

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(21) **201992319** (13) **A1**

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2020.03.25

(51) Int. Cl. **C07K 16/28** (2006.01)

(22) Дата подачи заявки
2018.08.02

(54) АНТИ-CD33 АНТИТЕЛА И СПОСОБЫ ИХ ПРИМЕНЕНИЯ

(31) 62/541,024; 62/667,388

(32) 2017.08.03; 2018.05.04

(33) US

(86) PCT/US2018/045056

(87) WO 2019/028283 2019.02.07

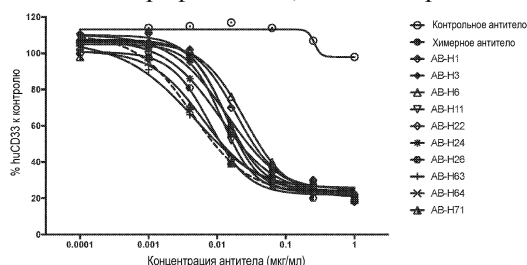
(71) Заявитель:
ЭЛЕКТОР ЭлЭлСи (US)

(72) Изобретатель:

Калп Патрисия, Лам Хелен,
Розенталь Арнон, Ли Сеунг Дзоо,
Нильсон Нельс П., Пейхал Роберт
(US)

(74) Представитель:
Медведев В.Н. (RU)

(57) Настоящее изобретение в целом относится к композициям, которые содержат антитела, например моноклональные, химерные, гуманизированные антитела, фрагменты антител и т.д., которые специфически связывают один или более эпитопов в белке CD33, например человеческом CD33 или CD33 млекопитающих, и имеют улучшенные и/или усиленные функциональные характеристики, и к применению таких композиций в профилактике, снижении риска или лечении пациента.



A1

201992319

201992319

A1

ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

2420–559114EA/081

АНТИ–CD33 АНТИТЕЛА И СПОСОБЫ ИХ ПРИМЕНЕНИЯ

ПЕРЕКРЕСТНАЯ ССЫЛКА НА РОДСТВЕННЫЕ ЗАЯВКИ

[1] По этой заявке испрашивается приоритет временной заявки на патент США № 62/541024, поданной 3 августа 2017 г., и 62/667388, поданной 4 мая 2018 г., которые в полном объеме включены в настоящее описание посредством ссылок.

ПОДАЧА ПЕРЕЧНЯ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ В ВИДЕ ТЕКСТОВОГО ФАЙЛА В ФОРМАТЕ ASCII

[2] Содержание следующего представленного текстового файла в формате ASCII включено в настоящее описание посредством ссылки в полном объеме: машиночитаемая форма (CRF) перечня последовательностей (наименование файла: 735022001740SEQLIST.TXT, дата создания: 2 августа 2018 г., размер: 185 кб).

ОБЛАСТЬ ТЕХНИКИ

[3] Настоящее раскрытие относится к анти–CD33 антителам и терапевтическому применению таких антител.

УРОВЕНЬ ТЕХНИКИ

[4] Прекурсор поверхностного антигена миелоидных клеток CD33 (CD33), также известный как Siglec–3, представляет собой иммуноглобулин–подобный трансмембранный белок типа 1, экспрессируемый на иммунных и гемопоэтических клетках, включая незрелые и зрелые миелоидные клетки, дендритные клетки и микроглиальные клетки (Crocker et al. (2007) Nat Rev Immunol. 7:255–266; McMillan and Crocker (2008) Carbohydr Res. 343:2050–2056; Von Gunten and Bochner (2008) Ann NY Acad Sci. 1143:61–82; Handgretinger et al. (1993) Immunol Lett. 37:223–228; и Hernández–Caselles et al. (2006) J Leukoc Biol. 79:46–58). CD33 содержит в своем цитоплазматическом домене Ig–подобный внеклеточный домен C2–типа (иммуноглобулин–подобный) и Ig–подобный внеклеточный домен V–типа (иммуноглобулин–подобный), а также два ITIM–подобных мотива. Были идентифицированы три формы альтернативного сплайсинга (изоформы) CD33, включая высокомолекулярный вариант, названный CD33M, и меньшую по размеру изоформу CD33m, в которой отсутствуют Ig–подобный домен V–типа (лигандсвязывающий сайт) и дисульфидная связь, соединяющая V– и C–домены.

[5] Полногеномные исследования ассоциаций (GWAS), проводившиеся на расширенных когортах (например, тысячах индивидуумов), идентифицировали однонуклеотидные полиморфизмы (SNP) rs3865444CC (AKA rs3826656) и rs3865444AA в CD33 как генетические модуляторы риска болезни Альцгеймера (AD) с поздним началом. В онкологии было показано, что варианты CD33, приводящие к пониженной экспрессии CD33, связаны с улучшенным коэффициентом выживаемости при педиатрическом остром миелолейкозе (ОМЛ). 3–Летний общий коэффициент выживаемости при ремиссии составляет 84%+/- 8% для носителей варианта rs35112940^{GG}, что указывает на сильное неравновесное сцепление с вариантом rs3865444AA, связанным с экспрессией CD33

меньшего полного размера. Показатель ремиссии для незащитного аллеля составляет 68%+/- 15%. Носители защитного аллеля также имеют более низкий риск рецидивов и больший период ремиссии. Также, пациенты, гомозиготные по минорному варианту аллеля (TT) rs12459419, который связан со сниженной на более чем 46% экспрессией полноразмерного CD33, имеют большую вероятность благоприятного исхода болезни, чем носители вариантов CC и CT (52% против 31%), и имеют значительно более низкую диагностическую экспрессию CD33 бластными клетками, чем другие генотипы. Такой же эффект наблюдается даже у пациентов, получающих лечение анти-CD33 антителом и токсичным производным калихеамицина-гамма (Mortland et al., (2013) Clin Cancer Res; 1–8). Носители аллеля 2459419^{TT}, а также носители аллеля rs12459419^{CT}, которые демонстрируют снижение более чем на 25% экспрессии полноразмерного CD33, также проявляют пониженный риск болезни Альцгеймера (Malik M. et al. (2015) Human Molecular Genetics, 1–14). Это позволяет предположить, что пониженная экспрессия или функциональность CD33 могут быть полезны при болезни Альцгеймера и раке.

[6] Соответственно, существует потребность в терапевтических анти-CD33 антителах для лечения болезней, расстройств и состояний, связанных с нежелательной активностью CD33.

[7] Все источники, упоминаемые в настоящем описании, включая патенты, заявки на патенты и публикации, включены посредством ссылок в полном объеме.

ОПИСАНИЕ СУЩНОСТИ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[8] Настоящее раскрытие в общем относится к композициям, содержащим антитела, например, моноклональные, химерные, гуманизированные антитела, фрагменты антител и т.д., которые специфически связывают человеческий CD33, и к способам использования таких композиций.

[9] Некоторые аспекты настоящего раскрытия основаны, по крайней мере частично, на идентификации анти-CD33 антител с улучшенными и/или повышенными функциональными характеристиками (например, по сравнению с анти-CD33 антителом с вариабельной областью тяжелой цепи, содержащей последовательность SEQ ID NO: 103, и вариабельной областью легкой цепи, содержащей последовательность SEQ ID NO: 104), включая, например, улучшенную и/или повышенную способность снижать уровни CD33 клеточной поверхности на человеческих первичных иммунных клетках, и/или имеющих улучшенную и/или повышенную кинетику связывания. В некоторых вариантах осуществления, анти-CD33 антитела согласно настоящему раскрытию имеют K_D с человеческим CD33, значение которой по меньшей мере в 9 раз ниже, чем у анти-CD33 антитела, имеющего вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 34, и вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 77. В некоторых вариантах осуществления, анти-CD33 антитела согласно настоящему раскрытию имеют K_D с человеческим CD33, значение которой по меньшей мере в 3 раза ниже, чем у анти-CD33 антитела, имеющего вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную

последовательность SEQ ID NO: 40, и вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 86. В некоторых вариантах осуществления, анти-CD33 антитела согласно настоящему раскрытию имеют K_D с человеческим CD33, значение которой по меньшей мере в 3 раза ниже, чем у анти-CD33 антитела, имеющего вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 52, и вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 86. В некоторых вариантах осуществления, анти-CD33 антитела согласно настоящему раскрытию снижают уровни CD33 клеточной поверхности *in vitro* с EC_{50} , значение которой по меньшей мере на приблизительно 50% ниже, чем у анти-CD33 антитела, имеющего вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 34, и вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 77. В некоторых вариантах осуществления, анти-CD33 антитела согласно настоящему раскрытию снижают уровни CD33 клеточной поверхности *in vitro* с EC_{50} , значение которой по меньшей мере на приблизительно 10% ниже, чем у анти-CD33 антитела, имеющего вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 40, и вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 86. В некоторых вариантах осуществления, анти-CD33 антитела согласно настоящему раскрытию снижают уровни CD33 клеточной поверхности *in vitro* с EC_{50} , значение которой по меньшей мере на приблизительно 10% ниже, чем у анти-CD33 антитела, имеющего вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 52, и вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 86. В некоторых вариантах осуществления, анти-CD33 антитела согласно настоящему раскрытию снижают уровни CD33 клеточной поверхности *in vitro* с EC_{50} , которая по меньшей мере приблизительно в 10 раз ниже, чем у анти-CD33 антитела, имеющего вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 103, и вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 104, при измерении методом проточной цитометрии. Предпочтительно, анти-CD33 антитела снижают клеточные уровни CD33 *in vitro* с полумаксимальной эффективной концентрацией (EC_{50}), которая имеет значение в диапазоне от приблизительно 151,1 пМ до приблизительно 4,1 пМ, связываются с человеческими клетками (такими как человеческие первичные дендритные клетки), и имеют константу диссоциации (K_D) с человеческим CD33 со значением в диапазоне от приблизительно 8,57 нМ до приблизительно 202 пМ.

[10] Соответственно, в одном аспекте, настоящее раскрытие относится к антителу, которое связывается с белком CD33, при этом антитело содержит вариабельную область тяжелой цепи и вариабельную область легкой цепи, причем вариабельная область тяжелой цепи содержит: HVR-H1, содержащий последовательность в соответствии с Формулой I: $GX_1X_2X_3TDYNX_4H$ (SEQ ID NO: 152), где X_1 представляет собой Y, A, или V, X_2

представляет собой Т или А, X_3 представляет собой F, E или H, и X_4 представляет собой L, F, Y или N; HVR–H2, содержащий последовательность в соответствии с Формулой II: FIYPX₁NX₂IX₃G (SEQ ID NO: 153), где X_1 представляет собой S или A, X_2 представляет собой G, Q, R или V, и X_3 представляет собой Т или R; и HVR–H3, содержащий последовательность в соответствии с Формулой III: SX₁VDYFDX₂ (SEQ ID NO: 154), где X_1 представляет собой Т, D, F, или S, и X_2 представляет собой Y, D или L; и при этом антитело не является антителом, содержащим переменную область тяжелой цепи, содержащую HVR–H1, содержащий последовательность GYTFTDYNLH (SEQ ID NO: 105), HVR–H2, содержащий последовательность FIYPSNGITG (SEQ ID NO: 115), и HVR–H3, содержащий последовательность STVDYFDY (SEQ ID NO: 121).

[11] В другом аспекте, настоящее раскрытие относится к антителу, которое связывается с белком CD33, при этом антитело содержит переменную область тяжелой цепи и переменную область легкой цепи, причем переменная область легкой цепи содержит: HVR–L1, содержащий последовательность в соответствии с Формулой IV: X₁X₂SQX₃VX₄X₅STYSYMH (SEQ ID NO: 155), где X_1 представляет собой R или K, X_2 представляет собой A, G, или V, X_3 представляет собой S или D, X_4 представляет собой S, G, или H, и X_5 представляет собой Т или А; HVR–L2, содержащий последовательность в соответствии с Формулой V: YX₁X₂X₃X₄X₅S (SEQ ID NO: 156), где X_1 представляет собой A, V или E, X_2 представляет собой S, V или F, X_3 представляет собой N, A, Y или F, X_4 представляет собой L или V, и X_5 представляет собой E, G, или N; и HVR–L3, содержащий последовательность в соответствии с Формулой VI: X₁HSX₂X₃X₄PLX₅ (SEQ ID NO: 157), где X_1 представляет собой Q или E, X_2 представляет собой W или E, X_3 представляет собой E или A, X_4 представляет собой I или L, и X_5 представляет собой Т или E; и при этом антитело не является антителом, содержащим переменную область легкой цепи, содержащую HVR–L1, содержащий последовательность RASQSVSTSTYSYMH (SEQ ID NO: 127), HVR–L2, содержащий последовательность YASNLES (SEQ ID NO: 135), и HVR–L3, содержащий последовательность QHSWEIPLT (SEQ ID NO: 146).

[12] В другом аспекте, настоящее раскрытие относится к антителу, которое связывается с белком CD33, при этом антитело содержит переменную область тяжелой цепи и переменную область легкой цепи, причем переменная область тяжелой цепи содержит: HVR–H1, содержащий последовательность в соответствии с Формулой I: GX₁X₂X₃TDYNX₄H (SEQ ID NO: 152), где X_1 представляет собой Y, A, или V, X_2 представляет собой Т или А, X_3 представляет собой F, E или H, и X_4 представляет собой L, F, Y или N; HVR–H2, содержащий последовательность в соответствии с Формулой II: FIYPX₁NX₂IX₃G (SEQ ID NO: 153), где X_1 представляет собой S или A, X_2 представляет собой G, Q, R или V, и X_3 представляет собой Т или R; и HVR–H3, содержащий последовательность в соответствии с Формулой III: SX₁VDYFDX₂ (SEQ ID NO: 154), где X_1 представляет собой Т, D, F, или S, и X_2 представляет собой Y, D или L; и переменная область легкой цепи содержит: HVR–L1, содержащий последовательность в соответствии

с Формулой IV: $X_1X_2SQX_3VX_4X_5STYSYMH$ (SEQ ID NO: 155), где X_1 представляет собой R или K, X_2 представляет собой A, G, или V, X_3 представляет собой S или D, X_4 представляет собой S, G, или H, и X_5 представляет собой T или A; HVR–L2, содержащий последовательность в соответствии с Формулой V: $YX_1X_2X_3X_4X_5S$ (SEQ ID NO: 156), где X_1 представляет собой A, V или E, X_2 представляет собой S, V или F, X_3 представляет собой N, A, Y или F, X_4 представляет собой L или V, и X_5 представляет собой E, G, или N; и HVR–L3, содержащий последовательность в соответствии с Формулой VI: $X_1HSX_2X_3X_4PLX_5$ (SEQ ID NO: 157), где X_1 представляет собой Q или E, X_2 представляет собой W или E, X_3 представляет собой E или A, X_4 представляет собой I или L, и X_5 представляет собой T или E; и при этом антитело не является антителом, содержащим переменную область тяжелой цепи, содержащую HVR–H1, содержащий последовательность GYTFTDYNLH (SEQ ID NO: 105), HVR–H2, содержащий последовательность FIYPSNGITG (SEQ ID NO: 115), и HVR–H3, содержащий последовательность STVDYFDY (SEQ ID NO: 121), и переменную область легкой цепи, содержащую HVR–L1, содержащий последовательность RASQSVSTSTYSYMH (SEQ ID NO: 127), HVR–L2, содержащий последовательность YASNLES (SEQ ID NO: 135), и HVR–L3, содержащий последовательность QHSWEIPLT (SEQ ID NO: 146).

[13] В другом аспекте, настоящее раскрытие относится к антителу, которое связывается с белком CD33, при этом антитело содержит переменную область тяжелой цепи и переменную область легкой цепи, причем переменная область тяжелой цепи содержит HVR–H1, HVR–H2 и HVR–H3 антитела AB–14.1, AB–14.2, AB–14.3, AB–14.4, AB–14.5, AB–14.6, AB–14.7, AB–14.8, AB–14.9, AB–14.10, AB–14.11, AB–63.4, AB–63.5, AB–63.8, AB–63.9, AB–63.10, AB–63.11, AB–63.12, AB–63.13, AB–63.14, AB–63.15, AB–63.16, AB–63.17, AB–63.18, AB–64.1, AB–64.3, AB–64.4, AB–64.5, AB–64.6, AB–64.7, AB–64.8, AB–64.1.1, AB–64.1.2, AB–64.1.3, AB–64.1.4, AB–64.1.5, AB–64.1.6, AB–64.1.7, AB–64.1.8, AB–64.1.9, AB–64.1.10, AB–64.1.11, AB–64.1.12, AB–64.1.13, AB–64.1.14, или AB–64.1.15 (как указано в Таблицах 3A–3C).

[14] В другом аспекте, настоящее раскрытие относится к антителу, которое связывается с белком CD33, при этом антитело содержит переменную область тяжелой цепи и переменную область легкой цепи, причем переменная область легкой цепи содержит HVR–L1, HVR–L2 и HVR–L3 антитела AB–14.3, AB–14.4, AB–14.6, AB–14.7, AB–14.8, AB–14.9, AB–14.10, AB–14.11, AB–63.6, AB–63.7, AB–63.8, AB–63.9, AB–63.10, AB–63.11, AB–63.12, AB–63.14, AB–63.15, AB–63.16, AB–63.17, AB–63.18, AB–64.2, AB–64.3, AB–64.4, AB–64.5, AB–64.6, AB–64.7, или AB–64.8 (как указано в Таблицах 4A–4C).

[15] В другом аспекте, настоящее раскрытие относится к антителу, которое связывается с белком CD33, при этом антитело содержит переменную область тяжелой цепи и переменную область легкой цепи, причем переменная область тяжелой цепи содержит HVR–H1, HVR–H2 и HVR–H3 антитела AB–14.1, AB–14.2, AB–14.3, AB–14.4, AB–14.5, AB–14.6, AB–14.7, AB–14.8, AB–14.9, AB–14.10, AB–14.11, AB–63.4, AB–63.5, AB–63.8, AB–63.9, AB–63.10, AB–63.11, AB–63.12, AB–63.13, AB–63.14, AB–63.15, AB–

63.16, АВ-63.17, АВ-63.18, АВ-64.1, АВ-64.3, АВ-64.4, АВ-64.5, АВ-64.6, АВ-64.7, АВ-64.8, АВ-64.1.1, АВ-64.1.2, АВ-64.1.3, АВ-64.1.4, АВ-64.1.5, АВ-64.1.6, АВ-64.1.7, АВ-64.1.8, АВ-64.1.9, АВ-64.1.10, АВ-64.1.11, АВ-64.1.12, АВ-64.1.13, АВ-64.1.14, или АВ-64.1.15 (как указано в Таблицах 3А-3С); и переменная область легкой цепи содержит HVR-L1, HVR-L2 и HVR-L3 антитела АВ-14.3, АВ-14.4, АВ-14.6, АВ-14.7, АВ-14.8, АВ-14.9, АВ-14.10, АВ-14.11, АВ-63.6, АВ-63.7, АВ-63.8, АВ-63.9, АВ-63.10, АВ-63.11, АВ-63.12, АВ-63.14, АВ-63.15, АВ-63.16, АВ-63.17, АВ-63.18, АВ-64.2, АВ-64.3, АВ-64.4, АВ-64.5, АВ-64.6, АВ-64.7, или АВ-64.8 (как указано в Таблицах 4А-4С).

