололочного и/или интраназального введения или введения посредством прямой инъекции в ткань. В частности, рассматривается то, что указанную композицию вводят пациенту посредством инфузии или инъекции. Введение подходящих композиций может осуществляться разными способами, например, внутривенным, внутривенным, подкожным, внутримышечным, местным или внутрикожным введением. В частности, согласно настоящему изобретению предложено непрерывное введение подходящей композиции. В качестве неограничивающего примера непрерывное, т.е. длительное, введение может осуществляться маленькой насосной системой, носимой пациентом, для дозирования притока терапевтического агента в организм пациента. Фармацевтическую композицию, содержащую соединение, нацеленное на CD33, или соединение, нацеленное на CD33, и по меньшей мере один эпигенетический фактор, можно вводить с использованием указанных насосных систем. Такие насосные системы обычно известны в данной области и обычно основываются на периодической замене картриджа, содержащего терапевтический агент, подлежащий инфузии. При замене картриджа в такой насосной системе может следовать временное прерывание иным образом непрерывного потока терапевтического агента в организм пациента. В таком случае фаза введения до замены картриджа и фаза введения после замены картриджа все еще рассматривались бы в пределах значения фармацевтических средств и способов по изобретению как составляющие совместно одно "непрерывное введение" такого терапевтического агента.

Длительное или непрерывное введение описанного здесь соединения, нацеленного на CD33, или соединения, нацеленного на CD33, и по меньшей мере одного описанного здесь эпигенетического фактора может быть внутривенным или подкожным посредством устройства для доставки жидкости или маленькой насосной системы, включающей механизм подачи жидкости для выталкивания жидкости из резервуара и запускающий механизм для запуска механизма подачи. Насосные системы для подкожного введения могут включать иглу или катетер для проникновения через кожу пациента и доставки подходящей композиции в организм пациента. Указанные насосные системы могут быть непосредственно зафиксированы или прикреплены к коже пациента, независимо от вены, артерии или кровеносного сосуда, обеспечивая посредством этого непосредственный контакт между насосной системой и кожей пациента. Насосную систему можно прикреплять к коже пациента на 24 ч и вплоть до нескольких суток. Насосная система может быть маленького размера с резервуаром для маленьких объемов. В качестве неограничивающего примера объем резервуара для подходящей фармацевтической композиции, подлежащей введе-

нию, может составлять от 0,1 до 50 мл.

Длительное введение может быть чрескожным посредством пластыря, который носят на коже и заменяют через определенные интервалы времени. Специалисту в данной области известны системы пластырей для доставки лекарственного средства, подходящие для этой цели. Примечательно то, что чрескожное введение особенно хорошо поддается непрерывному введению, так как замена первого использованного пластыря может преимущественно осуществляться одновременно с размещением нового второго пластыря, например, на поверхности кожи непосредственно рядом с первым использованным пластырем и непосредственно до удаления первого использованного пластыря. Проблемы прерывания тока или поломки элемента питания не возникают.

Композиции по изобретению могут дополнительно содержать фармацевтически приемлемый носитель. Примеры подходящих фармацевтических носителей хорошо известны в данной области и включают растворы, например растворы фосфатно-солевого буфера, воду, эмульсии, такие как эмульсии типа "масло в воде", разные типы увлажнителей, стерильных растворов, липосом и т.д. Композиции, содержащие такие носители, можно готовить хорошо известными традиционными способами. Композиции могут содержать углеводы, буферные растворы, аминокислоты и/или поверхностно-активные вещества. Углеводы могут представлять собой невосстанавливающие сахара, предпочтительно трегалозу, сахарозу, октасульфат, сорбит или ксилит. В общем, фраза "фармацевтически приемлемый носитель" в том виде, как она здесь используется, означает все и любые растворители, диспергирующие среды, покрытия, антибактериальные и противогрибковые агенты, изотоничные и задерживающие поглощение агенты, совместимые с фармацевтическим введением. Применение таких сред и агентов для фармацевтически активных веществ хорошо известно в данной области. Приемлемые носители, эксципиенты или стабилизаторы являются нетоксичными для реципиентов в используемых дозировках и концентрациях и включают дополнительные буферизующие агенты; консерванты; соразтворители; антиоксиданты, включающие аскорбиновую кислоту и метионин; хелаторы, такие как EDTA; комплексы металлов (например, комплексы Zn-белок); биodeградируемые полимеры, такие как полиэфиры; солеобразующие противоионы, такие как натрий, многоатомные сахароспирты; аминокислоты, такие как аланин, глицин, аспарагин, 2-фенилаланин и треонин; сахара или сахароспирты, такие как трегалоза, сахароза, октасульфат, сорбит или ксилит, стахиоза, манноза, сорбоза, ксилитоза, рибоза, миоинизитоза, галактоза, лактит, рибит, миоинизит, галактит, глицерин, циклитолы (например инозит), полиэтиленгликоль; серосодержащие восстанавливающие агенты, такие как глутатион, липоевая кислота, тиогликолат натрия, тиоглицерин, α -монотиоглицерин и тиосульфат натрия; низкомолекулярные белки, такие как человеческий сывороточный альбумин, бычий сывороточный альбумин, желатин или другие иммуноглобулины; и гидрофильные полимеры, такие как поливинилпирролидон. Такие композиции можно использовать для непрерывных введений, которые могут быть внутривенными или подкожными с и/или без насосных систем. Аминокислоты могут быть заряженными аминокислотами, предпочтительно лизином, лизина ацетатом, аргинином, глутаматом и/или гистидином. Поверхностно-активные вещества могут представлять собой детергенты предпочтительно с молекулярной массой больше 1,2 кДа, и/или полиэфир предпочтительно с молекулярной массой больше 3 кДа. Неограничивающими примерами предпочтительных детергентов являются Tween 20, Tween 40, Tween 60, Tween 80 или Tween 85. Неограничивающими примерами предпочтительных полиэфиров являются PEG 3000, PEG 3350, PEG 4000 или PEG 5000. Буферные системы, используемые в настоящем изобретении, могут иметь предпочтительный pH 5-9 и могут содержать цитрат, сукцинат, фосфат, гистидин и ацетат.

Композиции по настоящему изобретению, содержащие соединение, нацеленное на CD33, и по меньшей мере один эпигенетический фактор в одной или в отдельных композициях, можно вводить субъекту в подходящей дозе, которую можно определять, например, исследованиями с увеличением дозы путем введения возрастающих доз описанного здесь полипептида, демонстрирующего описанную здесь межвидовую специфичность, приматам, не являющимися шимпанзе, например макакам. Как изложено выше, описанную здесь композицию, нацеленную на CD33, демонстрирующую описанную здесь межвидовую специфичность, можно преимущественно использовать в идентичной форме в доклиническом тестировании у приматов, не являющихся шимпанзе, и в качестве лекарственного средства у людей. Композицию или данные композиции также можно вводить в комбинации с дополнительными другими белковыми и небелковыми лекарственными средствами. Данные лекарственные средства можно вводить одновременно с описанной здесь композицией, содержащей полипептид, как здесь определено, или отдельно до или после введения указанного полипептида с регулярно определенными во времени интервалами и дозами. Схема дозировки будет определяться лечащим врачом и клиническими факторами. Как хорошо известно в области медицины, дозировки для любого одного пациента зависят от многих факторов, включающих размер пациента, площадь поверхности тела, возраст, конкретное соединение, подлежащее введению, пол, время и путь введения, общее состояние здоровья и другие лекарственные средства, которые вводятся одновременно.

Препараты для парентерального введения включают стерильные водные и неводные растворы, суспензии и эмульсии. Примерами неводных растворителей являются пропиленгликоль, полиэтиленгликоль, растительные масла, такие как оливковое масло, и инъекционные органические сложные эфиры,

такие как этилолеат. Водные носители включают воду, водно-спиртовые растворы, эмульсии или суспензии, включающие физиологический раствор и буферизованные среды. Парентеральные носители включают раствор хлорида натрия, декстрозу Рингера, декстрозу и хлорид натрия, лактат Рингера или нелетучие масла. Внутривенные носители включают жидкие и питательные наполнители, электролитные наполнители (такие как наполнители на основе декстрозы Рингера) и т.п. Также могут присутствовать консерванты и другие добавки, такие как, например, противомикробные средства, антиоксиданты, хелаторы, инертные газы и т.п. Кроме того, композиция по настоящему изобретению может содержать белковые носители, как, например, сывороточный альбумин или иммуноглобулин, предпочтительно человеческого происхождения. Предусмотрено, что композиция по изобретению может содержать, помимо описанного здесь полипептида, как он определен здесь, дополнительные биологически активные агенты, в зависимости от намеченного применения композиции. Такие агенты могут представлять собой лекарственные средства, действующие на желудочно-кишечную систему, лекарственные средства, действующие в качестве цитостатиков, лекарственные средства, предупреждающие гиперурикемию, лекарственные средства, ингибирующие иммунные реакции (например, кортикостероиды), лекарственные средства, модулирующие воспалительный ответ, лекарственные средства, действующие на кровеносную систему, и/или агенты, такие как цитокины, известные в данной области. Также предусмотрено, что композицию по настоящему изобретению, содержащую соединение, нацеленное на CD33, и по меньшей мере один эпигенетический фактор в одной или отдельных композициях, применяют в дополнительной сопутствующей терапии, т.е. в комбинации с другим противораковым лекарственным средством.

Биологическую активность определенной здесь фармацевтической композиции можно определять, например, анализами цитотоксичности, как описано в следующих примерах, в WO 99/54440 или Schlereth et al. (Cancer Immunol. Immunother. 20 (2005), 1-12). Термин "эффективность" или "эффективность *in vivo*" в том виде, как он здесь используется, относится к ответу на терапию фармацевтической композицией по изобретению с использованием, например, стандартизированных критериев ответа NCI (Национальный институт рака). Термин "успешность" или "эффективность *in vivo*" терапии с использованием фармацевтической композиции по изобретению относится к эффективности композиции в отношении ее намеченного применения, т.е. способности композиции вызывать ее желательный эффект, т.е. уменьшение количества патологических клеток, например раковых клеток. Эффективность *in vivo* можно отслеживать установленными стандартными способами для соответствующих нозологических форм, включая число лейкоцитов, лейкоцитарную формулу, флуоресцентную сортировку клеток, аспирацию костного мозга, но не ограничиваясь ими. Кроме того, можно использовать специфичные для разных заболеваний параметры клинической химии и другие установившиеся стандартные способы. Кроме того, можно использовать компьютерную томографию, рентгенографию, томографию ядерного магнитного резонанса (например, для оценки ответа на основе критериев Национального института рака [Cheson B.D., Horning S.J., Coiffier B., Shipp M.A., Fisher R.I., Connors J.M., Lister T.A., Vose J., Grillo-Lopez A., Hagenbeek A., Cabanillas F., Klippensten D., Hiddemann W., Castellino R., Harris N.L., Armitage J.O., Carter W., Hoppe R., Canellos G.P. Report of an international workshop to standardize response criteria for non-Hodgkin's lymphomas. NCI Sponsored International Working Group. J. Clin. Oncol. 1999 Apr; 17(4):1244]), сканирование позитронно-эмиссионной томографией, количество лейкоцитов, лейкоцитарную формулу, флуоресцентную сортировку клеток, аспирацию костного мозга, биопсии/гистологии лимфатических узлов и разные специфичные в отношении лимфомы параметры клинической химии (например, уровень лактатдегидрогеназы) и другие установившиеся стандартные способы.

Другой важной задачей в разработке лекарственных средств, таких как фармацевтическая композиция по изобретению, является прогнозируемая модуляция фармакокинетических свойств. В этой связи может быть установлен фармакокинетический профиль лекарственного средства-кандидата, т.е. профиль фармакокинетических параметров, которые влияют на способность конкретного лекарственного средства лечить данное состояние. Фармакокинетические параметры лекарственного средства, влияющие на способность лекарственного средства в отношении лечения определенной нозологической формы, включают период полувыведения, объем распределения, печеночный пресистемный метаболизм и степень связывания с сывороткой крови, но не ограничиваются ими. На эффективность данного лекарственного агента может влиять каждый из вышеупомянутых параметров.

"Период полувыведения" означает время, за которое 50% введенного лекарственного средства выводится посредством биологических процессов, например метаболизма, экскреции и т.д.

Под "печеночным пресистемным метаболизмом" подразумевается подверженность лекарственного средства метаболизму при первом контакте с печенью, например во время его первого прохождения через печень.

Термин "объем распределения" означает степень удерживания лекарственного средства во всех разных компартментах организма, как, например, внутриклеточное и внеклеточное пространства, ткани и органы и т.д., и распределение лекарственного средства в данных компартментах.

"Степень связывания с сывороткой крови" означает предрасположенность лекарственного средства к взаимодействию и связыванию с белками сыворотки крови, такими как альбумин, что приводит к уменьшению или потере биологической активности лекарственного средства.

Фармакокинетические параметры также включают биодоступность, лаг-период (T_{lag}), T_{max} , скорости поглощения, кроме того, начало действия и/или C_{max} для данного количества введенного лекарственного средства. Термин "биодоступность" означает количество лекарственного средства в компартменте крови. Термин "лаг-период" означает задержку во времени между введением лекарственного средства и его выявлением и возможностью измерения в крови или плазме.

" T_{max} " представляет собой время, после которого достигается максимальная концентрация лекарственного средства в крови, и " C_{max} " представляет собой максимальную концентрацию в крови, полученную с данным лекарственным средством. На время до достижения концентрации лекарственного средства в крови или ткани, которая требуется для его биологического эффекта, влияют все параметры. Фармакокинетические параметры содержания соединения, нацеленного на CD33, такого как биспецифическое одноцепочечное антитело, демонстрирующее межвидовую специфичность, которые могут быть определены в доклиническом тестировании животных у приматов, не являющихся шимпанзе, как описано выше, также изложены, например, в публикации Schlereth et al. (Cancer Immunol. Immunother. 20 (2005), 1-12).

Термин "токсичность" в том виде, как он здесь используется, относится к токсическим эффектам лекарственного средства, проявляемым в побочных эффектах или тяжелых побочных эффектах. Данные побочные эффекты могут относиться к недостатку переносимости лекарственного средства в общем и/или к недостатку местной переносимости после введения. Токсичность также может включать тератогенные или онкогенные эффекты, вызванные лекарственным средством.

Термин "безопасность", "безопасность *in vivo*" или "переносимость" в том виде, как он здесь используется, определяет введение лекарственного средства без индуцирования тяжелых побочных эффектов непосредственно после введения (местная переносимость) и во время более длительного периода применения лекарственного средства. "Безопасность", "безопасность *in vivo*" или "переносимость" можно оценивать, например, с регулярными интервалами во время лечения и периода последующего наблюдения. Измерения включают клиническую оценку, например, проявления в органах, и скрининг на отклонения лабораторных показателей от нормы. Может проводиться клиническая оценка, и могут анализироваться отклонения по отношению к нормальным показателям, записанным/закодированным согласно стандартам NCI-CTC и/или MedDRA. Проявления в органах могут включать такие критерии, как аллергия/иммунология, кровь/костный мозг, сердечная аритмия, свертывание и т.п., как изложено, например, в Общих терминологических критериях для побочных эффектов v3.0 (CTCAE). Лабораторные параметры, которые можно тестировать, включают, например, гематологию, клиническую химию, профиль свертывания, анализ мочи и проверку других жидкостей организма, таких как сыворотка, плазма, лимфатическая или спинно-мозговая жидкость, ликвор и т.п. Безопасность, таким образом, можно оценивать, например, физическим осмотром, методиками визуализации (т.е. ультразвуковой, рентгеновской, компьютерной томографией, магнитно-резонансной томографией (МРТ), другими измерениями с использованием технических устройств (т.е. электрокардиограмма), по основным показателям жизнедеятельности организма, измерением лабораторных параметров и записью побочных эффектов. Например, побочные эффекты у приматов, не являющихся шимпанзе, в применениях и способах согласно изобретению можно проверять способами гистопатологии и/или гистохимии.

Термин "эффективная доза" или "эффективная дозировка" определен как количество, достаточное для достижения или, по меньшей мере, частичного достижения желательного эффекта. Термин "терапевтически эффективная доза" определяется как количество, достаточное для излечения или, по меньшей мере, частичного купирования заболевания и его осложнений у пациента, уже страдающего от данного заболевания. Эффективные количества для данного применения будут зависеть от тяжести инфекции и общего состояния собственной иммунной системы субъекта. Термин "пациент" включает человека и других субъектов-млекопитающих, которые получают либо профилактическое, либо терапевтическое лечение.

Термин "эффективная и нетоксичная доза" в том виде, как он здесь используется, относится к переносимой дозе фармацевтической композиции (т.е. фармацевтической композиции, содержащей соединение, нацеленное на CD33, и по меньшей мере один эпигенетический фактор в одном или раздельном препаратах), которая является достаточно высокой для того, чтобы вызвать уменьшение количества патологических клеток, устранение опухоли, уменьшение размеров опухоли или стабилизацию заболевания без или, по существу, без больших токсических эффектов. Такие эффективные и нетоксичные дозы можно определять, например, путем исследований по увеличению дозы, описанным в данной области, и они должны быть ниже дозы, индуцирующей тяжелые нежелательные побочные эффекты (ограничивающая дозу токсичность, DLT).

Приведенные выше термины также относятся, например, к Preclinical safety evaluation of biotechnology-derived Pharmaceuticals S6; ICH Harmonised Tripartite Guideline; ICH Steering Committee meeting on July 16, 1997.

Подходящая дозировка или терапевтически эффективное количество, t , фармацевтической композиции, содержащей соединение, нацеленное на CD33, и по меньшей мере один эпигенетический фактор в одной или отдельных композициях будет зависеть от состояния, которое лечат, тяжести состояния, пре-

дыдущей терапии, клинической истории пациента и ответа на терапевтический агент. Правильную дозу можно корректировать согласно решению лечащего врача так, что ее можно вводить пациенту один раз или на протяжении серии введений. Фармацевтическую композицию можно вводить в виде единственного терапевтического средства или в комбинации с дополнительными терапиями, такими как противораковые терапии, по необходимости.

Фармацевтические композиции по данному изобретению являются особенно полезными для парентерального введения, т.е. подкожно, внутримышечно, внутривенно, внутрисуставного и/или в синовиальную жидкость. Парентеральное введение может представлять собой болюсную инъекцию или непрерывную инфузию.

Если фармацевтическая композиция была лиофилизирована, лиофилизированное вещество сначала растворяют в подходящей жидкости перед введением. Лиофилизированное вещество можно растворять, например, в бактериостатической воде для инъекции (BWFI), физиологическом растворе, фосфатно-солевым буферном растворе (PBS) или в той же самой композиции, в которой белок находился до лиофилизации.

В связи с настоящим изобретением неожиданно обнаружили, что конкретные группы эпигенетических факторов относятся к увеличению эффективности терапевтического подхода, используя привлечение Т-клеток к CD33-позитивным клеткам-мишеням. 5-Азациитидин (Vidaza™) и 5-аза-2'-дезоксцитидин (децитабин, Dasogen™) представляют собой нуклеозидные аналоги, которые принадлежат к классу эпигенетических терапевтических средств и известны за способность индуцировать гибель опухолевых клеток через нарушение синтеза белка и ингибирование метилирования ДНК. Подходы совместной терапии с использованием специфического в отношении CD33 антитела линтузумаба и 5-азациитидина привели к улучшенной опосредованной линтузумабом ADCC против клеток-мишеней AML. Однако в таком исследовании инкубация клеток AML или макрофагов не влияла на экспрессию CD33 на данных клетках (Sutherland et al. MAbs. 2010 Jul-Aug; 2(4): 440-448). Соответственно заключили, что поскольку для способа действия линтузумаба требуется функциональное взаимодействие между доменом Fc линтузумаба и рецептором Fcγ иммунных эффекторных клеток, предобработка эпигенетическими соединениями увеличивает специфичный фагоцитоз клеток-мишеней эффекторными клетками.

Таким образом, настоящие сведения являются особенно неожиданными в свете известных эффектов, так как способ действия, лежащий в основе лизиса клеток-мишеней Т-клетками, будучи занятыми описанными здесь соединениями, нацеленными на CD33, является полностью независимым от любого взаимодействия Fc-Fcγ рецептор. В отличие от предыдущих исследований наблюдали увеличение экспрессии на поверхности CD33 посредством обработки клеток-мишеней описанными здесь эпигенетическими факторами. Также, как очевидно из способа действия, лежащего в основе лизиса клеток-мишеней Т-клетками, наблюдаемый синергетический эффект не зависит от какого-либо эффекта трансдукции сигнала, который возможно был бы запущен связыванием антитела с поверхностной молекулой CD33 (например, путь сигнализации, включающий SHP-1, Syk или оба).

Кроме того, так как скорость и степень лизиса клеток-предшественников миелоидного лейкоза в данный момент времени были пропорциональными экспрессии CD33, эти сведения подтверждают, что комбинация эпигенетической терапии и агента, направленного на CD33, который занимает Т-клетки, будет синергетически более эффективной, чем каждая из терапий, введенная по отдельности. Соответственно, описанное введение одного или более чем одного соединения, нацеленного на CD33, в комбинации с описанными здесь эпигенетическими факторами может обеспечивать то, что меньшие дозы биспецифического агента, занимающего Т-клетки, будут эффективными в данный момент времени.

Как описано выше, примеры эпигенетических факторов, подходящих для комбинированной терапии согласно изобретению, выбраны из группы, состоящей из следующих: ингибиторы гистондеацетилазы (HDAC), ингибиторы ДНК-метилтрансферазы (DNMT) I, гидроксимочевина, гранулоцитарный колониестимулирующий фактор (G-CSF), ингибиторы гистондеметидазы и ATRA (полностью транс-ретиноевая кислота). Перенаправленный лизис клеток-мишеней через рекрутинг Т-клеток посредством мультиспецифической, по меньшей мере, биспецифической конструкции включает образование цитолитического синапса и доставку перфорина и гранзимов. Занятые Т-клетки способны к серийному лизису клеток-мишеней и не подвержены влиянию механизмов ускользания от иммунного ответа, мешающих процессингу и презентации пептидного антигена или клональной дифференциации Т-клеток; см., например, WO 2007/042261.

Цитотоксическую активность, опосредованную описанными здесь биспецифическими в отношении CD33/CD3 соединениями, такими как конструкции биспецифического антитела, предпочтительно измеряют в анализе цитотоксичности на основе клеток. Она представлена значением EC₅₀, которое соответствует полумаксимальной эффективной концентрации (концентрация соединения, которая индуцирует цитотоксический ответ, находящийся посередине между фоном и максимальным ответом). Предпочтительно значение EC₅₀ конструкций биспецифического антитела против CD33/CD3 составит 20000 пг/мл или менее, более предпочтительно 5000 пг/мл или менее, даже более предпочтительно 1000 пг/мл или менее, даже более предпочтительно 500 пг/мл или менее, даже более предпочтительно 350 пг/мл или менее, да-

же более предпочтительно 320 пг/мл или менее, даже более предпочтительно 250 пг/мл или менее, даже более предпочтительно 100 пг/мл или менее, даже более предпочтительно 50 пг/мл или менее, даже более предпочтительно 10 пг/мл или менее и наиболее предпочтительно 5 пг/мл или менее.

Любое из приведенных выше данных значений EC_{50} можно объединять с любым одним из указанных сценариев анализа цитотоксичности на основе клеток. Например, при использовании в качестве эффекторных клеток (человеческих) CD8-позитивных Т-клеток или линии Т-клеток макака, значение EC_{50} конструкции биспецифического антитела против CD33/CD3 предпочтительно составляет 1000 пг/мл или менее, более предпочтительно 500 пг/мл или менее, даже более предпочтительно 250 пг/мл или менее, даже более предпочтительно 100 пг/мл или менее, даже более предпочтительно 50 пг/мл или менее, даже более предпочтительно 10 пг/мл или менее и наиболее предпочтительно 5 пг/мл или менее. Если в данном анализе клетки-мишени представляют собой клетки, трансфицированные CD33 (человека или макака), такие как клетки СНО, значение EC_{50} конструкции биспецифического антитела против CD33/CD3 предпочтительно составляет 150 пг/мл или менее, более предпочтительно 100 пг/мл или менее, даже более предпочтительно 50 пг/мл или менее, даже более предпочтительно 30 пг/мл или менее, даже более предпочтительно 10 пг/мл или менее и наиболее предпочтительно 5 пг/мл или менее.

Если клетки-мишени представляют собой линию CD33-позитивных клеток, осуществляющих его экспрессию в природе, тогда значение EC_{50} предпочтительно составляет 350 пг/мл или менее, более предпочтительно 320 пг/мл или менее, даже более предпочтительно 250 пг/мл или менее, даже более предпочтительно 200 пг/мл или менее, даже более предпочтительно 150 пг/мл или менее, даже более предпочтительно 100 пг/мл или менее и наиболее предпочтительно 50 пг/мл или менее.

При использовании в качестве эффекторных клеток (человеческих) РВМС значение EC_{50} конструкции биспецифического антитела против CD33/CD3 предпочтительно составляет 1000 пг/мл или менее, более предпочтительно 750 пг/мл или менее, более предпочтительно 500 пг/мл или менее, даже более предпочтительно 350 пг/мл или менее, даже более предпочтительно 320 пг/мл или менее, даже более предпочтительно 250 пг/мл или менее, даже более предпочтительно 100 пг/мл или менее и наиболее предпочтительно 50 пг/мл или менее.

Различие цитотоксической активности между мономерной и димерной изоформой индивидуальных конструкций биспецифического антитела против CD33/CD3 называют "разницей эффективности". Эту разницу эффективности можно, например, рассчитывать как отношение между значениями EC_{50} мономерной и димерной формы молекулы. Разницы эффективности описанных здесь конструкций биспецифического антитела против CD33/CD3 предпочтительно составляют 5 или менее, более предпочтительно 4 или менее, даже более предпочтительно 3 или менее, даже более предпочтительно 2 или менее и наиболее предпочтительно 1 или менее.

Для описанного здесь соединения, нацеленного на CD33, особенно предпочтительно то, что второй связывающий домен, способный к связыванию с рецепторным комплексом CD3 Т-клетки, содержит область VL, содержащую CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, выбранные из следующих:

(а) CDR-L1, как показано в SEQ ID NO: 27 WO 2008/119567, CDR-L2, как показано в SEQ ID NO: 28 WO 2008/119567, и CDR-L3, как показано в SEQ ID NO: 29 WO 2008/119567;

(б) CDR-L1, как показано в SEQ ID NO: 117 WO 2008/119567, CDR-L2, как показано в SEQ ID NO: 118 WO 2008/119567, и CDR-L3, как показано в SEQ ID NO: 119 WO 2008/119567; и

(в) CDR-L1, как показано в SEQ ID NO: 153 WO 2008/119567, CDR-L2, как показано в SEQ ID NO: 154 WO 2008/119567, и CDR-L3, как показано в SEQ ID NO: 155 WO 2008/119567.

В альтернативном предпочтительном воплощении описанного здесь соединения, нацеленного на CD33, второй связывающий домен, способный к связыванию с рецепторным комплексом CD3 Т-клетки, содержит область VH, содержащую CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, выбранные из следующих:

(а) CDR-H1, как показано в SEQ ID NO: 12 WO 2008/119567, CDR-H2, как показано в SEQ ID NO: 13 WO 2008/119567, и CDR-H3, как показано в SEQ ID NO: 14 WO 2008/119567;

(б) CDR-H1, как показано в SEQ ID NO: 30 WO 2008/119567, CDR-H2, как показано в SEQ ID NO: 31 WO 2008/119567, и CDR-H3, как показано в SEQ ID NO: 32 WO 2008/119567;

(в) CDR-H1, как показано в SEQ ID NO: 48 WO 2008/119567, CDR-H2, как показано в SEQ ID NO: 49 WO 2008/119567, и CDR-H3, как показано в SEQ ID NO: 50 WO 2008/119567;

(г) CDR-H1, как показано в SEQ ID NO: 66 WO 2008/119567, CDR-H2, как показано в SEQ ID NO: 67 WO 2008/119567, и CDR-H3, как показано в SEQ ID NO: 68 WO 2008/119567;

(д) CDR-H1, как показано в SEQ ID NO: 84 WO 2008/119567, CDR-H2, как показано в SEQ ID NO: 85 WO 2008/119567, и CDR-H3, как показано в SEQ ID NO: 86 WO 2008/119567;

(е) CDR-H1, как показано в SEQ ID NO: 102 WO 2008/119567, CDR-H2, как показано в SEQ ID NO: 103 WO 2008/119567, и CDR-H3, как показано в SEQ ID NO: 104 WO 2008/119567;

(ж) CDR-H1, как показано в SEQ ID NO: 120 WO 2008/119567, CDR-H2, как показано в SEQ ID NO: 121 WO 2008/119567, и CDR-H3, как показано в SEQ ID NO: 122 WO 2008/119567;

(з) CDR-H1, как показано в SEQ ID NO: 138 WO 2008/119567, CDR-H2, как показано в SEQ ID NO: 139 WO 2008/119567, и CDR-H3, как показано в SEQ ID NO: 140 WO 2008/119567;

(и) CDR-H1, как показано в SEQ ID NO: 156 WO 2008/119567, CDR-H2, как показано в SEQ ID NO:

157 WO 2008/119567, и CDR-H3, как показано в SEQ ID NO: 158 WO 2008/119567; и

(к) CDR-H1, как показано в SEQ ID NO: 174 WO 2008/119567, CDR-H2, как показано в SEQ ID NO: 175 WO 2008/119567, и CDR-H3, как показано в SEQ ID NO: 176 WO 2008/119567.

Для описанного здесь соединения, нацеленного на CD33, кроме того, предпочтительно то, что второй связывающий домен, способный к связыванию с рецепторным комплексом CD3 Т-клетки, содержит область VL, выбранную из группы, состоящей из области VL, как показано в SEQ ID NO: 35, 39, 125, 129, 161 или 165 WO 2008/119567.

В качестве альтернативы предпочтительно то, что второй связывающий домен, способный к связыванию с рецепторным комплексом CD3 Т-клетки, содержит область VH, выбранную из группы, состоящей из области VH, как показано в SEQ ID NO: 15, 19, 33, 37, 51, 55, 69, 73, 87, 91, 105, 109, 123, 127, 141, 145, 159, 163, 177 или 181 WO 2008/119567.

Более предпочтительно описанное здесь соединение, нацеленное на CD33, отличается вторым связывающим доменом, способным к связыванию с рецепторным комплексом CD3 Т-клетки, содержащим область VL и область VH, выбранные из группы, состоящей из

(а) области VL, как показано в SEQ ID NO: 17 или 21 WO 2008/119567, и области VH, как показано в SEQ ID NO: 15 или 19 WO 2008/119567;

(б) области VL, как показано в SEQ ID NO: 35 или 39 WO 2008/119567, и области VH, как показано в SEQ ID NO: 33 или 37 WO 2008/119567;

(в) области VL, как показано в SEQ ID NO: 53 или 57 WO 2008/119567, и области VH, как показано в SEQ ID NO: 51 или 55 WO 2008/119567;

(г) области VL, как показано в SEQ ID NO: 71 или 75 WO 2008/119567, и области VH, как показано в SEQ ID NO: 69 или 73 WO 2008/119567;

(д) области VL, как показано в SEQ ID NO: 89 или 93 WO 2008/119567, и области VH, как показано в SEQ ID NO: 87 или 91 WO 2008/119567;

(е) области VL, как показано в SEQ ID NO: 107 или 111 WO 2008/119567, и области VH, как показано в SEQ ID NO: 105 или 109 WO 2008/119567;

(ж) области VL, как показано в SEQ ID NO: 125 или 129 WO 2008/119567, и области VH, как показано в SEQ ID NO: 123 или 127 WO 2008/119567;

(з) области VL, как показано в SEQ ID NO: 143 или 147 WO 2008/119567, и области VH, как показано в SEQ ID NO: 141 или 145 WO 2008/119567;

(и) области VL, как показано в SEQ ID NO: 161 или 165 WO 2008/119567, и области VH, как показано в SEQ ID NO: 159 или 163 WO 2008/119567; и

(к) области VL, как показано в SEQ ID NO: 179 или 183 WO 2008/119567, и области VH, как показано в SEQ ID NO: 177 или 181 WO 2008/119567.

Согласно предпочтительному воплощению описанного здесь соединения, нацеленного на CD33, в частности, второго связывающего домена, способного к связыванию с рецепторным комплексом CD3 Т-клетки, пары VH-областей и VL-областей находятся в формате одноцепочечного антитела (scFv). Области VH и VL организованы в порядке VH-VL или VL-VH. Предпочтительно то, что VH-область расположена N-терминально по отношению к линкерной последовательности. VL-область расположена C-терминально по отношению к линкерной последовательности.

Предпочтительное воплощение описанного здесь соединения, нацеленного на CD33, отличается вторым связывающим доменом, способным к связыванию с рецепторным комплексом CD3 Т-клетки, содержащим аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 23, 25, 41, 43, 59, 61, 77, 79, 95, 97, 113, 115, 131, 133, 149, 151, 167, 169, 185 или 187 WO 2008/119567.

Описанные здесь композиции являются полезными в качестве фармацевтических композиций в лечении, уменьшении интенсивности и/или предупреждении патологического медицинского состояния, как здесь описано, у пациента, нуждающегося в этом. Термин "лечение" относится как к терапевтическому лечению, так и к профилактическим или предупредительным мерам. Лечение включает нанесение или введение композиции в организм, выделенную ткань или клетку от пациента, который имеет заболевание/расстройство, симптом заболевания/расстройства или предрасположенность к заболеванию/расстройству, с целью излечить, исцелить, облегчить, ослабить, изменить, исправить, уменьшить интенсивность, улучшить состояние или воздействовать на заболевание, симптом заболевания или предрасположенность к заболеванию.

"Нуждающиеся в лечении" включают тех, у кого уже имеется расстройство, а также тех, у кого расстройство следует предупредить. Термин "заболевание" представляет собой любое состояние, на которое лечение описанной здесь белковой композицией будет оказывать благоприятное действие. Такие заболевания включают хронические и острые расстройства или заболевания, включая те патологические состояния, которые провоцируют возникновение рассматриваемого заболевания у млекопитающего. Неограничивающие примеры заболеваний/расстройств, подлежащих лечению в соответствии с изобретением, включают описанный здесь миелоидный лейкоз.

В некоторых воплощениях согласно изобретению предложена фармацевтическая композиция, содержащая терапевтически эффективное количество одной или целого ряда описанных здесь конструкций

антитела, наряду с фармацевтически эффективными разбавителями, носителем, солюбилизатором, эмульгатором, консервантом и/или адьювантом. Описанные здесь фармацевтические композиции включают жидкие, замороженные и лиофилизированные композиции, но не ограничиваются ими.

Предпочтительно вещества композиции являются нетоксичными для реципиентов при используемых дозировках и концентрациях.

В некоторых воплощениях фармацевтическая композиция может содержать вещества композиции для модификации, поддержания или сохранения, например, pH, осмотической концентрации, вязкости, прозрачности, цвета, изотоничности, аромата, стерильности, стабильности, скорости растворения или высвобождения, поглощения или проникновения композиции. В таких воплощениях подходящие вещества композиции включают аминокислоты (такие как глицин, глутамин, аспарагин, аргинин, пролин или лизин); противомикробные средства; антиоксиданты (такие как аскорбиновая кислота, сульфит натрия или гидросульфит натрия); буферы (такие как боратный, бикарбонатный, Tris-HCl, цитраты, фосфаты или другие органические кислоты); объемобразующие агенты (такие как маннит или глицин); хелаторы (такие как этилендиаминтетрауксусная кислота (EDTA)); комплексообразующие агенты (такие как кофеин, поливинилпирролидон, β -циклодекстрин или гидроксипропил- β -циклодекстрин); наполнители; моносакхариды; дисахариды и другие углеводы (такие как глюкоза, манноза или декстрины); белки (такие как сывороточный альбумин, желатин или иммуноглобулины); красители, корригенты и разбавители; эмульгаторы; гидрофильные полимеры (такие как поливинилпирролидон); низкомолекулярные полипептиды; солеобразующие противоионы (такие как натрий); консерванты (такие как бензалкония хлорид, бензойная кислота, салициловая кислота, тиомерсал, фенетиловый спирт, метилпарабен, пропилпарабен, хлоргексидин, сорбиновая кислота или пероксид водорода); растворители (такие как глицерин, пропиленгликоль или полиэтиленгликоль); сахароспирты (такие как маннит или сорбит); суспендирующие агенты; поверхностно-активные вещества или увлажнители (такие как плуроники, PEG, сложные эфиры сорбитана, полисорбаты, такие как полисорбат 20, полисорбат, тритон, трометамин, лецитин, холестерин, тилоксапал); агенты, увеличивающие стабильность (такие как сахароза или сорбит); агенты, увеличивающие тоничность (такие как галогениды щелочных металлов, предпочтительно натрия или калия хлорид, маннит, сорбит); носители для доставки; разбавители; эксципиенты и/или фармацевтические адьюванты, но не ограничиваются ими. См. REMINGTON'S PHARMACEUTICAL SCIENCES, 18th Edition, (A.R. Genrmo, ed.), 1990, Mack Publishing Company.

В некоторых воплощениях оптимальная фармацевтическая композиция будет определена специалистом в данной области, в зависимости, например, от намеченного пути введения, формата доставки и желательной дозировки. См., например, REMINGTON'S PHARMACEUTICAL SCIENCES выше. В некоторых воплощениях такие композиции могут влиять на физическое состояние, стабильность, скорость высвобождения *in vivo* и скорость клиренса *in vivo* описанных здесь антигенсвязывающих белков. В некоторых воплощениях первичный наполнитель или носитель в фармацевтической композиции может быть либо водным, либо неводным по природе. Например, подходящий наполнитель или носитель может представлять собой воду для инъекции, физиологический раствор или искусственную спинно-мозговую жидкость, возможно дополненные другими обычными веществами в композициях для парентерального введения. Нейтральный буферизованный физиологический раствор или физиологический раствор, смешанный с сывороточным альбумином, являются дополнительными типичными наполнителями. В конкретных воплощениях фармацевтические композиции содержат Tris-буфер с pH примерно 7,0-8,5 или ацетатный буфер с pH примерно 4,0-5,5 и могут дополнительно включать сорбит или его подходящий заменитель. В некоторых воплощениях изобретения описанное здесь человеческое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, или описанные здесь композиции конструкции антитела могут быть приготовлены для хранения путем смешивания выбранной композиции, имеющей желательную степень чистоты, с возможными агентами для приготовления композиции (REMINGTON'S PHARMACEUTICAL SCIENCES выше) в форме лиофилизированного осадка или водного раствора. Кроме того, в некоторых воплощениях описанное здесь человеческое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, или описанную здесь конструкцию антитела можно приготовить в виде лиофилизата с использованием подходящих эксципиентов, таких как сахароза.

Описанные здесь фармацевтические композиции могут быть выбраны для парентеральной доставки. В качестве альтернативы композиции могут быть выбраны для ингаляции или для доставки через пищеварительный тракт, как, например, перорально. Получение таких фармацевтически приемлемых композиций находится в пределах квалификации в данной области. Компоненты композиции предпочтительно присутствуют в концентрациях, которые являются приемлемыми по отношению к сайту введения. В некоторых воплощениях используют буферы для поддержания композиции при физиологическом pH или при слегка меньшем pH, типично в интервале pH от примерно 5 до примерно 8.

При рассмотрении парентерального введения терапевтические композиции для применения в данном изобретении могут быть предоставлены в форме апиrogenного, парентерально приемлемого водного раствора, содержащего описанное здесь желательное человеческое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, или описанную здесь конструкцию антитела в фармацевтически приемлемом носителе. Особенно подходящий носитель для парентеральной инъекции представляет собой стерильную дистил-

лированную воду, в которой приготовлена описанная здесь конструкция антитела в виде стерильного изотоничного раствора с подходящей консервацией. В некоторых воплощениях препарат может включать композицию желательной молекулы с агентом, таким как инъецируемые микросферы, биodeградируемые частицы, полимерные соединения (такие как полимолочная кислота или полигликолевая кислота), шарики или липосомы, которые могут обеспечивать контролируемое или замедленное высвобождение продукта, который можно доставлять посредством инъекции депо. В некоторых воплощениях также можно использовать гиалуроновую кислоту, имеющую эффект стимулирования пролонгированного нахождения в системе кровообращения. В некоторых воплощениях можно использовать имплантируемые устройства для доставки лекарственного средства для введения желательного антигенсвязывающего белка.

Для специалистов в данной области будут очевидными дополнительные фармацевтические композиции, включающие композиции, включающие описанную здесь конструкцию антитела в композициях с замедленной или контролируемой доставкой. Специалистам в данной области также известны методики приготовления целого ряда других средств замедленной или контролируемой доставки, таких как липосомные носители, биodeградируемые микрочастицы или пористые шарики или инъекции депо. См., например, международную заявку на патент № PCT/US 93/00829, которая включена посредством ссылки и описывает контролируемое высвобождение пористых полимерных микрочастиц для доставки фармацевтических композиций. Препараты с замедленным высвобождением могут включать полупроницаемые полимерные матрицы в виде формованных предметов, например пленок или микрокапсул. Матрицы с замедленным высвобождением могут включать полиэферы, гидрогели, полилактиды (как раскрыто в патенте США № 3773919 и публикации европейской заявки на патент № EP 058481, каждый из которых включен посредством ссылки), сополимеры L-глутаминовой кислоты и γ -этил-L-глутамата (Sidman et al., 1983, *Biopolymers* 2:547-556), поли(2-гидроксиэтил-метакрилат) (Langer et al., 1981, *J. Biomed. Mater. Res.* 15:167-277 и Langer, 1982, *Chem. Tech.* 12:98-105), этиленвинилацетат (Langer et al., 1981, выше) или поли-D(-)-3-гидроксиасляную кислоту (публикация европейской заявки на патент № EP 133988). Композиции с замедленным высвобождением также могут включать липосомы, которые могут быть получены любым из нескольких способов, известных в данной области. См., например, Eppstein et al., 1985, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 82:3688-3692; публикации европейских заявок на патент № EP 036676; EP 088046 и EP 143949, включенные посредством ссылки.

Фармацевтические композиции, используемые для введения *in vivo*, типично предоставлены в виде стерильных препаратов. Стерилизацию можно осуществлять посредством фильтрования через мембраны для стерилизующей фильтрации. При лиофилизации композиции стерилизацию с использованием данного способа можно проводить либо до, либо после лиофилизации и растворения. Композиции для парентерального введения можно хранить в лиофилизированной форме или в растворе. Парентеральные композиции обычно помещают в контейнер, имеющий стерильный порт доступа, например в мешок для внутривенного раствора или во флакон, имеющий пробку, прокалываемую иглой для подкожных инъекций.

Аспекты изобретения включают композиции конструкции антитела, обладающие буферными свойствами, которые можно использовать в качестве фармацевтических композиций, как описано в международной патентной заявке WO 2006/138181 A2 (PCT/US 2006/022599), которая включена сюда посредством ссылки во всей ее полноте.

Как обсуждалось выше, некоторые воплощения включают композиции белка конструкции антитела, в частности фармацевтические композиции по изобретению, которые содержат, помимо описанной здесь конструкции антитела, один или более чем один эксципиент, как, например, эксципиенты, иллюстративно описанные в данном разделе в других местах данного документа. В данном отношении эксципиенты можно использовать в изобретении для целого ряда целей, как, например, для корректировки физических, химических или биологических свойств композиций, как, например, для корректировки вязкости и/или для способов улучшения эффективности, и/или для стабилизации таких композиций и способов против деградации и порчи из-за, например, стрессовых воздействий, которые случаются во время изготовления, доставки, хранения, приготовления перед употреблением, введения и после этого.

Доступен целый ряд воздействий для стабилизации белка и веществ композиции, и способов, полезных в данном отношении, таких как Arakawa et al., "Solvent interactions in pharmaceutical formulations," *Pharm Res.* 8(3): 285-91 (1991); Kendrick et al., "Physical stabilization of proteins in aqueous solution," in *RATIONAL DESIGN OF STABLE PROTEIN FORMULATIONS: THEORY AND PRACTICE*, Carpenter and Manning, eds. *Pharmaceutical Biotechnology*. 13: 61-84 (2002) и Randolph et al., "Surfactant-protein interactions", *Pharm Biotechnol.* 13: 159-75 (2002), каждая из которых включена сюда посредством ссылки во всей своей полноте, особенно в частях, имеющих отношение к их эксципиентам и способам для композиций белка, обладающих буферными свойствами, согласно настоящему изобретению, особенно в отношении белковых фармацевтических продуктов и способов для ветеринарных применений и/или медицинских применений у человека.

Согласно некоторым воплощениям изобретения можно использовать соли, например, для корректировки ионной силы и/или изотоничности композиции, и/или для улучшения растворимости, и/или фи-

зической стабильности белка или другого ингредиента композиции согласно изобретению.

Как хорошо известно, ионы могут стабилизировать нативное состояние белков путем связывания с заряженными остатками на поверхности белка и путем экранирования заряженных и полярных групп в белке и уменьшения силы их электростатических взаимодействий, взаимодействий притяжения и отталкивания. Ионы также могут стабилизировать денатурированное состояние белка путем связывания, в частности, с пептидными связями (--CONH) денатурированного белка. Кроме того, ионное взаимодействие с заряженными и полярными группами в белке также может уменьшать межмолекулярные электростатические взаимодействия и посредством этого предотвращать агрегацию и нерастворимость белка.

Виды ионов значительно отличаются по их эффектам на белки. Разработали целый ряд категориальных классификаций ионов и их эффектов на белки, которые можно использовать при приготовлении фармацевтических композиций согласно изобретению. Одним примером является ряд Гофмейстера, который классифицирует ионы и полярные неионные растворенные вещества по их эффекту на конформационную стабильность белков в растворе. Стабилизирующие растворенные вещества называют "космотропными". Дестабилизирующие растворенные вещества называют "хаотропными". Космотропы обычно используются в высоких концентрациях (например, более чем 1-молярный сульфат аммония) для осаждения белков из раствора ("высаливание"). Хаотропы обычно используют для денатурации и/или солиubilизации белков ("всаливание"). Относительная эффективность ионов для "всаливания" и "высаливания" определяет их положение в ряду Гофмейстера.

Свободные аминокислоты можно использовать в композициях конструкций антител согласно разным воплощениям изобретения в качестве объемобразующих агентов, стабилизаторов и антиоксидантов, а также для других стандартных применений. Лизин, пролин, серин и аланин можно использовать для стабилизации белков в композиции. Глицин является полезным в лиофилизации для обеспечения правильной структуры и свойств осадка. Аргинин может быть полезным для ингибирования агрегации белка как в жидких, так и в лиофилизированных композициях. Метионин является полезным в качестве антиоксиданта.

Полиолы включают сахара, например маннит, сахарозу и сорбит, и многоатомные спирты, такие как, например, глицерин и пропиленгликоль, и в целях приведенного здесь обсуждения полиэтиленгликоль (PEG) и родственные вещества. Полиолы являются космотропными. Они являются полезными стабилизирующими агентами как в жидких, так и в лиофилизированных композициях, для защиты белков от процессов физической и химической дегградации. Полиолы также являются полезными для корректировки тоничности композиций.

Среди полезных полиолов в избранных воплощениях изобретения находится маннит, обычно используемый для обеспечения структурной стабильности осадка в лиофилизированных композициях. Он обеспечивает структурную стабильность осадка. Его обычно используют с лиопротектором, например, с сахарозой. Сорбит и сахароза находятся среди предпочтительных агентов для корректировки тоничности и в качестве стабилизаторов для защиты против стрессовых воздействий, связанных с замораживанием-оттаиванием, во время транспортировки или получения больших количеств во время способа изготовления. Восстанавливающие сахара (которые содержат свободные альдегидные или кетонные группы), такие как глюкоза и лактоза, могут гликировать поверхностные остатки лизина и аргинина. Следовательно, они обычно не находятся среди предпочтительных полиолов для применения согласно изобретению. Кроме того, сахара, которые образуют такие реакционноспособные соединения, такие как сахароза, которая гидролизует до фруктозы и глюкозы в кислых условиях и, следовательно, вызывает гликирование, в связи с этим также не находятся среди предпочтительных полиолов по изобретению. PEG является полезным для стабилизации белков и в качестве криопротектора, и, в связи с этим, может использоваться в изобретении.

Воплощения композиций конструкций антитела дополнительно содержат поверхностно-активные вещества. Белковые молекулы могут быть чувствительными к адсорбции на поверхностях и к денатурации и последующей агрегации на поверхностях раздела воздух-жидкость, твердое вещество-жидкость и жидкость-жидкость. Данные эффекты обычно обратно пропорциональны концентрации белка. Данные вредные взаимодействия обычно обратно пропорциональны концентрации белка и типично усугубляются физическим встряхиванием, таким как встряхивание, генерируемое во время перевозки и обращения с продуктом.

Поверхностно-активные вещества традиционно используют для предупреждения, минимизации или уменьшения адсорбции на поверхности. Полезные в изобретении поверхностно-активные вещества в связи с этим включают полисорбат 20, полисорбат 80, другие сложные эфиры жирных кислот с сорбитанаполиэтоксилатами и полоксамер 188.

Поверхностно-активные вещества обычно используют для контроля конформационной стабильности белка. Применение поверхностно-активных веществ в связи с этим является специфичным в отношении белка, так как любое данное поверхностно-активное вещество будет стабилизировать некоторые белки и дестабилизировать другие.

Полисорбаты чувствительны к окислительной дегградации и часто при поставке содержат достаточные количества пероксидов для того, чтобы вызвать окисление боковых цепей остатка белка, особенно

метионина. Следовательно, полисорбаты следует использовать аккуратно, и, при использовании, следует применять в их наименьшей эффективной концентрации. В данном отношении полисорбаты служат примером общего правила о том, что эксципиенты следует использовать в их наименьших эффективных концентрациях.

Воплощения композиций конструкции антители дополнительно содержат один или более чем один антиоксидант. В некоторой степени вредное окисление белков может быть предотвращено в фармацевтических композициях путем поддержания правильных уровней кислорода в окружающей среде и температуры и путем избегания воздействия света. Эксципиенты-антиоксиданты также можно использовать для предотвращения окислительной деградации белков. Среди полезных антиоксидантов в связи с этим находятся восстанавливающие агенты, ловушки кислорода/свободных радикалов и хелаторы. Антиоксиданты для применения в композициях терапевтического белка согласно изобретению предпочтительно являются водорастворимыми и сохраняют свою активность на протяжении всего срока хранения продукта. В данном отношении EDTA является предпочтительным антиоксидантом согласно изобретению.

Антиоксиданты могут повреждать белки. Например, восстанавливающие агенты, такие как, в частности, глутатион, могут разрушать внутримолекулярные дисульфидные связи. Таким образом, антиоксиданты для применения в изобретении выбирают, среди прочего, для устранения или достаточного уменьшения возможности их самих повреждать белки в композиции.

Композиции согласно изобретению могут включать ионы металлов, которые являются кофакторами белков, и которые являются необходимыми для образования координационных комплексов белков, как, например, цинк, необходимый для образования определенных суспензий инсулина. Ионы металлов также могут ингибировать некоторые процессы, которые разрушают белки. Однако ионы металлов также катализируют физические и химические процессы, которые деградируют белки.

Ионы магния (10-120 мМ) можно использовать для ингибирования изомеризации аспарагиновой кислоты до изоаспарагиновой кислоты. Ионы Ca^{+2} (вплоть до 100 мМ) могут увеличивать стабильность дезоксирибонуклеазы человека. Mg^{+2} , Mn^{+2} и Zn^{+2} , однако могут дестабилизировать рчДНКазу (рекомбинантная человеческая ДНКаза). Аналогичным образом, Ca^{+2} и Sr^{+2} могут стабилизировать фактор VIII, он может быть дестабилизирован Mg^{+2} , Mn^{+2} и Zn^{+2} , Cu^{+2} и Fe^{+2} , и его агрегация может быть усилена ионами Al^{+3} .

Воплощения композиций конструкции антители дополнительно содержат один или более чем один консервант. Консерванты являются необходимыми при разработке многодозовых парентеральных композиций, которые включают более чем один отбор из того же самого контейнера. Их первичной функцией является ингибирование микробного роста и обеспечение стерильности продукта на протяжении всего срока хранения или срока применения лекарственного продукта. Обычно используемые консерванты включают бензиловый спирт, фенол и м-крезол. Несмотря на то, что консерванты имеют длительную историю применения с низкомолекулярными парентеральными препаратами, разработка белковых композиций, которые включают консерванты, может требовать усилий. Консерванты практически всегда имеют дестабилизирующий эффект (агрегация) на белки, и это стало главным фактором в ограничении их применения в многодозовых композициях белка. До настоящего времени большинство белковых лекарственных средств готовили лишь для однократного применения. Однако когда возможны многодозовые композиции, они имеют дополнительное преимущество в обеспечении удобства пациента и повышенной пригодности для продажи. Хорошим примером является многодозовая композиция человеческого гормона роста (hGH), где разработка консервированных композиций привела к внедрению более удобных форм выпуска в виде многодозовых инъекционных шприцев-ручек. В настоящее время на рынке доступны по меньшей мере четыре таких устройства в виде шприца-ручки, содержащих консервированные композиции hGH. Нордитропин (жидкость, Novo Nordisk), нутропин AQ (жидкость, Genentech) и генотропин (лиофилизированный картридж с двойной камерой, Pharmacia & Upjohn) содержат фенол, тогда как соматроп (Eli Lilly) готовят с мета-крезолом. Необходимо рассматривать несколько аспектов во время приготовления препарата и разработки консервированных лекарственных форм. Эффективная концентрация консерванта в лекарственном продукте должна быть оптимизирована. Это требует тестирования данного консерванта в лекарственной форме с интервалами концентрации, которые придают противомикробную эффективность без нарушения стабильности белка.

Как может ожидать, разработка жидких композиций, содержащих консерванты, является более труднодостижимой, чем лиофилизированных композиций. Лيوфилизированные продукты можно лиофилизировать без консерванта и растворять с использованием растворителя, содержащего консервант, во время применения. Это сокращает время, в течение которого консервант находится в контакте с белком, значительно минимизируя ассоциированные риски для стабильности. При использовании жидких композиций эффективность и стабильность консерванта следует поддерживать на протяжении всего срока хранения продукта (примерно от 18 до 24 месяцев). Важным моментом, который следует отметить, является то, что эффективность консерванта должна быть продемонстрирована в конечной композиции, содержащей активное лекарственное средство и все компоненты эксципиентов.

Описанная здесь конструкция антители обычно будет предназначена для конкретных путей и способов введения, для конкретных дозировок при введении и частот введения, для конкретных способов

лечения конкретных заболеваний, среди других вещей, с интервалами биодоступности и стойкости. Таким образом, композиции могут быть разработаны согласно изобретению для доставки любым подходящим путем, включая пероральный, ушной, глазной, ректальный и вагинальный, и посредством парентеральных путей, включая внутривенную и внутриартериальную инъекцию, внутримышечную инъекцию и подкожную инъекцию, но не ограничиваясь ими.

Как только фармацевтическая композиция приготовлена, ее можно хранить в стерильных флаконах в виде раствора, суспензии, геля, эмульсии, твердого вещества, кристалла, или в виде дегидратированного или лиофилизированного порошка. Такие композиции можно хранить либо в готовой для применения форме, либо в форме (например, лиофилизированной), которую разводят до введения. Согласно изобретению также предложены наборы для получения однодозовой единицы введения. Каждый из наборов по изобретению может содержать и первый контейнер, вмещающий высушенный белок, и второй контейнер, вмещающий водную композицию. В некоторых воплощениях данного изобретения предложены наборы, содержащие одно- и многокамерные предварительно заполненные шприцы (например, шприцы с жидкостью и шприцы с лиофилизатом). Терапевтически эффективное количество фармацевтической композиции, содержащей белок конструкции антитела, подлежащее применению, будет зависеть, например, от терапевтического контекста и целей. Специалисту в данной области будет понятно, что подходящие уровни дозировки для лечения будут варьировать, отчасти в зависимости от доставляемой молекулы, показания, из-за которого используется описанная здесь конструкция антитела, пути введения и размера (масса тела, поверхность тела или размер органа) и/или состояния (возраст и общее состояние здоровья) пациента. В некоторых воплощениях лечащий врач может титровать дозировку и модифицировать путь введения для получения оптимального терапевтического эффекта. Типичная дозировка может варьировать от примерно 0,1 мкг/кг вплоть до примерно 30 мг/кг или более, в зависимости от вышеупомянутых факторов. В конкретных воплощениях дозировка может варьировать от 1,0 мкг/кг вплоть до примерно 20 мг/кг, возможно от 10 мкг/кг вплоть до примерно 10 мг/кг или от 100 мкг/кг вплоть до примерно 5 мг/кг.

Терапевтически эффективное количество фармацевтической композиции по изобретению, содержащей соединение, нацеленное на CD33, и по меньшей мере один эпигенетический фактор в одной или отдельных композициях предпочтительно приводит к уменьшению тяжести симптомов заболевания, к увеличению частоты или продолжительности периодов без симптомов заболевания или к предупреждению ухудшения или нетрудоспособности из-за поражения заболеванием. Для лечения опухолей, экспрессирующих CD33, терапевтически эффективное количество соединения, нацеленного на CD33, и по меньшей мере одного эпигенетического фактора в одной или в отдельных композициях, например, конструкции антитела против CD33/CD3 и по меньшей мере одного эпигенетического фактора предпочтительно ингибирует рост клеток или рост опухоли по меньшей мере примерно на 20%, по меньшей мере примерно на 40%, по меньшей мере примерно на 50%, по меньшей мере примерно на 60%, по меньшей мере примерно на 70%, по меньшей мере примерно на 80% или по меньшей мере примерно на 90% относительно пациентов, не подвергавшихся лечению. Способность соединений ингибировать рост опухоли можно оценивать в животной модели, прогнозирующей эффективность в человеческих опухолях.

Фармацевтические композиции можно вводить с использованием медицинского устройства. Примеры медицинских устройств для введения фармацевтических композиций описаны в патентах США №№ 4475196; 4439196; 4447224; 4447233; 4486194; 4487603; 4596556; 4790824; 4941880; 5064413; 5312335; 5312335; 5383851 и 5399163, которые все включены сюда посредством ссылки.

Следует понимать, что приведенные здесь изобретения не ограничиваются конкретной методологией, протоколами или реактивами, и таковые могут варьировать. Приведенные здесь обсуждение и примеры представлены лишь с целью описания конкретных воплощений и не предназначены для ограничения объема настоящего изобретения, который определяется единственно формулой изобретения.

Все публикации и патенты, процитированные по всему тексту данного описания изобретения (включая все патенты, патентные заявки, научные публикации, спецификации изготовителей, инструкции и т.д.) выше или ниже, являются тем самым включенными посредством ссылки во всей их полноте. Ничто здесь не следует истолковывать как допущение того, что данное изобретение не вправе датировать задним числом такое раскрытие на основании предыдущего изобретения. В той степени, в которой материал, включенный посредством ссылки, противоречит или не согласуется с данным описанием изобретения, описание изобретения будет отменять любой такой материал.

Примеры

Следующие примеры приведены с целью иллюстрации конкретных воплощений или характеристик настоящего изобретения. Данные примеры не следует истолковывать как ограничивающие объем данного изобретения. Примеры включены для целей иллюстрации, и настоящее изобретение ограничивается только формулой изобретения.