[16] В другом аспекте, настоящее раскрытие относится к антителу, которое связывается с белком CD33, при этом антитело содержит переменную область тяжелой цепи, содержащую HVR-H1, HVR-H2 и HVR-H3, и переменную область легкой цепи, содержащую HVR-L1, HVR-L2 и HVR-L3, причем антитело содержит HVR-H1, HVR-H2, HVR-H3, HVR-L1, HVR-L2 и HVR-L3 антитела АВ-14.1, АВ-14.2, АВ-14.3, АВ-14.4, АВ-14.5, АВ-14.6, АВ-14.7, АВ-14.8, АВ-14.9, АВ-14.10, АВ-14.11, АВ-63.4, АВ-63.5, АВ-63.6, АВ-63.7, АВ-63.8, АВ-63.9, АВ-63.10, АВ-63.11, АВ-63.12, АВ-63.13, АВ-63.14, АВ-63.15, АВ-63.16, АВ-63.17, АВ-63.18, АВ-64.1, АВ-64.2, АВ-64.3, АВ-64.4, АВ-64.5, АВ-64.6, АВ-64.7, АВ-64.8, АВ-64.1.1, АВ-64.1.2, АВ-64.1.3, АВ-64.1.4, АВ-64.1.5, АВ-64.1.6, АВ-64.1.7, АВ-64.1.8, АВ-64.1.9, АВ-64.1.10, АВ-64.1.11, АВ-64.1.12, АВ-64.1.13, АВ-64.1.14, или АВ-64.1.15 (как указано в Таблицах 3А-3С и 4А-4С).

[17] Другие аспекты настоящего раскрытия относятся к антителу, которое связывается с белком CD33, при этом антитело содержит переменную область тяжелой цепи и переменную область легкой цепи, причем переменная область тяжелой цепи содержит CDR по Кабату (Kabat); и/или переменная область легкой цепи содержит CDR по Кабату. В некоторых вариантах осуществления, переменная область тяжелой цепи содержит CDR-H1, содержащий последовательность DYNLH (SEQ ID NO: 190), CDR-H2, содержащий последовательность FIYPSNGITGYAQKFQ (SEQ ID NO: 194); и CDR-H3, содержащий последовательность YCARSDVD (SEQ ID NO: 191). В некоторых вариантах осуществления, переменная область легкой цепи содержит CDR-L1, содержащий последовательность RASQSVSTSTYSYMH (SEQ ID NO: 127), CDR-L2, содержащий последовательность LLIKYAS (SEQ ID NO: 192); и CDR-L3, содержащий последовательность VYYCQHSWE (SEQ ID NO: 193). В некоторых вариантах осуществления, переменная область тяжелой цепи содержит CDR-H1, содержащий последовательность DYNLH (SEQ ID NO: 190), CDR-H2, содержащий последовательность FIYPSNGITGYAQKFQ (SEQ ID NO: 194); и CDR-H3, содержащий последовательность YCARSDVD (SEQ ID NO: 191); и переменная область легкой цепи содержит CDR-L1, содержащий последовательность RASQSVSTSTYSYMH (SEQ ID NO: 127), CDR-L2, содержащий последовательность LLIKYAS (SEQ ID NO: 192); и CDR-L3, содержащий последовательность VYYCQHSWE (SEQ ID NO: 193).

[18] Другие аспекты настоящего раскрытия относятся к антителу, которое

связывается с белком CD33, при этом антитело содержит вариабельную область тяжелой цепи и вариабельную область легкой цепи, причем вариабельная область тяжелой цепи содержит CDR по Кабату; и/или вариабельная область легкой цепи содержит CDR по Кабату. В некоторых вариантах осуществления, вариабельная область тяжелой цепи содержит CDR–H1, содержащий последовательность DYNLH (SEQ ID NO: 190), CDR–H2, содержащий последовательность FIYPSNRITGYAQKFQ (SEQ ID NO: 195); и CDR–H3, содержащий последовательность YCARSDVD (SEQ ID NO: 191). В некоторых вариантах осуществления, вариабельная область легкой цепи содержит CDR–L1, содержащий последовательность RASQSVSTSTYSYMH (SEQ ID NO: 127), CDR–L2, содержащий последовательность LLIKYAS (SEQ ID NO: 192); и CDR–L3, содержащий последовательность VYYCQHSWE (SEQ ID NO: 193). В некоторых вариантах осуществления, вариабельная область тяжелой цепи содержит CDR–H1, содержащий последовательность DYNLH (SEQ ID NO: 190), CDR–H2, содержащий последовательность FIYPSNRITGYAQKFQ (SEQ ID NO: 195); и CDR–H3, содержащий последовательность YCARSDVD (SEQ ID NO: 191); и вариабельная область легкой цепи содержит CDR–L1, содержащий последовательность RASQSVSTSTYSYMH (SEQ ID NO: 127), CDR–L2, содержащий последовательность LLIKYAS (SEQ ID NO: 192); и CDR–L3, содержащий последовательность VYYCQHSWE (SEQ ID NO: 193).

[19] Другие аспекты настоящего раскрытия относятся к антителу, которое связывается с белком CD33, при этом антитело содержит вариабельную область тяжелой цепи и вариабельную область легкой цепи, причем вариабельная область тяжелой цепи содержит CDR по Кабату; и/или вариабельная область легкой цепи содержит CDR по Кабату. В некоторых вариантах осуществления, вариабельная область тяжелой цепи содержит CDR–H1, содержащий последовательность DYNLH (SEQ ID NO: 190), CDR–H2, содержащий последовательность FIYPSNQITGYAQKFQ (SEQ ID NO: 196); и CDR–H3, содержащий последовательность YCARSDVD (SEQ ID NO: 191). В некоторых вариантах осуществления, вариабельная область легкой цепи содержит CDR–L1, содержащий последовательность RASQSVSTSTYSYMH (SEQ ID NO: 127), CDR–L2, содержащий последовательность LLIKYAS (SEQ ID NO: 192); и CDR–L3, содержащий последовательность VYYCQHSWE (SEQ ID NO: 193). В некоторых вариантах осуществления, вариабельная область тяжелой цепи содержит CDR–H1, содержащий последовательность DYNLH (SEQ ID NO: 190), CDR–H2, содержащий последовательность FIYPSNQITGYAQKFQ (SEQ ID NO: 196); и CDR–H3, содержащий последовательность YCARSDVD (SEQ ID NO: 191); и вариабельная область легкой цепи содержит CDR–L1, содержащий последовательность RASQSVSTSTYSYMH (SEQ ID NO: 127), CDR–L2, содержащий последовательность LLIKYAS (SEQ ID NO: 192); и CDR–L3, содержащий последовательность VYYCQHSWE (SEQ ID NO: 193).

[20] В некоторых вариантах осуществления, которые могут быть скомбинированы с любыми из предшествующих вариантов осуществления, вариабельная область тяжелой цепи содержит один, два, три или четыре

каркасных участка, выбранных из VH FR1, VH FR2, VH FR3 и VH FR4, при этом: VH FR1 содержит последовательность в соответствии с Формулой VII: QVQLVQSGAEVKKPGX₁SVKX₂SCKAS (SEQ ID NO: 158), где X₁ представляет собой A или S, и X₂ представляет собой V или I; VH FR2 содержит последовательность SEQ ID NO: 5; VH FR3 содержит последовательность в соответствии с Формулой VIII: X₁AX₂X₃X₄X₅X₆RX₇TX₈TVDX₉X₁₀X₁₁STX₁₂YMELSSLRSED TAVYYCAR (SEQ ID NO: 159), где X₁ представляет собой Y или S, X₂ представляет собой Q или E, X₃ представляет собой K или D, X₄ представляет собой F или D, X₅ представляет собой Q, F, E или T, X₆ представляет собой G, D или H, X₇ представляет собой V или A, X₈ представляет собой M или L, X₉ представляет собой T, N или Q, X₁₀ представляет собой S или P, X₁₁ представляет собой T или A, и X₁₂ представляет собой V или A; и VH FR4 содержит последовательность в соответствии с Формулой IX: WGQGT LX₁TVSS (SEQ ID NO: 160), где X₁ представляет собой V или L; и/или легкая цепь содержит один, два, три или четыре каркасных участка, выбранных из VL FR1, VL FR2, VL FR3 и VL FR4, при этом: VL FR1 содержит последовательность в соответствии с Формулой X: X₁IX₂X₃TQSPX₄SLX₅X₆SX₇GX₈RX₉TIX₁₀C (SEQ ID NO: 161), где X₁ представляет собой D или G, X₂ представляет собой Q или V, X₃ представляет собой M или L, X₄ представляет собой S или D, X₅ представляет собой S, P или A, X₆ представляет собой A или V, X₇ представляет собой V или L, X₈ представляет собой D или E, X₉ представляет собой V или A, и X₁₀ представляет собой T, N или D; VL FR2 содержит последовательность в соответствии с Формулой XI: WYQQKPGX₁X₂PKLLIK (SEQ ID NO: 162), где X₁ представляет собой K или Q, и X₂ представляет собой A или P; VL FR3 содержит последовательность в соответствии с Формулой XII: GVPX₁RFSGSGSGTDFTLTISLQX₂EDX₃AX₄YYC (SEQ ID NO: 163), где X₁ представляет собой S или D, X₂ представляет собой P или A, X₃ представляет собой F, L или V, и X₄ представляет собой T или V; и VL FR4 содержит последовательность в соответствии с Формулой XIII: FGQG TKLEIX₁ (SEQ ID NO: 164), где X₁ представляет собой K или E. В некоторых вариантах осуществления, которые могут быть скомбинированы с любыми из предшествующих вариантов осуществления, переменная область тяжелой цепи содержит один, два, три или четыре каркасных участка, выбранных из VH FR1, VH FR2, VH FR3 и VH FR4, при этом: VH FR1 содержит последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 2–4; VH FR2 содержит последовательность SEQ ID NO: 5; VH FR3 содержит последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 6–19; и VH FR4 содержит последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 20–21; и/или легкая цепь содержит один, два, три или четыре каркасных участка, выбранных из VL FR1, VL FR2, VL FR3 и VL FR4, при этом: VL FR1 содержит последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 22–26; VL FR2 содержит последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 27–28; VL FR3 содержит последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 29–31; и VL FR4

содержит последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 32–33.

[21] В некоторых вариантах осуществления, которые могут быть скомбинированы с любыми из предшествующих вариантов осуществления, антитело содержит переменную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 34–72; и/или переменную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 77–101. В некоторых вариантах осуществления, антитело содержит переменную область тяжелой цепи антитела АВ–14.1, АВ–14.2, АВ–14.3, АВ–14.4, АВ–14.5, АВ–14.6, АВ–14.7, АВ–14.8, АВ–14.9, АВ–14.10, АВ–14.11, АВ–63.4, АВ–63.5, АВ–63.6, АВ–63.7, АВ–63.8, АВ–63.9, АВ–63.10, АВ–63.11, АВ–63.12, АВ–63.13, АВ–63.14, АВ–63.15, АВ–63.16, АВ–63.17, АВ–63.18, АВ–64.1, АВ–64.2, АВ–64.3, АВ–64.4, АВ–64.5, АВ–64.6, АВ–64.7, АВ–64.8, АВ–64.1.1, АВ–64.1.2, АВ–64.1.3, АВ–64.1.4, АВ–64.1.5, АВ–64.1.6, АВ–64.1.7, АВ–64.1.8, АВ–64.1.9, АВ–64.1.10, АВ–64.1.11, АВ–64.1.12, АВ–64.1.13, АВ–64.1.14, или АВ–64.1.15 (как указано в Таблице 7); и/или антитело содержит переменную область легкой цепи антитела АВ–14.1, АВ–14.2, АВ–14.3, АВ–14.4, АВ–14.5, АВ–14.6, АВ–14.7, АВ–14.8, АВ–14.9, АВ–14.10, АВ–14.11, АВ–63.4, АВ–63.5, АВ–63.6, АВ–63.7, АВ–63.8, АВ–63.9, АВ–63.10, АВ–63.11, АВ–63.12, АВ–63.13, АВ–63.14, АВ–63.15, АВ–63.16, АВ–63.17, АВ–63.18, АВ–64.1, АВ–64.2, АВ–64.3, АВ–64.4, АВ–64.5, АВ–64.6, АВ–64.7, АВ–64.8, АВ–64.1.1, АВ–64.1.2, АВ–64.1.3, АВ–64.1.4, АВ–64.1.5, АВ–64.1.6, АВ–64.1.7, АВ–64.1.8, АВ–64.1.9, АВ–64.1.10, АВ–64.1.11, АВ–64.1.12, АВ–64.1.13, АВ–64.1.14, или АВ–64.1.15 (как указано в Таблице 8). В некоторых вариантах осуществления, которые могут быть скомбинированы с любыми из предшествующих вариантов осуществления, HVR–H1 содержит аминокислотную последовательность GYTFTDYNLH (SEQ ID NO: 105), HVR–H2 содержит аминокислотную последовательность FIYPSNRITG (SEQ ID NO: 119), HVR–H3 содержит аминокислотную последовательность SDVDYFDY (SEQ ID NO: 122), HVR–L1 содержит аминокислотную последовательность RASQSVSTSTYSYMH (SEQ ID NO: 127), HVR–L2 содержит аминокислотную последовательность YASNLES (SEQ ID NO: 135), и HVR–L3 содержит аминокислотную последовательность QHSWEIPLT (SEQ ID NO: 146); или HVR–H1 содержит аминокислотную последовательность GYTFTDYNLH (SEQ ID NO: 105), HVR–H2 содержит аминокислотную последовательность FIYPSNQITG (SEQ ID NO: 118), HVR–H3 содержит аминокислотную последовательность SDVDYFDY (SEQ ID NO: 122), HVR–L1 содержит аминокислотную последовательность RASQSVSTSTYSYMH (SEQ ID NO: 127), HVR–L2 содержит аминокислотную последовательность YASNLES (SEQ ID NO: 135), и HVR–L3 содержит аминокислотную последовательность QHSWEIPLT (SEQ ID NO: 146).

[22] В другом аспекте, настоящее раскрытие относится к антителу, которое связывается с белком CD33, при этом антитело содержит переменную область тяжелой цепи и переменную область легкой цепи, причем: переменная область тяжелой цепи содержит HVR–H1, содержащий аминокислотную последовательность GYTFTDYNLH

(SEQ ID NO: 105), HVR-H2, содержащий аминокислотную последовательность FIYPSNRITG (SEQ ID NO: 119), и HVR-H3, содержащий аминокислотную последовательность SDVDYFDY (SEQ ID NO: 122), и переменная область легкой цепи содержит HVR-L1, содержащий аминокислотную последовательность RASQSVSTSTYSYMH (SEQ ID NO: 127), HVR-L2, содержащий аминокислотную последовательность YASNLES (SEQ ID NO: 135), и HVR-L3, содержащий аминокислотную последовательность QHSWEIPLT (SEQ ID NO: 146); или тяжелая цепь содержит HVR-H1, содержащий аминокислотную последовательность GYTFTDYNLH (SEQ ID NO: 105), HVR-H2, содержащий аминокислотную последовательность FIYPSNQITG (SEQ ID NO: 118), и HVR-H3, содержащий аминокислотную последовательность SDVDYFDY (SEQ ID NO: 122), и переменная область легкой цепи содержит HVR-L1, содержащий аминокислотную последовательность RASQSVSTSTYSYMH (SEQ ID NO: 127), HVR-L2, содержащий аминокислотную последовательность YASNLES (SEQ ID NO: 135), и HVR-L3, содержащий аминокислотную последовательность QHSWEIPLT (SEQ ID NO: 146).

[23] В другом аспекте, настоящее раскрытие относится к антителу, которое связывается с белком CD33, при этом антитело содержит переменную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 34–72; и/или переменную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 77–101. В некоторых вариантах осуществления, антитело содержит переменную область тяжелой цепи антитела AB-14.1, AB-14.2, AB-14.3, AB-14.4, AB-14.5, AB-14.6, AB-14.7, AB-14.8, AB-14.9, AB-14.10, AB-14.11, AB-63.4, AB-63.5, AB-63.6, AB-63.7, AB-63.8, AB-63.9, AB-63.10, AB-63.11, AB-63.12, AB-63.13, AB-63.14, AB-63.15, AB-63.16, AB-63.17, AB-63.18, AB-64.1, AB-64.2, AB-64.3, AB-64.4, AB-64.5, AB-64.6, AB-64.7, AB-64.8, AB-64.1.1, AB-64.1.2, AB-64.1.3, AB-64.1.4, AB-64.1.5, AB-64.1.6, AB-64.1.7, AB-64.1.8, AB-64.1.9, AB-64.1.10, AB-64.1.11, AB-64.1.12, AB-64.1.13, AB-64.1.14, или AB-64.1.15 (как указано в Таблице 7); и/или антитело содержит переменную область легкой цепи антитела AB-14.1, AB-14.2, AB-14.3, AB-14.4, AB-14.5, AB-14.6, AB-14.7, AB-14.8, AB-14.9, AB-14.10, AB-14.11, AB-63.4, AB-63.5, AB-63.6, AB-63.7, AB-63.8, AB-63.9, AB-63.10, AB-63.11, AB-63.12, AB-63.13, AB-63.14, AB-63.15, AB-63.16, AB-63.17, AB-63.18, AB-64.1, AB-64.2, AB-64.3, AB-64.4, AB-64.5, AB-64.6, AB-64.7, AB-64.8, AB-64.1.1, AB-64.1.2, AB-64.1.3, AB-64.1.4, AB-64.1.5, AB-64.1.6, AB-64.1.7, AB-64.1.8, AB-64.1.9, AB-64.1.10, AB-64.1.11, AB-64.1.12, AB-64.1.13, AB-64.1.14, или AB-64.1.15 (как указано в Таблице 8). В некоторых вариантах осуществления, переменная область тяжелой цепи содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 59, и/или переменная область легкой цепи содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 86; или переменная область тяжелой цепи содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 65, и/или переменная область легкой цепи содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 86.