Пример 1. Эпигенетические модифицирующие лекарственные средства в качестве сенсibiliзирующих агентов для цитотоксичности, индуцированной соединением, нацеленным на CD33.

Уровень экспрессии CD33 идентифицировали в качестве критической переменной для степени активности описанного здесь соединения, нацеленного на CD33, такого как AMG30 против человеческих

клеток AML. Соответственно, было неожиданным наблюдать потенциальные эпигенетические модифицирующие лекарственные средства, такие как ингибиторы гистондеацетилазы (HDAC) или ингибиторы ДНК-метилтрансферазы (DNMT) I в качестве сенсibiliзирующих агентов для цитотоксичности, индуцированной AMG 330.

Для данных экспериментальных ситуаций одноядерные клетки отбирали у здоровых взрослых добровольцев посредством лейкофереза, и Т-клетки обогащали посредством магнитной сортировки клеток (Pan T Cell Isolation Kit II; Miltenyi Biotec, Auburn, CA). Оттаявшие аликвоты клеток метили 3 мкМ Cell-Vue Burgundy (eBioscience, Сан-Диего, CA) согласно инструкциям изготовителя.

Человеческие миелоидные клетки OCI-AML3, KG-1 α , ML-1, NB4, TF-1 и HL-60 поддерживали, как описано ранее (Walter et al. Blood. 2003; 102(4): 1466-1473; Walter et al. Blood. 2004; 103(11):4276-4284, Walter et al. Blood. 2005; 105(3): 1295-1302).

Экспрессию CD33 на родительских клетках AML и линиях клеток количественно измеряли посредством проточной цитометрии с использованием антитела против CD33, конъюгированного с фикоэритрином (PE) (клон P67.6; BD Biosciences, Сан-Хосе, CA, США) (см., Walter et al. Blood. 2005; 105(3): 1295-1302).

Для количественного измерения цитотоксичности, индуцированной соединением, клетки AML отбирали во время экспоненциального роста и инкубировали при 37°C (в 5% CO₂ и воздухе) в 96-луночных круглодонных планшетах (BD Falcon™) в количестве 5-10 × 10³ клеток/луночку в 225 мкл культуральной среды, содержащей разные концентрации AMG 330, а также Т-клетки при разных соотношениях эффекторная клетка:клетка-мишень (E:T). Через 48 ч определяли число клеток и цитотоксичность, индуцированную лекарственным средством, используя 4',6-диамидино-2-фенилиндол (DAPI) для выявления нежизнеспособных клеток, с использованием проточного цитометра LSRII (BD Biosciences, Сан-Хосе, CA) и анализировали FlowJo (Tree Star, Ashland, OR). Клетки AML идентифицировали посредством свойств прямого/бокового рассеяния и негативности в отношении красителя CellVue Burgundy.

Для определения модуляции CD33 аликвоты клеток AML оставляли необработанными или инкубировали либо с AMG 330 (250 пг/мл), либо с неконъюгированным, немеченым антителом против CD33 (клон P67.6; BD Biosciences, Сан-Хосе, CA, США; 2,5 мкг/мл). Через 48 ч клетки промывали ледяным фосфатно-солевым буферным раствором (PBS, GIBCO Invitrogen) для удаления несвязавшегося антитела и ресуспендировали в PBS, содержащем 2% фетальной коровьей сыворотки. Поскольку AMG 330 не конкурирует с P67.6 за связывание с CD33, аликвоты необработанных и обработанных AMG 330 клеток инкубировали с P67.6 или без первичного антитела, с последующей инкубацией с крысиным антителом против мышинового IgG₁, конъюгированным с биотином (использованным в концентрации 2,5 мкг/мл в PBS/2% FBS), и стрептавидино-фикоэритрином (PE) (использованным в концентрации 2,5 мкг/мл в PBS/2% FBS: оба от BD Biosciences). Подобным образом, аликвоты необработанных и обработанных P67.6 клеток инкубировали с неконъюгированным P67.6 или без первичного антитела; клетки затем промывали и инкубировали с крысиным моноклональным антителом против мышинового IgG₁, конъюгированным с биотином, с последующей инкубацией с конъюгатом стрептавидин-PE. Для идентификации нежизнеспособных клеток все образцы окрашивали DAPI. Получали по меньшей мере 10000 событий, и клетки DAPI анализировали на проточном цитометре Canto (BD Biosciences) с использованием программы FlowJo. Линейные медианные значения интенсивности флуоресценции (MFI) использовали для расчета процентной доли интернализации CD33, связанной с лекарственным средством.

Как показано на фиг. 1, 3-суточная предобработка ингибитором HDAC, панобиноста́том, приводила к значительному увеличению экспрессии CD33 в клетках OCI-AML3 и к заметному в клетках KG-1 α . Более важно то, что по отношению к необработанным клеткам клетки, предобработанные панобиноста́том в течение 3 суток были умеренно более чувствительными к цитотоксичности, индуцированной AMG 330 (KG-1 α более чем OCI-AML3). Предобработка ингибитором DNMT I, азацитидином, в течение 3 суток приводила к значительному увеличению экспрессии CD33 на KG-1 α . В соответствии с этим после предобработки азацитидином клетки KG-1 α становились значительно более чувствительными к цитотоксичности, индуцированной AMG 330, по отношению с необработанными клетками (фиг. 2).

Пример 2. Повышающая регуляция CD33 на клетках AML для увеличения эффективности лизиса, опосредованного AMG 330.

Гидроксимочевина.

Повышающая регуляция CD33 на линиях клеток AML.

Линии клеток AML HL-60, PL21, OCI-AML3, KG1 α и MV4-11 высевали на 24-луночные планшеты в концентрации 1×10⁶ клеток/мл в сутки 0. Клетки либо оставляли необработанными (UT), либо обрабатывали 10 мкМ (H1) или 100 мкМ (H2) гидроксимочевины (Sigma) в течение трех последовательных суток (сутки 0, сутки 1 и сутки 2). В сутки 3 клетки отбирали, подсчитывали и анализировали на изменения в уровне экспрессии CD33 на поверхности посредством проточной цитометрии.

На фиг. 3 и в табл. 2 показана повышающая регуляция CD33 на клетках AML HL-60 и PL21, зависящая от концентрации.

Таблица 2

Отношения MFI CD33 клеток AML HL-60 и PL21 после инкубации с/без гидроксимочевины, определенные проточной цитометрией

Отношение MFI CD33	UT	H1	H2
HL-60	134,9	171,3	210,0
PL21	166,9	177,9	191,8

Повышающая регуляция CD33 на клетках первичного AML.

Три образца клеток первичного AML высевали в 12-луночные планшеты в концентрации 1×10^6 клеток/мл, как описано ранее (Krupka, Subklewe et al, Blood, 2014). Клетки либо оставляли необработанными (UT), либо обрабатывали 10 мкМ (H1) или 100 мкМ (H2) гидроксимочевины (Sigma) в течение трех последовательных суток (сутки 0, сутки 1 и сутки 2). В сутки 1 - сутки 3 клетки отбирали, подсчитывали и анализировали на изменения в экспрессии CD33 на поверхности посредством проточной цитометрии.

На фиг. 4 и в табл. 3 показана повышающая регуляция CD33 в 1 из 3 образцов пациента в сутки 1 и сутки 2 инкубации с гидроксимочевинной.

Таблица 3

Отношения MFI CD33 клеток первичного AML от пациента 2 после 1 и 2 суток инкубации с гидроксимочевинной, определенные проточной цитометрией

Отношение MFI CD33	UT	H1	H2
сутки 1 Пациент 2	3,7	4,2	4,5
сутки 2 Пациент 2	4,8	4,2	5,1

Гранулоцитарный колониестимулирующий фактор (G-CSF).

Повышающая регуляция CD33 на линиях клеток AML.

Линии клеток AML OCI-AML3 и KG1 α высевали на 24-луночные планшеты в концентрации 5×10^5 клеток/мл в сутки 0. Клетки либо оставляли необработанными (UT), либо обрабатывали 200 нг/мл (C1) или 2000 нг/мл (C2) G-CSF (Peprotech) в течение 10 суток. Один раз в две недели в культуры добавляли свежий G-CSF. В сутки 10 клетки отбирали и анализировали на изменения в экспрессии CD33 на поверхности посредством проточной цитометрии.

На фиг. 5 и в табл. 4 показана слабая повышающая регуляция CD33 на клетках AML KG1 α , зависящая от концентрации.

Таблица 4

Отношения MFI CD33 клеток AML KG1 α после 10 суток инкубации с/без G-CSF, определенные проточной цитометрией

Отношение MFI CD33	UT	C1	C2
KG1 α	16,5	17,9	19,2

SEQ ID NO.	ОБОЗНАЧЕНИЕ	ИСТОЧНИК	ТИП	ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЬ
1	VH АН3 против CD33	искусственная	ак	QVQLVQSGAEVKKPESVKVSKASGYFTNYGMNWRQAPGQGLEWMGWINTYTGTEPTYADDFKGRVTMSSDTSTAYLEINSLRSDDTAIYYCARWSWSDGYVYVFDYWGQGTITVTVSS
2	HCDR1 АН3 против CD33	искусственная	ак	NYGMN
3	HCDR2 АН3 против CD33	искусственная	ак	WINTYTGTEPTYADDFKGR
4	HCDR3 АН3 против CD33	искусственная	ак	WSWSDGYVYVFDY
5	VH АН3 против CD33	искусственная	нт	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGAGCTGAGGTGAAAAAGCCTGGAGAGTCAGTCAAGGTCTCCTGCAAGGCTAGCGGGTATACCTTCACAAATATGGAATGAACTGGGTGAGGCAGGCTCCAGGACAGGGTTAGAGTGGATGGGCTGGATAAACACCTACACTGGAGAGCCACATATGCTGATGACTTCAAGGACGGTTACCATGTCCTCGGATACCTTACCAGCACTGCCTATTTGGAATCAACAGCCTCAGAAGTGATGACACGGCTATATATTAAGTGTGCGCGCTGGAGTTGGAGTGATGGTTACTACGTTTACTTTGACTACTGGGCCAAGGCACTACGGTACCGTCTCCTCA
6	VL АН3 против CD33	искусственная	ак	DIVMTQSPDLSLTLSLGERTTINCKSSQSVLDSKKNKNSLAWYQKRPQPPKLLLSWASTRESGIPDRFSSGSGTDFLTIIDSLQPEDSATYQCQSAHFPIITFGQGTREIK
7	LCDR1 АН3 против CD33	искусственная	ак	KSSQSVLDSKKNKNSLA
8	LCDR2 АН3 против CD33	искусственная	ак	WASTRES
9	LCDR3 АН3 против CD33	искусственная	ак	QCSAHFPIT
10	VL АН3 против CD33	искусственная	нт	GACATCGTGATGACACAGTCTCCAGACTCCCTGACTGTGTCTCTGGCGAGAGGACCACCATCAACTGCAAGTCCAGCCAGAGTGTTTAGACAGCTCCAAGAATAAGAACTCCTTAGCTTGGTACAGCAGAAACCAGGACAGCCTCCTAAATTAAGTGTCTCTGGCATCTACGCGGAAATCCGGGATCCCGGATTTCAAGTGGCAGCGGTCTGGGACAGATTTCACTCTCACTATTTGACAGCCTCCAGCCTGAAGATTTGCAACTTACTATTTCAAGAGTCTGCCACTTCCCGATCACCTTTGGCCAGGGACAGCAGTGGAGATAAA
11	HL АН3 против CD33	искусственная	ак	QVQLVQSGAEVKKPESVKVSKASGYFTNYGMNWRQAPGQGLEWMGWINTYTGTEPTYADDFKGRVTMSSDTSTAYLEINSLRSDDTAIYYCARWSWSDGYVYVFDYWGQGTITVTVSSGGGSGGGSGGGSDIVMTQSPDLSLTLSLGERTTINCKSSQSVLDSKKNKNSLAWYQKRPQPPKLLLSWASTRESGIPDRFSSGSGTDFLTIIDSLQPEDSATYQCQSAHFPIITFGQGTREIK
12	HL АН3 против CD33	искусственная	нт	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGAGCTGAGGTGAAAAAGCCTGGAGAGTCAGTCAAGGTCTCCTGCAAGGCTAGCGGGTATACCTTCACAAATATGGAATGAACTGGGTGAGGCAGGCTCCAGGACAGGGTTAGAGTGGATGGGCTGGATAAACACCTACACTGGAGAGCCACATATGCTGATGACTTCAAGGACGGTTACCATGTCCTCGGATACCTTACCAGCACTGCCTATTTGGAATCAACAGCCTCAGAAGTGATGACACGGCTATATATTAAGTGTGCGCGCTGGAGTTGGAGTGATGGTTACTACGTTTACTTTGACTACTGGGCCAAGGCACTACGGTACCGTCTCCTCAGGTGGTGGTGGTCTGGCGCGCGGGCTCCGGTGGTGGTGGTCTGACATCGTGATGACACAGTCTCCAGACTCCCTGACTGTGTCTCTGGCGAGAGGACCACTCAACTGCAAGTCCAGCCAGAGTGTTTAGACAGCTCCAAGAATAAGAACTCCTTAGCTTGGTACCAGCAGAACCAGGACAGCCTCCTAAATTAAGTGTCTCTGGCATCTACGCGGAAATCCGGGATCCTGACCGATTGAGTGGCAGCGGGTCTGGGACAGATTTCACTCTCACTATTTGACAGCCTCCAGCCTGAAGATTTGCAACTTACTATTTGCAACAGTCTGCCACTTCCCGATCACCTTTGGCCAGGGACAGCCTGGAGATTAATA
13	HL АН3 против CD33 x HL H2C	искусственная	ак	QVQLVQSGAEVKKPESVKVSKASGYFTNYGMNWRQAPGQGLEWMGWINTYTGTEPTYADDFKGRVTMSSDTSTAYLEINSLRSDDTAIYYCARWSWSDGYVYVFDYWGQGTITVTVSSGGGSGGGSGGGSDIVMTQSPDLSLTLSLGERTTINCKSSQSVLDSKKNKNSLAWYQKRPQPPKLLLSWASTRESGIPDRFSSGSGTDFLTIIDSLQPEDSATYQCQSAHFPIITFGQGTREIKKSGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWRQAPGKLEWVARIRSKYNNYATYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNLRKTEDTAVYYCYRHGNFGNSYISYWAYWGQGLTIVTVSSGGGSGGGSGGGGQTVTVTQEPSSLTVSPGGTITLTCSSSTGAVTSGYYPNWVQKRPQAPRGLIGGTFKFLAPGTPARFSSGLLGGKALTLGSGVQPEDEAEYCALWYSNRWVFGGKTLTVL
14	HL АН3 против CD33 x HL H2C	искусственная	нт	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGAGCTGAGGTGAAAAAGCCTGGAGAGTCAGTCAAGGTCTCCTGCAAGGCTAGCGGGTATACCTTCACAAATATGGAATGAACTGGGTGAGGCAGGCTCCAGGACAGGGTTAGAGTGGATGGGCTGGATAAACACCTACACTGGAGAGCCACATATGCTGATGACTTCAAGGACGGTTACCATGTCCTCGGATACCTTACCAGCACTGCCTATTTGGAATCAACAGCCTCAGAAGTGATGACACGGCTATATATTAAGTGTGCGCGCTGGAGTTGGAGTGATGGTTACTACGTTTACTTTGACTACTGGGCCAAGGCACTACGGTACCGTCTCCTCAGGTGGTGGTGGTCTGGCGCGCGGGCTCCGGTGGTGGTGGTCTGACATCGTGATGACACAGTCTCCAGACTCCCTGACTGTGTCTCTGGCGAGAGGACCACTCAACTGCAAGTCCAGCCAGAGTGTTTAGACAGCTCCAAGAATAAGAACTCCTTAGCTTGGTACCAGCAGAACCAGGACAGCCTCCTAAATTAAGTGTCTCTGGCATCTACGCGGAAATCCGGGATCCTGACCGATTGAGTGGCAGCGGGTCTGGGACAGATTTCACTCTCACTATTTGACAGCCTCCAGCCTGAAGATTTGCAACTTACTATTTGCAACAGTCTGCCACTTCCCGATCACCTTTGGCCAGGGACAGGACTGGAGATTAATCCGGAGGTGGTGGTCCGAGGTGCAGCTGGTCCAGTCTGGAGGAGGATTTGGTCAGCCTCGAGGGTCAATGAAACTCTCATGTCGAGCCTCTGGATTCACTTCAATAAGTACCGCATGAACTGGGTCCGCGAGGCTCCAGGAAAGGGTTTGGAAATGGGTTGCTCGCATAAAGAATAAATAAATAAATATGCAACATATATGCGGATTCAGTGAAGAAGCAGGTTACCATCTCCAGAGATGATTAATAAATACTGCCTATCTCAAAATGAACAATTTGAAAATGAGGACACTGCCGTGACTACTGTGTGAGACATGGAACTTCGGTAATAGCTACATATCTACTGGGCTTACTGGGCCAAGGGACTTGGTCAACCGTCTCTCAGGTGGTGGTGGTCTGGCGCGCGGGCTCCGGTGGTGGTGGTCTCAGACTGTGTGACTCAGAACCTTCACTACCGTATCACCTGGTGGACAGTCACTACTTGTGGCTCTCAGTGGGCTG

				TTACATCTGGCTACTACCCAACTGGGTCCAACAAAAACCAGGTGAGGACCCCGTGGTCTAATAGG TGGGACTAAGTTCTCGCCCCGGTACTCCTGCCAGATTCTCAGGCTCCCTGCTTGGAGGCAAGGCT GCCTCACCCTCTCAGGGGTACAGCCAGAGGATGAGGCAGAAATATTACTGTGCTCTATGGTACAGCA ACCGCTGGGTGTTCCGGTGGAGAACCAACTGACTGTCCTA
15	HL AH3 против CD33 x HL F12Q	искусственная	ак	QVQLVQSGAEVKKPESVKVSKASGYFTFNIGMNVWRQAPGGLEWGMWINTYTGPTVADDFKGR VTMSSTSTAYLEINSLRSDDTAIYCARWSWSGYYVYFDYWGQGTIVTVSSGGGGGGGGGGGG GGSDIVMTQSPDLSLVSLGERTTINCKSSQSVLDSKKNKSLAWYQQKPKQPFKLLLSWASTRESGI PDRFSSGSGTDFTLTIIDSLQPEDSATIYCCQSAHPFITFGQGTREIKSGGGGSEVQLVSGGGGLV QPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWRQAPGKLEWVARIISKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKN TAYLQMNLLKTEDTAVYCVRHGNFGNSYVSWAYWQGTIVTVSSGGGGGGGGGGGGGGGGVTVTQ EPSLTVSPGGTIVLTCGSSSTGAVTSGNYPNWVQKPKQAPRGLIGGTRFLAPGTPARFSGSLGGKA ALTLISGVQPEDEAEYCVLWYSNRWVFGGKTLTVL
16	HL AH3 против CD33 x HL F12Q	искусственная	нт	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGAGCTGAGGTGAAAAAGCCTGGAGAGTCAGTCAAGTCTCCTGCA AGGCTAGCGGGTATACCTCACAACTATGGAATGAAGTGGGTGAGGCAAGGCTCCAGGACAGGGTTT AGAGTGGATGGGCTGGATAAACACCTACACTGGAGAGCCAACATATGCTGATGACTTCAAGGACGG GTTACCATGTCTTCGGATACCTTACACAGCACTGCCTATTTGGAATCAACAGCCTCAGAAGTGATG ACACGGTATATATTAAGTGTGCGCGCTGGAGTGGAGTGGTACTACGTTTACTTTGACTCTG GGGCCAAGGCACTACGGTCAACGCTCCTCAGTGGTGGTGGTCTGGCGGGGGGGGGCTCCGGTGGT GGTGGTCTGACATCGTGTGACACAGTCTCCAGACTCCCTGACTGTCTCTGGGGGAGAGGACCA CCATCAACTGCAAGTCAGCAGAGTGTTTAGACAGCTCCAGAAATAAGAACTCCTTAGCTGGTA CCAGCAGAAACAGGACAGCTCCTAAATTAATCCTTTCTGGGCATCTACCGGGGATCCGGATC CCTGACCGATTGAGTGGCAGCGGGTCTGGGACAGATTTCACTCTCACTATTGACAGCTGCAGCTG AAGATTCTGCAACTACTATTGTCAACAGTCTGGCCACTTCCGATCACTTTGGCCAGGGGACAGG ACTGGAGATTAATCCGGAGTGGTGGCTCCGAGGTGAGCTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGT CAGCCTGGAGGGTCAATGAACTCTCATGTGCGAGCTCTGGATTCACTTCAATAGTACGGCATGA ACTGGTCCCGCAAGGCTCCAGGAAAGGTTTGGAAATGGGTTGCTCGCATAAGAAATAAATAAATAA TTATGCAACATATTAATGCCGATTGAGTGAAGGACAGGTTACCATCTCCAGAGATGATTCAAAAAC ACTGCCTATCAAAATGAACAACTTGAACACTGAGGACACTGCCGTGACTACTGTGGAGACATG GGAACCTCGGTAATAGTACATCTTCTGGTGGGCTTACTGGGGCAAGGGACTCTGGTCAACGCTCTC CTCAGTGGTGGTGGTCTGGCGGGGGGGCTCCGGTGGTGGTGGTCTCAGACTGTGTGACTCAG GAACTTCACTCAGCTATCAGTGGTGAACAGTCACTCACTTGTGGCTCTCCAGTGGGGCTG TTACATCTGGCAACTACCCAACTGGGTCCAACAAAAACCAGGTGAGGACCCCGTGGTCTAATAGG TGGGCAATGTTCTCGCCCCGGTACTCCTGCCAGATTCTCAGGCTCCCTGCTTGGAGGCAAGGCT GCCCTCACCCTCTCAGGGGTACAGCCAGAGGATGAGGCAGAAATTAATCTGTGTTCTATGGTACAGCA ACCGCTGGGTGTTCCGGTGGAGAACCAACTGACTGTCCTA
17	HL AH3 против CD33 x HL I2C	искусственная	ак	QVQLVQSGAEVKKPESVKVSKASGYFTFNIGMNVWRQAPGGLEWGMWINTYTGPTVADDFKGR VTMSSTSTAYLEINSLRSDDTAIYCARWSWSGYYVYFDYWGQGTIVTVSSGGGGGGGGGGGGGG GGSDIVMTQSPDLSLVSLGERTTINCKSSQSVLDSKKNKSLAWYQQKPKQPFKLLLSWASTRESGI PDRFSSGSGTDFTLTIIDSLQPEDSATIYCCQSAHPFITFGQGTREIKSGGGGSEVQLVSGGGGLV QPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWRQAPGKLEWVARIISKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKN TAYLQMNLLKTEDTAVYCVRHGNFGNSIYVWYWGQGTIVTVSSGGGGGGGGGGGGGGGGVTVTQ EPSLTVSPGGTIVLTCGSSSTGAVTSGNYPNWVQKPKQAPRGLIGGTRFLAPGTPARFSGSLGGKA ALTLISGVQPEDEAEYCVLWYSNRWVFGGKTLTVL
18	HL AH3 против CD33 x HL I2C	искусственная	нт	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGAGCTGAGGTGAAAAAGCCTGGAGAGTCAGTCAAGTCTCCTGCA AGGCTAGCGGGTATACCTCACAACTATGGAATGAAGTGGGTGAGGCAAGGCTCCAGGACAGGGTTT AGAGTGGATGGGCTGGATAAACACCTACACTGGAGAGCCAACATATGCTGATGACTTCAAGGACGG GTTACCATGTCTTCGGATACCTTACACAGCACTGCCTATTTGGAATCAACAGCCTCAGAAGTGATG ACACGGTATATATTAAGTGTGCGCGCTGGAGTGGAGTGGTACTACGTTTACTTTGACTCTG GGGCCAAGGCACTACGGTCAACGCTCCTCAGTGGTGGTGGTCTGGCGGGGGGGGGCTCCGGTGGT GGTGGTCTGACATCGTGTGACACAGTCTCCAGACTCCCTGACTGTCTCTGGGGGAGAGGACCA CCATCAACTGCAAGTCAGCAGAGTGTTTAGACAGCTCCAGAAATAAGAACTCCTTAGCTGGTA CCAGCAGAAACAGGACAGCTCCTAAATTAATCCTTTCTGGGCATCTACCGGGGATCCGGGATC CCTGACCGATTGAGTGGCAGCGGGTCTGGGACAGATTTCACTCTCACTATTGACAGCTGCAGCTG AAGATTCTGCAACTACTATTGTCAACAGTCTGCCACTTCCGATCACTTTCGCGGAGGAGCAAG ACTGGAGATTAATCCGGAGTGGTGGCTCCGAGGTGAGCTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGT CAGCCTGGAGGGTCAATGAACTCTCATGTGCGAGCTCTGGATTCACTTCAATAGTACCGCATGA ACTGGTCCCGCAAGGCTCCAGGAAAGGTTTGGAAATGGGTTGCTCGCATAAGAAATAAATAAATAA TTATGCAACATATTAATGCCGATTGAGTGAAGACAGGTTACCATCTCCAGAGATGATTCAAAAAC ACTGCCTATCTCAAAATGAACAACTTGAACACTGAGGACACTGCCGTGACTACTGTGGAGACATG GGAACCTCGGTAATAGTACATATCTACTGGGCTTACTGGGGCAAGGGACTCTGGTCAACGCTCTC CTCAGTGGTGGTGGTCTGGCGGGGGGGCTCCGGTGGTGGTGGTCTCAGACTGTGTGACTCAG GAACTTCACTCAGCTATCAGTGGTGAACAGTCACTCACTTGTGGCTCTCCAGTGGGGCTG TTACATCTGGCAACTACCCAACTGGGTCCAACAAAAACCAGGTGAGGACCCCGTGGTCTAATAGG TGGGCAATGTTCTCGCCCCGGTACTCCTGCCAGATTCTCAGGCTCCCTGCTTGGAGGCAAGGCT GCCCTCACCCTCTCAGGGGTACAGCCAGAGGATGAGGCAGAAATTAATCTGTGTTCTATGGTACAGCA ACCGCTGGGTGTTCCGGTGGAGAACCAACTGACTGTCCTA
19	VH AF5 против CD33	искусственная	ак	QVQLVQSGAEVKKPESVKVSKASGYFTFNIGMNVWRQAPGGLEWGMWINTYTGPTVADDFKGR VTMSSTSTAYLEINSLRSDDTAVYCARWSWSGYYVYFDYWGQGTIVTVSS
20	HCDR1 AF5 против CD33	искусственная	ак	NYGMN
21	HCDR2 AF5 против CD33	искусственная	ак	WINTYTGPTVADDFKGR
22	HCDR3 AF5 против CD33	искусственная	ак	WSWSDGYVYFDY
23	VH AF5 против CD33	искусственная	нт	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGAGCTGAGGTGAAAAAGCCTGGAGAGTCAGTCAAGTCTCCTGCA AGGCTAGCGGGTATACCTCACAACTATGGAATGAAGTGGGTGAGGCAAGGCTCCAGGACAGGGTTT

				AAAGTGGATGGGCTGGATAAACACCTACACTGGAGAGCCAACATATGCTGATGACTTCAAGGGACGG GTTACCATGACTTCGGATACCTTACCAGCACTGCCTATTTGGAACCTCACAACTCAGAAGTATGAT ACACGGCTGTATATTACTGTGCGCGCTGGAGTTGGAGTGATGTTACTACGTTACTTGTACTACTG GGGCCAAGGCACACGGTACCCTCCTCTCA
24	VL AF5 против CD33	искусственная	ак	DIVMTQSPDLSLTVSLGERTTINCKSSQSVLDSKKNKNSLAWYQKPGQPPKLLLSWASTRESGI PDRFSGSGGTDFTLTIIDSLQPEDSATYYCQSAHFPITFGQTRLEIK
25	LCDR1 AF5 против CD33	искусственная	ак	KSSQSVLDSKKNKNSLA
26	LCDR2 AF5 против CD33	искусственная	ак	WASTRES
27	LCDR3 AF5 против CD33	искусственная	ак	QSAHFPIT
28	VL AF5 против CD33	искусственная	нт	GACATCGTGATGACACAGTCTCCAGACTCCCTGACTGTGTCTCTGGCGAGAGGACCACCATCAACT GCAAGTCCAGCCAGAGTGTTTAGACAGCTCCAAGATAAAGAACTCCTTAGCTTGGTACCAGCAGAA ACCAGGACAGCTCCTAAATTAACCTTCCCTGGGCATCTACGGGGAATCCGGGATCCCTGACCGA TTCAGTGGCAGCGGGTCTGGGACAGATTCACTCTCACTATTGACAGCTGCAGCTCAAGATTTCTG CAACTTACTATTGTCAACAGTCTGCCACTTCCCGATCACCTTTGGCCAAGGACACAGCATGGAGAT TAAA
29	HL AF5 против CD33	искусственная	ак	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYFTNYGMNWKQAPGQGLKWMGWINTYGTEPTVADDFKGR VTMTSDTSTAYLELHNLRSDDTAVYICARWSWSDGYVYFDYWGQGTIVTVSSGGGSGGGGSGG GGSDIVMTQSPDLSLTVSLGERTTINCKSSQSVLDSKKNKNSLAWYQKPGQPPKLLLSWASTRESGI PDRFSGSGGTDFTLTIIDSLQPEDSATYYCQSAHFPITFGQTRLEIK
30	HL AF5 против CD33	искусственная	нт	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGAGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGAGCTCAGTCAAGGTCTCCTGCA AGGCTAGCGGGTATACCTTCAAAAATATGGAATGAAGTGGTGAAGCAGGCTCCAGGACAGGTTT AAAGTGGATGGGCTGGATAAACACCTACACTGGAGAGCCAACATATGCTGATGACTTCAAGGGACGG GTTACCATGACTTCGGATACCTTACCAGCACTGCCTATTTGGAACCTCACAACTCAGAAGTATGAT ACACGGCTGTATATTACTGTGCGCGCTGGAGTTGGAGTGATGTTACTACGTTACTTGTACTACTG GGGCCAAGGCACACGGTACCCTCCTCAGGTGGTGGTGTCTGGCGGCGGGCTCCGGTGGT GGTGGTCTGACATCGTGATGACACAGTCTCCAGACTCCCTGACTGTGTCTCTGGCGGAGAGGACA CCATCAACTGCAAGTCCAGCCAGAGTGTTTAGACAGCTCCAAGATAAAGAACTCTAGCTTGGTA CCAGCAAGAACAGGACAGCTCCTAAATTAACCTTCTGGGCATCTACGGGAATCCGGGATC CCTGACCGATTCAAGTGGCAGCGGGTCTGGGACAGATTCACTCTCACTATTGACAGCTCCAGCTG AAGATTCTGCAACTTACTATTGTCAACAGTCTGCCACTTCCCGATCACCTTTGGCCAAGGACACG ACTGGAGATTA
31	HL AF5 против CD33 x HL H2C	искусственная	ак	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYFTNYGMNWKQAPGQGLKWMGWINTYGTEPTVADDFKGR VTMTSDTSTAYLELHNLRSDDTAVYICARWSWSDGYVYFDYWGQGTIVTVSSGGGSGGGGSGG GGSDIVMTQSPDLSLTVSLGERTTINCKSSQSVLDSKKNKNSLAWYQKPGQPPKLLLSWASTRESGI PDRFSGSGGTDFTLTIIDSLQPEDSATYYCQSAHFPITFGQTRLEIKS
				PDRFSGSGGTDFTLTIIDSLQPEDSATYYCQSAHFPITFGQTRLEIKS PQGSGLKLSCAASGFTFNKYMNNVWQAPGKLEWVARIRSKYNNYATYADSVKDRFTLIRSDSKN TAYLQMNLLKTEDTAVYICVRHGNFGNSYISYWAYWGQGTIVTVSSGGGSGGGGSGGGGQTVVTQ EPLSLTVSPGGTIVLTCGSSSTGAVTSGYVYVWVQKPGQAPRGLIGGTRFLAPGTPARFSGSLGGKA ALTLVSGVQPEDEAEYVCLWYVSNRWVFGGTTKLTVL
32	HL AF5 против CD33 x HL H2C	искусственная	нт	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGAGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGAGCTCAGTCAAGGTCTCCTGCA AGGCTAGCGGGTATACCTTCAAAAATATGGAATGAAGTGGTGAAGCAGGCTCCAGGACAGGTTT AAAGTGGATGGGCTGGATAAACACCTACACTGGAGAGCCAACATATGCTGATGACTTCAAGGGACGG GTTACCATGACTTCGGATACCTTACCAGCACTGCCTATTTGGAACCTCACAACTCAGAAGTATGAT ACACGGCTGTATATTACTGTGCGCGCTGGAGTTGGAGTGATGTTACTACGTTACTTGTACTACTG GGGCCAAGGCACACGGTACCCTCCTCAGGTGGTGGTGTCTGGCGGCGGGCTCCGGTGGT GGTGGTCTGACATCGTGATGACACAGTCTCCAGACTCCCTGACTGTGTCTCTGGCGGAGAGGACA CCATCAACTGCAAGTCCAGCCAGAGTGTTTAGACAGCTCCAAGATAAAGAACTCTAGCTTGGTA CCAGCAAGAACAGGACAGCTCCTAAATTAACCTTCTGGGCATCTACGGGAATCCGGGATC CCTGACCGATTCAAGTGGCAGCGGGTCTGGGACAGATTCACTCTCACTATTGACAGCTCCAGCTG AAGATTCTGCAACTTACTATTGTCAACAGTCTGCCACTTCCCGATCACCTTTGGCCAAGGACACG ACTGGAGATTAATCCGAGGTTGGTGGCTCCGAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGAGGAGGATGGT CAGCTGGAGGGTCAATGAACTCTCATGTGCAGCCTCTGGATTCACTTCAATAAGTACGGCATGA ACTGGTCCGCCAGGCTCCAGGAAAGGTTTGGAAATGGTGTCTCGCATAAAGATAAATAATAATA TTATGCAACATATTATGCCGATTCAAGTGAAGACAGGTTCCACATCTCCAGAGATGATTCAAAAAAC ACTGCCTATCTCAAAATGAACAACTTGAAGTGGAGCAGCTGCCGTGACTACTGTGTGAGAGATG GGAACTTCGGTAATAGCTACATATCCTACTGGGCTTACTGGGCGCAAGGACTCTGGTCAACGCTCT CTCAGTGGTGGTGGTCTGGCGGCGGGCTCCGGTGGTGGTGGTCTCAGACTGTTGTGACTCAG GAACTTCACTACCGTATCACCTGGTGGAACTGACACTCACTTGTGGCTCTCGACTGGGCTG TTACATCTGGCTACTACCCAACTGGGTTCAACAAAACAGGTCAGGACCCCGTGGTCTAATAGG TGGGACTAAGTCTCTCGCCCCGGTACTCCTGCCAGATTCTCAGGCTCCCTGCTTGGAGGCAAGGCT GCCCTCACCTCTCAGGGGTACAGCCAGAGGATGAGGCAGAAATATTACTGTGCTCTATGGTACAGCA ACCGCTGGGTGTTCCGGTGGAGGAACCAACTGACTGCCTA
33	HL AF5 против CD33 x HL F12Q	искусственная	ак	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYFTNYGMNWKQAPGQGLKWMGWINTYGTEPTVADDFKGR VTMTSDTSTAYLELHNLRSDDTAVYICARWSWSDGYVYFDYWGQGTIVTVSSGGGSGGGGSGG GGSDIVMTQSPDLSLTVSLGERTTINCKSSQSVLDSKKNKNSLAWYQKPGQPPKLLLSWASTRESGI PDRFSGSGGTDFTLTIIDSLQPEDSATYYCQSAHFPITFGQTRLEIKS PQGSGLKLSCAASGFTFNKYMNNVWQAPGKLEWVARIRSKYNNYATYADSVKDRFTLIRSDSKN TAYLQMNLLKTEDTAVYICVRHGNFGNSYVSWWAYWGQGTIVTVSSGGGSGGGGSGGGGQTVVTQ EPLSLTVSPGGTIVLTCGSSSTGAVTSGYVYVWVQKPGQAPRGLIGGTRFLAPGTPARFSGSLGGKA ALTLVSGVQPEDEAEYVCLWYVSNRWVFGGTTKLTVL
34	HL AF5 против CD33 x HL F12Q	искусственная	нт	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGAGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGAGCTCAGTCAAGGTCTCCTGCA AGGCTAGCGGGTATACCTTCAAAAATATGGAATGAAGTGGTGAAGCAGGCTCCAGGACAGGTTT AAAGTGGATGGGCTGGATAAACACCTACACTGGAGAGCCAACATATGCTGATGACTTCAAGGGACGG

				GTTACCATGACTTCGGATACCTCTACCAGCACTGCCTATTTGAACTCCACAACTCAGAAGTGATG ACACGGCTGTATATTAAGTCTGCGCGCTGGAGTTGGAGTGATGGTTACTACGTTTACTTTGACTACTG GGGCCAAGGCACTACGGTACCGCTCCTCAGGTGGTGGTGGTTCTGGCGCGGGCGCTCCGGTGGT GGTGGTTCTGACATCGTGTATGACACAGTCTCCAGACTCCCTGACTGTCTCTGGGGAGAGGACCA CCATCAACTGCAAGTCCAGCCAGAGTGTTTAGACAGCTCCAGAATAAAGACTCCTTAGCTTTGGTA CCAGCAGAACCAGGACAGCTCCTAAATTAATCCTTTCTGGGCATACCGGGAAATCCGGGATC CCTACCATTACAGTGGCAGCGGGTCTGGGACAGATTTCACTCTCACTATTGACAGCTCGAGCTG AAGATTCTGCAACTTACTATTGTCAACAGTCTGCCACTTCCGATCACCTTTGGCCAAAGGACACG ACTGGAGATTAATCCGGAGTGGTGGTCCGAGGTGCAGTGGTCCAGTCTGGAGGAGGATTTGGT CAGCTGGAGGCTATTGAACTCTCATGTGCGCCCTCTGGATTCACTTCAATAGTACGCCATGA ACTGGTCCCGCAGGCTCCAGGAAAGGTTTGGAAATGGGTTGCTCGCATAAGAATAAATAATAATA TTATGCAACATATTATGCCGATTCAAGTAAAGGACAGGTTCCACATCTCCAGAGATGATTCAAAAAC ACTGCCTCTACAAATGAACAACTTAAAACTGAGGACACTGCCGTGACTACTGTGTGAGACATG GGAACCTCGGTAATAGTACGTTTCTGGTGGGCTTACTGGGGCCAAAGGACTCTGGTCAACGCTCTC CTCAGGTGGTGGTGGTCTGGCGCGCGGGCTCCGGTGGTGGTGGTCTCAGACTGTTGTGACTCAG GAACCTTCACTACCGTATCAGTGGTGAACAGTCAACTCACTTGTGGCTCCTGACTGGGGCTG TTACATCTGGCAACTACCCAACTGGTCCACAAAAACAGGTGAGGCACCCGCTGGTCTAATAGG TGGGACTAAGTCTCCGCCCGGCTACTCCTGCCAGATTCTCAGGCTCCCTGCTGGAGGCAAGGCT GCCCTACCCTCTCAGGGGTACAGCCAGAGGATGAGGCAGAATAATTAAGTGTCTTCTATGTTACAGCA ACCCTGGGTGGTGGTGGGAAACCAACTGACTGTCTCA
35	HL AF5 против CD33 x HL I2C	искусственная	ак	QVQLVQSGAEVKKPKASVKVSKASGYTFTNYGMNWVKAQPGQLKWMGWINITYGPEYTDYDFKGR VTMTSDTSTAYLELHNLRSDDTAVVYCARWSWSDGYVYVFDYWGQGTVTTVVSSGGGSGGGSGG GGSDIVMTQSPDLSLTVSLGERTTINCKSSQSVLDSKKNKNSLAWYQKPGQPKLLLSWASTRESGI PDRFSGSGDFTLITLDSLQPEDSATYQCQSAHFPIITFGQTRLEIKSGGGGSEVQLVLSGGGATV QPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWRQAPRGLWVARIKSYNNYATYYADSVKDRFTTISRDDSKN TAYLQMNLLKTEDTAVVYCVRHGNFNGSYISYWAYWGQGLTVTVSSGGGSGGGGSGGGGSLVVTG EPLSLTVSPGGTTLTCCGSSGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGGTFLKFLAPGTPARFSGSLGGLGKA ALLSLGVQPEDEAEYVCLWYSNRWVFGGTLKTLVL
36	HL AF5 против CD33 x HL I2C	искусственная	нт	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGAGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGAGCTCAGTCAAGGTCTCCTGCA AGGCTAGCGGGTATACCTTCAAACTATGGAATGAACTGGGTGAAGCAGGCTCCAGGACAGGTTT AAAGTGGATGGGCTGGATAAACACCTACACTGGAGAGCCAACATATGCTGATGACTCAAGGGACGG GTTACCATGACTTCGGATACCTCTACCAGCACTGCCTATTTGAACTCCACAACTCAGAAATGATG ACACGGCTGTATATTAAGTCTGCGCGCTGGAGTGGAGTGGTGTACTACGTTTACTTTGACTACTG GGGCCAAGGCACTACGGTCAACGCTCCTCAGGTGGTGGTGGTCTGGCGCGCGGGCTCCGGTGGT GGTGGTCTGACATCGTGTATGACACAGTCTCCAGACTCCCTGACTGTGTCTCTGGGGAGAGGACCA CCATCAACTGCAAGTCCAGCCAGAGTGTTTAGACAGCTCCAGAATAAAGACTCCTTAGCTTTGGTA CCAGCAGAACCAGGACAGCTCCTAAATTAATCCTTTCTGGGCATACCGGGGAAATCCGGGATC CCTGACCCATTACAGTGGCAGCGGGTCTGGGACAGATTTCACTCTCACTATTGACAGCTCGAGCTG AAGATTCTGCAACTTACTATTGTCAACAGTCTGCCCACTTCCGATCACCTTTGGGAGAGGACACG
				ACTGGAGATTAATCCGGAGTGGTGGTCCGAGGTGCAGCTGGTCCAGTCTGGAGGAGATTGGT CAGCTGGAGGGTCAATGAACTCTCATGTGCGCCCTCTGGATTCACTTCAATAGTACGCCATGA ACTGGTCCCGCAGGCTCCAGGAAAGGTTTGGAAATGGGTTGCTCGCATAAGAATAAATAATAATA TTATGCAACATATTATGCCGATTCAAGTAAAGGACAGGTTCCACATCTCCAGAGATGATTCAAAAAC ACTGCCTCTACAAATGAACAACTTAAAACTGAGGACACTGCCGTGACTACTGTGTGAGACATG GGAACCTCGGTAATAGTACATATCTTACTGGGCTTACTGGGGCCAAAGGACTCTGGTCAACGCTCTC CTCAGGTGGTGGTGGTCTGGCGCGCGGGCTCCGGTGGTGGTGGTCTCAGACTGTTGTGACTCAG GAACCTTCACTACCGTATCAGTGGTGAACAGTCAACTCACTTGTGGCTCCTGACTGGGGCTG TTACATCTGGCAACTACCCAACTGGTCCACAAAAACAGGTGAGGCACCCGCTGGTCTAATAGG TGGGACTAAGTCTCCGCCCGGCTACTCCTGCCAGATTCTCAGGCTCCCTGCTGGAGGCAAGGCT GCCCTACCCTCTCAGGGGTACAGCCAGAGGATGAGGCAGAATAATTAAGTGTCTTCTATGTTACAGCA ACCCTGGGTGGTGGTGGGAAACCAACTGACTGTCTCA
37	VH AC8 против CD33	искусственная	ак	QVQLVQSGAEVKKPKGSEVKVSKASGYTFTNYGMNWVKAQPGQLKWMGWINITYGPEYTDYDFKGR VTMTSDTSTAYMEIRNLNDDTAVVYCARWSWSDGYVYVFDYWGQGTVTTVVSS
38	HCDR1 AC8 против CD33	искусственная	ак	NYGMN
39	HCDR2 AC8 против CD33	искусственная	ак	WINTYTGPEYTDYDFKGR
40	HCDR3 AC8 против CD33	искусственная	ак	WSWSDGYVYVFDY
41	VH AC8 против CD33	искусственная	нт	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGAGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGAGCTCAGTCAAGGTCTCCTGCA AGGCTAGCGGGTATACCTTCAAACTATGGAATGAACTGGGTGAAGCAGGCTCCAGGACAGGTTT AAAGTGGATGGGCTGGATAAACACCTACACTGGAGAGCCAACATATGCTGATGACTCAAGGGACGG GTTACCATGACTTCGGATACCTCTACCAGCACTGCCTATATGGAATCCGCAACTCAGAAATGATG ACACGGCTGTATATTAAGTCTGCGCGCTGGAGTGGAGTGGTGTACTACGTTTACTTTGACTACTG GGGCCAAGGCACTACGGTCAACGCTCCTCA
42	VL AC8 против CD33	искусственная	ак	DIVMTQSPDLSLTVSLGERTTINCKSSQSVLDSKKNKNSLAWYQKPGQPKLLLSWASTRESGI PDRFSGSGDFTLITLDSLQPEDSATYQCQSAHFPIITFGQTRLEIK
43	LCDR1 AC8 против CD33	искусственная	ак	KSSQSVLDSKKNKNSLA
44	LCDR2 AC8 против CD33	искусственная	ак	WASTRES
45	LCDR3 AC8 против CD33	искусственная	ак	QCSAHFPIIT
46	VL AC8 против CD33	искусственная	нт	GACATCGTGTATGACACAGTCTCCAGACTCCCTGACTGTGTCTCTGGGGAGAGGACCCACATCAACT

				GCAAGTCAGCCAGAGTGTTTAGACAGCTCCAAGAATAAGAACTCCTTAGCTTGGTACCAGCAGAA ACCCAGGACAGGCTCCTAAATTAACCTTTCTGGGCATCTACGGGGAATCCGGGATCCCTGACCGA TTCAGTGGCAGCGGTCTGGGACAGATTTCACTCTCACTATTGACAGCCTGCAGCCTGAAGATTCTG CAACTACTATTGTCAACAGTCTGCCCACTTCCCGATCACCTTTGGCCAGGGACACAGCTGGAGAT TAAA
47	HL AC8 против CD33	искусственная	ак	QVQLVQSGAEVKKPESVKVSCKASGYTFITNYGMNWKQAPGQGLKMMGWINTYTGPEYTDYDFKGR VTMTDTSTSTAYMEIRLNLRNDDTAVYICARWSWSDGYVYFDYWGQGTITVTVSSGGGSGGGGSGG GGSDIVMTQSPDLSLTVSLGERTTINCKSSQSVLDSKKNKNSLAWYQKPGQPKLLLSWASTRESGI PDRFSGSGGTDFTLTIIDSLQPEDSATYVYQQSAHFFITFGQGTREIK
48	HL AC8 против CD33	искусственная	нт	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGAGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGAGAGTCAAGTCTCCTGCA AGGCTAGCGGGTATACCTTCAAAAATATGGAATGAACCTGGGTGAAGCAGGCTCCAGGACAGGGTTT AAAGTGGATGGGCTGGATAAACACCTACACTGGAGGCCAACATATGCTGATGACTCAAGGGACGG GTTACCATGACTACGGATACCTCTACCAGCACTGCCTATATGGAATCCGCAACCTCAGAAATGATG ACACGGCTGTATATTAAGTGTGCGCGCTGGAATGGAGTATGGTTACTACGTTTACTTTGACTACTG GGGCCAAGGCACTACGGTACCGTCTCCTCAGGTGGTGGTGGTCTGGCGGGGGCGCTCCGGTGGT GGTGGTCTGACATCGTGATGACACAGTCTCCAGACTCCCTGACTGTGTCTCTGGCGAGAGGACCA CCATCAACTGCAAGTCCAGCCAGAGTGTTTAGACAGCTCCAAGAATAAGAACTCCTTAGCTGGTA CCAGCAGAAACAGGACAGCCTCTAAATTAACCTTTCTGGGCATCTACGGGGGAATCCGGGATC CCTGACCGATTCAAGTGGCAGCGGTCTGGGACAGATTCACTCTCACTATTGACAGCCTGACAGCTG AAGATTCTGCAACTTACTATTGTCAACAGTCTGCCCACTTCCCGATCACCTTTGGCCAAAGGACAGC ACTGGAGATTAAA
49	HL AC8 против CD33 x HL H2C	искусственная	ак	QVQLVQSGAEVKKPESVKVSCKASGYTFITNYGMNWKQAPGQGLKMMGWINTYTGPEYTDYDFKGR VTMTDTSTSTAYMEIRLNLRNDDTAVYICARWSWSDGYVYFDYWGQGTITVTVSSGGGSGGGGSGG GGSDIVMTQSPDLSLTVSLGERTTINCKSSQSVLDSKKNKNSLAWYQKPGQPKLLLSWASTRESGI PDRFSGSGGTDFTLTIIDSLQPEDSATYVYQQSAHFFITFGQGTREIKSGGGGSEVQLVESGGGLV QPFGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWRQAPGKLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTTISRDDSKN TAYLQMNLRKEDTAVYICVRHGNFNSYISWYAWGQGTITVTVSSGGGSGGGGSGGGGTVVTVQ EPLSLTVSPGGTITLTCGSSGAVTSGYVFNWVQKPGQAPRGLIGGTFKFLAPGTFARFVSGLLGGKA ALTLISGVQPEDEAEYVYCALWYNSRWVFGGKTLTVL
50	HL AC8 против CD33 x HL H2C	искусственная	нт	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGAGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGAGAGTCAAGTCTCCTGCA AGGCTAGCGGGTATACCTTCAAAAATATGGAATGAACCTGGGTGAAGCAGGCTCCAGGACAGGGTTT AAAGTGGATGGGCTGGATAAACACCTACACTGGAGGCCAACATATGCTGATGACTCAAGGGACGG GTTACCATGACTACGGATACCTCTACCAGCACTGCCTATATGGAATCCGCAACCTCAGAAATGATG ACACGGCTGTATATTAAGTGTGCGCGCTGGAATGGAGTATGGTTACTACGTTTACTTTGACTACTG GGGCCAAGGCACTACGGTACCGTCTCCTCAGGTGGTGGTGGTCTGGCGGGGGCGCTCCGGTGGT GGTGGTCTGACATCGTGATGACACAGTCTCCAGACTCCCTGACTGTGTCTCTGGCGAGAGGACCA CCATCAACTGCAAGTCCAGCCAGAGTGTTTAGACAGCTCCAAGAATAAGAACTCCTTAGCTGGTA CCAGCAGAAACAGGACAGCCTCTAAATTAACCTTTCTGGGCATCTACGGGGGAATCCGGGATC CCTGACCGATTCAAGTGGCAGCGGTCTGGGACAGATTCACTCTCACTATTGACAGCCTGACAGCTG
				AAGATTCTGCAACTTACTATTGTCAACAGTCTGCCCACTTCCCGATCACCTTTGGCCAAAGGACACG ACTGGAGATTAAATCCGGAGGTGGTGGCTCCGAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGAGGAGGATTTGGT CAGCCTGGAGGGTCATTGAAACTCTCATGTGCAGCCTCTGGATTCACTTCAATTAAGTAACTTAA ACTGGTCCCGCAGGCTCCAGGAARGGTTTGAATGGTGTCTGCATAAAGAATAAATAATAATA TTATGCAACATATATCCCGATTCAAGTGAAGACAGGTTCCACATCTCCAGAGATGATCAAAAAAC ACTGCCTATCTACAAATGAACAATTTGAAACTGAGGACACTGCCGTGTACTACTGTGTGAGACATG GGAACCTCGGTAATAGCTACATATCTACTGGGCTTACTGGGSCAAAGGACTCTGGTCACTCCTC CTCAGGTGGTGGTGGTCTGGCGGGGGCGGCTCCGGTGGTGGTGGTCTCAGACTGTTGTGACTCAG GAACTTCACTCAGGTATCACCTGGTGAACAGTCACTCACTTGTGGCTCCTCAGCTGGGGCTG TTACATCTGGCTACTACCAAACTGGTCCAAACAAAACAGGTCAGGCACCCCTGGTCTAATAGT TGGACTAAGTTCTCGCCCCGGTACTCCTGCCAGATTCTCAGGCTCCCTGCTTGAAGGCAAGGCT GCCCTCACCTCTCAGGGGTACAGCCAGAGGATGAGGCAAGATTAATCTGTCTATGATGATACAGCA ACCGTGGGTGTTCCGGTGGAGAACCAAACTGACTGTCCCTA
51	HL AC8 против CD33 x HL F12Q	искусственная	ак	QVQLVQSGAEVKKPESVKVSCKASGYTFITNYGMNWKQAPGQGLKMMGWINTYTGPEYTDYDFKGR VTMTDTSTSTAYMEIRLNLRNDDTAVYICARWSWSDGYVYFDYWGQGTITVTVSSGGGSGGGGSGG GGSDIVMTQSPDLSLTVSLGERTTINCKSSQSVLDSKKNKNSLAWYQKPGQPKLLLSWASTRESGI PDRFSGSGGTDFTLTIIDSLQPEDSATYVYQQSAHFFITFGQGTREIKSGGGGSEVQLVESGGGLV QPFGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWRQAPGKLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTTISRDDSKN TAYLQMNLRKEDTAVYICVRHGNFNSYISWYAWGQGTITVTVSSGGGSGGGGSGGGGTVVTVQ EPLSLTVSPGGTITLTCGSSGAVTSGYVFNWVQKPGQAPRGLIGGTFKFLAPGTFARFVSGLLGGKA ALTLISGVQPEDEAEYVYCVLWYNSRWVFGGKTLTVL
52	HL AC8 против CD33 x HL F12Q	искусственная	нт	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGAGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGAGAGTCAAGTCTCCTGCA AGGCTAGCGGGTATACCTTCAAAAATATGGAATGAACCTGGGTGAAGCAGGCTCCAGGACAGGGTTT AAAGTGGATGGGCTGGATAAACACCTACACTGGAGGCCAACATATGCTGATGACTCAAGGGACGG GTTACCATGACTACGGATACCTCTACCAGCACTGCCTATATGGAATCCGCAACCTCAGAAATGATG ACACGGCTGTATATTAAGTGTGCGCGCTGGAATGGAGTATGGTTACTACGTTTACTTTGACTACTG GGGCCAAGGCACTACGGTACCGTCTCCTCAGGTGGTGGTGGTCTGGCGGGGGCGCTCCGGTGGT GGTGGTCTGACATCGTGATGACACAGTCTCCAGACTCCCTGACTGTGTCTCTGGCGAGAGGACCA CCATCAACTGCAAGTCCAGCCAGAGTGTTTAGACAGCTCCAAGAATAAGAACTCCTTAGCTGGTA CCAGCAGAAACAGGACAGCCTCTAAATTAACCTTTCTGGGCATCTACGGGGGAATCCGGGATC CCTGACCGATTCAAGTGGCAGCGGTCTGGGACAGATTCACTCTCACTATTGACAGCCTGACAGCTG AAGATTCTGCAACTTACTATTGTCAACAGTCTGCCCACTTCCCGATCACCTTTGGCCAAAGGACAGC ACTGGAGATTAAATCCCGAGGTGGTGGCTCCAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGAGAGGATTTGGT CAGCCTGGAGGTCATTGAACTCTCATGTGCAGCCTCTGGATTCACTTCAATAGCTACCGCATGA ACTGGTCCCGCAGGCTCCAGGAARGGTTTGAATGGTGTCTGCATAAAGAATAAATAATAATA TTATGCAACATATATCCCGATTCAAGTGAAGGACAGGTTCCACATCTCCAGAGATGATCAAAAAAC ACTGCCTATCTACAAATGAACAATTTGAAACTGAGGACACTGCCGTGTACTACTGTGAGACATG GGAACCTCGGTAATAGCTACGTTTCTGGTGGGCTTACTGGGCAAGGACTCTGGTCACTGCTC CTCAGGTGGTGGTGGTCTGGCGGGGGCGGCTCCGGTGGTGGTGGTCTCAGACTGTTGTGACTCAG