[24] В другом аспекте, настоящее раскрытие относится к антителу, которое связывается с белком CD33, при этом антитело содержит переменную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 34, 40, 42, 52, 53, и 73–76; и/или переменную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 77, 86, и 102. В некоторых вариантах осуществления, антитело содержит переменную область тяжелой цепи АВ–Н2, АВ–Н9, АВ–Н14, АВ–Н15, АВ–Н63, АВ–Н64, АВ–Н65, или АВ–Н66 (как указано в Таблице 7); и/или антитело содержит переменную область легкой цепи антитела АВ–Н2, АВ–Н9, АВ–Н14, АВ–Н15, АВ–Н63, АВ–Н64, АВ–Н65, или АВ–Н66 (как указано в Таблице 8).

[25] В другом аспекте, настоящее раскрытие относится к антителу, которое связывается с белком CD33, при этом антитело конкурирует за связывание с CD33 с одним или несколькими антителами, выбранными из группы, состоящей из АВ–14.1, АВ–14.2, АВ–14.3, АВ–14.4, АВ–14.5, АВ–14.6, АВ–14.7, АВ–14.8, АВ–14.9, АВ–14.10, АВ–14.11, АВ–63.4, АВ–63.5, АВ–63.6, АВ–63.7, АВ–63.8, АВ–63.9, АВ–63.10, АВ–63.11, АВ–63.12, АВ–63.13, АВ–63.14, АВ–63.15, АВ–63.16, АВ–63.17, АВ–63.18, АВ–64.1, АВ–64.2, АВ–64.3, АВ–64.4, АВ–64.5, АВ–64.6, АВ–64.7, АВ–64.8, АВ–64.1.1, АВ–64.1.2, АВ–64.1.3, АВ–64.1.4, АВ–64.1.5, АВ–64.1.6, АВ–64.1.7, АВ–64.1.8, АВ–64.1.9, АВ–64.1.10, АВ–64.1.11, АВ–64.1.12, АВ–64.1.13, АВ–64.1.14, АВ–64.1.15, АВ–Н2, АВ–Н9, АВ–Н14, АВ–Н15, АВ–Н63, АВ–Н64, АВ–Н65, АВ–Н66, и любой их комбинации.

[26] В другом аспекте, настоящее раскрытие относится к антителу, которое связывается с белком CD33, при этом антитело связывает по существу тот же эпитоп CD33, что и антитело, выбранное из группы, состоящей из АВ–14.1, АВ–14.2, АВ–14.3, АВ–14.4, АВ–14.5, АВ–14.6, АВ–14.7, АВ–14.8, АВ–14.9, АВ–14.10, АВ–14.11, АВ–63.4, АВ–63.5, АВ–63.6, АВ–63.7, АВ–63.8, АВ–63.9, АВ–63.10, АВ–63.11, АВ–63.12, АВ–63.13, АВ–63.14, АВ–63.15, АВ–63.16, АВ–63.17, АВ–63.18, АВ–64.1, АВ–64.2, АВ–64.3, АВ–64.4, АВ–64.5, АВ–64.6, АВ–64.7, АВ–64.8, АВ–64.1.1, АВ–64.1.2, АВ–64.1.3, АВ–64.1.4, АВ–64.1.5, АВ–64.1.6, АВ–64.1.7, АВ–64.1.8, АВ–64.1.9, АВ–64.1.10, АВ–64.1.11, АВ–64.1.12, АВ–64.1.13, АВ–64.1.14, АВ–64.1.15, АВ–Н2, АВ–Н9, АВ–Н14, АВ–Н15, АВ–Н63, АВ–Н64, АВ–Н65, и АВ–Н66.

[27] В другом аспекте, настоящее раскрытие относится к антителу, которое связывается с белком CD33, при этом антитело содержит переменную область тяжелой цепи и переменную область легкой цепи, причем переменная область тяжелой цепи содержит: HVR–Н1, содержащий последовательность в соответствии с Формулой I: $GX_1X_2X_3TDYNX_4H$ (SEQ ID NO: 186), где X_1 представляет собой Y или V, X_2 представляет собой T или A, X_3 представляет собой F, E или H, и X_4 представляет собой L, F, Y или N; HVR–Н2, содержащий последовательность в соответствии с Формулой II: $FIYPX_1NX_2IX_3G$ (SEQ ID NO: 153), где X_1 представляет собой S или A, X_2 представляет собой G, Q, R или V, и X_3 представляет собой T или R; и HVR–Н3, содержащий последовательность в соответствии с Формулой III: $SX_1VDYFDX_2$ (SEQ ID NO: 187), где

X_1 представляет собой T, D или F, и X_2 представляет собой Y, D или L; и переменная область легкой цепи содержит: HVR–L1, содержащий последовательность в соответствии с Формулой IV: $X_1X_2SQX_3VX_4X_5STYSYMH$ (SEQ ID NO: 188), где X_1 представляет собой R или K, X_2 представляет собой A, G, или V, X_3 представляет собой S или D, X_4 представляет собой S, G, или H, и X_5 представляет собой T; HVR–L2, содержащий последовательность в соответствии с Формулой V: $YX_1X_2X_3X_4X_5S$ (SEQ ID NO: 189), где X_1 представляет собой A или E, X_2 представляет собой S или F, X_3 представляет собой N, Y или F, X_4 представляет собой L или V, и X_5 представляет собой E или N; и HVR–L3, содержащий последовательность в соответствии с Формулой VI: $X_1HSX_2X_3X_4PLX_5$ (SEQ ID NO: 157), где X_1 представляет собой Q или E, X_2 представляет собой W или E, X_3 представляет собой E или A, X_4 представляет собой I или L, и X_5 представляет собой T или E.

[28] В другом аспекте, настоящее раскрытие относится к антителу, которое связывается с белком CD33, при этом антитело содержит переменную область тяжелой цепи и переменную область легкой цепи, причем переменная область тяжелой цепи содержит: HVR–H1, содержащий аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 105 и 108–114; HVR–H2, содержащий аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 115–120; и HVR–H3, содержащий аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 121–123 и 125–126; и переменная область легкой цепи содержит: HVR–L1, содержащий аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 127–128 и 130–134; HVR–L2, содержащий аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 135 и 140–145; и HVR–L3, содержащий аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 146–151.

[29] В некоторых вариантах осуществления, которые могут быть скомбинированы с любыми из предшествующих вариантов осуществления, переменная область тяжелой цепи содержит один, два, три или четыре каркасных участка, выбранных из VH FR1, VH FR2, VH FR3 и VH FR4, при этом: VH FR1 содержит последовательность в соответствии с Формулой VII: $QVQLVQSGAEVKKPGX_1SVKX_2SCKAS$ (SEQ ID NO: 158), где X_1 представляет собой A или S, и X_2 представляет собой V или I; VH FR2 содержит последовательность SEQ ID NO: 5; VH FR3 содержит последовательность в соответствии с Формулой VIII: $X_1AX_2X_3X_4X_5X_6RX_7TX_8TVDX_9X_{10}X_{11}STX_{12}YMELSSLRSED TAVYYCAR$ (SEQ ID NO: 159), где X_1 представляет собой Y или S, X_2 представляет собой Q или E, X_3 представляет собой K или D, X_4 представляет собой F или D, X_5 представляет собой Q, F, E или T, X_6 представляет собой G, D или H, X_7 представляет собой V или A, X_8 представляет собой M или L, X_9 представляет собой T, N или Q, X_{10} представляет собой S или P, X_{11} представляет собой T или A, и X_{12} представляет собой V или A; и VH FR4 содержит последовательность в соответствии с Формулой IX: $WGQGTLX_1TVSS$ (SEQ ID NO: 160),

где X_1 представляет собой V или L; и/или легкая цепь содержит один, два, три или четыре каркасных участка, выбранных из VL FR1, VL FR2, VL FR3 и VL FR4, при этом: VL FR1 содержит последовательность в соответствии с Формулой X: $X_1IX_2X_3TQSPX_4SLX_5X_6SX_7GX_8RX_9TIX_{10}C$ (SEQ ID NO: 161), где X_1 представляет собой D или G, X_2 представляет собой Q или V, X_3 представляет собой M или L, X_4 представляет собой S или D, X_5 представляет собой S, P или A, X_6 представляет собой A или V, X_7 представляет собой V или L, X_8 представляет собой D или E, X_9 представляет собой V или A, и X_{10} представляет собой T, N или D; VL FR2 содержит последовательность в соответствии с Формулой XI: $WYQQKPGX_1X_2PKLLIK$ (SEQ ID NO: 162), где X_1 представляет собой K или Q, и X_2 представляет собой A или P; VL FR3 содержит последовательность в соответствии с Формулой XII: $GVPX_1RFSGSGSGTDFTLTISSLQX_2EDX_3AX_4YYC$ (SEQ ID NO: 163), где X_1 представляет собой S или D, X_2 представляет собой P или A, X_3 представляет собой F, L или V, и X_4 представляет собой T или V; и VL FR4 содержит последовательность в соответствии с Формулой XIII: $FGQGTKLEIX_1$ (SEQ ID NO: 164), где X_1 представляет собой K или E.

[30] В некоторых вариантах осуществления, которые могут быть скомбинированы с любыми из предшествующих вариантов осуществления, переменная область тяжелой цепи содержит один, два, три или четыре каркасных участка, выбранных из VH FR1, VH FR2, VH FR3 и VH FR4, при этом: VH FR1 содержит последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 2–4; VH FR2 содержит последовательность SEQ ID NO: 5; VH FR3 содержит последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 6–19; и VH FR4 содержит последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 20–21; и/или легкая цепь содержит один, два, три или четыре каркасных участка, выбранных из VL FR1, VL FR2, VL FR3 и VL FR4, при этом: VL FR1 содержит последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 22–26; VL FR2 содержит последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 27–28; VL FR3 содержит последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 29–31; и VL FR4 содержит последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 32–33. В некоторых вариантах осуществления, которые могут быть скомбинированы с любыми из предшествующих вариантов осуществления, переменная область тяжелой цепи содержит VH FR3, содержащий последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 12–15.

[31] В другом аспекте, настоящее раскрытие относится к антителу, которое связывается с белком CD33, при этом антитело содержит переменную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 38 и 40–72; и/или переменную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 86–101.

[32] В другом аспекте, настоящее раскрытие относится к антителу, которое

связывается с белком CD33, при этом антитело содержит переменную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 58, и переменную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 86, переменную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 59, и переменную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 86, переменную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 65, и переменную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 86, переменную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 66, и переменную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 86, переменную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 67, и переменную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 86, переменную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 68, и переменную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 86, или переменную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 69, и переменную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 86.

[33] В некоторых вариантах осуществления, которые могут быть скомбинированы с любыми из предшествующих вариантов осуществления, антитело принадлежит к классу IgG, классу IgM, или классу IgA. В некоторых вариантах осуществления, антитело принадлежит к классу IgG и имеет изотип IgG1, IgG2, IgG3 или IgG4. В некоторых вариантах осуществления, антитело имеет изотип IgG4, и при этом антитело содержит аминокислотную замену S228P в положении остатка 228, аминокислотную замену F234A в положении остатка 234, и аминокислотную замену L235A в положении остатка 235, причем нумерация положения остатков соответствует системе нумерации EU. В некоторых вариантах осуществления, антитело содержит одну или более аминокислотных замен на Fc-участке в положении остатка, выбранном из группы, состоящей из: C127S, L234A, L234F, L235A, L235E, S267E, K322A, L328F, A330S, P331S, E345R, E430G, S440Y, и любой их комбинации, при этом нумерация остатков соответствует системе нумерации EU или Кабата. В некоторых вариантах осуществления, Fc-участок содержит аминокислотную замену в положении E430G, при этом нумерация положения остатков соответствует системе нумерации EU; Fc-участок содержит аминокислотные замены в положениях L243A, L235A, и P331A, при этом нумерация положения остатков соответствует системе нумерации EU; Fc-участок содержит аминокислотные замены в положениях L243A, L235A, P331A, и E430G, при этом нумерация положения остатков соответствует системе нумерации EU; Fc-участок содержит аминокислотные замены в положениях K322A и E430G, при этом нумерация положения остатков соответствует системе нумерации EU; Fc-участок содержит аминокислотные замены в положениях P331S и E430G, при этом нумерация положения

[35] В некоторых вариантах осуществления, которые могут быть скомбинированнокомбинированы с любыми из предшествующих вариантов осуществления, белок CD33 представляет собой белок млекопитающего или человеческий белок. В некоторых вариантах осуществления, белок CD33 представляет собой белок дикого типа. В некоторых вариантах осуществления, белок CD33 представляет собой природный вариант. В некоторых вариантах осуществления, которые могут быть скомбинированнокомбинированы с любыми из предшествующих вариантов осуществления, белок CD33 экспрессируется на одной или нескольких клетках, выбранных из группы, состоящей из человеческих дендритных клеток, человеческих макрофагов, человеческих моноцитов, человеческих остеокластов, человеческих нейтрофилов, человеческих Т-клеток, человеческих Т-хелперных клеток, человеческих цитотоксических Т-клеток, человеческих гранулоцитов, и человеческой микроглии.

[36] В некоторых вариантах осуществления, которые могут быть скомбинированнокомбинированы с любыми из предшествующих вариантов осуществления, антитело специфически связывается с человеческим белком CD33. В некоторых вариантах осуществления, антитело связывается с человеческим белком CD33 и не реагирует перекрестно с ортологом или гомологом CD33 другого вида. В некоторых вариантах осуществления, которые могут быть скомбинированнокомбинированы с любыми из предшествующих вариантов осуществления, антитело представляет собой фрагмент антитела, который связывается с эпитопом, включающим аминокислотные остатки белка человеческого CD33 или CD33 млекопитающего. В некоторых вариантах осуществления, которые могут быть скомбинированнокомбинированы с любыми из предшествующих вариантов осуществления, антитело представляет собой фрагмент антитела, который связывается с одним или несколькими человеческими белками, выбранными из группы, состоящей из человеческого CD33, природного варианта человеческого CD33, и варианта болезни человеческого CD33. В некоторых вариантах осуществления, фрагмент антитела сшит со вторым фрагментом антитела, который связывается с одним или несколькими человеческими белками, выбранными из группы, состоящей из человеческого CD33, природного варианта человеческого CD33, и варианта болезни человеческого CD33. В некоторых вариантах осуществления, фрагмент представляет собой Fab-, Fab'-, Fab'-SH-, F(ab')₂-, Fv- или scFv-фрагмент.

[37] В некоторых вариантах осуществления, которые могут быть скомбинированнокомбинированы с любыми из предшествующих вариантов осуществления, антитело представляет собой гуманизированное антитело, биспецифическое антитело, моноклональное антитело, поливалентное антитело, конъюгированное антитело или химерное антитело. В некоторых вариантах осуществления, антитело представляет собой моноклональное антитело. В некоторых вариантах осуществления, антитело представляет собой биспецифическое антитело, распознающее первый антиген и второй антиген. В некоторых вариантах осуществления, первый антиген представляет собой CD33 и второй антиген представляет собой: антиген,

облегчающий транспорт через гематоэнцефалический барьер; антиген, облегчающий транспорт через гематоэнцефалический барьер, выбранный из группы, состоящей из рецептора трансферрина (TR), рецептора инсулина (HIR), рецептора инсулиноподобного фактора роста (IGFR), белков 1 и 2, родственных рецептору липопротеина низкой плотности (LPR-1 и 2), рецептора дифтерийного токсина, CRM197, однодоменного антитела ламы, TMEM 30(A), домена белковой трансдукции, TAT, Syn-B, пенетратина, полиаргининового пептида, пептида angioper, и ANG1005; патогенный агент, выбранный из группы, состоящей из патогенных пептидов или белков и патогенных нуклеиновых кислот, при этом патогенные пептиды или белки выбирают из группы, состоящей из бета-амилоида, олигомерного бета-амилоида, бета-амилоидных бляшек, белка-предшественника амилоида или его фрагментов, тау (Tau)-белка, IAPP, альфа-синуклеина, TDP-43, белка FUS, C9orf72 (открытая рамка считывания 72 хромосомы 9), белка c9RAN, прионного белка, PrPSc, хантингтина, кальцитонина, супероксиддисмутаза, атаксина, атаксина 1, атаксина 2, атаксина 3, атаксина 7, атаксина 8, атаксина 10, телец Леви, предсердного натриуретического фактора, островкового амилоидного полипептида, инсулина, аполипопротеина AI, сывороточного амилоида A, медины, пролактина, транстирелина, лизоцима, бета-2-микроглобулина, гелсолина, кератоэпителина, цистатина, иммуноглобулина легкой цепи AL, белка S-IBM, связанных с не-ATG повторами (RAN) продуктов трансляции, пептидов с дипептидными повторами (DPR), пептидов с повторами глицин-аланин (GA), пептидов с повторами глицин-пролин (GP), пептидов с повторами глицин-аргинин (GR), пептидов с повторами пролин-аланин (PA), убиквитина, и пептидов с повторами пролин-аргинин (PR), и патогенные нуклеиновые кислоты представляют собой антисмысловую РНК с экспансией повторов GGCCCC (G2C4); лиганды и/или белки, экспрессируемые на иммунных клетках, при этом лиганды и/или белки выбирают из группы, состоящей из CD40, OX40, ICOS, CD28, CD137/4-1BB, CD27, GITR, PD-L1, CTLA4, PD-L2, PD-1, B7-H3, B7-H4, HVEM, LIGHT, VISTA, CD38, TIGIT, KIR, GAL9, TIM1, TIM3, TIM4, A2AR, LAG3, DR5, CD39, CD70, CD73, TREM1, TREM2, Siglec-5, Siglec-7, Siglec-9, Siglec-11, SirpA, CD47, рецептора CSF1, и фосфатидилсерина; и белок, липид, полисахарид или гликолипид, экспрессируемый на одной или нескольких опухолевых клетках.