				GGTGGTTCGACATCGTGATGACACAGTCTCCAGACTCCCTGACTGTGTCTCTGGGGCAGAGGACCA CCATCAACTGCAAGTCCAGCCAGAGTGTTTAGACAGCTCCAAGAATAAGAACTCCTTAGTCTGGTA CCAGCAAAACAGGACAGCTCCTAAATTAAGTCTCTTCCCTGGGCATCTACGGGGAAACCGGGATG CCTGACCGATTGAGTGGCAGCGGGTCTGGGACAGATTCACTCTCACTATTGACAGGATCGAGCTG AAGATTCTGCAACTACTATTGTCACACAGTCTGCCACTTCCCGATCACTTTGGCCAAAGGACAGC ACTGGAGATTAAA
67	HL AH11 против CD33 x HL H2C	искусственная	ак	QVQLVQSGAEVKKPESVKVSCKASGYTFNRYGMNVRKQAPGQGLKRWGINTYTYGEPYADDPKGR VTMTSDTSTAYMEISSLRSDDTAVVYCARWSWDGYVYFDYWGQTTVTVSSGGGGGGGGGGGG GGSDIVMTQSPDLSLTVSLGERTTINCKSSQSVLDSKKNKNSLAWYQQKPKPPKLLLSWASTRESGI PDRFSGSGGSDFTLTLIDSLQPEDSATYCYQSSAHFPIITFGQGTREIKSGGGGSEVQVLSVSGGGV QPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWRQAPKRGLEWVARIKSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKN TAYLQMNLLKTEDTAVVYCVRHGNFGNSYISYWAYWQGTLLVTVSSGGGGGGGGGGGGGGTQVVTQ EPLSLTVSPGGTTLTCSSTGAVTSGYVFNWVQKPKQAPRGLIGGTFKFLAPGTARFSGSLGGKA ALLTSLGVPEDEAEYCYLVWYNSRWVFGGKTLTVL
68	HL AH11 против CD33 x HL H2C	искусственная	нт	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGAGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGAGAGTCAAGTCTCCTGCA AGGCTAGCGGGTATACCTTCAACAACTATGGAATGAAGTGGGTGAAGCAGGCTCCAGGACAGGGTTT AAAGTGGATGGGCTGGATAAACACCTACACTGGAGAGCCAACATATGCTGATGACTCAAGGGACGG GTTACCATGACTTCGGATACCTTACACAGCACTGCCTATATGGAATCAGCAGCCTCAAGAGTGAAG ACACGGCTGATATTAAGTCTGGCGCTGGAGTGGAGTGAAGTACTACTGCTTACTTGGACTACTG GGGCCAAGGCACTACGGTCAACGCTCTCCTCAGGTGGTGGTGGTCTGGCGGGGGGGGGTCCGGTGGT GGTGGTCTGACATCGTGATGACACAGTCTCCAGACTCCCTGACTGTGTCTCTGGGGCAGAGGACCA CCATCAACTGCAAGTCCAGCCAGAGTGTTTAGACAGCTCCAAGAATAAGAACTCCTTAGTCTGGTA CCAGCAGAACCAGGACAGCCTCCTAAATTAAGTCTCCTTCCCTGGGCATCTACGGGGAAATCCGGATC CCTGACCGATTCAAGTGGCAGCGGGTCTGGGACAGATTTCACTCTCACTATTGACAGCCTCGAGCCTG AAGATTCTGCAACTACTATTGTCACACAGTCTGCCACTTCCCGATCACTTTGGCCAAAGGACAGC ACTGGAGATTAAATCCGGAGGTGGTGGTCCGAGGTGCAGCTGGTCAAGTCTGGAGGAGGAGTGGT CAGCCTGGAGGGTCAATGAAACTCTCATGTGCAGCCTCTGGATTCACTTCAATAGTACGCCATGA ACTGGTCCGCCAGGCTCCAGGAAAGGGTTTGGAAATGGGTGCTCGCATAAAGAATAAATAATAA TTATGCAACATATTAAGCAGTTCAGTGAAGAGCAGGTTCAACATCTCCAGAGATGATCAAAAAC ACTGCCTATCTCAAAATGAACAACTTGAACACTGAGGACACTGCCGTGACTACTGTGAGGACATG GGAACTTCGGTAATAGTACATATCTACTGGGCTTACTGGGGCCAAAGGACTCTGGTCAACGCTCTC CTCAGTGGTGGTGGTCTGGCGGGGGGGCTCCGGTGGTGGTGGTCTCAGACTGTTGTGACTCAG GAACCTTCACTACCGTATCACTGGTGAACAGTCAACTCACTTGTGGCTCTGACTGGGGCTG TTACATCTGGTACTACCCAACTGGTCCAAACAAAACAGGTGAGGACCCCTGGTCTAATAGG TGGGACTAAGTCTCCGCCCGGGTACTCCTGCCAGATTCTCAGGCTCCCTGCTTGAAGGCAAGGCT GCCCTCACCCTCTCAGGGGTACAGCCAGAGGATGAGGCAGAATAATTAAGTCTGTCTATGTCACGCA ACCGCTGGTGGTTCGGTGGAGAACCAAACTGACTGTCCTA
69	HL AH11 против CD33 x HL F12Q	искусственная	ак	QVQLVQSGAEVKKPESVKVSCKASGYTFNRYGMNVRKQAPGQGLKRWGINTYTYGEPYADDPKGR VTMTSDTSTAYMEISSLRSDDTAVVYCARWSWDGYVYFDYWGQTTVTVSSGGGGGGGGGGGG GGSDIVMTQSPDLSLTVSLGERTTINCKSSQSVLDSKKNKNSLAWYQQKPKPPKLLLSWASTRESGI PDRFSGSGGSDFTLTLIDSLQPEDSATYCYQSSAHFPIITFGQGTREIKSGGGGSEVQVLSVSGGGV QPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWRQAPKRGLEWVARIKSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKN TAYLQMNLLKTEDTAVVYCVRHGNFGNSYISYWAYWQGTLLVTVSSGGGGGGGGGGGGGGTQVVTQ EPLSLTVSPGGTTLTCSSTGAVTSGYVFNWVQKPKQAPRGLIGGTFKFLAPGTARFSGSLGGKA ALLTSLGVPEDEAEYCYLVWYNSRWVFGGKTLTVL
70	HL AH11 против CD33 x HL F12Q	искусственная	нт	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGAGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGAGAGTCAAGTCTCCTGCA AGGCTAGCGGGTATACCTTCAACAACTATGGAATGAAGTGGGTGAAGCAGGCTCCAGGACAGGGTTT AAAGTGGATGGGCTGGATAAACACCTACACTGGAGAGCCAACATATGCTGATGACTCAAGGGACGG GTTACCATGACTTCGGATACCTTACACAGCACTGCCTATATGGAATCAGCAGCCTCAAGAGTGAAG ACACGGCTGATATTAAGTCTGGCGCTGGAGTGGAGTGAAGTACTACTGCTTACTTGGACTACTG GGGCCAAGGCACTACGGTCAACGCTCTCCTCAGGTGGTGGTGGTCTGGCGGGGGGGGGTCCGGTGGT GGTGGTCTGACATCGTGATGACACAGTCTCCAGACTCCCTGACTGTGTCTCTGGGGCAGAGGACCA CCATCAACTGCAAGTCCAGCCAGAGTGTTTAGACAGCTCCAAGAATAAGAACTCCTTAGTCTGGTA CCAGCAGAACCAGGACAGCCTCCTAAATTAAGTCTCCTTCCCTGGGCATCTACGGGGAAATCCGGGATC CCTGACCGATTCAAGTGGCAGCGGGTCTGGGACAGATTTCACTCTCACTATTGACAGCCTGCAGCCTG AAGATTCTGCAACTACTATTGTCACACAGTCTGCCACTTCCCGATCACTTTGGCCAAAGGACAGC ACTGGAGATTAAATCCGGAGGTGGTGGTCCGAGGTGCAGCTGGTCAAGTCTGGAGGAGGATTTGGT CAGCCTGGAGGGTCAATGAAACTCTCATGTGCAGCCTCTGGATTCACTTCAATAGTACGCCATGA ACTGGTCCGCCAGGCTCCAGGAAAGGGTTTGGAAATGGGTGCTCGCATAAAGAATAAATAATAA TTATGCAACATATTAAGCAGTTCAGTGAAGAGCAGGTTCAACATCTCCAGAGATGATCAAAAAC ACTGCCTATCTCAAAATGAACAACTTGAACACTGAGGACACTGCCGTGACTACTGTGAGGACATG GGAACTTCGGTAATAGTACTGTTCTGGTGGGCTTACTGGGGCCAAAGGACTCTGGTCAACGCTCTC CTCAGGTGGTGGTGGTCTGGCGGGGGGGCTCCGGTGGTGGTGGTCTCAGACTGTTGTGACTCAG GAACCTTCACTACCGTATCACTGGTGAACAGTCAACTCACTTGTGGCTCTGACTGGGGCTG TTACATCTGGCACTACCCAACTGGTCCAAACAAAACAGGTGAGGACCCCTGGTCTAATAGG TGGGACTAAGTCTCCGCCCGGGTACTCCTGCCAGATTCTCAGGCTCCCTGCTTGAAGGCAAGGCT GCCCTCACCCTCTCAGGGGTACAGCCAGAGGATGAGGCAGAATAATTAAGTCTGTCTATGTCACGCA ACCGCTGGTGGTTCGGTGGAGAACCAAACTGACTGTCCTA
71	HL AH11 против CD33 x HL I2C	искусственная	ак	QVQLVQSGAEVKKPESVKVSCKASGYTFNRYGMNVRKQAPGQGLKRWGINTYTYGEPYADDPKGR VTMTSDTSTAYMEISSLRSDDTAVVYCARWSWDGYVYFDYWGQTTVTVSSGGGGGGGGGGGG GGSDIVMTQSPDLSLTVSLGERTTINCKSSQSVLDSKKNKNSLAWYQQKPKPPKLLLSWASTRESGI PDRFSGSGGSDFTLTLIDSLQPEDSATYCYQSSAHFPIITFGQGTREIKSGGGGSEVQVLSVSGGGV QPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWRQAPKRGLEWVARIKSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKN TAYLQMNLLKTEDTAVVYCVRHGNFGNSYISYWAYWQGTLLVTVSSGGGGGGGGGGGGGGTQVVTQ EPLSLTVSPGGTTLTCSSTGAVTSGYVFNWVQKPKQAPRGLIGGTFKFLAPGTARFSGSLGGKA ALLTSLGVPEDEAEYCYLVWYNSRWVFGGKTLTVL
72	HL AH11 против CD33 x HL I2C	искусственная	нт	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGAGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGAGAGTCAAGTCTCCTGCA AGGCTAGCGGGTATACCTTCAACAACTATGGAATGAAGTGGGTGAAGCAGGCTCCAGGACAGGGTTT AAAGTGGATGGGCTGGATAAACACCTACACTGGAGAGCCAACATATGCTGATGACTCAAGGGACGG GTTACCATGACTTCGGATACCTTACACAGCACTGCCTATATGGAATCAGCAGCCTCAAGAGTGAAG ACACGGCTGATATTAAGTCTGGCGCTGGAGTGGAGTGAAGTACTACTGCTTACTTGGACTACTG GGGCCAAGGCACTACGGTCAACGCTCTCCTCAGGTGGTGGTGGTCTGGCGGGGGGGGGTCCGGTGGT GGTGGTCTGACATCGTGATGACACAGTCTCCAGACTCCCTGACTGTGTCTCTGGGGCAGAGGACCA CCATCAACTGCAAGTCCAGCCAGAGTGTTTAGACAGCTCCAAGAATAAGAACTCCTTAGTCTGGTA CCAGCAGAACCAGGACAGCCTCCTAAATTAAGTCTCCTTCCCTGGGCATCTACGGGGAAATCCGGGATC CCTGACCGATTCAAGTGGCAGCGGGTCTGGGACAGATTTCACTCTCACTATTGACAGCCTGCAGCCTG AAGATTCTGCAACTACTATTGTCACACAGTCTGCCACTTCCCGATCACTTTGGCCAAAGGACAGC ACTGGAGATTAAATCCGGAGGTGGTGGTCCGAGGTGCAGCTGGTCAAGTCTGGAGGAGGATTTGGT CAGCCTGGAGGGTCAATGAAACTCTCATGTGCAGCCTCTGGATTCACTTCAATAGTACGCCATGA ACTGGTCCGCCAGGCTCCAGGAAAGGGTTTGGAAATGGGTGCTCGCATAAAGAATAAATAATAA TTATGCAACATATTAAGCAGTTCAGTGAAGAGCAGGTTCAACATCTCCAGAGATGATCAAAAAC ACTGCCTATCTCAAAATGAACAACTTGAACACTGAGGACACTGCCGTGACTACTGTGAGGACATG GGAACTTCGGTAATAGTACTGTTCTGGTGGGCTTACTGGGGCCAAAGGACTCTGGTCAACGCTCTC CTCAGGTGGTGGTGGTCTGGCGGGGGGGCTCCGGTGGTGGTGGTCTCAGACTGTTGTGACTCAG GAACCTTCACTACCGTATCACTGGTGAACAGTCAACTCACTTGTGGCTCTGACTGGGGCTG TTACATCTGGCACTACCCAACTGGTCCAAACAAAACAGGTGAGGACCCCTGGTCTAATAGG TGGGACTAAGTCTCCGCCCGGGTACTCCTGCCAGATTCTCAGGCTCCCTGCTTGAAGGCAAGGCT GCCCTCACCCTCTCAGGGGTACAGCCAGAGGATGAGGCAGAATAATTAAGTCTGTCTATGTCACGCA ACCGCTGGTGGTTCGGTGGAGAACCAAACTGACTGTCCTA

				AAAGTGGATGGGCTGGATAAACACCTACACTGGAGGCCAACATATGCTGATGACTTCAAGGGACGGG GTTACCATGACTTCGGATACCTTACCAGCACTGCCTATATGGAAATCAGCAGCCTCAGAAGTATGATG ACACGGCTGTATATTAAGTACCTGTGCGCGCTGGAGTGGAGTGGTGTACTACGTTTACTTTGACTACTG GGGCCAAGGCACTACGGTCCAGCTCTCCTCAGGTGGTGGTGGTCTGGCGGGGGGGCTCCGGTGGT GGTGGTCTGACATCGTGTACACAGTCTCCAGACTCCCTGACTGTGTCTGGGGGAGAGGACCA CCATCAACTGCAAGTCCAGCAGAGTGTTTAGACAGCTCCAAGAATAAGAACTCCTTAGCTTGGTA CCAGCAAGAACAGGACAGCCTCTAAATTAATCTCTTCTGGGATACAGCGGGAATCCGGGATC CCTGACCGATTCACTGGCAGCGGGTCTGGGACAGATTTCACTCTCACTATTGACAGCCTGCAGCCTG AAGATTCTGCAACTTACTATTGTCAACAGTCTGCCCACTCCCGATCACCTTTGGCCAAAGGACACG ACTGGAGATTAATCCGGAGGTGGTGGCTCCGAGGTGCAGTGGTGGAGTCTGGAGGAGGATTTGGT CAGCCTGGAGGTCATTGAACTCTCATGTGACGCTCTGGATTACCTTCAATAAGTACGGCATGA ACTGGTCCCGCAGGCTCCAGGAAAGGTTTGAATGGTGTCTCGCATAAAGATAAATAATAA TTATGCAACATATTTATGCCGATTCACTGAAAGACAGGTTCCACATCTCCAGAGATGATTCAAAAAC ACTGCCTATCTCAAAATGAACACTTGAACACTGAGGACACTGCCGTACTACTGTGTGAGACATG GGAACTTCGGTAATAGCTACATATCTACTGGGCTTACTGGGGCAAGGACTCTGGTCAACCTCTC CTCAGTGGTGGTGGTCTGGCGGGGGGGCTCCGGTGGTGGTGGTCTCAGACTGTGTGACTCAG GAACCTTCACTACCGTATCACCTGGTGAACAGTCAACTCACTTGGTGGTCTCGACTGGGCTG TTACATCTGGCACTACCAACTGGTCCAAACAAAACAGGTCAGGACACCCCTGGTCTAATAGG TGGGACTAAGTCTCCGGCCCCGGTACTCCTGCCAGATTCTCAGGCTCCCTGCTTGGAGGCAAGGCT GCCCTCACCTCTCAGGGGTACAGCAGAGGATGAGGACAGATTAATCTGTGTCTATGTTACAGCA ACCGCTGGTGTCCGGTGGAGAACCAACTGACTGTCCTA
73	VH B3 против CD33	искусственная	ак	QVQLVQSGAEVKKPGESVKVSKASGYFTFTNYGMNHWKQAPGQGLEWMGWINTYTGETNYADKQGR VTFTSDTSTAYMELRNLRKSDTAVVYCARWSWSDGYVYVFDYWGQGTVTVVS
74	HCDR1 B3 против CD33	искусственная	ак	NYGMN
75	HCDR2 B3 против CD33	искусственная	ак	WINTYTGETNYADKQGG
76	HCDR3 B3 против CD33	искусственная	ак	WSWSDGYVYVFDY
77	VH B3 против CD33	искусственная	нт	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGAGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGAGAGTCAGTCAAGGTCTCCTGCA AGGCTAGCGGGTATACCTTCAAAACTATGGAATGAATGGGTGAAGCAGGCTCCAGGACAGGTTT AGAGTGGATGGCTGGATAAACACCTACACTGGAGAGACAACTATGCTGATAAGTTCCAGGGACGC GTTACTTCACTTCGGATACCTTACCAGCACTGCCTATATGGAACCTCCGCAACTCAAAAGTATG ACACGGCTGTATATTAAGTCTGCGCGCTGGAGTTGGAGTGGTGTACTACGTTTACTTTGACTACTG GGGCCAAGGCACTAGGCTCACCGTCTCCTCA
78	VL B3 против CD33	искусственная	ак	DI VMTQSPDSMTVSLGERTTINCKSSQSVLDSSTNKNSLAWYQQKPGQPPKLLLSWASTRESGI PDR FSGSGSDTFTLTIDSLQPEDSATYCYQSAHFPIITFGQGTRLDIK
79	LCDR1 B3 против CD33	искусственная	ак	KSSQSVLDSSTNKNSLA
80	LCDR2 B3 против CD33	искусственная	ак	WASTRE
81	LCDR3 B3 против CD33	искусственная	ак	QQSAHFPIIT
82	VL B3 против CD33	искусственная	нт	GACATCGTGATGACACAGTCTCCAGACTCCATGACTGTGTCTCTGGCGGAGAGGACCACCATCAACT GCAAGTCCAGCCAGAGTGTTTAGACAGCTCCACGAAATAAGAACTCCTTAGCTGGTACCAGCAGAA ACCAGGACAGCCTCTAAATTAATCTCTTCCCTGGGCATCTACCGCGGAAATCCGGGATCCCTGACCGA TTCAGTGGCAGCGGGTCTGGGACAGATTTCACTCTCACTATTGACAGCTGACAGCTTGAAGATCTG CAACTTACTATTGTCAACAGTCTGCCCACTTCCCGATCACCTTTGGCCAAAGGACACGACTGGACAT TAAA
83	HL B3 против CD33	искусственная	ак	QVQLVQSGAEVKKPGESVKVSKASGYFTFTNYGMNHWKQAPGQGLEWMGWINTYTGETNYADKQGR VTFTSDTSTAYMELRNLRKSDTAVVYCARWSWSDGYVYVFDYWGQGTVTVVS SGGGSGGGGSGG GGSDI VMTQSPDSMTVSLGERTTINCKSSQSVLDSSTNKNSLAWYQQKPGQPPKLLLSWASTRESGI PDRFSGSGSDTFTLTIDSLQPEDSATYCYQSAHFPIITFGQGTRLDIK
84	HL B3 против CD33	искусственная	нт	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGAGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGAGAGTCAGTCAAGGTCTCCTGCA AGGCTAGCGGGTATACCTTCAAAACTATGGAATGAATGGGTGAAGCAGGCTCCAGGACAGGTTT AGAGTGGATGGCTGGATAAACACCTACACTGGAGAGACAACTATGCTGATAAGTTCCAGGACAGC GTTACTTCACTTCGGATACCTTACCAGCACTGCCTATATGGAACCTCCGCAACTCAAAAGTATG ACACGGCTGTATATTAAGTCTGCGCGCTGGAGTTGGAGTGGTGTACTACGTTTACTTTGACTACTG GGGCCAAGGCACTACCGTCAACCTCTCCTCAGTGGTGGTGGTCTGGCGGGGGGGCTCCGGTGGT GGTGGTCTGACATCGTGTGACACAGTCTCCAGACTCCATGACTGTGTCTCTGGCGGAGAGGACCA CCATCAACTGCAAGTCCAGCAGAGTGTTTAGACAGCTCCACGAAATAAGAACTCCTTAGCTTGGTA CCAGCAGAAACAGGACAGCCTCTAAATTAATCTCTTCCCTGGGATCTACCGGGGATCCGGGATC CCTGACCGATTCACTGGCAGCGGGTCTGGGACAGATTTCACTCTCACTATTGACAGCTTGCAGCTG AAGATTCTGCAACTTACTATTGTCAACAGTCTGCCCACTCCCGATCACCTTTGGCCAAAGGACACG ACTGGACATAAA
85	HL B3 против CD33 x HL H2C	искусственная	ак	QVQLVQSGAEVKKPGESVKVSKASGYFTFTNYGMNHWKQAPGQGLEWMGWINTYTGETNYADKQGR VTFTSDTSTAYMELRNLRKSDTAVVYCARWSWSDGYVYVFDYWGQGTVTVVS SGGGSGGGGSGG GGSDI VMTQSPDSMTVSLGERTTINCKSSQSVLDSSTNKNSLAWYQQKPGQPPKLLLSWASTRESGI PDRFSGSGSDTFTLTIDSLQPEDSATYCYQSAHFPIITFGQGTRLDIK SGGGSGGGGSGGGGSG QPGGSLKLSCAASGTFNFKYAMNHWKQAPGKGLWEVARIKSKYNNYATYADSVKDRFTIISRDDSKN TAYLQMNLRKTEDTAVVYCVRHGNFNSYI SYWAYWGQGTLVTVSSGGGSGGGGSGGGGSGTVVQ EPLTVSPGGTIVLTCGSSGAVTSGYPNVWQKPGQAPRGLIGGTFKFLAPGTARFSGSLGGKA ALTLSCVQPEDEAEYCALWYSNRWVFGGKLTIVL
86	HL B3 против CD33 x HL H2C	искусственная	нт	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGAGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGAGAGTCAGTCAAGGTCTCCTGCA AGGCTAGCGGGTATACCTTCAAAACTATGGAATGAATGGGTGAAGCAGGCTCCAGGACAGGTTT AGAGTGGATGGCTGGATAAACACCTACACTGGAGAGACAACTATGCTGATAAGTTCCAGGACAGC GTTACTTCACTTCGGATACCTTACCAGCACTGCCTATATGGAACCTCCGCAACTCAAAAGTATG

				ACACGGCTGTATATTACTGTGCGCGCTGGAGTTGGAGTGATGGTTACTACGTTTACTTTGACTACTG GGGCCAAGGCACTACGGTCACCGTCTCCTCAGGTTGGTGGTGGTCTGGCGCGCGCGCTCCGGTGGT GGTGGTCTGACATCGTGATGACACAGTCTCCAGACTCCATGACTGTGTCTCTGGCGGAGAGGACCA CCATCAACTGCAAGTCCAGCCAGAGTGTTTAGACAGCTCCACGAATAAGAACTCCTTAGCTTGGTA CCAGCAGAAACAGGACAGCTCCTAAATTAATCCTTCTCTGGGCATCTACGCGGGAATCCGGGATC CCTGACCGATTCACTGGCAGCGGCTCTGGACAGATTTCACTCTCACTATTGACAGCTCCAGCTG AAGATTCTGCAACTTACTATTGTCAACAGTCTGCCACTTCCGATCACCTTTGGCCAGGGGACAGC ACTGGACATTAATCCGAGGTGGTGGTCCGAGGTGCAAGTGGTCACTCTGGAGGAGGATTGGTG CAGCCTGGAGGGTCATTGAACTCTCATGTGCAGCCTCTGGATTCACTTCAATAAGTACGCCATGA ACTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGAAAGGTTTGGAAATGGTGTGCTCGCATAAAGTAAATATAATAA TTATGCAACATATTATGCCGATTCACTGAAAGACAGGTTCCACATCTCCAGAGATGATTCAAAAAC ACTGCSTACTCAAAATGAACAACCTGAAACTGAGGACACTGCCGTACTACTGTGTGAGACATG GGAACTTCGGTAATAGCTACATATCCTACTGGGCTTACTGGGGCAAGGACTCTGGTCAACCTCTC CTCAGTGGTGGTGGTCTGGCGCGCGGCTCCGGTGGTGGTGGTCTCAGACTGTGTGACTCAG GAACCTTCACTCACCCTATCACCTGGTGAACAGTCAACTCACTTGTGGTCTCCGACTGGGCTG TTACATCTGGCTACTACCCAACTGGTCCAACAAAAACAGGTCAGGACCCCGTGGTCAATAGG TGGGACTAAGTCTCCGCCCCGGTACTCTGCGCAGATTCTCAGGCTCCCTGCTGGAGGCAAGGCT GCCCTCACCTCTCAGGGGTACAGCCAGAGGATGAGGAGAAATATTACTGTGCTCTATGGTACAGCA ACCGCTGGGTGTTCCGGTGGAGAACCAACTGACTGCCTA
87	HL В3 против CD33 x HL F12Q	искусственная	ак	QVQLVQSGAEVKKPESVKVSCKASGYTFNRYGMNWKQAPGGLEWMGWINTYFETNYADKFKQGR VTFSTSDTSTAYMELRNLSDDTAVVYCARWSWSDGYVYFDYWGQSTVTVSSGGGSGGGGSGG GGSDIVMTQSPDSMTVSLGERTTINCKSSQSVLDSSTNKNLSLAWYQKPKQPPKLLLSWASTRESGI PDRFSGSGSDTFTLTIIDSLQPEDSATYVYQSSAHFPIITFGQTRLDIKSGGGGSEVQLVESGGGLV QPGGSLKLSCAASGFTFNKYMNNVWVQAPGKGLWVARIKSKYNNYATYYADSVKRFITSRDSDKN TAYLQMNLLKTEDTAVVYVHRHGFNGSYVSWWAYWQGTLVTVSSGGGSGGGGSGGGGSGTVVTV EPLSLTVSPGGTVLTCGSSSTGAVTSGNYPNWVQKPKQAPRGLIGGTFKFLAPGTFARFSGSLGGKA ALLTSLGVQPEDEAEYVCLWYNSRWVFGGGTKLTVL
88	HL В3 против CD33 x HL F12Q	искусственная	нт	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGAGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGAGAGTCAGTCAAGTCTCCTGCA AGGCTAGCGGATACCTTCAAACTATGGAATGAATGGGTGAAGCAGGCTCCAGGACAGGTTT AGAGTGGATGGGCTGGATAAACACCTACACTGGAGAGACAACTATGCTGATAAGTCCAGGGACCG GTTACCTCACTTCGGATACCTTACCAGCACTGCCTATATGGAAGTCCGCAACCTCAAAAGTGATG ACACGGCTGTATATTACTGTGCGCGCTGGAGTTGGAGTGATGGTTACTACGTTTACTTTGACTACTG GGGCCAAGGCACTACGGTCACTCCTCCTCAGTGGTGGTGGTCTGGCGCGCGCGCTCCGGTGGT GGTGGTCTGACATCGTGATGACACAGTCTCCAGACTCCATGACTGTGTCTCTGGCGGAGAGGACCA CCATCAACTGCAAGTCCAGCCAGAGTGTTTAGACAGCTCCACGAATAAGAACTCCTTAGCTTGGTA CCAGCAGAAACAGGACAGCTCCTAAATTAATCCTTTCTGGGCATCTACCGGGAAATCCGGATC CCTGACCGATTCACTGGCAGCGGCTCTGGGACAGATTTCACTCTCACTATTGACAGCTGCAAGCTG AAGATTCTGCAACTTACTATTGTCAACAGTCTGCCACTTCCGATCACCTTTGGCAGGAGGACAGC ACTGGACATTAATCCGAGGTGGTGGCTCCGAGGTGCAGTGGTCCGAGTCTGGAGGAGGATTGGTG
				CAGCCTGGAGGGTCATTGAACTCTCATGTGCAGCCTCTGGATTCACTTCAATAGTACGCCATGA AGCTGGTCCGCAAGGCTCCAGGAAAGGTTTGGAAATGGTGTGCTCGCATAAAGATTAATAATAA TTATGCAACATATTATGCCGATTCACTGAAAGGACAGGTTCCACATCTCCAGAGATGATTCAAAAAC ACTGCSTACTCAAAATGAACAACCTGAAACTGAGGACACTGCCGTGACTACTGTGAGACATG GGAACTTCGGTAATAGCTACTTTCTGGTGGGCTTACTGGGCCAAGGACTCTGGTCAACCTCTC CTCAGTGGTGGTGGTCTTCCGCGCGCGGCTCCGGTGGTGGTCTCAGACTGTGTGACTCAG GAACCTTCACTCACCCTATCACCTGGTGAACAGTCAACTCACTTGTGGTCTCCGACTGGGCTG TTACATCTGGCACTACCCAACTGGTCCAACAAAAACAGGTCAGGACCCCGTGGTCAATAGG TGGGACTAAGTCTCCGCCCCGGTACTCCTGCGCAGATTCTCAGGCTCCCTGCTGGAGGCAAGGCT GCCCTCACCTCTCAGGGGTACAGCCAGAGGATGAGGAGAAATATTACTGTGCTCTATGGTACAGCA ACCGCTGGGTGTTCCGGTGGAGAACCAACTGACTGCCTA
89	HL В3 против CD33 x HL I2C	искусственная	ак	QVQLVQSGAEVKKPESVKVSCKASGYTFNRYGMNWKQAPGGLEWMGWINTYFETNYADKFKQGR VTFSTSDTSTAYMELRNLSDDTAVVYCARWSWSDGYVYFDYWGQSTVTVSSGGGSGGGGSGG GGSDIVMTQSPDSMTVSLGERTTINCKSSQSVLDSSTNKNLSLAWYQKPKQPPKLLLSWASTRESGI PDRFSGSGSDTFTLTIIDSLQPEDSATYVYQSSAHFPIITFGQTRLDIKSGGGGSEVQLVESGGGLV QPGGSLKLSCAASGFTFNKYMNNVWVQAPGKGLWVARIKSKYNNYATYYADSVKRFITSRDSDKN TAYLQMNLLKTEDTAVVYVHRHGFNGSYVSWWAYWQGTLVTVSSGGGSGGGGSGGGGSGTVVTV EPLSLTVSPGGTVLTCGSSSTGAVTSGNYPNWVQKPKQAPRGLIGGTFKFLAPGTFARFSGSLGGKA ALLTSLGVQPEDEAEYVCLWYNSRWVFGGGTKLTVL
90	HL В3 против CD33 x HL I2C	искусственная	нт	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGAGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGAGAGTCAGTCAAGTCTCCTGCA AGGCTAGCGGATACCTTCAAACTATGGAATGAATGGGTGAAGCAGGCTCCAGGACAGGTTT AGAGTGGATGGGCTGGATAAACACCTACACTGGAGAGACAACTATGCTGATAAGTCCAGGGACCG GTTACCTCACTTCGGATACCTTACCAGCACTGCCTATATGGAAGTCCGCAACCTCAAAAGTGATG ACACGGCTGTATATTACTGTGCGCGCTGGAGTTGGAGTGATGGTTACTACGTTTACTTTGACTACTG GGGCCAAGGCACTACGGTCACTCCTCCTCAGTGGTGGTGGTCTGGCGCGCGCGCTCCGGTGGT GGTGGTCTGACATCGTGATGACACAGTCTCCAGACTCCATGACTGTGTCTCTGGCGGAGAGGACCA CCATCAACTGCAAGTCCAGCCAGAGTGTTTAGACAGCTCCACGAATAAGAACTCCTTAGCTTGGTA CCAGCAGAAACAGGACAGCTCCTAAATTAATCCTTTCTGGGCATCTACCGGGAAATCCGGATC CCTGACCGATTCACTGGCAGCGGCTCTGGGACAGATTTCACTCTCACTATTGACAGCTGCAAGCTG AAGATTCTGCAACTTACTATTGTCAACAGTCTGCCACTTCCGATCACCTTTGGCAGGAGGACAGC ACTGGACATTAATCCGAGGTGGTGGCTCCGAGGTGCAGTGGTGGTGGTCTGGAGGAGGATGGTG CAGCCTGGAGGGTCATTGAACTCTCATGTGCAGCCTCTGGATTCACTTCAATAAGTACGCCATGA ACTGGTCCGCAAGGCTCCAGGAAAGGTTTGGAAATGGTGTGCTCGCATAAAGTAAATATAATAA TTATGCAACATATTATGCCGATTCACTGAAAGACAGGTTCCACATCTCCAGAGATGATTCAAAAAC ACTGCSTACTCAAAATGAACAACCTGAAACTGAGGACACTGCCGTGACTACTGTGAGACATG GGAACTTCGGTAATAGCTACATATCCTACTGGGCTTACTGGGCCAAGGACTCTGGTCAACCTCTC CTCAGTGGTGGTGGTCTTCCGCGCGCGGCTCCGGTGGTGGTGGTCTCAGACTGTGTGACTCAG GAACCTTCACTCACCCTATCACCTGGTGAACAGTCAACTCACTTGTGGCTCTCGACTGGGCTG TTACATCTGGCACTACCCAACTGGTCCAACAAAAACAGGTCAGGACCCCGTGGTCAATAGG

				TGGGACTAAGTTCCTCGCCCCGGTACTCCTGCCAGATTCTCAGGCTCCCTGCTTGGAGGCAAGGCTGCCCTCACCCTCTCAGGGGTACAGCCAGAGGATGAGGCAAGATATCTGTGTCTATGGTACAGCAACCCCTGGGTTCGGTGGAGGAACCAACTGACTGCTCTA
91	VH F2 против CD33	искусственная	ак	QVQLVQSGAEVKKPESVKVSKASGYFTNYGMNWKQAPGQGLEWMGWINTYGETNYADKQGRVTFSTSTSTAYMELRNKLSDDTAVYVCARWSWSDGYVYFDYWGQGTVTVTVSS
92	HCDR1 F2 против CD33	искусственная	ак	NYGMN
93	HCDR2 F2 против CD33	искусственная	ак	WINTYGETNYADKQGG
94	HCDR3 F2 против CD33	искусственная	ак	WSWSDGYVYFDY
95	VH F2 против CD33	искусственная	нт	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGAGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGAGAGTCAGTCAAGGTCTCCTGCAAGGCTAGCCGGGTATACCTTCAAACTATGGAATGAACTGGTGAAGCAGGCTCCAGGACAGGGTTT AGAGTGGATGGGCTGGATAAACACCTACACTGGAGAGCAAACTATGCTGATAAGTTCCAGGGACGC GTTACCTTCACTTCGGATACCTCTACCAGCACTGCCTATATGAACTCCGCAACTCAAAGTATGATG ACACGGCTGATATTAAGTGTGCGCGCTGGAGTGGAGTGGTACTACGTTACTTACTGACTG GGGCCAAGGCACTACGGTACCGTCTCTCA
96	VL F2 против CD33	искусственная	ак	DIIVMTQSPDLSVSLGERTTINCKSSQSVLDSSTNKNLSLAWYQKQKPGQPKLLLSWASTRESGIPDRFSGSGSDTFTLIDSLQPEDSATYYCQSAHFFITFGQGTGLEIK
97	LCDR1 F2 против CD33	искусственная	ак	KSSQSVLDSSTNKNLSLA
98	LCDR2 F2 против CD33	искусственная	ак	WASTRES
99	LCDR3 F2 против CD33	искусственная	ак	QSAHFFIT
100	VL F2 против CD33	искусственная	нт	GACATCGTGTGACACAGTCTCCAGACTCCCTGTCTGTCTCTGGCGAGAGGACCACCACTCAACT GCAAGTCCAGCCAGAGTGTTTAGACAGCTCCACGAATAAGAACTCCTTAGCTTGGTACCAGCAGAA ACCAGGACAGCCTCTAAATTAAGTCTTCTGGGCACTACGGGGAATCCGGGATCCCTGACCGA TTCAAGTGGCAGCGGTCTGGGACAGATTTCACTCTCACTATTGACAGCTGCAGCTGAAGATTCG CAACTTACTATTGTCAACAGTCTGCCCACTTCCGATCACCTTTGGCCAGGGACAGCATGGAGAT TAAA
101	HL F2 против CD33	искусственная	ак	QVQLVQSGAEVKKPESVKVSKASGYFTNYGMNWKQAPGQGLEWMGWINTYGETNYADKQGRVTFSTSTSTAYMELRNKLSDDTAVYVCARWSWSDGYVYFDYWGQGTVTVTVSSGGGSGGGSGGGSDIIVMTQSPDLSVSLGERTTINCKSSQSVLDSSTNKNLSLAWYQKQKPGQPKLLLSWASTRESGIPDRFSGSGSDTFTLIDSLQPEDSATYYCQSAHFFITFGQGTGLEIK
102	HL F2 против CD33	искусственная	нт	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGAGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGAGAGTCAGTCAAGGTCTCCTGCA AGGCTAGCCGGTATACCTTCAAACTATGGAATGAACTGGTGAAGCAGGCTCCAGGACAGGGTTT AGAGTGGATGGGCTGGATAAACACCTACACTGGAGAGCAAACTATGCTGATAAGTTCCAGGGACGC
				GTTACCTTCACTTCGGATACCTTACCAGCACTGCCTATATGAACTCCGCAACTCAAAGTATGATG ACACGGCTGATATTAAGTGTGCGCGCTGGAGTGGAGTGGTACTACGTTACTTACTGACTACTG GGGCCAAGGCACTACGGTACCGTCTCCTCAGGTGGTGGTCTGGCGCGCGCGCTCCGGTGGT GGTGGTCTGACATCGTGTGACACAGTCTCCAGACTCCCTGTCTGTCTCTGGCGGAGGACCA CCATCACTGGCAAGTCCAGCAGAGTGTTTAGACAGCTCCACGAATAAGAACTCCTTAGCTGGTA CCAGCAAGAACAGGACAGCTCCTAAATTAAGTCTTCTGGGCACTACGGGGAATCCGGGATC CCTGACCGATTCAAGTGGCAGCGGTCTGGGACAGATTTCACTCTCACTATTGACAGCTG AAGATTCGCAACTTACTATTGTCAACAGTCTGCCCACTTCCGATCACCTTTGGCCAAGGGACAG ACTGGAGATTTAAA
103	HL F2 против CD33 x HL H2C	искусственная	ак	QVQLVQSGAEVKKPESVKVSKASGYFTNYGMNWKQAPGQGLEWMGWINTYGETNYADKQGRVTFSTSTSTAYMELRNKLSDDTAVYVCARWSWSDGYVYFDYWGQGTVTVTVSSGGGSGGGSGGGSDIIVMTQSPDLSVSLGERTTINCKSSQSVLDSSTNKNLSLAWYQKQKPGQPKLLLSWASTRESGIPDRFSGSGSDTFTLIDSLQPEDSATYYCQSAHFFITFGQGTGLEIKSGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWRQAPGRGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNLLKTEDTAVYVCARHGNFNSYIYWAYWGQGTLVTVSSGGGSGGGGSGGGSGVTVTQEPSSLTVSPGGTTLTCSSTGAVTSGYYPNWKQAPRGLIGGTFKFLAPGTPARFSGSLGGKAALTLISGVQPEDEAEYCALWYSNRWVFGGKTLTVL
104	HL F2 против CD33 x HL H2C	искусственная	нт	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGAGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGAGAGTCAGTCAAGGTCTCCTGCA AGGCTAGCCGGTATACCTTCAAACTATGGAATGAACTGGTGAAGCAGGCTCCAGGACAGGGTTT AGAGTGGATGGGCTGGATAAACACCTACACTGGAGAGCAAACTATGCTGATAAGTTCAGGGACGC GTTACCTTCACTTCGGATACCTTACCAGCACTGCCTATATGAACTCCGCAACTCAAAGTATGATG ACACGGCTGATATTAAGTGTGCGCGCTGGAGTGGAGTGGTACTACGTTACTTACTGACTACTG GGGCCAAGGCACTACGGTACCGTCTCCTCAGGTGGTGGTCTGGCGCGCGCGCTCCGGTGGT GGTGGTCTGACATCGTGTGACACAGTCTCCAGACTCCCTGTCTGTCTCTGGCGGAGAGGACCA CCATCAACTGCAAGTCCAGCAGAGTGTTTAGACAGCTCCACGAATAAGAACTCCTTAGCTGGTA CCAGCAAGAACAGGACAGCTCCTAAATTAAGTCTTCTGGGCACTACGGGGAATCCGGGATC CCTGACCGATTCAAGTGGCAGCGGTCTGGGACAGATTTCACTCTCACTATTGACAGCTGCAGCTG AAGATTCGCAACTTACTATTGTCAACAGTCTGCCCACTTCCGATCACCTTTGGCCAAGGGACAG ACTGGAGATTTAAATCCGGAGGTGGTGGTCCGAGGTGCAGCTGGTCAAGTCTGGAGGAGGATTTGGT CAGCCTGGAGGTCATTGAACTCTCATGTGCGAGCTCTGGATTACCTTCAATAGTACGCCATGA ACTGGGTCGGCAGGCTCCAGGAAAGGTTTGGAAATGGGTTGCTCGCATAAGAAATAAATAATAA TTATGCAACATATTAAGCCGATTCAGTGAAGACAGGTTCCACATCTCCAGAGATGATCAAACAA ACTGCCTATCTACAAATGAACAACTTGAACACTGAGGACACTGCCGTACTACTGTGTGAGACATG GGAACCTCGGTAATAGCTACATATCTACTGGGCTTACTGGGCAAGGGACTCTGGTCAACGCTCTC CTCAGGTGGTGGTCTTGGCGCGCGCGCTCCGGTGGTGGTCTCAGACTGTTGACTCAG GAACCTTCACTACCGTATCACCTGGTGAACAGTCACTCACTTGTGGCTCTGACTGGGCTG TTACATCTGGCTACTACCAACTGGTCCAAACAAACAGGTCAGGACCCGCTGCTCAATAGG TGGGACTAAGTTCCTCGCCCGGCTACTCCTGCGAGATTCAGGCTCCCTGCTTGGAGGCAAGGCT GCCCTCACCTCTCAGGGGTACAGCCAGAGGATGAGGACAGATTAAGTCTGCTCTATGTACAGCA

				GGGCCAAGGCACACGGTACCGTCTCCTCA
114	VL B10 против CD33	искусственная	ак	DIVMTQSPDLSLTIVSLGERTTINCKSSQSVLDSNNKNSLAWYQKQKPGQPPKLLLSWASTRESGIPDR FSGSGSGTDFTLTIIDGLQPEDSATYVCCQSAHFPIITFGQTRLEIK
115	LCDR1 B10 против CD33	искусственная	ак	KSSQSVLDSNNKNSLA
116	LCDR2 B10 против CD33	искусственная	ак	WASTRES
117	LCDR3 B10 против CD33	искусственная	ак	QQSAHFPIIT
118	VL B10 против CD33	искусственная	нт	GACATCGTGATGACACAGTCTCCAGACTCCCTGACTGTGTCTCTGGCCGAGAGGACCACCATCAACT GCAAGTCCAGCCAGAGTGTTTAGACAGCTCCAACAATAAGAACTCCTTAGCTTGGTACCAGCAGAA ACCAAGCAGAGCTCCTAAATTAATCTCCTTCCCTGGGCATCTACCGGGAAATCCGGGATCCCTGACCGA TTCAAGTGGCAGCGGTCTGGGACAGATTTCACTCTCACTATTGACGGCTGACAGCTGAAGATCTG CAACTACTATTGTCAACAGTCTGCCACTTCCCAGTCACTTTGGCCAGGGACAGACTGGAGAT TAAA
119	HL B10 против CD33	искусственная	ак	QVQLVQSGAEVKKPESVKVSKASGYFTFTNYGMNWKQAPGQGLEWMMGWINTYTGPTVADKQGR VTMTTDTSTAYMEIRNLRSDDTAVYCARWSWDGYVYFDYWGQGTFTVTVSSGGGSGGGGSGG GSDIVMTQSPDLSLTIVSLGERTTINCKSSQSVLDSNNKNSLAWYQKQKPGQPPKLLLSWASTRESGI PDRFSGSGSDTFTLTIIDGLQPEDSATYVCCQSAHFPIITFGQTRLEIK
120	HL B10 против CD33	искусственная	нт	CAGCTGCAGCTGCTGCACTCTGGAGCTGAGGTGAAGAAGCTGGTGAAGTCAAGTCTCCTGCA AGGCTAGCGGGTATACCTTCAAAAATATGGAATGAATGGGTGAAGCAGGCTCCAGGACAGGGTTT AGAGTGGATGGGCTGGATAAACACCTACACTGGAGAGCCAACTATGCTGATAAGTTCCAGGGACCG GTTACCATGACTACGGATACCTTACCAGCACTGCCTATATGAAATCCGCAACTCAGAAGTGATG ACACGGCTGTATATACTGTGCGCGCTGGAGTTGGAGTGATGGTTACTACGTTTACTTTGACTACTG GGGCCAAGGCACACTCGGTACCGCTCTCCTCAGGTGGTGGTGGTTCTGGCCGGGGCGCTCCGGTGGT GGTGGTCTGACATCGTGATGACACAGTCTCCAGACTCCCTGACTGTGTCTCTGGCCGAGAGGACCA CCATCAACTGCAAGTCCAGCCAGAGTGTTTAGACAGCTCCAACAATAAGAACTCCTTAGCTTGGTA CCAGCAGAAACCAGGACAGCTCCTAAATTAATCTCCTTCTGGGCATCTACCGGGAAATCCGGGATC CCTGACCGATTCAAGTGGCAGCGGTCTGGGACAGATTTCACTCTCACTATTGACGGCTGAGAGCTG AAGATTCTGCAACTTACTATTGTCAACAGTCTGCCACTTCCGATCACTTTGGCCAGGGGATGACAGC ACTGGAGTAAA
121	HL B10 против CD33 x HL H2C	искусственная	ак	QVQLVQSGAEVKKPESVKVSKASGYFTFTNYGMNWKQAPGQGLEWMMGWINTYTGPTVADKQGR VTMTTDTSTAYMEIRNLRSDDTAVYCARWSWDGYVYFDYWGQGTFTVTVSSGGGSGGGGSGG GSDIVMTQSPDLSLTIVSLGERTTINCKSSQSVLDSNNKNSLAWYQKQKPGQPPKLLLSWASTRESGI PDRFSGSGSDTFTLTIIDGLQPEDSATYVCCQSAHFPIITFGQTRLEIKSGGGSEVQLVESGGGLV QPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWRQAPGKLEWVARIRSKYNNYATYVADSVKDRFTISRDDSLN TAYLQMNRLKTEDTAVYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGTFTVTVSSGGGSGGGGSGGGGQTVVTV
122	HL B10 против CD33 x HL H2C	искусственная	нт	EPSLTVSPGTVTILTCGSSSTGAVTSGYYPNWKQAPRGLIGGTRKFLAPGTPARFSGSLGGKA ALTLSCVQPEDEAEYCVLWYSNRWFVGGGTKLTVL CAGGTGCAGCTGCTGCACTCTGGAGCTGAGGTGAAGAAGCTGGTGAAGTCAAGTCTCCTGCA AGGCTAGCGGGTATACCTTCAAAAATATGGAATGAATGGGTGAAGCAGGCTCCAGGACAGGGTTT AGAGTGGATGGGCTGGATAAACACCTACACTGGAGAGCCAACTATGCTGATAAGTTCCAGGGACCG GTTACCATGACTACGGATACCTTACCAGCACTGCCTATATGAAATCCGCAACTCAGAAGTGATG ACACGGCTGTATATACTGTGCGCGCTGGAGTTGGAGTGATGGTTACTACGTTTACTTTGACTACTG GGGCCAAGGCACACTCGGTACCGCTCTCCTCAGGTGGTGGTGGTTCTGGCCGGGGCGCTCCGGTGGT GGTGGTCTGACATCGTGATGACACAGTCTCCAGACTCCCTGACTGTGTCTCTGGCCGAGAGGACCA CCATCAACTGCAAGTCCAGCCAGAGTGTTTAGACAGCTCCAACAATAAGAACTCCTTAGCTTGGTA CCAGCAGAAACCAGGACAGCTCCTAAATTAATCTCCTTCTGGGCATCTACCGGGAAATCCGGGATC CCTGACCGATTCAAGTGGCAGCGGTCTGGGACAGATTTCACTCTCACTATTGACGGCTGAGAGCTG AAGATTCTGCAACTTACTATTGTCAACAGTCTGCCACTTCCGATCACTTTGGCCAGGGACAGC ACTGGAGATTAATCCGGAGTGGTGGTCCGAGTGCAGCTGCTGAGTCTGGAGGAGGATGGTGGT CAGCTTGGAGGTCATTGAAACTCTCATGTGCAGCTCTGGATTCACTTCAATAAGTACCGCATGA ACTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGAAAGGGTTTGGAAATGGGTGCTCGCATGAAGATTAATATAATAA TTATGCAACATATATGCGGATTCAAGTGAAGACAGGTTCAACATCTCCAGAGATGATTCAAAANA ACTGCCATCTCAAAAATGAACAATTTGAAACTGAGGACACTCCCTGTACTACTGTGTGAGACATG GGAATTCGGTAATAGCTACATACTACTGGCTTACTGGGCAAGGACTCTGCTCACCGTCTC CTCAGCTGCTCCTCTCTCGCCCGGGCGCTCCCTCCTGCTCCTTCTCAGACTCTTCTGACTCAG GAACCTTCACTCACCGTATCACTGGTGAACAGTCAACTCACTTGTGGCTCCTCGACTGGGGCTG TTACATCTGGTACTACCCAAACTGGGTCCAACAAAACAGGTGAGGACCCCGTGGTCTAATAGG TGGGACTAAGTTCTCCGCCCGGTAAGTCTCCTGCGGATTTCTCAGGCTCCCTGCTTGGAGGCAAGGCT GCCCTCACCTCTCAGGGGTACAGCCAGAGGATGAGGCAAGATATTAATCTGTCTATGTTACAGCA ACCCTGGGTGTTCCGTGGAGAACCAAACTGACTGTCTTA
123	HL B10 против CD33 x HL F12Q	искусственная	ак	QVQLVQSGAEVKKPESVKVSKASGYFTFTNYGMNWKQAPGQGLEWMMGWINTYTGPTVADKQGR VTMTTDTSTAYMEIRNLRSDDTAVYCARWSWDGYVYFDYWGQGTFTVTVSSGGGSGGGGSGG GSDIVMTQSPDLSLTIVSLGERTTINCKSSQSVLDSNNKNSLAWYQKQKPGQPPKLLLSWASTRESGI PDRFSGSGSDTFTLTIIDGLQPEDSATYVCCQSAHFPIITFGQTRLEIKSGGGSEVQLVESGGGLV QPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWRQAPGKLEWVARIRSKYNNYATYVADSVKGRFTISRDDSLN TAYLQMNRLKTEDTAVYCVRHGNFGNSYVSWAYWGQGTFTVTVSSGGGSGGGGSGGGGQTVVTV EPSLTVSPGTVTILTCGSSSTGAVTSGYYPNWKQAPRGLIGGTRKFLAPGTPARFSGSLGGKA ALTLSCVQPEDEAEYCVLWYSNRWFVGGGTKLTVL
124	HL B10 против CD33 x HL F12Q	искусственная	нт	CAGGTGCAGCTGCTGCACTCTGGAGCTGAGGTGAAGAAGCTGGTGAAGTCAAGTCTCCTGCA AGGCTAGCGGGTATACCTTCAAAAATATGGAATGAATGGGTGAAGCAGGCTCCAGGACAGGGTTT AGAGTGGATGGGCTGGATAAACACCTACACTGGAGAGCCAACTATGCTGATAAGTTCCAGGGACCG GTTACCATGACTACGGATACCTTACCAGCACTGCCTATATGAAATCCGCAACTCAGAAGTGATG ACACGGCTGTATATACTGTGCGCGCTGGAGTTGGAGTGATGGTTACTACGTTTACTTTGACTACTG GGGCCAAGGCACACTCGGTACCGCTCTCCTCAGGTGGTGGTGGTTCTGGCCGGGGCGCTCCGGTGGT

				GGTGGTTCTGACATCGTGATGACACAGTCTCCAGACTCCCTGACTGTGTCTCTGGGCGAGAGGACCA CCATCAACTGCAAGTCCAGCCAGAGTGTTTAGACAGCTCCAACAATAAGAACTCCTTAGCTTTGGTA CCAGCAGAAACAGGACAGCTCCTAAATTAAGTCTTCTCCCTGGGCATCTACGGGGAAATCCGGGATC CCTGACCGATTCAAGTGGCAGCGGTTCTGGGACAGATTTCACTCTCACTATTGACGGCCCTGACGGCTG AAGATTTGCAACTTACTATTGTCAACAGTCTGCCCACTCCCGATCACTTTGGCCAGGGGACAGC ACTGGAGATTAATCCGAGGTGGTGGCTCCGAGGTGACAGTGGTCACTGGAGAGGAGATTTGGTG CAGCCTGGAGGGCTATTGAACTCTCATGTGCAGCCTCTGGATTCACTCAATAGTACGCCATGA ACTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGAAAGGTTTGGAAATGGGTGTCTCGCATAAAGAAATAATAATAA TTATGCAACATATTATGCCGATTCAAGTGAAGGCGAGTTTACCATCTCCAGAGATGATCAAAAAAC ACTGCSTACTACAATAAACAACCTTGAAGTCAAGGACACTGCCGTGACTACTGTGTGAGACATG GGAACCTCGGTAAATAGCTACGTTTCCCTGGTGGGCTTACTGGGGCAAGGGACTCTGGTCAACGCTC CTCAGTGGTGGTGGTCTGGCGCGCGGGCTCCGGTGGTGGTGGTCTCAGACTGTTGTGACTCAG GAACTTCACTCACCGTATCACCTGGTGGAAACAGTCAACTCACTTTGTGGTCCCTGACTGGGGCTG TTACATCTGGCAACTACCCAACTGGTCCAACAAAACAGGTCAGGACCCCTGGTCAATAGG TGGGACTAAGTCTCCGCCCCGGTACTCCTGCCAGATTCTCAGGCTCCTGCTTGGAGGCAAGGCT GCCCTCACCTCTCAGGGGTACAGCCAGAGGATGAGGAGAAATTAATCACTGTCTCATGGTACAGCA ACCCTGGGTGTTCCGGTGGAGAACCAACTGACTGTCCTA
125	HL B10 против CD33 x HL I2C	искусственная	ак	QVQLVQSGAEVKKPESVKVSCKASGYTFNRYGMNHWKQAPGGLEWMMGWINTYTGTEPTADKFKQGR VTMTDTSTSTAYMEIRNLRSDDTAVYCARWSWSGYYVYFDYWGQGTIVTVSSGGGSGGGGSGG CCSDIVMTQSDLSLTVSLGERTTINCKSSQSVLDSNNKNSLAWYQKPKQPPKLLLSWASTRES PDRFSGSGSDTDFLTIDSLQPEDSATYVYQSSAHFPIITFGQGTTRLEIKSNGGSGEVLV QPGGSLKLSAASGFTFNKYAMNWRQAPGKLEWVARIRSKYNNYATYYASVDRFTISRDDSKN TAYLQMNLLKTEDTAVYCVRHGNFGNSYISYWAYWQGTIVTVSSGGGSGGGGSGGGGSGVTVV EPLSLTVSPGGTVLTCGSSGAVTSGNYPNWVQKPKQAPRGLIGGTFKFLAPGTFARFSGSLGGKA ALLSGVPEDEAEYCVLWYSNRWVFGGTKLTVL
126	HL B10 против CD33 x HL I2C	искусственная	нт	CAGGTGACGCTGGTGCAGTCTGGAGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGTGAAGTCAAGTCTCCTGCA AGGCTAGCGGGTATACCTTCAACAATATGGAATGAAGTGGGTGAAGCAGGCTCCAGGACAGGGTTT AGAGTGGATGGGCTGGATAAACACCTACACTGGAGAGCCAACTATGCTGATAAGTTCCAGGGACCG GTTACCATGACTACGGATACCTTACCAGCACTGCCTATATGGAATCCGCAACTCAGAAGTGATG ACACGGCTGATATTAAGTCTGCGCGCTGGAGTGGAGTGGTACTACGTTTACTTTGACTACTG GGGCAAGGCACTACGGTCAACGCTCCTCAGTGGTGGTGGTCTGCGCGCGCGGGCTCCGGTGGT GGTGGTCTGACATCGTGTGACACAGTCTCCAGACTCCCTGACTGTCTCTGGGCGAGAGGACCA CCATCAACTGCAAGTCCAGCCAGAGTGTTTAGACAGCTCCAACAATAAGAACTCCTTAGCTTGGTA CCAGCAGAAACAGGACAGCTCCTAAATTAAGTCTTCTGGGCACTACGGGGGAATCCGGGATC CCTGACCGATTCAAGGCGAGGGTCTGGGACAGATTTCACTCTCACTATTGACGGCTGACAGCTG AAGATCTGCAACTTACTATTCTCAACAATCTGCCCACTCCGATCACTTTGGAGGCAAGGCAAG ACTGGAGATTAATCCGGAGGTGGTGGCTCCGAGGTGACAGTGGTGGAGTGGAGGAGGATTGGTG CAGCCTGGAGGGTCAATGAAACTCTCATGTGCAGCCTCTGGATTCACTCAATAGTACGCCATGA ACTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGAAAGGTTTGGAAATGGGTGTCTCGCATAAAGAAATAATAATAA
				TTATGCAACATATTATGCCGATTCAAGTGAAGACAGGTTTACCATCTCCAGAGATGATCAAAAAAC ACTGCSTACTACAATAAACAACCTTGAAGTCAAGGACACTGCCGTGACTACTGTGTGAGACATG GGAACCTCGGTAAATAGCTACATATCCTACTGGGCTTACTGGGGCAAGGGACTCTGGTCAACGCTC CTCAGTGGTGGTGGTCTGGCGCGCGGGCTCCGGTGGTGGTGGTCTCAGACTGTTGTGACTCAG GAACTTCACTCACCGTATCACCTGGTGGAAACAGTCAACTCACTTTGTGGTCCCTGACTGGGGCTG TTACATCTGGCAACTACCCAACTGGTCCAACAAAACAGGTCAGGACCCCTGGTCAATAGG TGGGACTAAGTCTCCGCCCCGGTACTCCTGCCAGATTCTCAGGCTCCTGCTTGGAGGCAAGGCT GCCCTCACCTCTCAGGGGTACAGCCAGAGGATGAGGAGAAATTAATCACTGTCTCATGGTACAGCA ACCCTGGGTGTTCCGGTGGAGAACCAACTGACTGTCCTA
127	VH E11 против CD33	искусственная	ак	QVQLVQSGAEVKKPESVKVSCKASGYTFNRYGMNHWKQAPGGLEWMMGWINTYTGTEPTADKFKQGR VTMTDTSTSTAYMEIRNLGDDTAVYCARWSWSGYYVYFDYWGQGTIVTVSS
128	HCDR1 E11 против CD33	искусственная	ак	NYGMN
129	HCDR2 E11 против CD33	искусственная	ак	WINTYTGTEPTADKFKQGG
130	HCDR3 E11 против CD33	искусственная	ак	WSWSGYYVYFDY
131	VH E11 против CD33	искусственная	нт	CAGGTGACGCTGGTGCAGTCTGGAGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGAGAGTCAAGTCTCCTGCA AGGCTAGCGGGTATACCTTCAACAATATGGAATGAAGTGGGTGAAGCAGGCTCCAGGACAGGGTTT AGAGTGGATGGGCTGGATAAACACCTACACTGGAGAGCCAACTATGCTGATAAGTTCCAGGGACCG GTTACCATGACTACGGATACCTTACCAGCACTGCCTATATGGAATCCGCAACTCAGGAGTGATG ACACGGCTGATATTAAGTCTGCGCGCTGGAGTGGAGTGGTACTACGTTTACTTTGACTACTG GGGCAAGGCACTCCGGTCAACGCTCCTCA
132	VL E11 против CD33	искусственная	ак	DIVMTQSPDLSLTVSLGERTTINCKSSQSVLDSSTNKNNSLAWYQKPKQPPKLLLSWASTRESGIPDR FSGSGSDTDFLTIDSLQPEDSATYVYQSSAHFPIITFGQGTTRLEIK
133	LCDR1 E11 против CD33	искусственная	ак	KSSQSVLDSSTNKNLSLA
134	LCDR2 E11 против CD33	искусственная	ак	WASTRES
135	LCDR3 E11 против CD33	искусственная	ак	QSSAHFPIIT
136	VL E11 против CD33	искусственная	нт	GACATCGTGATGACACAGTCTCCAGACTCCCTGACTGTGTCTCTGGGCGAGAGGACCCATCAACT GCAAGTCCAGCCAGAGTGTTTAGACAGCTCCACGAAATAAGAACTCCTTAGCTTGGTACAGCAGAA ACCAGGACAGCTCCTAAATTAAGTCTTCTCCCTGGGCATCTACGGGGAAATCCGGGATCCTGACCGA TTCAGTGGCAGCGGCTGGGACAGATTTCACTCTCACTATTGACAGCCCGAGGCTGAAAGTTCG