[38] В некоторых вариантах осуществления, которые могут быть скомбинированы с любыми из предшествующих вариантов осуществления, антитело используется в комбинации с одним или несколькими антителами, которые специфически связывают патогенный агент, выбранный из группы, состоящей из патогенных пептидов, патогенных белков, бета-амилоида, олигомерного бета-амилоида, бета-амилоидных бляшек, белка-предшественника амилоида или его фрагментов, тау (Tau)-белка, IAPP, альфа-синуклеина, TDP-43, белка FUS, C9orf72 (открытая рамка считывания 72 хромосомы 9), прионного белка, PrPSc, хантингтина, кальцитонина, супероксиддисмутаза, атаксина, атаксина 1, атаксина 2, атаксина 3, атаксина 7, атаксина 8, атаксина 10, телец Леви, предсердного натриуретического

фактора, островкового амилоидного полипептида, инсулина, аполипопротеина AI, сывороточного амилоида A, медины, пролактина, транстиретина, лизоцима, бета-2-микроглобулина, гелсолина, кератозепителлина, цистатина, иммуноглобулина легкой цепи AL, белка S-IBM, связанных с не-ATG повторами (RAN) продуктов трансляции, пептидов с дипептидными повторами (DPR), пептидов с повторами глицин-аланин (GA), пептидов с повторами глицин-пролин (GP), пептидов с повторами глицин-аргинин (GR), пептидов с повторами пролин-аланин (PA), убиквитина, и пептидов с повторами пролин-аргинин (PR), и любой их комбинации; или с одним или несколькими антителами, которые связывают иммуномодулирующий белок, выбранный из группы, состоящей из: CD40, OX40, ICOS, CD28, CD137/4-1BB, CD27, GITR, PD-L1, CTLA4, PD-L2, PD-1, B7-H3, B7-H4, HVEM, LIGHT, BTLA, CD38, TIGIT, VISTA, KIR, GAL9, TIM1, TIM3, TIM4, A2AR3, DR5, CD39, CD70, CD73, LAG3, TREM1, TREM2, Siglec-5, Siglec-7, Siglec-9, Siglec-11, SirpA, CD47, рецептора CSF1, фосфатидилсерина, патогенных нуклеиновых кислот, антисмысловой РНК с экспансией повторов GGCCCC (G2C4), и любой их комбинации.

[39] В некоторых вариантах осуществления, которые могут быть скомбинированы с любыми из предшествующих вариантов осуществления, антитело имеет константу диссоциации (K_D) с человеческим CD33, значение которой по меньшей мере в 4 раза ниже значения для анти-CD33 антитела, содержащего вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 34, и вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 77; по меньшей мере в 1 раз ниже значения для анти-CD33 антитела, содержащего вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 40, и вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 86; или по меньшей мере в 1 раз ниже значения для анти-CD33 антитела, содержащего вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 52, и вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 86, при этом K_D определяют методом поверхностного плазмонного резонанса. В некоторых вариантах осуществления, которые могут быть скомбинированы с любыми из предшествующих вариантов осуществления, антитело имеет константу диссоциации (K_D) с человеческим CD33, которая имеет значение в диапазоне от приблизительно 2 нМ до приблизительно 200 пМ, или менее приблизительно 200 пМ, и при этом K_D определяют методом интерферометрии биослоев.

[40] В некоторых вариантах осуществления, которые могут быть скомбинированы с любыми из предшествующих вариантов осуществления, антитело снижает уровни CD33 клеточной поверхности. В некоторых вариантах осуществления, CD33 экспрессируется на поверхности человеческих дендритных клеток. В некоторых вариантах осуществления, антитело снижает уровни

CD33 клеточной поверхности *in vitro*. В некоторых вариантах осуществления, антитело снижает уровни CD33 клеточной поверхности *in vitro* с полумаксимальной эффективной концентрацией (EC_{50}), составляющей менее 150 пМ, при измерении методом проточной цитометрии. В некоторых вариантах осуществления, антитело снижает уровни CD33 клеточной поверхности *in vitro* с EC_{50} значение которой по меньшей мере на 50% ниже, чем у анти-CD33 антитела, содержащего переменную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 34, и переменную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 77; по меньшей мере на 10% ниже, чем у анти-CD33 антитела, содержащего переменную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 40, и переменную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 86; по меньшей мере на 10% ниже, чем у анти-CD33 антитела, содержащего переменную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 52, и переменную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 86; или по меньшей мере в 10 раз ниже, чем у анти-CD33 антитела, содержащего переменную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 103, и переменную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 104, при измерении методом проточной цитометрии.

[41] В другом аспекте, настоящее раскрытие относится к выделенным нуклеиновым кислотам, содержащим последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующую любые антитела, описанные в настоящем описании.

[42] В другом аспекте, настоящее раскрытие относится к векторам, содержащим любые нуклеиновые кислоты, описанные в настоящем описании. В некоторых вариантах осуществления, вектор представляет собой экспрессионный вектор и/или дисплейный вектор.

[43] В другом аспекте, настоящее раскрытие относится к выделенным клеткам-хозяевам, содержащим любые нуклеиновые кислоты или векторы, описанные в настоящем описании.

[44] В другом аспекте, настоящее раскрытие относится к способу продуцирования антитела, которое связывается с CD33, включающему культивирование любой из клеток-хозяев, описанных в настоящем описании, таким образом, чтобы при этом продуцировалось антитело. В некоторых вариантах осуществления, способ дополнительно включает выделение антитела, продуцируемого клеткой.

[45] В другом аспекте, настоящее раскрытие относится к антителу, продуцируемому любым из способов, описанных в настоящем описании.

[46] В другом аспекте, настоящее раскрытие относится к фармацевтическим композициям, содержащим любые антитела, описанные в настоящем описании, и фармацевтически приемлемый носитель. В некоторых вариантах осуществления, настоящее раскрытие относится к использованию любых антител, описанных в настоящем

описании, для получения лекарственного средства.

[47] В другом аспекте, настоящее раскрытие относится к способу профилактики, снижения риска или лечения заболевания, расстройства или поражения, выбранных из группы, состоящей из деменции, лобно–височной деменции, болезни Альцгеймера, сосудистой деменции, смешанной деменции, таупатии, инфекций и рака, включающему введение пациенту терапевтически эффективного количества любых антител, описанных в настоящем описании. В некоторых вариантах осуществления, заболевание, расстройство или поражение представляют собой рак. В некоторых вариантах осуществления, рак выбирают из группы, состоящей из рака мочевого пузыря, рака головного мозга, рака молочной железы, рака толстой кишки, рака прямой кишки, эндометриального рака, рака почки, почечноклеточного рака, рака почечной лоханки, лейкоза, рака легкого, меланомы, неходжкинской лимфомы, рака поджелудочной железы, рака предстательной железы, рака яичника, фибросаркомы, острого лимфобластного лейкоза (ОЛЛ), острого миелолейкоза (ОМЛ), хронического лимфоцитарного лейкоза (ХЛЛ), хронического миелоидного лейкоза (ХМЛ), и множественной миеломы. В некоторых вариантах осуществления, настоящее раскрытие относится к применению любых антител, описанных в настоящем описании, для получения лекарственного средства, пригодного для профилактики, снижения риска или лечения заболевания, расстройства или поражения, выбранных из группы, состоящей из деменции, лобно–височной деменции, болезни Альцгеймера, сосудистой деменции, смешанной деменции, таупатии, инфекций и рака. В некоторых вариантах осуществления, заболевание, расстройство или поражение представляют собой рак. В некоторых вариантах осуществления, рак выбирают из группы, состоящей из рака мочевого пузыря, рака головного мозга, рака молочной железы, рака толстой кишки, рака прямой кишки, эндометриального рака, рака почки, почечноклеточного рака, рака почечной лоханки, лейкоза, рака легкого, меланомы, неходжкинской лимфомы, рака поджелудочной железы, рака предстательной железы, рака яичника, фибросаркомы, острого лимфобластного лейкоза (ОЛЛ), острого миелолейкоза (ОМЛ), хронического лимфоцитарного лейкоза (ХЛЛ), хронического миелоидного лейкоза (ХМЛ), и множественной миеломы.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ГРАФИЧЕСКИХ МАТЕРИАЛОВ

[48] **Фиг. 1** демонстрирует результаты измерения методом проточной цитометрии уровней CD33 на поверхности дендритных клеток, полученных из первичных человеческих моноцитов, после обработки гуманизированными антителами CD33.

[49] **Фиг. 2** демонстрирует результаты измерения методом проточной цитометрии уровней CD33 на поверхности дендритных клеток, полученных из первичных человеческих моноцитов, после инкубации с разными концентрациями антител CD33 с созревшей аффинностью.

[50] **Фиг. 3** демонстрирует результаты анализа блокирования лиганда, в котором красные кровяные клетки, содержащие лиганды сиаловой кислоты CD33, оценивают на их способность связываться с CD33 в присутствии разных концентраций антител CD33.

[51] **Фиг. 4** демонстрирует результаты анализа методом проточной цитометрии по измерению уровней CD33 на поверхности дендритных клеток, полученных из первичных человеческих моноцитов, после обработки разными концентрациями антител CD33, содержащих разные Fc-участки.

[52] **Фиг. 5** демонстрирует результаты измерений методом проточной цитометрии уровней человеческого CD33 на поверхности клеток huCD45⁺huCD14⁺ у гуманизированных NSG-мышей, получивших инъекции антител CD33.

[53] **Фиг. 6А** демонстрирует результаты измерений методом проточной цитометрии уровней человеческого CD33 на поверхности циркулирующих клеток CD11b⁺Gr1⁺ у мышей, трансгенных по человеческому CD33, которым были сделаны инъекции антител CD33. **Фиг. 6В** демонстрирует результаты измерений методом проточной цитометрии уровней человеческого CD33 на поверхности клеток CD11b⁺Gr1⁺ в крови или в селезенке у мышей, трансгенных по человеческому CD33, получивших инъекции антител CD33.

[54] **Фиг. 7** демонстрирует результаты анализа по измерению ADCC-активности (опосредованная антителами клеточная цитотоксичность) антител CD33.

[55] **Фиг. 8** демонстрирует результаты анализа комплемент-опосредованной цитотоксичности (CDC) в присутствии антител CD33.

[56] **Фиг. 9** демонстрирует результаты измерений методом проточной цитометрии уровней человеческого CD33 и человеческого Siglec-7 на поверхности клеток у мышей, трансгенных по человеческому CD33 и человеческому Siglec-7, после введения разных концентраций антитела CD33. **Фиг. 9А** демонстрирует уровни человеческого CD33 на поверхности микроглии, **Фиг. 9В** демонстрирует человеческий Siglec-7 уровни на поверхности микроглии, **Фиг. 9С** демонстрирует уровни человеческого CD33 на поверхности циркулирующих нейтрофилов, **Фиг. 9D** демонстрирует уровни человеческого CD33 на поверхности циркулирующих моноцитов.

ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ СУЩНОСТИ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Общие методики

[57] Способы и процедуры, описанные или упоминаемые в настоящем описании, как правило, хорошо понятны специалистам в данной области техники и широко используются с применением обычной методологии, такой как, например, широко используемая методология, описанная в Sambrook et al., *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, 3d edition (2001) Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y.; *Current Protocols in Molecular Biology* (F.M. Ausubel, et al. eds., (2003)); серия *Methods in Enzymology* (Academic Press, Inc.): *PCR 2: A Practical Approach* (M.J. MacPherson, B.D. Hames and G.R. Taylor eds. (1995)), Harlow and Lane, eds. (1988) *Antibodies, A Laboratory Manual*, и *Animal Cell Culture* (R.I. Freshney, ed. (1987)); *Oligonucleotide Synthesis* (M.J. Gait, ed., 1984); *Methods in Molecular Biology*, Humana Press; *Cell Biology: A Laboratory Notebook* (J.E. Cellis, ed., 1998) Academic Press; *Animal Cell Culture* (R.I. Freshney), ed., 1987); *Introduction to Cell and Tissue Culture* (J.P. Mather and P.E. Roberts, 1998) Plenum

Press; Cell and Tissue Culture: Laboratory Procedures (A. Doyle, J.B. Griffiths, and D.G. Newell, eds., 1993–8) J. Wiley and Sons; Handbook of Experimental Immunology (D.M. Weir and C.C. Blackwell, eds.); Gene Transfer Vectors for Mammalian Cells (J.M. Miller and M.P. Calos, eds., 1987); PCR: The Polymerase Chain Reaction, (Mullis et al., eds., 1994); Current Protocols in Immunology (J.E. Coligan et al., eds., 1991); Short Protocols in Molecular Biology (Wiley and Sons, 1999); Immunobiology (C.A. Janeway and P. Travers, 1997); Antibodies (P. Finch, 1997); Antibodies: A Practical Approach (D. Catty., ed., IRL Press, 1988–1989); Monoclonal Antibodies: A Practical Approach (P. Shepherd and C. Dean, eds., Oxford University Press, 2000); Using Antibodies: A Laboratory Manual (E. Harlow and D. Lane (Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1999); Antibodies (M. Zanetti and J. D. Capra, eds., Harwood Academic Publishers, 1995); и Cancer: Principles and Practice of Oncology (V.T. DeVita et al., eds., J.B. Lippincott Company, 1993).

Определения

[58] В используемом в настоящем описании значении, термин “предотвращение” включает обеспечение профилактики в отношении проявления или рецидивирования конкретного заболевания, расстройства или состояния у индивидуума. Индивидуум может быть предрасположен к, восприимчив к конкретному заболеванию, расстройству или состоянию, или иметь риск развития такого заболевания, расстройства или состояния еще до установления диагноза заболевания, расстройства или состояния.

[59] В используемом в настоящем описании значении, индивидуум “с риском” развития конкретного заболевания, расстройства или состояния может иметь или не иметь детектируемое заболевание или симптомы заболевания, и может иметь или не иметь проявления детектируемого заболевания или симптомов заболевания до проведения способов лечения, описанных в настоящем описании. “С риском” означает, что индивидуум имеет один или более факторов риска, представляющих собой параметры подающиеся измерению, которые коррелируют с развитием конкретного заболевания, расстройства или состояния, как известно специалистам. Индивидуум, имеющий один или более таких факторов риска, имеет более высокую вероятность развития конкретного заболевания, расстройства или состояния, чем индивидуум без одного или нескольких таких факторов риска.

[60] В используемом в настоящем описании значении, термин “лечение” относится к клиническому вмешательству, нацеленному на изменение естественного хода событий для индивидуума, получающего лечение в ходе клинической патологии. Желательные эффекты лечения включают снижение скорости прогрессирования, улучшение или облегчение патологического состояния, и ремиссию или улучшенный прогноз конкретного заболевания, расстройства или состояния. “Лечение” индивидуума успешно, например, если один или более симптомов, связанных с конкретным заболеванием, расстройством или состоянием, смягчаются или устраняются.

[61] “Эффективное количество” относится к по меньшей мере количеству, эффективному, в дозировках и на протяжении периодов времени, необходимых для

достижения желательного терапевтического или профилактического результата. Эффективное количество может быть обеспечено за одно или несколько введений. Эффективное количество в настоящем описании может варьировать в зависимости от таких факторов, как болезненное состояние, возраст, пол и масса тела индивидуума, и способности лечения вызывать желательный ответ у индивидуума. Также при эффективном количестве терапевтически полезные эффекты превышают любое токсическое или вредное воздействие лечения. Для профилактического применения, полезные или желательные результаты включают такие результаты, как устранение или снижение риска, ослабление тяжести, или задержка начала проявления заболевания, включая биохимические, гистологические и/или поведенческие симптомы заболевания, его осложнения и промежуточные патологические фенотипы, наблюдаемые в ходе развития заболевания. Для терапевтического применения, полезные или желательные результаты включают клинические результаты, такие как уменьшение одного или нескольких симптомов, вызванных заболеванием, повышение качества жизни особ, страдающих заболеванием, уменьшение дозы других лекарственных препаратов, требующихся для лечения заболевания, усиление действия другого лекарственного препарата, такое как посредством направленной доставки, замедление прогрессирования заболевания, и/или увеличение выживаемости. Эффективное количество лекарственного препарата, соединения, или фармацевтической композиции представляет собой количество, достаточное для проведения профилактического или терапевтического лечения, прямо или косвенно. Как подразумевается в клиническом контексте, эффективное количество лекарственного средства, соединения, или фармацевтической композиции может достигаться или не достигаться в сочетании с другим лекарственным средством, соединением, или фармацевтической композицией. Таким образом, “эффективное количество” может рассматриваться в контексте введения одного или нескольких терапевтических агентов, и отдельный агент может считаться введенным в эффективном количестве, если желательный результат может быть достигнут или достигается в сочетании с одним или несколькими другими агентами.

[62] В используемом в настоящем описании значении, введение “*в сочетании*” с другим соединением или композицией включает одновременное введение и/или введение в другое время. Введение в сочетании также охватывает введение в виде совместной композиции или введение в виде отдельных композиций, в том числе, с разными частотами или интервалами введения доз, и с использованием одного и того же пути введения или разных путей введения.

[63] “*Индивидуум*” в целях лечения, профилактики или снижения риска относится к любому животному, классифицируемому как млекопитающее, включая людей, домашних и сельскохозяйственных животных, и животных в зоопарках, спортивных животных или домашних питомцев, таких как собаки, лошади, кролики, крупный рогатый скот, свиньи, хомячки, песчанки, мыши, хорьки, крысы, кошки и т.п. Предпочтительно, индивидуум представляет собой человека.

[64] Термин “иммуноглобулин” (Ig) используется в настоящем описании взаимозаменяемо с “*антителом*”. Термин “антитело” используется в настоящем описании в самом широком смысле и конкретно охватывает моноклональные антитела, поликлональные антитела, мультиспецифические антитела (например, биспецифические антитела), образованные из по меньшей мере двух интактных антител, и фрагменты антител, при условии, что они демонстрируют желательную биологическую активность.

[65] Основная 4–цепочечная часть антитела представляет собой гетеротетрамерный гликопротеин, состоящий из двух идентичных легких (L) цепей и двух идентичных тяжелых (H) цепей. При спаривании V_H и V_L образуется один антигенсвязывающий сайт. Структура и свойства разных классов антител описаны, например, в Basic and Clinical Immunology, 8th Ed., Daniel P. Stites, Abba I. Terr and Tristram G. Parslow (eds.), Appleton & Lange, Norwalk, CT, 1994, страница 71 и Глава 6.

[66] L–цепь любого вида позвоночных может быть отнесена к одному из двух четко различающихся типов, обозначаемых каппа (“κ”) и лямбда (“λ”), на основании аминокислотных последовательностей их константных доменов. В зависимости от аминокислотной последовательности константного домена их тяжелых цепей (CH), иммуноглобулины могут быть отнесены к разным классам или изотипам. Существует пять классов иммуноглобулинов: IgA, IgD, IgE, IgG, и IgM, имеющих тяжелые цепи, обозначаемые альфа (“α”), дельта (“δ”), эпсилон (“ε”), гамма (“γ”) и мю (“μ”), соответственно. Классы γ и α дополнительно делятся на подклассы (изотипы) на основании относительно небольших различий в последовательностях и функции CH, например, люди экспрессируют следующие подклассы: IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1, и IgA2. Структуры субъединиц и трехмерные конфигурации разных классов иммуноглобулинов хорошо известны и описаны в общем, например, в Abbas et al., Cellular and Molecular Immunology, 4th ed. (W.B. Saunders Co., 2000).

[67] “*Нативные антитела*” представляют собой обычно гетеротетрамерные гликопротеины, приблизительно 150000 дальтон, состоящие из двух идентичных легких (L) цепей и двух идентичных тяжелых (H) цепей. Каждая легкая цепь связана с тяжелой цепью одной ковалентной дисульфидной связью, в то время как число дисульфидных связей между тяжелыми цепями отличается для разных изотипов иммуноглобулинов. Каждая тяжелая и легкая цепи также имеет расположенные с равномерными промежутками внутрицепочечные дисульфидные мостики. Каждая тяжелая цепь имеет на одном конце варибельный домен (V_H), за которым следует ряд константных доменов. Каждая легкая цепь имеет варибельный домен на одном конце (V_L) и константный домен на другом его конце; константный домен легкой цепи прилегает к первому константному домену тяжелой цепи, и варибельный домен легкой цепи прилегает к варибельному домену тяжелой цепи. Считается, что конкретные аминокислотные остатки образуют поверхность раздела между варибельными доменами легкой цепи и тяжелой цепи.

[68] “*Выделенное*” антитело, такое как анти–CD33 антитело согласно настоящему раскрытию, было идентифицировано, отделено и/или извлечено из компонента среды, в

которой оно продуцировалось (например, естественным путем или рекомбинантно). Предпочтительно, выделенный полипептид не связан со всеми другими загрязняющими компонентами из среды его продуцирования. Загрязняющие компоненты из среды его продуцирования, такие как образуемые рекомбинантными трансфицированными клетками, представляют собой материалы, которые будут обычно препятствовать исследовательскому, диагностическому или терапевтическому применению антитела, и могут содержать ферменты, гормоны, и другие белковые или небелковые растворенные вещества. В предпочтительных вариантах осуществления, полипептид будет очищен: (1) до более чем 95% мас. Антитела при определении, например, методом Лоури, и в некоторых вариантах осуществления, до более чем 99% мас.; (2) до степени, достаточной для получения по меньшей мере 15 остатков N-концевой или внутренней аминокислотной последовательности при использовании секвенатора с вращающимся стаканом, или (3) до гомогенности по методу ДСН-ПААГ в невосстанавливающих или восстанавливающих условиях с использованием окрашивания кумасси голубым или, предпочтительно, серебром. Выделенное антитело включает антитело *in situ* в рекомбинантных Т-клетках, поскольку по меньшей мере один компонент природной среды антитела не будет присутствовать. Обычно, однако, выделенный полипептид или антитело будут получены с помощью по меньшей мере одной стадии очистки.

[69] “*Вариабельная область*” или “*вариабельный домен*” антитела, такого как анти-CD33 антитело согласно настоящему раскрытию, относится к аминоконцевым доменам тяжелой или легкой цепи антитела. Вариабельные домены тяжелой цепи и легкой цепи могут быть обозначены “ V_H ” и “ V_L ”, соответственно. Эти домены являются обычно наиболее вариабельными частями антитела (по сравнению с другими антителами этого же класса) и содержат антигенсвязывающие сайты.

[70] Термин “*вариабельный*” относится к тому факту, что последовательности определенных сегментов вариабельных доменов в значительной степени отличаются между антителами, такими как анти-CD33 антитела согласно настоящему раскрытию. V-домен опосредует связывание антигена и определяет специфичность конкретного антитела к его конкретному антигену. Однако, изменчивость не распределена равномерно по всей протяженности вариабельных доменов. Вместо этого, она сконцентрирована в трех сегментах, называемых гипервариабельными участками (HVR) вариабельных доменов как легкой цепи, так и тяжелой цепи. Более высококонсервативные части вариабельных доменов называются каркасными участками (FR). Вариабельные домены нативных тяжелой и легкой цепей содержат каждый четыре участка FR, преимущественно принимающих конфигурацию бета-листов, соединенных тремя HVR, которые образуют петли, соединяющие бета-листы, и в некоторых случаях образующие часть их структуры. HVR в каждой цепи удерживаются на близком расстоянии друг к другу каркасными участками и, вместе с HVR другой цепи, участвуют в образовании антигенсвязывающего сайта антител (см. Kabat et al., Sequences of Immunological Interest, Fifth Edition, National Institute of Health, Bethesda, MD (1991)). Константные домены не принимают

непосредственного участия в связывании антитела с антигеном, но проявляют различные эффекторные функции, такие как участие антитела в антителозависимой клеточной токсичности.

[71] Термин “*моноклональное антитело*” в используемом в настоящем описании значении относится к антителу, такому как анти-CD33 антитело согласно настоящему раскрытию, полученное из популяции по существу гомогенных антител, т.е., индивидуальные антитела, составляющие популяцию, являются идентичными, за исключением возможных природных мутаций и/или посттрансляционных модификаций (например, изомеризации, амидирования и т.д.), которые могут присутствовать в незначительных количествах. Моноклональные антитела являются высокоспецифическими, будучи нацеленными на один или более антигенных сайтов. В некоторых вариантах осуществления, моноклональное антитело согласно настоящему раскрытию может быть биспецифическим антителом. В отличие от препаратов поликлональных антител, которые типично включают разные антитела, направленные против разных детерминант (эпитопов), каждое моноклональное антитело направлено против одного детерминанта одного или нескольких антигенных сайтов. Определение “моноклональный” указывает характер антитела как полученного из по существу гомогенной популяции антител, и не подразумевает требования продуцирования антитела каким-либо конкретным способом. Например, моноклональные антитела для использования в соответствии с данным изобретением могут быть приготовлены различными методами, включая, например, технологии фагового дисплея (см., например, Clackson et al., *Nature*, 352:624–628 (1991); Marks et al., *J. Mol. Biol.* 222:581–597 (1992); Sidhu et al., *J. Mol. Biol.* 338(2): 299–310 (2004); Lee et al., *J. Mol. Biol.* 340(5):1073–1093 (2004); Fellouse, *Proc. Nat'l Acad. Sci. USA* 101(34):12467–472 (2004); и Lee et al., *J. Immunol. Methods* 284(1–2):119–132 (2004), способ гибридом (например, Kohler and Milstein, *Nature*, 256:495–97 (1975); Hongo et al., *Hybridoma*, 14 (3):253–260 (1995), Harlow et al., *Antibodies: A Laboratory Manual*, (Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2d ed. 1988); Hammerling et al., в: *Monoclonal Antibodies and T-Cell Hybridomas* 563–681 (Elsevier, N.Y., 1981)), методы рекомбинантных ДНК (см., например, патент США № 4816567), технологии презентирования дрожжами (см., например, WO2009/036379A2; WO2010105256; WO2012009568, и Xu et al., *Protein Eng. Des. Sel.*, 26(10): 663–70 (2013), и технологии продуцирования человеческих или человекоподобных антител у животных, имеющих часть или все локусы иммуноглобулина человека, или гены, кодирующие последовательности человеческого иммуноглобулина (см., например, WO 1998/24893; WO 1996/34096; WO 1996/33735; WO 1991/10741; Jakobovits et al., *Proc. Nat'l Acad. Sci. USA* 90:2551 (1993); Jakobovits et al., *Nature* 362:255–258 (1993); Bruggemann et al., *Year in Immunol.* 7:33 (1993); патенты США №№ 5545807; 5545806; 5569825; 5625126; 5633425; и 5661016; Marks et al., *Bio/Technology* 10:779–783 (1992); Lonberg et al., *Nature* 368:856–859 (1994); Morrison, *Nature* 368:812–813 (1994); Fishwild et al., *Nature Biotechnol.* 14:845–851 (1996); Neuberger, *Nature Biotechnol.* 14:826 (1996); и Lonberg and Huszar, *Intern. Rev.*

Immunol. 13:65–93 (1995).

[72] Термины “*полноразмерное антитело*”, “*интактное антитело*” или “*цельное антитело*” используются взаимозаменяемо по отношению к антителу, такому как анти-CD33 антитело согласно настоящему раскрытию, в его по существу интактной форме, в отличие от фрагмента антитела. Конкретнее, цельные антитела включают антитела с тяжелыми и легкими цепями, включая Fc-участок. Константные домены могут быть константными доменами с нативными последовательностями (например, человеческими константными доменами с нативными последовательностями) или вариантами их аминокислотных последовательностей. В некоторых случаях, интактное антитело может обладать одной или более эффекторными функциями.

[73] *Фрагмент антитела*” включает часть интактного антитела, предпочтительно, антигенсвязывающую и/или вариабельную область интактного антитела. Примеры фрагментов антител включают Fab-, Fab'-, F(ab')₂- и Fv-фрагменты; диатела; линейные антитела (см. патент США 5641870, Пример 2; Zapata et al., Protein Eng. 8(10):1057–1062 (1995)); одноцепочечные молекулы антител и мультиспецифические антитела, образованные из фрагментов антител.

[74] Папаиновый гидролиз антител, таких как анти-CD33 антитела согласно настоящему раскрытию, дает два идентичных антигенсвязывающих фрагмента, называемых фрагментами “Fab”, и остаточный фрагмент “Fc”, название которого отражает способность легко кристаллизоваться. Фрагмент Fab состоит из полной L-цепи вместе с доменом вариабельной области H-цепи (V_H), и первым константным доменом одной тяжелой цепи (C_{H1}). Каждый Fab-фрагмент является моновалентным по отношению к связыванию антигена, т.е., имеет один антигенсвязывающий сайт. Обработка антитела пепсином дает один большой фрагмент F(ab')₂, который приблизительно соответствует двум дисульфидно связанным Fab-фрагментам, имеющим разную антигенсвязывающую активность, и сохраняющим способность к перекрестному связыванию антигена. Fab'-фрагменты отличаются от Fab-фрагментов наличием нескольких дополнительных остатков на карбоксильном конце домена C_{H1}, включая один или более цистеинов из шарнирной области антитела. Fab'-SH используется в настоящем описании для обозначения Fab', в котором цистеиновый остаток (остатки) константных доменов несет свободную тиольную группу. F(ab')₂-фрагменты антител первоначально получали в виде пар Fab'-фрагментов с цистеинами шарнира между ними. Также известны другие виды химической связи фрагментов антител.

[75] Fc-фрагмент содержит карбоксиконцевые участки обеих H-цепей, удерживаемые вместе дисульфидными связями. Эффекторные функции антител определяются последовательностями Fc-участка, представляющего собой область, которую распознают также Fc-рецепторы (FcR), присутствующие на определенных типах клеток.

[76] “Fv” представляет собой минимальный фрагмент антитела, содержащий полный антигенраспознающий и -связывающий сайт. Этот фрагмент состоит из димера

доменов переменных областей одной тяжелой и одной легкой цепей с сильными нековалентными связями. При укладке этих двух доменов образуются шесть гиперпеременных петель (по 3 петли в каждой из H- и L-цепей), аминокислотные остатки которых участвуют в связывании антигена и придают антителу антигенсвязывающую специфичность. Однако, даже один переменный домен (или половина Fv, содержащая только три HVR, специфичных к антигену) обладает способностью распознавать и связывать антиген, хотя и с меньшей аффинностью, чем целый сайт связывания.

[77] “Одноцепочечные Fv”, также сокращенно обозначаемые “sFv” или “scFv”, представляют собой фрагменты антител, содержащие домены VH и VL антитела, соединенные в одну полипептидную цепь. Предпочтительно, полипептид sFv дополнительно содержит полипептидный линкер между VH- и VL-доменами, который позволяет sFv образовывать желательную структуру для связывания антигена. Обзор sFv приведен Pluckthun в *The Pharmacology of Monoclonal Antibodies*, vol. 113, Rosenberg and Moore, eds., Springer-Verlag, New York, pp. 269–315 (1994).

[78] “Функциональные фрагменты” антител, таких как анти-CD33 антитела согласно настоящему раскрытию, содержат часть интактного антитела, обычно включающую антигенсвязывающий участок или переменную область интактного антитела или F-участок антитела, сохраняющий или имеющий модифицированную связывающую способность FcR. Примеры фрагментов антител включают линейное антитело, одноцепочечные молекулы антител и мультиспецифические антитела, образованные из фрагментов антител.

[79] Термин “диатела” относится к малым фрагментам антител, полученных путем конструирования sFv-фрагментов (см. предыдущий абзац) с короткими линкерами (приблизительно 5–10 остатков) между VH и VL доменами таким образом, чтобы обеспечить межцепочечное, но не внутрицепочечное спаривание V-доменов, с образованием в результате бивалентного фрагмента, т.е., фрагмента, имеющего два антигенсвязывающих сайта. Биспецифические диатела представляют собой гетеродимеры двух “кроссинговых” фрагментов sFv, в которых домены VH и VL двух антител находятся в разных полипептидных цепях. Диатела описаны более подробно, например, в EP 404097; WO 93/11161; Hollinger et al., *Proc. Nat'l Acad. Sci. USA* 90:6444–48 (1993).

[80] В используемом в настоящем описании значении, “химерное антитело” относится к антителу (иммуноглобулину), такому как анти-CD33 антитело согласно настоящему раскрытию, в котором часть тяжелой и/или легкой цепи идентична или гомологична соответствующей последовательности антител, полученных от определенного вида или принадлежащих к определенному классу или подклассу антител, в то время как остальная цепь (цепи) идентична (идентичны) или гомологична соответствующим последовательностям антител, полученных от другого вида или принадлежащих к другому классу или подклассу антител, а также фрагментам таких антител, при условии, что они проявляют желательную биологическую активность (патент

США № 4816567; Morrison et al., *Proc. Nat'l Acad. Sci. USA*, 81:6851–55 (1984)). Химерные антитела, представляющие интерес для настоящего раскрытия, включают антитела PRIMATIZED[®], в которых антигенсвязывающий участок антитела получают из антитела, продуцируемого путем, например, иммунизации макака антигеном, представляющим интерес. В используемом в настоящем описании значении, “гуманизированное антитело” используется как подмножество “химерных антител”.

[81] “Гуманизированные” формы не принадлежащих человеку (например, мышинных) антител, таких как анти-CD33 антитела согласно настоящему раскрытию, представляют собой химерные антитела, содержащие минимальную последовательность, полученную из нечеловеческого иммуноглобулина. В одном варианте осуществления, гуманизированное антитело представляет собой человеческий иммуноглобулин (антитело–реципиент), в котором остатки из HVR реципиента заменены на остатки из HVR вида, не являющегося человеком (донорское антитело), такого как мышь, крыса, кролик или не являющийся человеком примат, имеющий желательную специфичность, аффинность и/или функциональную активность. В некоторых случаях, остатки FR человеческого иммуноглобулина заменяют на соответствующие не принадлежащие человеку остатки. Кроме того, гуманизированные антитела могут содержать остатки, отсутствующие в антителе–реципиенте или донорском антителе. Эти модификации могут быть проведены для дополнительного улучшения характеристик антитела, таких как аффинность связывания. В общем, гуманизированное антитело будет содержать по существу полностью по меньшей мере один, и типично два, вариабельных домена, в которых все или по существу все гипервариабельные петли соответствуют петлям последовательности нечеловеческого иммуноглобулина, и все или по существу все FR–участки принадлежат последовательности человеческого иммуноглобулина, хотя FR–участки могут включать одну или более индивидуальных замен FR–остатков, которые улучшают характеристики антитела, такие как аффинность связывания, изомеризация, иммуногенность и т.п. Число таких аминокислотных замен в FR типично не превышает 6 в Н–цепи, и составляет не более 3 в L–цепи. Гуманизированное антитело необязательно будет также содержать по меньшей мере часть константной области иммуноглобулина (Fc), типично, человеческого иммуноглобулина. Дополнительные подробности приведены, например, в Jones et al., *Nature* 321:522–525 (1986); Riechmann et al., *Nature* 332:323–329 (1988); и Presta, *Curr. Op. Struct. Biol.* 2:593–596 (1992). См. также, например, Vaswani and Hamilton, *Ann. Allergy, Asthma & Immunol.* 1:105–115 (1998); Harris, *Biochem. Soc. Transactions* 23:1035–1038 (1995); Hurlle and Gross, *Curr. Op. Biotech.* 5:428–433 (1994); и патенты США №№ 6982321 и 7087409.

[82] “Человеческое антитело” представляет собой антитело, имеющее аминокислотную последовательность, соответствующую антителу, такому как анти-CD33 антитело согласно настоящему раскрытию, продуцируемое человеком и/или приготовленное с использованием любых методов получения человеческих антител, как раскрыто в настоящем описании. Это определение человеческого антитела прямо

исключает гуманизированное антитело, содержащее не принадлежащие человеку антигенсвязывающие остатки. Человеческие антитела могут быть получены с использованием различных методов, известных специалистам, включая библиотеки фагового дисплея. Hoogenboom and Winter, *J. Mol. Biol.*, 227:381 (1991); Marks et al., *J. Mol. Biol.*, 222:581 (1991). также доступны для получения человеческих моноклональных антител способы, описанные в Cole et al., *Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy*, Alan R. Liss, p. 77 (1985); Boerner et al., *J. Immunol.*, 147(1):86–95 (1991). См. также van Dijk and van de Winkel, *Curr. Opin. Pharmacol.* 5:368–74 (2001). Человеческие антитела могут быть получены путем введения антигена трансгенному животному, модифицированному для продуцирования таких антител в ответ на антигенный стимул, но с заблокированными эндогенными локусами, например, иммунизированным ксеномышам (см., например, патенты США №№ 6075181 и 6150584, касающиеся технологии XENOMOUSE™). См. также, например, Li et al., *Proc. Nat'l Acad. Sci. USA*, 103:3557–3562 (2006), касающуюся человеческих антител, генерируемых с помощью технологии человеческой В-клеточной гибридомы. Альтернативно, человеческие антитела также могут быть получены путем использования библиотек дрожжей и способов, раскрытых, например, в WO2009/036379A2; WO2010105256; WO2012009568; и Xu et al., *Protein Eng. Des. Sel.*, 26(10): 663–70 (2013).

[83] Термин “*гипервариабельный участок*”, “HVR”, или “HV”, при использовании в настоящем описании, относится к областям вариабельного домена антитела (antibody-variable domain), такого как анти-CD33 антитело согласно настоящему раскрытию, которые являются гипервариабельными по последовательностям и/или образуют структурно определенные петли. Как правило, антитела содержат шесть HVR; три в VH (H1, H2, H3), и три в VL (L1, L2, L3). В нативных антителах, H3 и L3 демонстрируют наибольшее разнообразие шести HVR, и H3, в частности, как считается, играет уникальную роль в придании антителам тонкой специфичности. См., например, Xu et al., *Immunity* 13:37–45 (2000); Johnson and Wu в *Methods in Molecular Biology* 248:1–25 (Lo, ed., Human Press, Totowa, NJ, 2003)). Действительно, природные антитела верблюдовых, состоящие только из тяжелой цепи, являются функциональными и стабильными в отсутствие легкой цепи. См., например, Hamers-Casterman et al., *Nature* 363:446–448 (1993) и Sheriff et al., *Nature Struct. Biol.* 3:733–736 (1996).