				CAACTTACTATTGTCAACAGTCTGCCACTTCCCGATCACCTTTGGCCAAGGGACACGACTGGAGAT TAAA
137	HL E11 против CD33	искусственная	ак	QVQLVQSGAEVKKPESVKVSKASGYTFNYGMNWKQAPGGLEWMMWINTYTGPEYADKFGQR VTMTTDTSTAYMEIRNLGGDDTAVYCARWWSGDYVYFDYWGQTSVTVSSGGGGSGGGSGG GGSDIVMTQSPDLSLTVSLGERTTINCKSSQSVLDSSTNKNLSLAWYQKPKQPPKLLLSWASTRESGI PDRFSGSGSDTFTLIDSPQEDSATYICQSSAHFPIIFGQTRLEIK
138	HL E11 против CD33	искусственная	нт	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGAGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGAGAGTCAGTCAAGGTCTCCTGCA AGGCTAGCGGGTATACCTTCAAAACTATGGAATGAAGTGGGTGAAGCAGGCTCCAGGACAGGGTTT AGAGTGGATGGGCTGGATAAACACCTACACTGGAGAGCCAACTATGCTGATAAGTTCAGGAGACGC GTTACCATGACTACGGATACCTTACCAGCACTGCCTATATGGAATCCGCAACCTCGGAGGTGATG ACACGGCTGTATATTAAGTGTGCGCGCTGGAGTTGGAGTGATGGTTACTACGTTTACTTTGACTACTG GGGCCAAGGCACTTCGGTACCCTCTCCTCAGGTGGTGGTGGTTCTGGCGCGCGCGCTCCGGTGGT GGTGGTTCTGACATCGTGATGACACAGTCTCCAGACTCCCTGACTGTCTCTGGCGAGAGGACCA CCATCAACTGCAAGTCCAGCCAGAGTGTTTAGACAGCTCCACGAATAAGAAGTCTTACTAGTTGGTA CCAGCAGAAACAGGACAGCTCCTAAATTAAGTCTTCTGGGATCTACCGGGAAATCCGGGATC CCTGACCGATTGAGTGGCAGCGGTCTGGGACAGATTTCACTCTCACTATTGACAGCCGACAGCTC AAGATTTGCAACTTACTATTGTCAACAGTCTGCCACTTCCCGATCACCTTTGGCAAGGACAGC ACTGGAGATTAATCCGGAGGTGGTGGCTCCGAGGTGCAGTGGTGCAGTCTGGAGGAGGATTTGGT CAGCTTGAGGGTCAATGAACTCTCATGTGCAGCCTCTGGATTCACTCAATAGATACAGGATG
139	HL E11 против CD33 x HL H2C	искусственная	ак	QVQLVQSGAEVKKPESVKVSKASGYTFNYGMNWKQAPGGLEWMMWINTYTGPEYADKFGQR VTMTTDTSTAYMEIRNLGGDDTAVYCARWWSGDYVYFDYWGQTSVTVSSGGGGSGGGSGG GGSDIVMTQSPDLSLTVSLGERTTINCKSSQSVLDSSTNKNLSLAWYQKPKQPPKLLLSWASTRESGI PDRFSGSGSDTFTLIDSPQEDSATYICQSSAHFPIIFGQTRLEIKSGGGGSEVLVESGGGLV QPPGSLKLSCAASGFTFNKAMNWRQAPKGLWVARIRSKYNNYATYADSVKDRFTLISRDDSKN TAYLQMNLLKTEDTAVYCVRHGNFGNSYISYWAYWQGTSLVTVSSGGGGSGGGSGGGGQTVVQ EPLTVSPGGTTLTCCGSSGTGAVTSGYVSNWVQKPKQAPRGLIGGTFKFLAPGTPARFSGSLGGKA ALLLSGVQPEDEAEYICLVNYSNRWVFGGKTLTVL
140	HL E11 против CD33 x HL H2C	искусственная	нт	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGAGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGAGAGTCAGTCAAGGTCTCCTGCA AGGCTAGCGGGTATACCTTCAAAACTATGGAATGAAGTGGGTGAAGCAGGCTCCAGGACAGGGTTT AGAGTGGATGGGCTGGATAAACACCTACACTGGAGAGCCAACTATGCTGATAAGTTCAGGAGACGC GTTACCATGACTACGGATACCTTACCAGCACTGCCTATATGGAATCCGCAACCTCGGAGGTGATG ACACGGCTGTATATTAAGTGTGCGCGCTGGAGTTGGAGTGATGGTTACTACGTTTACTTTGACTACTG GGGCCAAGGCACTTCGGTACCCTCTCCTCAGGTGGTGGTGGTTCTGGCGCGCGCGCTCCGGTGGT GGTGGTTCTGACATCGTGATGACACAGTCTCCAGACTCCCTGACTGTCTCTGGCGAGAGGACCA CCATCAACTGCAAGTCCAGCCAGAGTGTTTAGACAGCTCCACGAATAAGAAGTCTTACTAGTTGGTA CCAGCAGAAACAGGACAGCTCCTAAATTAAGTCTTCTGGGATCTACCGGGAAATCCGGGATC CCTGACCGATTGAGTGGCAGCGGTCTGGGACAGATTTCACTCTCACTATTGACAGCCGACAGCTC AAGATTTGCAACTTACTATTGTCAACAGTCTGCCACTTCCCGATCACCTTTGGCAAGGACAGC ACTGGAGATTAATCCGGAGGTGGTGGCTCCGAGGTGCAGTGGTGCAGTCTGGAGGAGGATTTGGT CAGCTTGAGGGTCAATGAACTCTCATGTGCAGCCTCTGGATTCACTCAATAGATACAGGATG
				ACTGGTCCGCGAGGCTCCAGGAAAGGTTTGGAAATGGGTGCTCGCATAAAGTAAATATAATAA TTATGCAACATATTATGCCGATTCACTGAAAGACAGGTTCAACATCTCCAGAGATGATTCACAAAAC ACTGCCTATCTCAAAATGAACAATGAAACTGAGGACACTGCCGTACTACTGTGTGAGACATG GGAATCTCGGTAATAGCTACATATCTACTGGGCTTACTGGGCAAGGACTCTGGTCAACCTCTC CTCAGTGGTGGTGGTTCTGGCGCGCGCGCTCCGGTGGTGGTGGTTCTCAGACTGTTGTGACTCAG GAACCTTCACTCACCGTATCACTGGTGAACAGTCAACTCACTTTGGCTCCTCGACTGGGGCTG TTACATCTGGCTACTACCCAACTGGGTCCAACAAAACAGGTGAGGACCCCGTGGTCTAATAGG TGGGACTAAGTCTCCGCCCCGCTACTCCTGCCAGATTCTCAGGCTCCCTGCTTGAAGGCAAGGCT GCCCTCACCTCTCAGGGGTACAGCCAGAGGATGAGGACAGAAATTAAGTGTGCTGTGATGACAGCA ACCCTGGGTGTTCCGGTGGAGGAACCAACTGACTGTCCTA
141	HL E11 против CD33 x HL F12Q	искусственная	ак	QVQLVQSGAEVKKPESVKVSKASGYTFNYGMNWKQAPGGLEWMMWINTYTGPEYADKFGQR VTMTTDTSTAYMEIRNLGGDDTAVYCARWWSGDYVYFDYWGQTSVTVSSGGGGSGGGSGG GGSDIVMTQSPDLSLTVSLGERTTINCKSSQSVLDSSTNKNLSLAWYQKPKQPPKLLLSWASTRESGI PDRFSGSGSDTFTLIDSPQEDSATYICQSSAHFPIIFGQTRLEIKSGGGGSEVLVESGGGLV QPPGSLKLSCAASGFTFNKAMNWRQAPKGLWVARIRSKYNNYATYADSVKDRFTLISRDDSKN TAYLQMNLLKTEDTAVYCVRHGNFGNSYVSWAYWQGTSLVTVSSGGGGSGGGSGGGGQTVVQ EPLTVSPGGTTLTCCGSSGTGAVTSGYVSNWVQKPKQAPRGLIGGTFKFLAPGTPARFSGSLGGKA ALLLSGVQPEDEAEYICLVNYSNRWVFGGKTLTVL
142	HL E11 против CD33 x HL F12Q	искусственная	нт	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGAGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGAGAGTCAGTCAAGGTCTCCTGCA AGGCTAGCGGGTATACCTTCAAAACTATGGAATGAAGTGGGTGAAGCAGGCTCCAGGACAGGGTTT AGAGTGGATGGGCTGGATAAACACCTACACTGGAGAGCCAACTATGCTGATAAGTTCAGGAGACGC GTTACCATGACTACGGATACCTTACCAGCACTGCCTATATGGAATCCGCAACCTCGGAGGTGATG ACACGGCTGTATATTAAGTGTGCGCGCTGGAGTTGGAGTGATGGTTACTACGTTTACTTTGACTACTG GGGCCAAGGCACTTCGGTACCCTCTCCTCAGGTGGTGGTGGTTCTGGCGCGCGCGCTCCGGTGGT GGTGGTTCTGACATCGTGATGACACAGTCTCCAGACTCCCTGACTGTCTCTGGCGAGAGGACCA CCATCAACTGCAAGTCCAGCCAGAGTGTTTAGACAGCTCCACGAATAAGAAGTCTTACTAGTTGGTA CCAGCAGAAACAGGACAGCTCCTAAATTAAGTCTTCTGGGATCTACCGGGAAATCCGGGATC CCTGACCGATTGAGTGGCAGCGGTCTGGGACAGATTTCACTCTCACTATTGACAGCCGACAGCTC AAGATTTGCAACTTACTATTGTCAACAGTCTGCCACTTCCCGATCACCTTTGGCAAGGACAGC ACTGGAGATTAATCCGGAGGTGGTGGCTCCGAGGTGCAGTGGTGCAGTCTGGAGGAGGATTTGGT CAGCTTGAGGGTCAATGAACTCTCATGTGCAGCCTCTGGATTCACTCAATAGTACGCCATATAA ACTGGGTCCGCGAGGCTCCAGGAAAGGTTTGGAAATGGTTGCTCGCATAAAGTAAATATAATAA TTATGCAACATATTATGCCGATTCACTGAAAGCAGGTTCAACATCTCCAGAGATGATTCAAAALAC ACTGCCTATCTCAAAATGAACAATGAAACTGAGGACACTGCCGTACTACTGTGTGAGACATG GGAATCTCGGTAATAGCTACTTTCTGGTGGGCTTACTGGGCAAGGACTCTGTGCAACCTCTC CTCAGTGGTGGTGGTTCTGGCGCGCGCGCTCCGGTGGTGGTGGTTCTCAGACTGTTGTGACTCAG GAACCTTCACTCACCGTATCACTGGTGAACAGTCAACTCACTTTGGCTCCTCGACTGGGGCTG TTACATCTGGCAACTACCCAACTGGGTCCAACAAAACAGGTGAGGACCCCGTGGTCTAATAGG TGGGACTAAGTCTCCGCCCCGCTACTCCTGCCAGATTCTCAGGCTCCCTGCTTGGAGGCAAGGCT

				GCCCTCACCTCTCAGGGGTACAGCCAGAGGATGAGGCAGAATATTACTGTGTTCTATGGTACAGCA ACCGCTGGGTGTTCCGGTGGAGGAACCAACTGACTGTCCTA
143	HL E11 против CD33 x HL I2C	искусственная	ак	QVQLVQSGAEVKKPESVKVSCKASGYTFNHYGMNWKQAPGGLEWVWVINTYPTGPTADKFKQGR VTMTTDTSTVAIMEIRNLGGDDTAVVYCARWNSDGYVYVFDYWGQGTSTVTVSSGGGGGGGGGG GGSDIVMTQSPDLSLTVSLGERTINCKSSQSVLDSSTNKNLSLAWYQKPKQPEKLLLSWASTRESGLV PDRFSSGSGSDTDFLLTIDSPQEDSATYCYQQSAHPFITFGQSTRLEIK3GGGSSVQVLVESGGGLV QFPGSLKLSKAASGFTFNKYAMNWRQAFGRGLEWVARIRSKYNNYATYIADSVKDRFTLSRDDSN TAYLQMNLLKTEDTAVVYCVRHGNFGNSYISYWAYWQGTSTVTVSSGGGGGGGGGGGGGGGGTQVTVQ EPLSLTVSPGGTVTLTCSSTGAVTSGYPNWVQKPKQAPRGLIGGTFKFLAPGTFARFSGSLGGKKA ALLLSGVQPEDEAEYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVL
144	HL E11 против CD33 x HL I2C	искусственная	нт	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGAGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGAGAGTCAGTCAAGTCTCCTGCA AGGCTAGCGGGTATACCTTCAACAATATGGAATGAACCTGGGTGAAGCAGGCTCCAGGACGGGTTT AGAGTGGATGGGCTGGATAAACACCTACACTGGAGAGCCAACTATGCTGATAAGTTCCAGGACGC GTACACTGACTACGGATACCTTACACGACTGCTATATGGAATCCGCAACTCCGAGGTGATG ACACGGCTGTATATTAAGTCTGCGCGCTGGAGTTGGAGTATGTTACTACGTTTACTTTGACTACTG GGGCAAGGCACTTCGGTACCGCTCCTCAGGTGGTGGTGGTCTGGCGGCGGGCGCTCCGGTGGT GGTGGTCTGACATCGTGTACACAGTCTCCAGACTCCCTGACTGTCTCTGGGCACTACCGGGAAACCA CCATCAACTCGCAATCCAGCCAGAGTGTTTAGACAGCTCCAGCAATAGAAGTCTTACTGCTGGTA CCAGCAGAACCAGGACAGCTTCTAAATTAATCTTCTTCTGGGCACTACCGGGAACTCCGGGATC CCTGACCGATTCAAGTGGGCGGGCTGGGACAGATTTCACTCTCACTATTGACAGCCGACAGCTC AAGATTCTGCAACTTAATTTGTCAACAGTCTGCCACTTCCGATCACCTTGGCCAGGACAGCAG ACTGGAGATTAATCCGGAGTGGTGGCTCCGAGGTGCAGTGGTCCAGTCTGGAGAGGAGTGGTG CAGCTGAGGGGCTATTGAACTCTCATGTGCGAGCTCTGGATTCACTCAATAAGTACCGCATGA ACTGGTCCGCGAGGCTCCAGGAAAGGTTTGGAAATGGTGTCTCGCATAGAAGTAAATATAATAA TTATGCAACATATATGCGGATTCAGTGAAGAAGCAGGTTACCATCTCCAGAGATGATCAAAAAAC ACTGCGCTATCAACAATGAACAACCTTGAACACTGAGGACACTGCCGTGACTACTGTGGAGGACATG GGAACCTCGGTAATAGCTACATATCTTCTGGGCTTACTGGGGCAAGGGACTCTGGTACCCTCTC CTCAGGTGGTGGTGGTCTGGCGGCGGGCTCCGGTGGTGGTGGTCTCAGACTGTGTGACTCAG GAACCTTCACTACCGTATCACTGGTGAACAGTCAACTCACTTGTGGTCTCAGTGGGGCTG TTACATCTGGCAACTACCCAACTGGTCCAAACAAAACAGGTGAGGACCCCGTGGTCTAAATAGG TGGGACTAAGTCTCCGCCCCGCTACTCCTGCCAGATTTCCAGGCTCCCTGCTGGAGGCAAGGCT GCCCTACCCTCTCAGGGGTACAGCCAGAGGATGAGGCAGAATATTACTGTGTTCTATGGTACAGCA ACCGCTGGGTGTTCCGGTGGAGAACCAACTGACTGTCCTA
145	CD33	человеческая	нт	ATGGGATGGAGCTGTATCATCTCTTCTTGGTAGCAACAGCTACAGGTGTACACTCCGATCCAAAT TCTGGCTGCAAGTCCAGGACTCAGTGACGGTACAGGAGGGTTGTGGCTCCTCGTCCCTGCACTTT CTTCCATCCCATACCTACTACGACAAGAACTCCCAAGTTCATGGTACTGGTCCGGGAAGGAGCC ATTATATCCGGGACTCTCCAGTGGCCCAAAACAAGCTAGATCAAGAAGTACAGGAGGAGACTCAGG GCAGATTCGGCTCTTGGGATCCAGTAGGAACAACCTGCTCCCTGAGCATCTGACAGCCAGGAG GAGGGATAATGGTTTACTACTTCTTCCGATGGAGAGGAAAGTACCAAAATACAGTTACAAATCTCCC
				CAGCTCTCTGTGCATGTGACAGACTTGACCCACAGGCCCAAATCTCTCCCTGGCACTCTAGAAC CCGCGCACTCCAAAACCTGACTGCTGTGTCTTGGGCTGTGAGCAGGGAACCCCGGATCTT CTCCTGGTGTGACAGTCCGCCACCTCCTGGGCGCCAGGACTACTCACTCTCGGTGCTCATATAC ACCCACGGGCCCCAGGACCCAGCCACCACTGACCTGTCCAGGTGAAGTTCGCTGGAGCTGGTGTGA CTACGGAGAGAACATCCAGCTCAACGTCACTATGTTCCACAGAACCCAACTGATCTTTCC AGGAGATGGCTCAGGGAACAAGAGACAGGAGCAGGAGTGGTTCATGGGGCATTGGAGGAGCTGGT GTTACAGCCCTGCTCGCTTTTGTCTCTGCTCATCTTCTCATAGTGAAGACCCACAGGAGAAAG CAGCCAGGACAGCAGTGGGAGGAATGACACCCACCTACCAAGGCTCAGCTCCCGGAAACACCA GAAAGAAGTCAAGTTACATGGCCCACTGAAACCTCAAGCTGTTCAGGTGCCGCGGCTCTGGAG ATGGATGAGGAGTGCATATGCTTCCCTCAACTTTCATGGGATGAATCTTCCAGGACACCTCCA CCGAATACTCAGAGGTGAGGCCAGTCCGGGCACTCATCCATCATATTGA
146	CD33	человеческая	ак	MGWSCLILFLVATATGVHSDPNFVLQVQESVTVQEGLCVLPCTFFHPIPYDKNSPVHYWFREGA LISGDSPVATNKLQEVQETQGRFRLLDGDSRNCSLSIVDARRRDNYSYFFRMRGSKYSYKSP QLSVHVTDLTHRPKILIPGLEPHSKNLTCVSWACBQGTPIIFSWLSAAPTSLGRVTHHSVLLII TRFPDHTNLTCQVFKFAGAVTERTIQLNVTYVQNFITGI FPGDGSQKQETRAGVHHAIIGGAG VTALLALCLLIFVVKTRRKAARTAVGRNDTHFTTGSASPKHQKSKLHGPTETS SCSGAAPTVE MDEELHYASLNFHGMNPKSDTSTEYSVTRTQSGHHHHHH
147	CD33	макака	нт	ATGCCGCTGCTGCTACTGCTGCCCCGCTGTGGGACGGGCGCTGGCTATGGATCCAAGAGTCAGGC TGGAAAGTGCAGGAGTCAGTGACAGTACAGGAGGGTTTGTGGCTCTTGTGCCCTGCATTTCTTCCA TCCGCTACCCTACCACACAGGAATTCACAGTTTCAATGGTTACTGGTTCCGGGAAGGAGCCATTTA TCCCTTGGACTCTCAGTGGCCACAAACAGCTAGATCAAGAAGTACAGGAGGAGACCCAGGGCCGAT TCCGCTCCTTGGGGATCCAGTAGGAACAACCTGCTCCCTGAGCATCGTAGATGCCAGGAGGAGGA TAAACGTTTCACTACTTCTTCCGATGGAGAAAGGAAGTACCAAAATACAGTTACAAATCTACCCAGCTC TCTGTGATGTGACAGACTTGACCCACAGGCCCAATCCTCATCCCTGGAGCCCTAGACCCCTGACC ACTCCAAAACTGACCTGCTCTGTGCCCTGGGCTGTGAGCAGGGAACACTCCAAATCTTCTCCTG GATGTCAAGTCCCGCCACTCCTGGGCTCAGGACCACTCACTCCTGGTGTCTATAATCACCCCA CGGCCCCAGGACCCAGCCAACTCACTGTCAGGTGAAGTTCCTGGAGCTGGCTGACACCGG AGAGAACCATCCAGCTCAATGTCTCTATGCTTACAGAACCCAAAGAACTGATATCTTTCTAGGAGA CGGCTCAGGAAACAAGAGTGGTTCAGGAGCCATCGGGGAGCTGGTGTACACAGTCTGCTCGT CTTTGCTCTGCTCATCTTCTTACAGTGAAGACTCACAGGAGGAAGCAGCCAGGACAGCAGTGG GCAGGATCGACCCACCCCGCCACAGGCCAACCTCTCGAAACACAGAGAAGTCCAGTTACAC TGGCGCCACTGAAACCTCAGGCTGTTCAAGTACCACTCTACTGTGGAGTGGATGAGGAGCTGCAC TACGCTTCCCTCAACTTTCATGGGATGAATCTTCTGAGGACACTCCACCAATACTCAGAGGTCA GGACCCAGTGA
148	HL H2C UD против CD33 x HL AF5	искусственная	ак	EVQLVESGGGLVPGGSLKLSKAASGFTFNKYAMNWRQAPGKLEWVARIRSKYNNYATYIADSVK DRFTLSRDDSNKNTAYLQMNLLKTEDTAVVYCVRHGNFGNSYISYWAYWQGTSTVTVSSGGGGGGGG SGGGGQTVVTEPESLTVSPGGTVTLTCSSTGAVTSGYPNWVQKPKQAPRGLIGGTFKFLAPGTF ARFSGSLGGKKAALLLSGVQPEDEAEYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVLSSGGGGVQLVQSGAEVKK PGASVKVSKASGYTFNHYGMNWKQAPGGLEWVWVINTYPTGPTADKFKQGRVTMTDTSTVAIMEI RNLGGDDTAVVYCARWNSDGYVYVFDYWGQGTSTVTVSSGGGGGGGGGGGGGGGGTQVTVQ EPLSLTVSPGGTVTLTCSSTGAVTSGYPNWVQKPKQAPRGLIGGTFKFLAPGTFARFSGSLGGKKA ALLLSGVQPEDEAEYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVLSSGGGGVQLVQSGAEVKK

				LELHNLRSDDTAVYYCARWSWSDGYVYFDYWGQTTVTVSSgggsgggsgggsggggDIVMTQSPDS LTVSLGERTTINCKSSQSVLDSRNKNSLAWYQKPGQPPKLLLSWASTRESGI PDRFSGSGSGTDF TLTIDSLQPEDSATYYCQQAHPFITFGQTRLEIK
149	HL H2C UD против CD33 x HL AF5	искусственная	нт	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGAGGAGGATTGGTGCAGCCTGGAGGGTCATTGAAACTCTCATGTG CAGCCTCTGGATTACCTTCAATAAGTACGCCATGAACTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGAAGGGTTT GGAATGGTGTGCTCGCATAAAGTAAATATAATAATATGCAACATATTATGCCGATTCACTGAAA GACAGGTTACCATCTCCAGAGATGATTCAAAAAACACTGCCTATCTACAAATGAAACACTGAAAA CTGAGGACACTGCCGTGTACTACTGTGTGAGACATGGGAACCTCGGTAAATAGCTACATATCTACTG GGCTTACTGGGGCCAAAGGACTCTGGTCAACGCTCTCCTCAGGTGGTGGTGGTCTGGCGGGCGGGC TCCGGTGGTGGTGGTCTCAGACTGTTGTGACTCAGGAACCTTCACTCACCCTATCACCTGGTGGAA CAGTCACTACTCTGTGGCTCCTCGACTGGGGCTGTACATCTGGCTACTACCCAACTGGGTCCA ACAAAAACAGGTCAGGCAACCCGTTGCTAATAGGTGGGACTAAGTTCTCGCCCCGGTACTCCT GCCAGATTCTCAGGCTCCCTGCTTGGAGGCAAGGTCGCCCTCACCCTCAGGGGTACAGCCAGAGG ATGAGGACAGATATTACTGTGCTCTATGGTACAGCAACCGCTGGGTGTTCCGTGGAGGAACCAACT GACTGTCTATCCGAGGTGGTGGTCCCAGGTGCAGCTGGTCCAGTCTGGAGCTGAGGTGAAAGC CTGGAGCTCAGTCAAGGTCTCTGCAAGGCTAGCGGTATACCTTCAAACTATGAAATGAACT GGGTGAAGCAGGCTCCAGGACAGGTTTAAAGTGGTGGGCTGGATAAACCACTACACTGGAGACC AACATATGCTGATGACTTCAAGGACGGGTACCATGACTTCGGATACCTCTACCAACTGCCTAT TTGGAATCCACAACCTCAGAAGTATGACACGGCTGTATATTACTGTGGCGCTGGAGTGGAGTG ATGGTACTACGTTTACTTGACTACTGGGCCAAGGCACTACGGTCAACGCTCCTCAGCTGGTGG TGGTCTGGCGGGCGGGCTCCGGTGGTGGTGGTCTGACATCGTGATGACACACTCTCCAGACTCC CTGACTGTGTCTCTGGGCGAGAGGACCACCACTCAACTGCAAGTCCAGCCAGAGTGTTTAGACAGCT CCAAGAAATAAGAACTCCTTAGCTTGGTACCAGCAGAAACAGGACAGCCTCCTAAATTAACCTTTC CTGGGACTACCGGGAAATCCGGGATCCCTGACCGATTCACTGGCGAGCGGGTCTGGGACAGATTC ACTCTCACTATTGACAGCCTGACGCTGAAGATTCTGCAACTTACTATTGTCAACAGTCTGCCACT TCCCGATCACCTTGGCCAAGGACACGACTGGAGATTAAT
150	HL F12Q UD против CD33 x HL AF5	искусственная	ак	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSKAASGFTFNKYAMNWRQAPGKLEWVARIRSKYNNYATYYADSVK GRFTISRDDSKNTAYLQMNLLKTEDTAVYVVRHGNFGNSYVSWWAYWQGLTVTVSSGGGSGGGG SGGGGSGTAVTQEPFLTVSPGGTTLTCSSTGAVTSGNYPNVQKPGQAPRGLIGGTFKFLAEPG ARFSGSLGGKAAALFLSGVQPEDEAEYCVLWYSNRWVFGGKTLTVLSGGGSGVQLVQSGAEVKK PGASVKVCKASGYFTFTNYGMNWKQAPGQGLKWMGWINTYTGPEYADDFKGRVMTSDTSTAY LELHNLRSDDTAVYYCARWSWSDGYVYFDYWGQTTVTVSSgggsgggsgggsggggDIVMTQSPDS LTVSLGERTTINCKSSQSVLDSRNKNSLAWYQKPGQPPKLLLSWASTRESGI PDRFSGSGSGTDF TLTIDSLQPEDSATYYCQQAHPFITFGQTRLEIK
151	HL F12Q UD против CD33 x HL AF5	искусственная	нт	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGAGGAGGATTGGTGCAGCCTGGAGGGTCATTGAAACTCTCATGTG CAGCCTCTGGATTACCTTCAATAAGTACGCCATGAACTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGAAGGGTTT
				GGAATGGTGTGCTCGCATAAAGTAAATATAATAATATGCAACATATTATGCCGATTCACTGAAA GGCAGGTTACCATCTCCAGAGATGATTCAAAAAACACTGCCTATCTACAAATGAAACACTGAAAA CTGAGGACACTGCCGTGTACTACTGTGTGAGACATGGGAACCTCGGTAAATAGCTACGTTTCTCGTGG GGCTTACTGGGGCCAAAGGACTCTGGTCAACGCTCTCCTCAGGTGGTGGTGGTCTGGCGGGCGGGC TCCGGTGGTGGTGGTCTCAGACTGTTGTGACTCAGGAACCTTCACTCACCCTATCACCTGGTGGAA CAGTCACTACTCTGTGGCTCCTCGACTGGGGCTGTACATCTGGCAACTACCCAACTGGGTCCA ACAAAAACAGGTCAGGCAACCCGTTGCTAATAGGTGGGACTAAGTTCTCGCCCCGGTACTCCT GCCAGATTCTCAGGCTCCCTGCTTGGAGGCAAGGTCGCCCTCACCCTCAGGGGTACAGCCAGAGG ATGAGGACAGATATTACTGTGCTCTATGGTACAGCAACCGCTGGGTGTTCCGTGGAGGAACCAACT GACTGTCTATCCGAGGTGGTGGCTCCAGGTGCAGCTGGTCCAGTCTGGAGCTGAGGTGAAAGC CCTGAGCCTCACTCAAGTCTCCTGCAAGGCTAGCGGTATACCTTCAAACTATGGAAGTAACT GGGTGAAGCAGGCTCCAGGACAGGTTTAAAGTGGTGGGCTGGATAAACCACTACACTGGAGAGCC AACATATGCTGATGACTTCAAGGACGGGTACCATGACTTCGGATACCTTACCAGCACTGCCTAT TTGGAATCCACAACCTCAGAAGTATGACACGGCTGTATATTACTGTGGCGCTGGAGTGGAGTG ATGGTACTACGTTTACTTGACTACTGGGCCAAGGCACTACGGTCAACGCTCTCCTCAGTGGTGG TGGTCTGGCGGGCGGGCTCCGGTGGTGGTGGTCTGACATCGTGATGACACACTCTCCAGACTCC CTGACTGTGTCTCTGGGCGAGAGGACCACCACTCAACTGCAACTCCAGCCAGAGTGTTTAGACAGCT CCAAGAAATAAGAACTCCTTAGCTTGGTACCAGCAGAAACAGGACAGCCTCCTAAATTAACCTTTC CTGGGACTACCGGGAAATCCGGGATCCCTGACCGATTCACTGGCGAGCGGGTCTGGGACAGATTC ACTCTCACTATTGACAGCCTGACGCTGAAGATTCTGCAACTTACTATTGTCAACAGTCTGCCACT TCCCGATCACCTTGGCCAAGGACACGACTGGAGATTAAT
152	HL I2C UD против CD33 x HL AF5	искусственная	ак	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSKAASGFTFNKYAMNWRQAPGKLEWVARIRSKYNNYATYYADSVK DRFTISRDDSKNTAYLQMNLLKTEDTAVYVVRHGNFGNSYVSWWAYWQGLTVTVSSGGGSGGGG SGGGGSGTAVTQEPFLTVSPGGTTLTCSSTGAVTSGNYPNVQKPGQAPRGLIGGTFKFLAEPG ARFSGSLGGKAAALFLSGVQPEDEAEYCVLWYSNRWVFGGKTLTVLSGGGSGVQLVQSGAEVKK PGASVKVCKASGYFTFTNYGMNWKQAPGQGLKWMGWINTYTGPEYADDFKGRVMTSDTSTAY LELHNLRSDDTAVYYCARWSWSDGYVYFDYWGQTTVTVSSgggsgggsgggsggggDIVMTQSPDS LTVSLGERTTINCKSSQSVLDSRNKNSLAWYQKPGQPPKLLLSWASTRESGI PDRFSGSGSGTDF TLTIDSLQPEDSATYYCQQAHPFITFGQTRLEIK
153	HL I2C UD против CD33 x HL AF5	искусственная	нт	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGAGGAGGATTGGTGCAGCCTGGAGGGTCATTGAAACTCTCATGTG CAGCCTCTGGATTACCTTCAATAAGTACGCCATGAACTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGAAGGGTTT GGAATGGTGTGCTCGCATAAAGTAAATATAATAATATGCAACATATTATGCCGATTCACTGAAA GACAGGTTACCATCTCCAGAGATGATTCAAAAAACACTGCCTATCTACAAATGAAACACTGAAAA CTGAGGACACTGCCGTGTACTACTGTGTGAGACATGGGAACCTCGGTAAATAGCTACATATCTACTG GGCTTACTGGGGCCAAAGGACTCTGGTCAACGCTCTCCTCAGGTGGTGGTGGTCTGGCGGGCGGGC TCCGGTGGTGGTGGTCTCAGACTGTTGTGACTCAGGAACCTTCACTCACCCTATCACCTGGTGGAA CAGTCACTACTCTGTGGCTCCTCGACTGGGGCTGTACATCTGGCAACTACCCAACTGGGTCCA