[84] Используется ряд определений HVR, которые включены в настоящее описание. В некоторых вариантах осуществления, HVR могут быть областями, определяющими комплементарность (CDR), по Кабату (Kabat), основанными на изменчивости последовательностей и наиболее часто используемыми (Kabat et al., *выше*). В некоторых вариантах осуществления, HVR могут представлять собой CDR по Чотиа (Chothia). Система Чотиа отличается использованием расположения структурных петель (Chothia and Lesk, *J. Mol. Biol.* 196:901–917 (1987)). В некоторых вариантах осуществления, HVR могут представлять собой HVR согласно AbM. AbM HVR являются компромиссом между CDR по Кабату и структурными петлями Чотиа, и используются в

программе моделирования антител AbM фирмы Oxford Molecular. В некоторых вариантах осуществления, HVR могут быть “контактными” HVR. “Контактные” HVR основаны на анализе доступных структур сложных кристаллов. Остатки каждого из этих HVR указаны ниже.

<u>Петля</u>	<u>Кабат</u>	<u>AbM</u>	<u>Чотиа</u>	<u>Контактные</u>
L1	L24–L34	L24–L34	L26–L32	L30–L36
L2	L50–L56	L50–L56	L50–L52	L46–L55
L3	L89–L97	L89–L97	L91–L96	L89–L96
H1	H31–H35B	H26–H35B	H26–H32	H30–H35B (нумерация по Кабату)
H1	H31–H35	H26–H35	H26–H32	H30–H35 (нумерация по Чотиа)
H2	H50–H65	H50–H58	H53–H55	H47–H58
H3	H95–H102	H95–H102	H96–H101	H93–H101

[85] HVR могут включать “расширенный HVR” (extended HVR) следующим образом: 24–36 или 24–34 (L1), 46–56 или 50–56 (L2), и 89–97 или 89–96 (L3) в VL, и 26–35 (H1), 50–65 или 49–65 (предпочтительный вариант осуществления) (H2), и 93–102, 94–102, или 95–102 (H3) в VH. Остатки варибельного домена пронумерованы в соответствии с EU или Kabat et al., *выше*, для каждого из этих определений расширенных HVR.

[86] “Каркасные” или “FR–”остатки представляют собой остатки варибельного домена, отличные от остатков HVR, как было определено в настоящем описании.

[87] Фразы “нумерация остатков варибельного домена по EU или Кабату” или “нумерация положения аминокислот по EU или Кабату”, и их варианты, относятся к системе нумерации, используемой для варибельных доменов тяжелой цепи или варибельных доменов легкой цепи антител, описанных в EU или Kabat et al., *выше*. При использовании этой системы нумерации, фактическая линейная аминокислотная последовательность может содержать меньшее количество или дополнительные аминокислоты, что соответствует укорачиванию, или вставке в, FR или HVR варибельного домена. Например, варибельный домен тяжелой цепи может включать вставку одной аминокислоты (остаток 52a в соответствии с Кабатом) после остатка 52 H2 и вставленные остатки (например, остатки 82a, 82b, и 82c и т.д. в соответствии с Кабатом) после остатка 82 тяжелой цепи FR. Нумерация остатков по EU или Кабату может быть определена для данного антитела путем выравнивания областей гомологии последовательности антитела со “стандартной” последовательностью, пронумерованной по Кабату.

[88] Система нумерации по EU или Кабату, как правило, используется при указании на остаток в варибельном домене (приблизительно остатки 1–107 легкой цепи и остатки 1–113 тяжелой цепи) (например, Kabat et al., Sequences of Immunological Interest. 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md. (1991)). “Система нумерация по EU или Кабату” или “индекс EU”, как правило, используется при указании на остаток в константной области тяжелой цепи иммуноглобулина (например, индекс EU, описанный в Kabat et al., *выше*). “Индекс EU по Кабату” относится к нумерации остатков

человеческого антитела IgG1 EU. Если иное не указано в настоящем описании, указания на номера остатков в переменном домене антител означают нумерацию остатков согласно системе нумерации Кабата. Если иное не указано в настоящем описании, указания на номера остатков в константном домене антител означают нумерацию остатков по системе нумерации EU или Кабата (например, см. публикацию патента США № 2010–280227).

[89] “*Человеческий каркас–акцептор*” в используемом в настоящем описании значении представляет собой каркас, содержащий аминокислотную последовательность каркаса VL или VH, полученную из каркаса человеческого иммуноглобулина или человеческого консенсусного каркаса. Человеческий каркас–акцептор, “полученный из” каркаса человеческого иммуноглобулина или человеческого консенсусного каркаса, может содержать ту же самую его аминокислотную последовательность, или же он может содержать заданные изменения аминокислотной последовательности. В некоторых вариантах осуществления, число заданных аминокислотных изменений составляет 10 или меньше, 9 или меньше, 8 или меньше, 7 или меньше, 6 или меньше, 5 или меньше, 4 или меньше, 3 или меньше, или 2 или меньше. В тех случаях, когда заданные аминокислотные изменения присутствуют в VH, предпочтительно, такие изменения находятся только в трех, двух или одном из положений 71H, 73H и 78H; например, аминокислотными остатками в этих положениях могут быть (may be) 71A, 73T и/или 78A. В одном варианте осуществления, человеческий каркас–акцептор VL является идентичным по последовательности с каркасной последовательностью VL человеческого иммуноглобулина или человеческой консенсусной каркасной последовательностью.

[90] “*Человеческий консенсусный каркас*” является каркасом, который представляет наиболее часто встречающиеся аминокислотные остатки в выбранных каркасных последовательностях VL или VH человеческого иммуноглобулина. Как правило, выбор последовательностей VL или VH человеческого иммуноглобулина проводят из подгруппы последовательностей переменного домена. Как правило, подгруппа последовательностей представляет собой подгруппу согласно Kabat et al., *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD (1991). Примеры включают для VL подгруппу, которая может быть подгруппой каппа I, каппа II, каппа III или каппа IV, как в Kabat et al., *выше*. Дополнительно, для VH, подгруппа может быть подгруппой I, подгруппой II или подгруппой III, как в Kabat et al., *выше*.

[91] “*Аминокислотная модификация*” в определенном положении, например, анти–CD33 антитела согласно настоящему раскрытию, относится к замене или делеции определенного остатка, или инсерции по меньшей мере одного аминокислотного остатка рядом с определенным остатком. Инсерция “рядом” с определенным остатком означает инсерцию на расстоянии от одного до двух остатков от него. Инсерция может быть N–концевой или C–концевой по отношению к определенному остатку. Предпочтительная аминокислотная модификация в настоящем описании представляет собой замену.

[92] Антитело “с созревшей аффинностью”, такое как анти-CD33 антитело согласно настоящему раскрытию, представляет собой антитело с одним или несколькими изменениями в одном или нескольких его HVR, которые приводят к повышению аффинности антитела к антигену, по сравнению с исходным антителом, не имеющим такого изменения (изменений). В одном варианте осуществления, антитело с созревшей аффинностью имеет наномолярную или даже пикомолярную аффинность к антигену-мишени. Антитела с созревшей аффинностью получают с использованием процедур, известных специалистам. Например, Marks et al., Bio/Technology 10:779–783 (1992) описывает созревание аффинности путем перетасовки VH- и VL-доменов. Неспецифический мутагенез HVR и/или каркасных остатков описан, например, в: Barbas et al. Proc Nat. Acad. Sci. USA 91:3809–3813 (1994); Schier et al. Gene 169:147–155 (1995); Yelton et al. J. Immunol. 155:1994–2004 (1995); Jackson et al., J. Immunol. 154(7):3310–9 (1995); и Hawkins et al., J. Mol. Biol. 226:889–896 (1992).

[93] В используемом в настоящем описании значении, термин “*специфически распознает*” или “*специфически связывается*” относится к измеримым и воспроизводимым взаимодействиям, таким как притяжение или связывание между мишенью и антителом, таким как анти-CD33 антитело согласно настоящему раскрытию, которые позволяют определять наличие мишени в присутствии гетерогенной популяции молекул, включая биологические молекулы. Например, антитело, такое как анти-CD33 антитело согласно настоящему раскрытию, которое специфически или предпочтительно связывается с мишенью или эпитопом, представляет собой антитело, которое связывает эту мишень или эпитоп с большей аффинностью, авидностью, более легко, и/или на более длительный период времени, чем оно связывается с другими мишенями или другими эпитопами мишени. Это определение также подразумевает, что, например, антитело (или фрагмент), которое специфически или предпочтительно связывается с первой мишенью, может специфически или предпочтительно связываться со второй мишенью или не связываться с ней. По существу, “*специфическое связывание*” или “*предпочтительное связывание*” не требует обязательно исключительного связывания (хотя может включать его). Антитело, которое специфически связывается с мишенью, может иметь константу ассоциации, равную по меньшей мере приблизительно 10^3 M^{-1} или 10^4 M^{-1} , иногда приблизительно 10^5 M^{-1} или 10^6 M^{-1} , в других случаях приблизительно 10^6 M^{-1} или 10^7 M^{-1} , приблизительно от 10^8 M^{-1} до 10^9 M^{-1} , или от приблизительно 10^{10} M^{-1} до 10^{11} M^{-1} или выше. Различные форматы иммуноанализов могут быть использованы для выбора антител, специфически иммунореактивных по отношению к конкретному белку. Например, твердофазные ИФА-иммуноанализы обычно используются для выбора моноклональных антител, специфически иммунореактивных по отношению к белку. См., например, Harlow and Lane (1988) Antibodies, A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Publications, New York, где описаны форматы и условия иммуноанализов, которые могут быть использованы для определения специфической иммунореактивности.

[94] В используемом в настоящем описании значении, “*взаимодействие*” между

белком CD33 и вторым белком охватывает, без ограничений, белок–белковое взаимодействие, физическое взаимодействие, химическое взаимодействие, связывание, ковалентное связывание и ионное связывание. В используемом в настоящем описании значении, антитело “ингибирует взаимодействие” между двумя белками, когда антитело нарушает, ослабляет или полностью устраняет взаимодействие между этими двумя белками. Антитело согласно настоящему раскрытию, или его фрагмент, “ингибирует взаимодействие” между двумя белками, когда антитело или его фрагмент связывается с одним из двух белков.

[95] “Агонистическое” антитело или “активирующее” антитело представляет собой антитело, такое как агонистическое анти-CD33 антитело согласно настоящему раскрытию, которое индуцирует (например, усиливает) одну или более активностей или функций антигена после связывания антитела с антигеном.

[96] “Блокирующее” антитело, “антагонистическое” антитело, или “ингибирующее” антитело представляет собой антитело, такое как анти-CD33 антитело согласно настоящему раскрытию, которое ингибирует или уменьшает (например, снижает) связывание антигена с одним или несколькими лигандами после связывания антитела с антигеном, и/или которое ингибирует или уменьшает (например, снижает) одну или более активностей или функций антигена после связывания антитела с антигеном. В некоторых вариантах осуществления, блокирующие антитела, антагонистические антитела или ингибирующие антитела по существу или полностью ингибируют связывание антигена с одним или несколькими лигандами и/или одну или более активностей или функций антигена.

[97] “Эффекторные функции” антитела относятся к тем биологическим активностям, которые могут быть отнесены к Fc-участку (нативной последовательности Fc-участка или варианту аминокислотной последовательности Fc-участка) антитела, и меняются в зависимости от изотипа антитела.

[98] Термин “Fc-участок” используется в настоящем описании для определения C-концевой области тяжелой цепи иммуноглобулина, включая Fc-участки с нативной последовательностью и варианты Fc-участков. Хотя границы Fc-участка тяжелой цепи иммуноглобулина могут меняться, Fc-участок тяжелой цепи человеческого IgG обычно определяют как протяженный от аминокислотного остатка в положении Cys226, или от Pro230, до его карбоксильного конца. C-концевой лизин (остаток 447 в соответствии с системой нумерации EU или Кабата) Fc-участка может быть удален, например, при продуцировании или очистке антитела, или путем рекомбинантного модифицирования нуклеиновой кислоты, кодирующей тяжелую цепь антитела. Соответственно, композиция интактных антител может содержать популяции антител с полностью удаленными остатками K447, популяции антител с неудаленными остатками K447, и популяции антител со смесью антител с остатком K447 и без него. Пригодные Fc-участки с нативной последовательностью для использования в антителах согласно настоящему раскрытию включают человеческие IgG1, IgG2, IgG3 и IgG4.

[99] “Fc-участок с нативной последовательностью” содержит аминокислотную последовательность, идентичную с природной аминокислотной последовательностью Fc-участка. Человеческие Fc-участки с нативными последовательностями включают Fc-участок человеческого IgG1 с нативной последовательностью (аллотипы не-A и A); Fc-участок человеческого IgG2 с нативной последовательностью; Fc-участок человеческого IgG3 с нативной последовательностью; и Fc-участок человеческого IgG4 с нативной последовательностью, а также их природные варианты.

[100] “Вариант Fc-участка” содержит аминокислотную последовательность, которая отличается от нативной последовательности Fc-участка посредством по меньшей мере одной аминокислотной модификации, предпочтительно, одной или нескольких аминокислотных замен. Предпочтительно, вариант Fc-участка имеет по меньшей мере одну аминокислотную замену по сравнению с нативной последовательностью Fc-участка или с Fc-участком исходного полипептида, например, от приблизительно одной до приблизительно десяти аминокислотных замен, и предпочтительно, от приблизительно одной до приблизительно пяти аминокислотных замен в нативной последовательности Fc-участка или на Fc-участке исходного полипептида. Вариант Fc-участка в настоящем описании будет предпочтительно обладать по меньшей мере приблизительно 80% гомологии с нативной последовательностью Fc-участка и/или с Fc-участком исходного полипептида, и наиболее предпочтительно, по меньшей мере приблизительно 90% гомологии с ними, более предпочтительно, по меньшей мере приблизительно 95% гомологии с ними.

[101] “Fc-рецептор” или “FcR” описывает рецептор, который связывается с Fc-участком антитела. Предпочтительный FcR представляет собой человеческий FcR с нативной последовательностью. Кроме того, предпочтительным является FcR, который связывает антитело IgG (гамма-рецептор) и включает рецепторы подклассов FcγRI, FcγRII и FcγRIII, включая аллельные варианты и формы альтернативного сплайсинга этих рецепторов, FcγRII рецепторы включают FcγRIIA (“активирующий рецептор”) и FcγRIIB (“ингибирующий рецептор”), которые имеют схожие аминокислотные последовательности, различающиеся преимущественно в их цитоплазматических доменах. Активирующий рецептор FcγRIIA содержит иммунорецепторный тирозин-активируемый мотив (“ITAM”) в своем цитоплазматическом домене. Ингибирующий рецептор FcγRIIB содержит иммунорецепторный тирозиновый ингибирующий мотив (“ITIM”) в своем цитоплазматическом домене (см., например, M. Daëron, *Annu. Rev. Immunol.* 15:203–234 (1997)). Обзоры FcR приведены в Ravetch and Kinet, *Annu. Rev. Immunol.* 9:457–92 (1991); Capel et al., *Immunomethods* 4:25–34 (1994); и de Haas et al., *J. Lab. Clin. Med.* 126: 330–41 (1995). Термин “FcR” в настоящем описании охватывает другие FcR, включая те, которые будут идентифицированы в будущем. FcR могут также увеличивать период полувыведения антител сыворотки.

[102] Связывание с FcRn *in vivo* и период полувыведения из сыворотки полипептидов человеческого FcRn с высокоаффинным связыванием можно оценить,

например, у трансгенных мышей или в трансфицированных человеческих клеточных линиях, экспрессирующих человеческий FcRn, или у приматов, которым вводят полипептиды, имеющие вариант Fc-участка. WO 2004/42072 (Presta) описывает варианты антитела с увеличенным или уменьшенным связыванием с FcR. См. также, например, Shields et al., *J. Biol. Chem.* 9(2):6591–6604 (2001).

[103] В используемом в настоящем описании значении, “процент (%) идентичности аминокислотной последовательности” и “гомология” по отношению к последовательности пептида, полипептида или антитела относится к процентному содержанию в последовательности–кандидате аминокислотных остатков, идентичных аминокислотным остаткам в конкретной пептидной или полипептидной последовательности, после выравнивания последовательностей и введения гэпов, если это необходимо для достижения максимального процента идентичности последовательностей, и без учета каких-либо консервативных замен при определении идентичности последовательностей. Выравнивание в целях определения процента идентичности аминокислотной последовательности может быть проведено различными способами, доступными специалистам в данной области техники, например, с использованием общедоступного компьютерного программного обеспечения, такого как программы BLAST, BLAST-2, ALIGN или MEGALIGN™ (DNASTAR). Специалисты в данной области техники могут определить соответствующие параметры для измерения выравнивания, включая любые алгоритмы, известные специалистам, необходимые для достижения максимального выравнивания по полной длине сравниваемых последовательностей.

[104] “Выделенная” молекула нуклеиновой кислоты, кодирующая антитело, такое как анти-CD33 антитело согласно настоящему раскрытию, представляет собой молекулу нуклеиновой кислоты, которую идентифицируют и отделяют от по меньшей мере одной загрязняющей молекулы нуклеиновой кислоты, с которой она обычно ассоциирована в среде, где она продуцируется. Предпочтительно, выделенная нуклеиновая кислота не связана со всеми компонентами, ассоциированными со средой продуцирования. Молекулы выделенной нуклеиновой кислоты, кодирующие полипептиды и антитела в настоящем описании, находятся в форме, отличной от формы или условий, в которых они существуют в природе. Молекулы выделенной нуклеиновой кислоты, таким образом, отличаются от нуклеиновой кислоты, кодирующей полипептиды и антитела согласно настоящему раскрытию, присутствующей в клетках в естественных условиях.