				ACAAAAACAGGTCAGGCACCCCGTGGTCTAATAGGTGGGACTAAGTTCCTCGCCCCGGTACTCCTGCCAGATTCTCAGGCTCCCTGCTTGGAGGCAAGGCTGCCCTCACCCCTCAGGGGTACAGCCAGAGGATGAGGCAGAAATACTGTGTCTATGGTACAGCAACCCGCTGGTGTTCGGTGGAGGAAACCAACTGACTGTCTATCCGGAGGTGGTGGCTCCAGGTGCAGCTGGTCCAGTCTGGAGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGAGCGTCAAGGTCTCTGCAAGGCTAGCGGGTATACCTTCAACAACATATGGAATGAATGGGTGAACAGGCTCCAGGACAGGTTAAAGTGGATGGGCTGGATAAACCACTACACTGGAGGCCAACATATGCTGACTTCAAGGACGGGTACCATGACTTGGATACCTTACACGACTGCCTATTTGGAAGTCCCAACCTCAGAAGTGTACACGGGTGTATATTAAGTGTGCGCGCTGGAGTGGAGTATGTTACTACTGTTACTTTGACTACTGGGCCAAGGCACTACGGTACCGCTCCTCAGGTGGTGGTGTTCGGGGCGGGCTCCGGTGGTGGTGGTGTGACATGCTGATGACACAGTCTCCAGACTCCGACTGCTCTGGGGGAGAGGACCACCACTCAACTGCAAGTCCAGCCAGAGTGTTAGACAGCTCCAAGAAATAAGAACTCCTTAGCTTGGTACCAGCAGAAACAGGACAGCCCTCTAAATTAAGTCTTTCTGGGCATCTACGGGGAATCCGGATCCCTGACCGATTCAAGTGGCAGCGGGTCTGGGACAGATTCACTCTCACTATTGACAGCTGACCGCTGAAGATTCTGCAACTTACTATTGTCACAGTCTGCCCACTTCCCGATCACTTTGGCCAAAGGACACGACTGGAGATAAA
154	VL F6A	искусственная	ак	QTVVTQEPSSLTVSPGGTTLTCGSSTGAVTSGYYPNWVQKPGQAPRGLIGGTFKFLAPGTPARFSSGLGGKAAALTLGSGVQPEDEAEYYCALWYSNRWVFGGKTTLTVL
155	VH F6A	искусственная	ак	EVQLVDSGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNRYAMNWRQAPGKGLWVARI RSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDSKNTAYLQMNLLKTEDTAVYCVRHGNFGNSYLSFWAYWGQGLTVTVSS
156	VH-VL F6A	искусственная	ак	EVQLVDSGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNRYAMNWRQAPGKGLWVARI RSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDSKNTAYLQMNLLKTEDTAVYCVRHGNFGNSYLSFWAYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSQTVVTQEPSSLTVSPGGTTLTCGSSTGAVTSGYYPNWVQKPGQAPRGLIGGTFKFLAPGTPARFSSGLGGKAAALTLGSGVQPEDEAEYYCALWYSNRWVFGGKTTLTVL
157	VL-P F6A	искусственная	ак	ELVVTQEPSSLTVSPGGTTLTCGSSTGAVTSGYYPNWVQKPGQAPRGLIGGTFKFLAPGTPARFSSGLGGKAAALTLGSGVQPEDEAEYYCALWYSNRWVFGGKTTLTVL
158	VH-P F6A	искусственная	ак	EVQLVDSGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNRYAMNWRQAPGKGLWVARI RSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDSKNTAYLQMNLLKTEDTAVYCVRHGNFGNSYLSFWAYWGQGLTVTVSS
159	VH-VL-P F6A	искусственная	ак	EVQLVDSGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNRYAMNWRQAPGKGLWVARI RSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDSKNTAYLQMNLLKTEDTAVYCVRHGNFGNSYLSFWAYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGGSELVVTQEPSSLTVSPGGTTLTCGSSTGAVTSGYYPNWVQKPGQAPRGLIGGTFKFLAPGTPARFSSGLGGKAAALTLGSGVQPEDEAEYYCALWYSNRWVFGGKTTLTVL
160	VL H2C	искусственная	ак	QTVVTQEPSSLTVSPGGTTLTCGSSTGAVTSGYYPNWVQKPGQAPRGLIGGTFKFLAPGTPARFSSGLGGKAAALTLGSGVQPEDEAEYYCALWYSNRWVFGGKTTLTVL
161	VH H2C	искусственная	ак	EVQLVDSGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNRYAMNWRQAPGKGLWVARI RSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDSKNTAYLQMNLLKTEDTAVYCVRHGNFGNSYLSFWAYWGQGLTVTVSS
162	VH-VL H2C	искусственная	ак	EVQLVDSGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNRYAMNWRQAPGKGLWVARI RSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDSKNTAYLQMNLLKTEDTAVYCVRHGNFGNSYLSFWAYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSQTVVTQEPSSLTVSPGGTTLTCGSSTGAVTSGYYPNWVQKPGQAPRGLIGGTFKFLAPGTPARFSSGLGGKAAALTLGSGVQPEDEAEYYCALWYSNRWVFGGKTTLTVL
				ARFSSGLGGKAAALTLGSGVQPEDEAEYYCALWYSNRWVFGGKTTLTVL
163	VL-P H2C	искусственная	ак	ELVVTQEPSSLTVSPGGTTLTCGSSTGAVTSGYYPNWVQKPGQAPRGLIGGTFKFLAPGTPARFSSGLGGKAAALTLGSGVQPEDEAEYYCALWYSNRWVFGGKTTLTVL
164	VH-P H2C	искусственная	ак	EVQLVDSGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNRYAMNWRQAPGKGLWVARI RSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDSKNTAYLQMNLLKTEDTAVYCVRHGNFGNSYLSFWAYWGQGLTVTVSS
165	VH-VL-P H2C	искусственная	ак	EVQLVDSGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNRYAMNWRQAPGKGLWVARI RSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDSKNTAYLQMNLLKTEDTAVYCVRHGNFGNSYLSFWAYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGGSELVVTQEPSSLTVSPGGTTLTCGSSTGAVTSGYYPNWVQKPGQAPRGLIGGTFKFLAPGTPARFSSGLGGKAAALTLGSGVQPEDEAEYYCALWYSNRWVFGGKTTLTVL
166	VL H1E	искусственная	ак	QTVVTQEPSSLTVSPGGTTLTCGSSTGAVTSGYYPNWVQKPGQAPRGLIGGTFKFLAPGTPARFSSGLGGKAAALTLGSGVQPEDEAEYYCALWYSNRWVFGGKTTLTVL
167	VH H1E	искусственная	ак	EVQLVDSGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNRYAMNWRQAPGKGLWVARI RSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDSKNTAYLQMNLLKTEDTAVYCVRHGNFGNSYLSFWAYWGQGLTVTVSS
168	VH-VL H1E	искусственная	ак	EVQLVDSGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNRYAMNWRQAPGKGLWVARI RSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDSKNTAYLQMNLLKTEDTAVYCVRHGNFGNSYLSFWAYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSQTVVTQEPSSLTVSPGGTTLTCGSSTGAVTSGYYPNWVQKPGQAPRGLIGGTFKFLAPGTPARFSSGLGGKAAALTLGSGVQPEDEAEYYCALWYSNRWVFGGKTTLTVL
169	VL-P H1E	искусственная	ак	ELVVTQEPSSLTVSPGGTTLTCGSSTGAVTSGYYPNWVQKPGQAPRGLIGGTFKFLAPGTPARFSSGLGGKAAALTLGSGVQPEDEAEYYCALWYSNRWVFGGKTTLTVL
170	VH-P H1E	искусственная	ак	EVQLVDSGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNRYAMNWRQAPGKGLWVARI RSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDSKNTAYLQMNLLKTEDTAVYCVRHGNFGNSYLSFWAYWGQGLTVTVSS
171	VH-VL-P H1E	искусственная	ак	EVQLVDSGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNRYAMNWRQAPGKGLWVARI RSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDSKNTAYLQMNLLKTEDTAVYCVRHGNFGNSYLSFWAYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSQTVVTQEPSSLTVSPGGTTLTCGSSTGAVTSGYYPNWVQKPGQAPRGLIGGTFKFLAPGTPARFSSGLGGKAAALTLGSGVQPEDEAEYYCALWYSNRWVFGGKTTLTVL
172	VL G4H	искусственная	ак	QTVVTQEPSSLTVSPGGTTLTCGSSTGAVTSGYYPNWVQKPGQAPRGLIGGTFKFLAPGTPARFSSGLGGKAAALTLGSGVQPEDEAEYYCALWYSNRWVFGGKTTLTVL
173	VH G4H	искусственная	ак	EVQLVDSGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNRYAMNWRQAPGKGLWVARI RSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDSKNTAYLQMNLLKTEDTAVYCVRHGNFGNSYLSFWAYWGQGLTVTVSS
174	VH-VL G4H	искусственная	ак	EVQLVDSGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNRYAMNWRQAPGKGLWVARI RSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDSKNTAYLQMNLLKTEDTAVYCVRHGNFGNSYLSFWAYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSQTVVTQEPSSLTVSPGGTTLTCGSSTGAVTSGYYPNWVQKPGQAPRGLIGGTFKFLAPGTPARFSSGLGGKAAALTLGSGVQPEDEAEYYCALWYSNRWVFGGKTTLTVL
175	VL-P G4H	искусственная	ак	ELVVTQEPSSLTVSPGGTTLTCGSSTGAVTSGYYPNWVQKPGQAPRGLIGGTFKFLAPGTPARFSSGLGGKAAALTLGSGVQPEDEAEYYCALWYSNRWVFGGKTTLTVL
176	VH-P G4H	искусственная	ак	EVQLVDSGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNRYAMNWRQAPGKGLWVARI RSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDSKNTAYLQMNLLKTEDTAVYCVRHGNFGNSYLSFWAYWGQGLTVTVSS
177	VH-VL-P G4H	искусственная	ак	EVQLVDSGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNRYAMNWRQAPGKGLWVARI RSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDSKNTAYLQMNLLKTEDTAVYCVRHGNFGNSYLSFWAYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSQTVVTQEPSSLTVSPGGTTLTCGSSTGAVTSGYYPNWVQKPGQAPRGLIGGTFKFLAPGTPARFSSGLGGKAAALTLGSGVQPEDEAEYYCALWYSNRWVFGGKTTLTVL

217	HL E11 против SA25-CD33 x HL I2C H6		ак	EDICLPRWGLWEDQVLVQSGAEVKKPAGESVKVSKASGYTFTNYGMNVVKQAPGGQLEWGMWINT YTGEPYADKFKQGRVMTTDTSTSTAYMEIRNLGGDDTAVYCARWSWSDGYVYVFDYWGQGTSVTV SSGGGGSGGGSGGGGSDIVMTQSPDLSLTVSLGERTTINCKSSQSVLDSSTNKNLAWYQKPGQP KLLLSWASTRESGI PDRFSGSGSDFTLTDSPQEDSATYQCQSAHFPIIFGQTRLEIKRGGGG GSEVLVSGGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWRQAPKGLWEVARI RSKYNNVATYVYD VKDRFTI SRDSDKNTAYLQMNLLKTEDTAVYCVRHGNFNGSYI SYWAYWQGTILTVSSGGGGSGG GGSGGGSGTAVTQEPFLTVSPGGTTLTCSSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGTKFLAPG TPARFSGSLGGKAAATLSGVQPEDEAEYCVLWYSNRWVFGGKTLTVLHHHHHH
218	HL E11 против SA08-CD33 x HL I2C с His меткой		HT	CAGGGCCTGATCGCGACATCTGCCTGCCAGATGGGGCTGCCTGTGGGGGCACTCCGTGAAACAGG TGCAGCTGGTGCAGTCTGGAGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGAGAGTCAAGTCAAGGTCTCCTGCAAGGC TAGCGGGTATACCTTCAAAAATATGGAATGAACTGGGTGAAGCAGGCTCCAGGACAGGGTTAGAG TGGATGGGCTGGATAAACACCTACACTGGAGAGCCAACTATGCTGATAAGTTCCAGGACGCGTTA CCATGACTACGGATACTCTACAGCACTGCCTATATGGAATCCGCAACCTCGGAGGTGATGACAC GGCTGTATATACTGTCCGCGCTGGAGTTGAGTGTGTTACTACGTTTACTTTGACTACTGGGGC CAAGGCCTTCGGTACCCTCTCCTCAGGTGGTGGTGGTCTGGCGCGCGCGCTCCGGTGGTGGT GTTCTGACATCGTATGACACAGTCTCCAGACTCCCTGACTGTGTCTCTGGCGAGAGGACCCAT CACTGCAAGTCCAGCCAGAGTGTTTAGACAGCTCCAGCAATAAGAACTCCTAGCTTGGTACAG CAGAAACAGGACAGCTCCTAAATTACTCCTTCTCCTGGGCATCTACGCGGATCCGGGATCCCTG ACCGATTCACTGGACGCGGCTCTGGACAGATTCACTCTCACTATTGACAGCCCGCAGCTGAAGA TTCTGCAACTTACTATTGTCAACAGTCTGCCACTTCCCGATCACCTTGGCCAGGGACGCACTG GAGATTAATCCGGAGGTGGTGGCTCCAGGTGCAGCTGGTCAAGTCTGGAGGAGGATGACGACG CTGGAGGTCATTGAAACTCTCATGTGCAGCTCTGGATTCACTTCAATAAGTACGCCATGAACG GGTCCGCGAGGCTCCAGGAAAGGGTTTGAATGGGTGCTCGCATAAGAATAAATAAATAAATAA GCAACATATATGCCGATTCACTGAAAGACAGGTTCACTATCCAGAGATGATCAAAAAACACTG CCTATCTCAAAATGAACAACCTGAAAACTGAGGACACTGCCGTGTACTACTGTGTGAGACATGG TCTCGGTAATAGTACATATCCTACTGGGTTACTGGGCGCAAGGACTCTGGTCACTCCTCTCA GGTGGTGGTGGTCTGGCGCGCGCGCTCCGGTGGTGGTGGTCTCAGACTGTGTGACTCAGGAA CTTCACTCACCGTATCACTGGTGAACAGTCACTCACTTGGGCTCCTCGACTGGGCTGTATAC ATCTGGCACTACCAAACTGGTCCAAACAAAACAGGTCAGGACCCCGTGTATATAGTGGG ACTAAGTCTCCTGCCCGGCTACTCCTGCCAGATTCTCAGGCTCCTGCTTGGAGGCAAGGCTGCC TCACCCTCAGGGTACAGCAGAGGATGAGGAGAAATTAAGTGTGTCTATGATGACAGCAACCC CTGGGTGTTCGGTGGAGGAACAACTGACTGTCTCA CTACCATCACCATCAC
219	HL E11 против SA08-CD33 x HL H6		ак	QGLIGDILCLPRWGLWEDQVLVQSGAEVKKPAGESVKVSKASGYTFTNYGMNVVKQAPGGQLEW WGMWINTYTGEPYADKFKQGRVMTTDTSTSTAYMEIRNLGGDDTAVYCARWSWSDGYVYVFDYWG QKQSVTVSSGGGGSGGGSGGGGSDIVMTQSPDLSLTVSLGERTTINCKSSQSVLDSSTNKNLAWYQ KQKPGQPKLLLSWASTRESGI PDRFSGSGSDFTLTDSPQEDSATYQCQSAHFPIIFGQTRLEI EIKSGGGGSEVLVSGGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWRQAPKGLWEVARI RSKYNNY ATYVYDVKDRFTI SRDSDKNTAYLQMNLLKTEDTAVYCVRHGNFNGSYI SYWAYWQGTILTVSS GGGGSGGGSGGGSGTAVTQEPFLTVSPGGTTLTCSSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGG
220	HL E11 против SA21-CD33 x HL I2C		HT	TKFLAPGTPARFSGSLGGKAAATLSGVQPEDEAEYCVLWYSNRWVFGGKTLTVLHHHHHH CCCTGATTGAAGATATTTCCTGCCGCTGGGGCTGCCTGTGGAGATGATCAGGTGAGCTGG TGCAGTCTGGAGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGAGAGTCAAGTCAAGCTCTCCTGCAGGCTAGCGGGTA TACCTTCAAAAATATGGAATGAACTGGGTGAAGCAGGCTCCAGGACAGGGTTAGAGTGGATGGGC TGGATAAACACCTACACTGGAGAGCCAACTATGCTGATAAGTTCCAGGACGCGTTACTACTGACTA CGGATACTCTACAGCACTGCCTATATGGAATCCGCAACCTCGGAGGTGATGACACGGCTGTATA TTACTGTGCGCGCTGGAGTTGAGTGTGTTACTACGTTTACTTTGACTACTGGGGCCAGGGCACT TCCGTCAACCTCTCCTCAGGTGGTGGTGGTCTGGCGCGCGCGCTCCGGTGGTGGTGGTCTGACA TCCGTGATGACACAGTCTCCAGACTCCCTGACTGTGTCTCTGGCGAGAGGACCCATCAACTCAAA GTCCAGCCAGAGTGTTTAGACAGCTCCAGCAATAAGAACTCCTTAGCTTGGTACCAGCAGAAACA GGACAGCTCCTAAATTACTCCTTCTCCTGGCACTACGCGGGAATCCGGGATCCCTGACCTTCA GTGGCAGCGGCTGGGACAGATTCACTCTCACTATTGACAGCCCGCAGCTGAAGATTCTGCAAC TTACTATTGTCAACAGTCTGCCACTTCCGATCACCTTGGCCAGGGACAGACTGGAATTA TCCGGAGGTGGTGGTCCGAGGTGCAGCTGGTGGTGGTGGTGGGAGGATTTGGTGGAGCTGGAGGGT CATTAAGACTCTCATGTGCAGCTCTGGATTCACTTCAATAAGTACGCAATGAACTGGGTCGCCCA GGCTCCAGGAAAGGGTTTGAATGGGTGCTCGCATAAGAATAAATAAATAAATAAATAAATAAATAA TATGCCGATCACTGAAAGACAGGTTCACTATCCAGAGATGATTCAAAAACACTGACCTATCTAC AAATGAACAACCTGAAACTGAGGACACTGCCGTGACTACTGTGTGAGACATGGAACTTCGGTAA TAGCTACATATCTACTGGGCTTACTGGGGCAAGGACTCTGGTCAACCGTCTCCTCAGGTGGTGGT GGTCTCGCCCGCGCGCTCCGCTCCTGCTGCTTCTCAGACTGTCTGACTCACAAACCTTCACTCA CCGTATCACTGGTGAACAGTCACTACTCTTGGTCTCCTGACTGGGCTGTATATCTGGCA CTACCCAACTGGGTCCAACAAAACAGGTCAGGACCCCGTGGTCTAATAGGTGGGACTAAGTTCT CTCGCCCGGTACTCCTGCCAGATTCTCAGGCTCCTGCTTGGAGGCAAGGCTGCCCTACCCCTCT CAGGGGTACAGCCAGAGGATGAGGAGAAATTAAGTGTGTCTATGTTACAGCAACCGCTGGGTGT CGGTGGAGGAACCAACTGACTGTCTCA
221	HL E11 против SA21-CD33 x HL I2C		ак	RLIEDICLPRWGLWEDDQVLVQSGAEVKKPAGESVKVSKASGYTFTNYGMNVVKQAPGGQLEWGM WINTYTGEPYADKFKQGRVMTTDTSTSTAYMEIRNLGGDDTAVYCARWSWSDGYVYVFDYWGQGT SVTVSSGGGGSGGGSGGGGSDIVMTQSPDLSLTVSLGERTTINCKSSQSVLDSSTNKNLAWYQK GQPKLLLSWASTRESGI PDRFSGSGSDFTLTDSPQEDSATYQCQSAHFPIIFGQTRLEIKRGG SGGGSEVLVSGGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWRQAPKGLWEVARI RSKYNNVATY YDVKDRFTI SRDSDKNTAYLQMNLLKTEDTAVYCVRHGNFNGSYI SYWAYWQGTILTVSSGGG GSGGGSGGGSGTAVTQEPFLTVSPGGTTLTCSSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGTKFL APGTPARFSGSLGGKAAATLSGVQPEDEAEYCVLWYSNRWVFGGKTLTVL
222	HL E11 против SA25-CD33 x HL I2C		HT	GAGGACATCTGCCTGCCAGATGGGGCTGCCTGTGGGAGGACAGGTCAGCTGGTGCAGTCTGGAG CTGAGGTGAAGAAGCCTGGAGAGTCAAGTCAAGGTCTCCTGCAAGGCTAGCGGGTATACCTACAAA CTATGGAATGAACTGGGTGAAGCAGGCTCCAGGACAGGTTAGAGTGGATGGGCTGGATAAACACC TACACTGGAGAGCCAACTATGCTGATAAGTTCCAGGACGCGTTACCATGACTACGGATACCTTA CCAGCACTGCACTATGGAATCCGCAACCTCGGAGGTGATGACACGGCTGTATATTAAGTGGCGC CTGGAGTGGAGTGGTACTACTACTTACTTTACTTACTACTGGGGCCAGGCACTTGGTCAACCGCT

- (а) эпигенетический фактор вводят до введения соединения, нацеленного на CD33;
 (б) эпигенетический фактор вводят после введения соединения, нацеленного на CD33; или
 (в) эпигенетический фактор и соединение, нацеленное на CD33, вводят одновременно.

3. Способ по п.1 или 2, при котором первую дозу эпигенетического фактора вводят до начала введения соединения, нацеленного на CD33.

4. Способ по п.3, при котором введение эпигенетического фактора продолжают во время введения соединения, нацеленного на CD33.

5. Способ по п.1, где конструкция биспецифического антитела представляет собой конструкцию биспецифического одноцепочечного антитела.

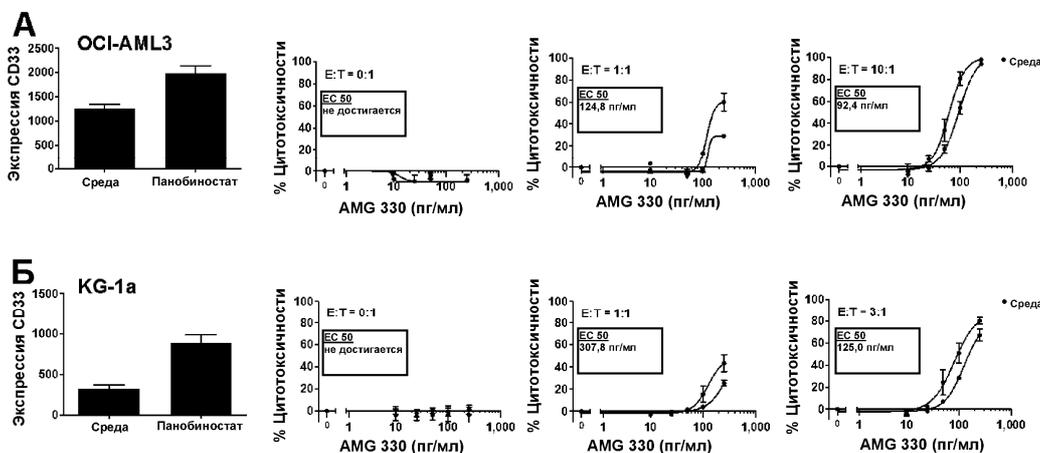
6. Способ по п.1 или 5, где конструкция биспецифического антитела связывается с CD3 и CD33 человека и яванского макака.

7. Способ по любому из пп.1, 5 или 6, где конструкция биспецифического антитела содержит первый связывающий домен, специфически связывающийся с CD33 и содержащий цепь VL, имеющую аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO: 6, 24, 42, 60, 78, 96, 114 и 132, и цепь VH, имеющую аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO: 1, 19, 37, 55, 73, 91, 109 и 127; и

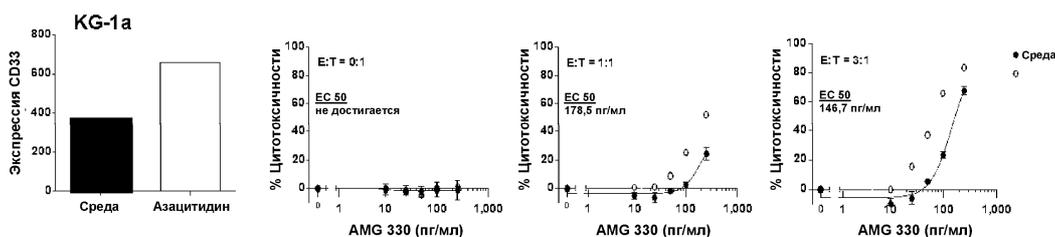
второй связывающий домен, специфически связывающийся с CD3 и содержащий цепь VL, имеющую аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO: 154, 157, 160, 163, 166, 169 и 172, и цепь VH, имеющую аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO: 155, 158, 161, 164, 167, 170 и 173.

8. Способ по п.7, где конструкция биспецифического антитела содержит аминокислотную последовательность, показанную в любой из SEQ ID NO: 13, 15, 17, 31, 33, 35, 49, 51, 53, 67, 69, 71, 85, 87, 89, 103, 105, 107, 121, 123, 125, 139, 141, 143, 148, 150, 152, 215, 217, 219, 221, 223, 225 и 227.

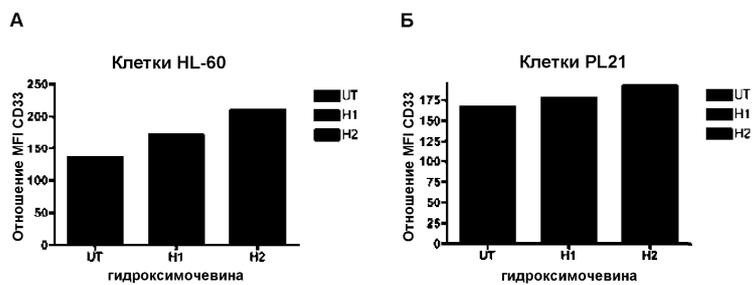
9. Способ по любому из пп.1-8, где миелоидный лейкоз выбран из группы, состоящей из следующих: острый миелобластный лейкоз, хронический нейтрофильный лейкоз, миелоидный дендритноклеточный лейкоз, хронический миелогенный лейкоз в фазе акселерации, острый миеломоноцитарный лейкоз, ювенильный миеломоноцитарный лейкоз, хронический миеломоноцитарный лейкоз, острый базофильный лейкоз, острый эозинофильный лейкоз, хронический эозинофильный лейкоз, острый мегакариобластный лейкоз, эссенциальный тромбоцитоз, острый эритроидный лейкоз, истинная полицитемия, миелодиспластический синдром, острый панмиелоз, остеобластокластома и острый бифенотипический лейкоз.



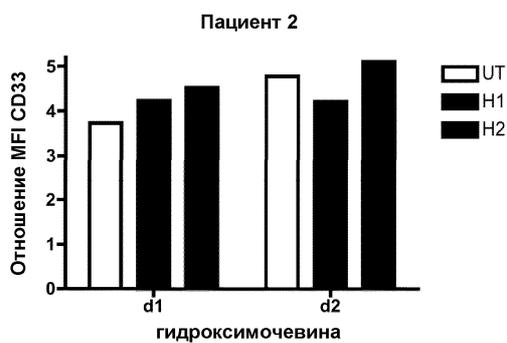
Фиг. 1



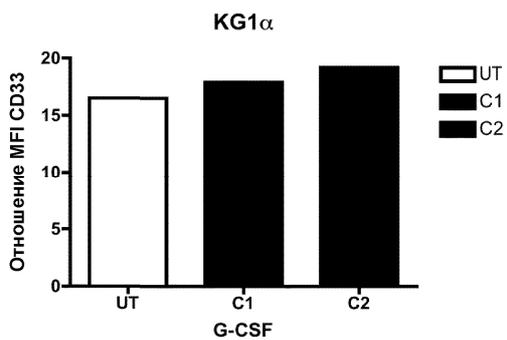
Фиг. 2



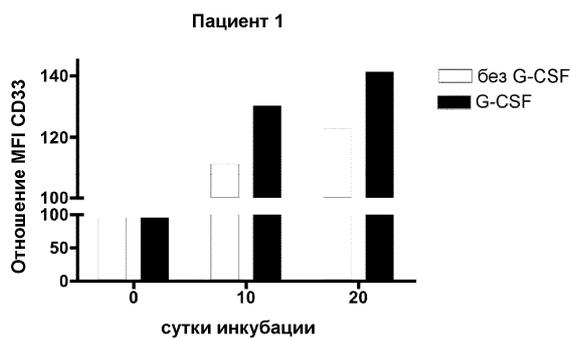
Фиг. 3



Фиг. 4



Фиг. 5



Фиг. 6