[105] Термин “вектор”, в используемом в настоящем описании значении, должен относиться к молекуле нуклеиновой кислоты, способной транспортировать другую нуклеиновую кислоту, с которой она была связана. Один тип вектора представляет собой “плазмиду”, которая относится к кольцевым двухцепочечным ДНК, в которые могут быть лигированы дополнительные сегменты ДНК. Другой тип вектора представляет собой фаговый вектор. Другой тип вектора представляет собой вирусный вектор, в котором дополнительные сегменты ДНК могут быть лигированы в вирусный геном. Некоторые

векторы способны к автономной репликации в клетке-хозяине, в которую они вводятся (например, бактериальные векторы, имеющие бактериальную точку начала репликации, и эписомальные векторы млекопитающих). Другие векторы (например, неэписомальные векторы млекопитающих) могут быть интегрированы в геном клетки-хозяина при введении в клетку-хозяина и, таким образом, реплицируются вместе с геномом хозяина. Кроме того, некоторые векторы способны направлять экспрессию генов, с которыми они функционально связаны. Такие векторы называются в настоящем описании “рекомбинантные экспрессионные векторы”, или просто “экспрессионные векторы”. В общем, экспрессионные векторы, пригодные для использования в методах рекомбинантных ДНК, часто имеют форму плазмид. В данном описании, “плазида” и “вектор” могут использоваться взаимозаменяемо, поскольку плазида является наиболее широко применяемой формой вектора.

[106] “Полинуклеотид”, или “нуклеиновая кислота”, используемые в настоящем описании взаимозаменяемо, относятся к полимерам нуклеотидов любой длины, и включают ДНК и РНК. Нуклеотиды могут быть дезоксирибонуклеотидами, рибонуклеотидами, модифицированными нуклеотидами или основаниями, и/или их аналогами, или любым субстратом, который может быть включен в полимер ДНК– или РНК–полимеразой или с помощью реакции синтеза. Полинуклеотид может содержать модифицированные нуклеотиды, такие как метилированные нуклеотиды и их аналоги. В случае присутствия, модификация нуклеотидной структуры может быть проведена до или после сборки полимера. В последовательность нуклеотидов могут быть вставлены не-нуклеотидные компоненты. Полинуклеотид может содержать модификацию (модификации), проведенные после синтеза, такие как конъюгация с меткой. Другие типы модификаций включают, например, “кэп”–группы, замену одного или нескольких природных нуклеотидов на аналог, внутринуклеотидные модификации, такие как, например, с незаряженными связями (например, метилфосфонаты, фосфотриэфиры, фосфоамидаты, карбаматы и т.д.) и с заряженными связями (например, фосфоротиоаты, фосфородитиоаты и т.д.), содержащие боковые фрагменты, такие как, например, белки (например, нуклеазы, токсины, антитела, сигнальные пептиды, поли-L–лизин (poly-L-lysine) и т.д.), с интеркаляторами (например, акридин, псорален и т.д.), содержащие хелаторы (например, металлы, радиоактивные металлы, бор, металлы–окислители и т.д.), содержащие алкилирующие агенты, с модифицированными связями (например, альфа–аномерные нуклеиновые кислоты и т.д.), а также немодифицированные формы полинуклеотида (полинуклеотидов). Кроме того, любые из гидроксильных групп, обычно присутствующих в сахарах, могут быть замещены, например, фосфонатными группами, фосфатными группами, защищенными стандартными защитными группами, или активированы для подготовки дополнительных связей с дополнительными нуклеотидами, или могут быть конъюгированы с твердыми или полутвердыми подложками. 5’– и 3’–концевые ОН могут быть фосфорилированы или замещены аминами или фрагментами органических кэп–групп, содержащими от 1 до 20 атомов углерода. Другие гидроксилы

могут также быть дериватизированы стандартными защитными группами. Полинуклеотиды могут также содержать аналогичные формы рибозных или дезоксирибозных сахаров, общеизвестные специалистам, включая, например, 2'-О-метил-, 2'-О-аллил-, 2'-фтор- или 2'-азидорибозу, карбоциклические аналоги сахаров, α -аномерные сахара, эпимерные сахара, такие как арабиноза, ксилозы или ликсозы, пиранозные сахара, фуранозные сахара, седогептулозы, ациклические аналоги, и основные нуклеозидные аналоги, такие как метилрибозид. Одна или несколько фосфодиэфирных связей могут быть заменены альтернативными связывающими группами. Эти альтернативные связывающие группы включают, без ограничений, варианты осуществления, в которых фосфат заменен на P(O)S ("тиоат"), P(S)S ("дитиоат"), (O)NR₂ ("амидат"), P(O)R, P(O)OR', CO, или CH₂ ("формацеталь"), где каждый R или R' независимо представляет собой H или замещенный или незамещенный алкил (1–20 C), необязательно содержащий простую эфирную (–O–) связь, арил, алкенил, циклоалкил, циклоалкенил или аралдил. Все связи в полинуклеотиде не должны обязательно быть идентичными. Предшествующее описание применимо ко всем полинуклеотидам, упоминаемым в настоящем описании, включая РНК и ДНК.

[107] "*Клетка-хозяин*" включает индивидуальную клетку или клеточную культуру, которая может быть или была реципиентом вектора (векторов) для включения полинуклеотидных вставок. Клетки-хозяева включают потомство одной клетки-хозяина, и потомство не обязательно будет полностью идентичным (по морфологии или по комплементу геномной ДНК) исходной родительской клетке вследствие природной, случайной или преднамеренной мутации. Клетка-хозяин включает клетки, трансфицированные *in vivo* полинуклеотидом (полинуклеотидами) согласно настоящему раскрытию.

[108] "*Носители*" в используемом в настоящем описании значении включают фармацевтически приемлемые носители, эксципиенты или стабилизаторы, которые являются нетоксичными для клетки или млекопитающего, подвергнутых их воздействию, в используемых дозировках и концентрациях. Часто физиологически приемлемый носитель представляет собой водный раствор, забуференный до определенного значения pH. Примеры физиологически приемлемых носителей включают буферы, такие как фосфат, цитрат, и другие органические кислоты; антиоксиданты, включая аскорбиновую кислоту; низкомолекулярные (менее приблизительно 10 остатков) полипептиды; белки, такие как сывороточный альбумин, желатин или иммуноглобулины; гидрофильные полимеры, такие как поливинилпирролидон; аминокислоты, такие как глицин, глутамин, аспарагин, аргинин или лизин; моносахариды, дисахариды, и другие углеводы, включая глюкозу, маннозу, или декстрины; хелатирующие агенты, такие как ЭДТА; сахароспирты, такие как маннит или сорбит; солеобразующие противоионы, такие как натрий; и/или неионные поверхностно-активные вещества, такие как TWEEN™, полиэтиленгликоль (ПЭГ), и PLURONICS™.

[109] Термин "*приблизительно*" в используемом в настоящем описании значении

относится к обычному диапазону ошибки для соответствующего значения, хорошо известному специалисту в данной области техники. Указание “*приблизительно*” для значения или параметра в настоящем описании включает (и описывает) варианты осуществления, которые касаются этого значения или параметра *per se*.

[110] В используемом в настоящем описании значении и в приложенной формуле изобретения, формы в единственном числе включают указания на множественное число, если контекст четко не указывает иное. Например, ссылка на “антитело” представляет собой ссылку на от одного до множества антител, такого как молярные количества, и включает его эквиваленты, известные специалистам в данной области техники, и т.д.

[111] Следует понимать, что аспект и варианты осуществления настоящего раскрытия, описанные в настоящем описании, включают “содержащие”, “состоящие из”, и “состоящие по существу из” аспекты и варианты осуществления.

Обзор

[112] Настоящее раскрытие относится, частично, к анти-CD33 антителам, которые проявляют одну или более улучшенных и/или повышенных функциональных характеристик (например, по сравнению с анти-CD33 антителом, имеющим переменную область тяжелой цепи, содержащую последовательность SEQ ID NO: 103, и переменную область легкой цепи, содержащую последовательность SEQ ID NO: 104), включая, например, антитела, способные снижать уровни CD33 клеточной поверхности, и/или связывать CD33 с улучшенной/повышенной кинетикой; к способам получения и применения таких антител; фармацевтическим композициям, содержащим такие антитела; нуклеиновым кислотам, кодирующим такие антитела; и клеткам-хозяевам, содержащим нуклеиновые кислоты, кодирующие такие антитела.

[113] В некоторых вариантах осуществления, анти-CD33 антитела согласно настоящему раскрытию имеют одну или более активностей, которые вызваны, по крайней мере частично, способностью антител ингибировать взаимодействие между CD33 и одним или несколькими природными гликановыми лигандами. В некоторых вариантах осуществления, анти-CD33 антитела согласно настоящему раскрытию могут иметь одну или более активностей, которые вызваны, по крайней мере частично, способностью антител понижать клеточную экспрессию (например, экспрессию клеточной поверхности) CD33 путем индуцирования деградации, угнетения экспрессии, расщепления, десенсибилизации рецептора, и/или лизосомального нацеливания CD33. В некоторых вариантах осуществления, анти-CD33 антитела проявляют одно или несколько из следующих свойств: а. имеют константу диссоциации (K_D) с человеческим CD33, которая ниже, чем у анти-CD33 антитела, имеющего переменную область тяжелой цепи, содержащую последовательность SEQ ID NO: 103, и переменную область легкой цепи, содержащую последовательность SEQ ID NO: 104; б. связываются с человеческими клетками, такими как первичные человеческие дендритные клетки; с. снижают уровни CD33 клеточной поверхности (например, снижают уровни CD33 клеточной поверхности на первичных человеческих дендритных клетках *in vitro*) с полумаксимальной

эффективной концентрацией (EC_{50}), которая ниже, чем у анти-CD33 антитела, имеющего переменную область тяжелой цепи, содержащую последовательность SEQ ID NO:103, и переменную область легкой цепи, содержащую последовательность SEQ ID NO: 104; d. имеют константу диссоциации (K_D) с человеческим CD33, которая может находиться в диапазоне значений от приблизительно 8,57 нМ до приблизительно 4,1 пМ, например, при определении K_D методом поверхностного плазмонного резонанса или интерферометрией биослоев; и/или e. снижают уровни CD33 клеточной поверхности (например, снижают уровни CD33 клеточной поверхности на первичных человеческих дендритных клетках *in vitro*) с полумаксимальной эффективной концентрацией (EC_{50}), которая может находиться в диапазоне значений от приблизительно 151,1 пМ до приблизительно 4,1 пМ, например, при определении EC_{50} *in vitro* методом проточной цитометрии. Как раскрыто в настоящем описании, полумаксимальная эффективная концентрация (EC_{50}) относится к концентрации, при которой анти-CD33 антитело согласно настоящему раскрытию снижает клеточные уровни CD33 на клетке или в клетке до половины от соответствующего значения для необработанных клеток, или к концентрации, при которой антитело достигает полумаксимального связывания с CD33 на клетке.

[114] Предпочтительно, анти-CD33 антитела согласно настоящему раскрытию снижают экспрессию на клеточной поверхности (например, до приблизительно 18 раз) CD33 более сильно (например, с более низким значением EC_{50}) по сравнению с контрольным анти-CD33 антителом (например, контрольным анти-CD33 антителом, имеющим переменную область тяжелой цепи, содержащую последовательность SEQ ID NO: 103, и переменную область легкой цепи, содержащую последовательность SEQ ID NO: 104) (см., например, **Пример 2**). Кроме того, предпочтительно, анти-CD33 антитела согласно настоящему раскрытию имеют более высокую аффинность (например, до приблизительно 25 раз более высокую аффинность) к CD33 (например, более низкое значение K_D , при измерении методом поверхностного плазмонного резонанса) по сравнению с контрольным анти-CD33 антителом (например, контрольным анти-CD33 антителом, имеющим переменную область тяжелой цепи, содержащую последовательность SEQ ID NO:103, и переменную область легкой цепи, содержащую последовательность SEQ ID NO: 104 (см., например, **Примеры 1 и 3**). Неожиданно, более высокая аффинность к CD33 не обязательно коррелирует с увеличением способности или активности снижения экспрессии CD33 на клеточной поверхности (см., например, **Примеры 2 и 5**).

[115] Определенные аспекты настоящего раскрытия основаны, по крайней мере частично, на идентификации анти-CD33 антител, которые демонстрируют одну или более улучшенных и/или повышенных функциональных характеристик (например, по сравнению с анти-CD33 антителом, имеющим переменную область тяжелой цепи, содержащую последовательность SEQ ID NO: 103, и переменную область легкой цепи, содержащую последовательность SEQ ID NO: 104), включая улучшенную/повышенную способность снижать уровни CD33 клеточной поверхности на клетках, приводящую к

снижению, нейтрализации, предотвращению или ограничению одной или нескольких активностей CD33, включая, без ограничений, снижение клеточного роста моноцитов, макрофагов, Т-клеток, дендритных клеток и/или микроглии; снижение пролиферации Т-клеток, индуцируемой дендритными клетками, дендритными клетками костномозгового происхождения, моноцитами, микроглией, микроглией M1, активированной микроглией M1, микроглией M2, макрофагами, макрофагами M1, активированными макрофагами M1 и/или макрофагами M2; снижение выживания нейтрофилов, дендритных клеток, дендритных клеток костномозгового происхождения, макрофагов, макрофагов M1, активированных макрофагов M1, макрофагов M2, моноцитов, остеокластов, Т-клеток, Т-хелперных клеток, цитотоксических Т-клеток, гранулоцитов, микроглии, микроглии M1, активированной микроглии M1, и/или микроглии M2; снижение пролиферации нейтрофилов, дендритных клеток, дендритных клеток костномозгового происхождения, макрофагов, макрофагов M1, активированных макрофагов M1, макрофагов M2, моноцитов, остеокластов, Т-клеток, Т-хелперных клеток, цитотоксических Т-клеток, гранулоцитов, микроглии, микроглии M1, активированной микроглии M1, и/или микроглии M2; ингибирование миграции нейтрофилов, дендритных клеток, дендритных клеток костномозгового происхождения, макрофагов, макрофагов M1, активированных макрофагов M1, макрофагов M2, моноцитов, остеокластов, Т-клеток, Т-хелперных клеток, цитотоксических Т-клеток, гранулоцитов, микроглии, микроглии M1, активированной микроглии M1, и/или микроглии M2; снижение одной или нескольких функций нейтрофилов, дендритных клеток, дендритных клеток костномозгового происхождения, макрофагов, макрофагов M1, активированных макрофагов M1, макрофагов M2, моноцитов, остеокластов, Т-клеток, Т-хелперных клеток, цитотоксических Т-клеток, гранулоцитов, микроглии, микроглии M1, активированной микроглии M1, и/или микроглии M2; уменьшение пролиферации моноцитов, макрофагов, Т-клеток, дендритных клеток, нейтрофилов и/или микроглии; снижение общей функциональности моноцитов, макрофагов, Т-клеток, дендритных клеток, нейтрофилов и/или микроглии; ингибирование благоприятного иммунного ответа на разные типы рака, выбранные из рака мочевого пузыря, рака головного мозга, рака молочной железы, рака толстой кишки, рака прямой кишки, эндометриального рака, рака почки, почечноклеточного рака, рака почечной лоханки, лейкоза, рака легкого, меланомы, неходжкинской лимфомы, острого миелолейкоза, рака поджелудочной железы, рака предстательной железы, рака яичника, фибросаркомы и рака щитовидной железы; ингибирование благоприятного иммунного ответа на разные типы неврологических расстройств, выбранных из деменции, лобно-височной деменции, болезни Альцгеймера, сосудистой деменции, смешанной деменции, болезни Крейтцфельда-Якоба, нормотензивной гидроцефалии, бокового амиотрофического склероза, болезни Гентингтона, таупатии, болезни Насу-Хакола, инсульта, острой травмы, хронической травмы, эссенциального тремора, болезни Бехчета, болезни Паркинсона, деменции с тельцами Леви, мультисистемной атрофии, синдрома Шая-Дрейджера, прогрессирующего

надъядерного паралича, кортикобазальной ганглионарной дегенерации, острого рассеянного энцефаломиелита, гранулематозных расстройств, саркоидоза, болезней старения, эпилептических припадков, повреждения спинного мозга, травматического повреждения головного мозга, возрастной макулярной дегенерации, глаукомы, пигментного ретинита, дегенерации сетчатки и рассеянного склероза; связывание с лигандом CD33 на опухолевых клетках; связывание с лигандом CD33 на дендритных клетках, дендритных клетках костномозгового происхождения, моноцитах, микроглии, Т-клетках, нейтрофилах и/или макрофагах; ингибирование уничтожения опухолевых клеток чем-то одним или несколькими из микроглии, макрофагов, дендритных клеток, дендритных клеток костномозгового происхождения, нейтрофилов, Т-клеток, Т-хелперных клеток или цитотоксических Т-клеток; ингибирование активности против пролиферации опухолевых клеток чего-то одного или нескольких из микроглии, макрофагов, дендритных клеток, дендритных клеток костномозгового происхождения, нейтрофилов, Т-клеток, Т-хелперных клеток или цитотоксических Т-клеток; ингибирование активности против метастазирования опухолевых клеток чего-то одного или нескольких из микроглии, макрофагов, дендритных клеток, дендритных клеток костномозгового происхождения, нейтрофилов, Т-клеток, Т-хелперных клеток или цитотоксических Т-клеток; модулирование экспрессии одного или нескольких воспалительных рецепторов, таких как CD86, экспрессируемый на чем-то одном или нескольких из микроглии, макрофагов, дендритных клеток, дендритных клеток костномозгового происхождения, нейтрофилов, Т-клеток, Т-хелперных клеток или цитотоксических Т-клеток; усиление инфильтрации чего-то одного или нескольких из иммуносупрессорных дендритных клеток, иммуносупрессорных макрофагов, супрессорных клеток миелоидного происхождения, опухоль-ассоциированных макрофагов, иммуносупрессорных нейтрофилов и регуляторных Т-клеток в опухоли; увеличение численности опухоль-промотирующих миелоидных/гранулоцитарных иммуносупрессорных клеток в опухоли, в периферической крови или другом лимфоидном органе; усиление опухолипромотирующей активности супрессорных клеток миелоидного происхождения; снижение активации опухольспецифических Т-лимфоцитов с потенциалом уничтожения опухоли; снижение инфильтрации опухольспецифических Т-лимфоцитов с потенциалом уничтожения опухоли; увеличение скорости роста опухоли; увеличение частоты рецидивирования опухоли; снижение эффективности одной или нескольких иммунотерапий, которые модулируют противоопухолевые Т-клеточные ответы, необязательно, при этом одна или несколько иммунотерапий представляют собой иммунотерапии, нацеленные на один или более белков, выбранных из CD40, OX40, ICOS, CD28, CD137/4-1BB, CD27, GITR, PD-L1, CTLA4, PD-L2, PD-1, B7-H3, B7-H4, HVEM, LIGHT, VISTA, KIR, GAL9, TIM1, TIM3, TIM4, A2AR, LAG3, DR-5, CD39, CD70, TREM1, TREM2, Siglec-5, Siglec-7, Siglec-9, Siglec-11, SirpA, CD447, рецептор CSF-1, и любую их комбинацию, или одного или нескольких химиотерапевтических агентов и/или одной или нескольких раковых вакцин.

[116] В некоторых вариантах осуществления, лечение рака анти-CD33 антителами, как описано в настоящем описании, может: (i) увеличивать число опухоль-инфильтрующих CD3⁺ Т-клеток; (ii) снижать клеточные уровни CD33 в нетуморогенных CD14⁺миелоидных клетках, необязательно, при этом нетуморогенные CD14⁺ миелоидные клетки представляют собой опухоль-инфильтрующие клетки или, необязательно, при этом нетуморогенные CD14⁺ миелоидные клетки присутствуют в крови; (iii) уменьшать число нетуморогенных CD14⁺ миелоидных клеток, необязательно, при этом нетуморогенные CD14⁺ миелоидные клетки представляют собой опухоль-инфильтрующие клетки или, необязательно, при этом нетуморогенные CD14⁺ миелоидные клетки присутствуют в крови; (iv) d снижать уровни PD-L1, PD-L2, B7-H7, B7-H3, CD200R, CD163 и/или CD206 в одной или нескольких клетках, необязательно, при этом одна или несколько клеток представляют собой нетуморогенные супрессорные клетки миелоидного происхождения (MDSC); (v) снижать скорость роста солидных опухолей; (vi) уменьшать объем опухоли; (vii) увеличивать эффективность одного или нескольких ингибиторов PD-1; (viii) увеличивать эффективность одной или нескольких терапий ингибиторами контрольных точек и/или иммуномодулирующих терапий, необязательно, при этом одна или несколько терапий ингибиторами контрольных точек и/или иммуномодулирующих терапий нацелены на что-то одно или несколько из CTL4, аденозиновый путь, PD-L1, PD-L2, OX40, TIM3, LAG3, или любой их комбинации; (ix) увеличение эффективности одного или нескольких химиотерапевтических агентов, необязательно, при этом один или более их химиотерапевтических агентов представляют собой гемцитабин, капецитабин, антрациклины, доксорубин (адриамицин (Adriamycin[®])), эпирубицин (элленс (Ellence[®])), таксаны, паклитаксел (таксол (Taxol[®])), доцетаксел (таксотере (Taxotere[®])), 5-фторурацил (5-FU), циклофосфамид (цитоксан (Cytoxan[®])), карбоплатин (параплатин (Paraplatin[®])), и любой их комбинации; (x) i повышать пролиферацию Т-клеток в присутствии нетуморогенных супрессорных клеток миелоидного происхождения (MDSC); (xi) ингибирование дифференцировки, выживания и/или одной или нескольких функций нетуморогенных супрессорных клеток миелоидного происхождения (MDSC); и (xii) уничтожать CD33-экспрессирующие иммуносупрессорные нетуморогенные миелоидные клетки и/или нетуморогенные CD14-экспрессирующие клетки в солидных опухолях и ассоциированных кровеносных сосудах, при конъюгации с химическим или радиоактивным токсином.

[117] В некоторых вариантах осуществления, миелоидные клетки согласно настоящему раскрытию включают, без ограничений, CD45+CD14+ миелоидные клетки, CD14+ миелоидные клетки, и супрессорные клетки миелоидного происхождения (MDSC). В некоторых вариантах осуществления, миелоидные клетки согласно настоящему раскрытию представляют собой нетуморогенные миелоидные клетки. Иммуносупрессорные клетки иногда также называют супрессорными клетками миелоидного происхождения (MDSC). У людей, MDSC могут быть определены с помощью одной из следующих комбинаций маркеров: (1) CD14+ HLA-DR^{low/-}, (2)

CD14⁺ IL4R α ⁺, (3) CD14⁺ HLA-DR⁻ IL4R α ⁺, (4) CD34⁺ CD14⁺ CD11b⁺ CD33⁺, (5) CD11b⁺ CD14⁺ CD33⁺, (6) CD33⁺ HLA-DR⁻, (7) Lin⁻ HLA-DR⁻, (8) Lin⁻ HLA-DR⁻ CD33⁺, (9) Lin⁻ HLA-DR⁻ CD33⁺ CD11b⁺, (10) Lin⁻ CD33⁺ CD11b⁺ CD15⁺, (11) Lin⁻ HLA-DR⁻ CD33⁺ CD11b⁺ CD14⁻ CD15⁺, (12) CD11b⁺ CD14⁻ CD33⁺, (13) CD11b⁺ CD14⁻ HLA-DR⁻ CD33⁺ CD15⁺, (14) CD33⁺ HLA-DR⁻ CD15⁺, (15) CD15⁺ IL4R α ⁺, (16) CD11b⁺ CD15⁺ CD66b⁺, (17) CD15⁺ FSC^{low} SSC^{high}, (18) CD15^{high} CD33⁺, (19) CD11b⁺ CD14⁻ CD15⁺, (20) CD66b⁺ SSC^{high}, и (21) CD11b⁺ CD15⁺ (см. также Solito S et al. *Annals of the NY Academy of Sciences*, 2014). У мышей, MDSC могут быть определены по экспрессии поверхностных маркеров CD45⁺, CD11b⁺, Gr1⁺, и/или IL4R α ⁺. Дополнительными типичными примерами иммуносупрессорных моноцитарных линий являются CD45⁺, CD11b⁺, Gr1^{low}; и CD45⁺, CD11c⁺.

Белки CD33

[118] В одном аспекте, настоящее раскрытие относится к антителам, таким как выделенные (например, моноклональные) антитела, которые взаимодействуют с или иначе связываются с областью, такой как эпитоп, в белке CD33 согласно настоящему раскрытию. В некоторых вариантах осуществления, антитела взаимодействуют с или иначе связываются с областью, такой как эпитоп, в белке CD33 согласно настоящему раскрытию с улучшенной/повышенной кинетикой (например, по сравнению с анти-CD33 антителом, имеющим переменную область тяжелой цепи, содержащую последовательность SEQ ID NO: 103, и переменную область легкой цепи, содержащую последовательность SEQ ID NO: 104). В некоторых вариантах осуществления, антитела взаимодействуют с или иначе связываются с областью, такой как эпитоп, в белке CD33 на человеческих клетках, таких как дендритные клетки, с полумаксимальной эффективной концентрацией (EC₅₀), которая ниже значения для контрольного антитела (например, по сравнению с анти-CD33 антителом, имеющим переменную область тяжелой цепи, содержащую последовательность SEQ ID NO: 103, и переменную область легкой цепи, содержащую последовательность SEQ ID NO: 104). В некоторых вариантах осуществления, анти-CD33 антитела согласно настоящему раскрытию связываются с белком CD33 и модулируют одну или более активностей CD33 после связывания с белком CD33, например, активность, связанную с экспрессией CD33 на клетке. Белки CD33 согласно настоящему раскрытию включают, без ограничений, белок CD33 млекопитающих, человеческий белок CD33, мышинный белок CD33, и белок CD33 крысы.

[119] CD33 иначе называется молекулой CD33, Siglec3, Siglec-3, антигеном CD33 (Gp67), P67, Gr67, связывающим сиаловую кислоту Ig-подобным лектином 3, поверхностным антигеном миелоидных клеток CD33, или FLJ00391.

[120] CD33 представляет собой иммуноглобулин-подобный рецептор, экспрессируемый в основном на клетках миелоидного происхождения, включая, без ограничений, макрофаги, дендритные клетки, остеокласты, моноциты и микроглию. В некоторых вариантах осуществления, CD33 образует рецепторный сигнальный комплекс с CD64. В некоторых вариантах осуществления, сигнализация CD33 приводит впоследствии

к ингибированию PI3K или других внутриклеточных сигналов. На миелоидных клетках, сигналы Toll-подобного рецептора (TLR) важны для ингибирования активностей CD33, например, в контексте инфекционного ответа. TLR также играют ключевую роль в патологическом воспалительном ответе, например, TLR, экспрессируемые в макрофагах и дендритных клетках.

[121] Аминокислотная последовательность человеческого CD33 приведена ниже как SEQ ID NO: 1:

MPLLLLLPLL WAGALAMDPN FWLQVQESVT VQEGLCVLVP CTFFHPIPY
YDKNSPVHGYW FREGAIIIRD SPVATNKLDQ EVQEETQGRF RLLGDPSRNN
CSLSIVDARR RDNGSYFFRM ERGSTKYSYK SPQLSVHVTDL LTHRPKILIP
GTLEPGHSKN LTCSVSWACE QGTPPIFSWL SAAPTSLGPR TTHSSVLIIT
PRPQDHGTNL TCQVKFAGAG VTTERTIQLN VTYVPQNPTT

GIFPGDGS GK QETRAGVVHG AIGGAGVTAL LALCLCLIFF IVKTHRRKAA
RTAVGRNDTH

PTTGSASPKH QKKSKLHGPT ETSSCSGAAP TVEMDEELHY ASLNFHGMNP
SKDTSTEYSE

VRTQ

[0121] В некоторых вариантах осуществления, CD33 представляет собой препротейн, который содержит сигнальную последовательность. В некоторых вариантах осуществления, CD33 представляет собой зрелый белок. В некоторых вариантах осуществления, зрелый белок CD33 не включает сигнальную последовательность. В некоторых вариантах осуществления, зрелый белок CD33 экспрессируется на клетке. В некоторых вариантах осуществления, зрелый белок CD33 экспрессируется на клетке, например, на поверхности клетки, включая, без ограничений, человеческие дендритные клетки, человеческие макрофаги, человеческие моноциты, человеческие остеокласты, человеческие нейтрофилы, человеческие Т-клетки, человеческие Т-хелперные клетки, человеческие цитотоксические Т-клетки, человеческие гранулоциты и человеческую микроглию. Анти-антитела CD33 согласно настоящему раскрытию могут связывать любые белки CD33 согласно настоящему раскрытию, экспрессируемые на любых клетках, раскрытых в настоящем описании.

[0122] Белки CD33 согласно настоящему раскрытию, такие как человеческий CD33, содержат несколько доменов, включая, без ограничений, сигнальную последовательность, расположенную в аминокислотных остатках 1–17 SEQ ID NO: 1, внеклеточный иммуноглобулин-подобный домен вариабельного типа (IgV), расположенный в аминокислотных остатках 19–135 SEQ ID NO: 1, Ig-подобный домен C2-типа, расположенный в аминокислотных остатках 145–228 SEQ ID NO: 1, трансмембранный домен, расположенный в аминокислотных остатках 260–282 SEQ ID NO: 1, мотив 1 ITIM, расположенный в аминокислотных остатках 338–343 SEQ ID NO: 1, и мотив 2 ITIM, расположенный в аминокислотных остатках 356–361 SEQ ID NO: 1. Специалисту в данной области техники понятно, что начальные и конечные остатки доменов согласно

настоящему раскрытию могут меняться в зависимости от используемой программы компьютерного моделирования или способа, используемого для определения домена.

[0123] Некоторые аспекты настоящего раскрытия относятся к анти-CD33 антителам, которые связываются с человеческим CD33 или его гомологом, включая, без ограничений, белок CD33 млекопитающих и ортологи Cd33 других видов. В некоторых вариантах осуществления, анти-CD33 антитела согласно настоящему раскрытию связываются с человеческим CD33 или его гомологом, с улучшенной/повышенной кинетикой связывания (например, по сравнению с анти-CD33 антителом, имеющим переменную область тяжелой цепи, содержащую последовательность SEQ ID NO: 103, и переменную область легкой цепи, содержащую последовательность SEQ ID NO: 104).

[0124] Соответственно, в используемом в настоящем описании значении, белок “CD33” согласно настоящему раскрытию включает, без ограничений, белок CD33 млекопитающих, человеческий белок CD33, белок CD33 приматов, мышинный белок CD33 и белок CD33 крысы. Дополнительно, анти-CD33 антитела согласно настоящему раскрытию могут связывать эпитоп в человеческом белке CD33, CD33 приматов. В некоторых вариантах осуществления, анти-CD33 антитела согласно настоящему раскрытию могут специфически связываться с человеческим CD33.

[0125] В некоторых вариантах осуществления, антитела согласно настоящему раскрытию могут связывать CD33 зависимым от pH образом. В некоторых вариантах осуществления, антитела согласно настоящему раскрытию могут связываться с CD33 при нейтральном pH и интернализироваться без диссоциации с белком CD33. Альтернативно, при кислых pH, антитела согласно настоящему раскрытию могут диссоциировать с CD33 после их интернализации, и затем деградировать по эндосомально-лизосомальному пути. В некоторых вариантах осуществления, анти-CD33 антитело связывает CD33 при pH в диапазоне значений от 5,5 до 8,0, от 5,5 до 7,5, от 5,5 до 7,0, от 5,5 до 6,5, от 5,5 до 6,0, от 6,0 до 8,0, от 6,5 до 8,0, от 7,0 до 8,0, от 7,5 до 8,0, от 6,0 до 7,5, от 6,0 до 7,0, от 6,5 до 7,5. В некоторых вариантах осуществления, анти-CD33 антитело диссоциирует с CD33 при pH ниже 6,0, ниже 5,5, ниже 5,0, ниже 4,5, ниже 4,0, ниже 3,5, ниже 3,0, ниже 2,5, или ниже 2,0.

[0126] В некоторых вариантах осуществления, антитела согласно настоящему раскрытию, связываются с белком CD33 дикого типа согласно настоящему раскрытию, его природными вариантами и/или его вариантами заболевания.

[0127] В некоторых вариантах осуществления, антитела согласно настоящему раскрытию связывают вариант человеческого CD33, при этом вариант содержит однонуклеотидный полиморфизм (SNP) rs3865444C с нуклеотидом (C). В некоторых вариантах осуществления, антитела согласно настоящему раскрытию, которые снижают клеточные уровни CD33, и/или которые связывают или взаимодействуют с CD33, связываются с вариантом человеческого CD33, при этом вариант содержит SNP rs3865444 с нуклеотидом (A). В некоторых вариантах осуществления, анти-CD33 антитела согласно настоящему раскрытию связывают вариант человеческого CD33, при этом вариант

содержит SNP rs3865444^{AC} или rs3865444^{CC}.

[0128] В некоторых вариантах осуществления, антитела согласно настоящему раскрытию, которые снижают клеточные уровни CD33 и/или которые связывают или взаимодействуют с CD33, связывают вариант человеческого CD33, при этом вариант содержит SNP rs35112940 с нуклеотидами GG, нуклеотидами AA или нуклеотидами AG. В некоторых вариантах осуществления, антитела согласно настоящему раскрытию, которые снижают клеточные уровни CD33 и/или которые связывают или взаимодействуют с CD33, связывают вариант человеческого CD33, при этом вариант содержит SNP rs12459419 с генотипами CC, CT или TT. В некоторых вариантах осуществления, субъект имеет гомозиготные или гетерозиготные по кодирующим SNP (the subject has a homozygous or heterozygous for the coding SNPs) rs1803 с нуклеотидами GG, нуклеотидами CG, или нуклеотидами CC.

[0129] В некоторых вариантах осуществления, антитела согласно настоящему раскрытию, которые снижают клеточные уровни CD33 и/или которые связывают или взаимодействуют с CD33, связываются с белком CD33, экспрессируемым на поверхности клетки, включая, без ограничений, человеческие дендритные клетки, человеческие макрофаги, человеческие моноциты, человеческие остеокласты, человеческие нейтрофилы, человеческие Т-клетки, человеческие Т-хелперные клетки, человеческие цитотоксические Т-клетки, человеческие гранулоциты и человеческую микроглию. В некоторых вариантах осуществления, антитела согласно настоящему раскрытию, которые снижают клеточные уровни CD33 и/или которые связывают или взаимодействуют с CD33, связываются с белком CD33, экспрессируемым на поверхности клетки, и модулируют (например, индуцируют или ингибируют) по меньшей мере одну активность CD33 согласно настоящему раскрытию после связывания с поверхностно экспрессируемым белком CD33. В некоторых вариантах осуществления настоящего раскрытия, анти-CD33 антитело специфически связывается с белком CD33. В некоторых вариантах осуществления настоящего раскрытия, анти-CD33 антитело дополнительно связывается с по меньшей мере одним дополнительным белком Siglec. В некоторых вариантах осуществления, анти-CD33 антитело модулирует одну или более активностей по меньшей мере одного дополнительного белка Siglec или клетки, экспрессирующей по меньшей мере один дополнительный белок Siglec.

Лиганды CD33

[0130] Белки CD33 согласно настоящему раскрытию могут взаимодействовать с (например, связываться с) одним или несколькими лигандами CD33.

[0131] Типичные примеры лигандов CD33 включают, без ограничений, сиаловую кислоту, содержащие сиаловую кислоту гликолипиды, содержащие сиаловую кислоту гликопротеины, альфа-2,6-связанные содержащие сиаловую кислоту гликолипиды, альфа-2,6-связанные содержащие сиаловую кислоту гликопротеины, альфа-2,3-связанные содержащие сиаловую кислоту гликолипиды, альфа-2,3-связанные содержащие сиаловую кислоту гликопротеины, альфа-1-кислый гликопротеин (AGP),

белок CD24, ганглиозиды (например, гликолипиды, содержащие церамид, связанный с сиалированным гликаном), секретируемые муцины, лиганды CD33, экспрессируемые на красных кровяных клетках, лиганды CD33, экспрессируемые на бактериальных клетках, лиганды CD33, экспрессируемые на апоптотических клетках, лиганды CD33, экспрессируемые на опухолевых клетках, лиганды CD33, экспрессируемые на вирусах, лиганды CD33, экспрессируемые на дендритных клетках, лиганды CD33, экспрессируемые на нервных клетках, лиганды CD33, экспрессируемые на глиальных клетках, лиганды CD33, экспрессируемые на микроглии, лиганды CD33, экспрессируемые на астроцитах, лиганды CD33 на бета-амилоидных бляшках, лиганды CD33 на клубках тау-белка, лиганды CD33 на патогенных белках, лиганды CD33 на патогенных пептидах, лиганды CD33, экспрессируемые на макрофагах, лиганды CD33, экспрессируемые на естественных киллерных клетках, лиганды CD33, экспрессируемые на Т-клетках, лиганды CD33, экспрессируемые на Т-хелперных клетках, лиганды CD33, экспрессируемые на цитотоксических Т-клетках, лиганды CD33, экспрессируемые на В-клетках, лиганды CD33, экспрессируемые на внутриопухолевых (tumor-imbedded) иммуносупрессорных дендритных клетках, лиганды CD33, экспрессируемые на внутриопухолевых иммуносупрессорных макрофагах, лиганды CD33, экспрессируемые на супрессорных клетках миелоидного происхождения, и лиганды CD33, экспрессируемые на регуляторных Т-клетках. В некоторых вариантах осуществления, лиганды CD33 согласно настоящему раскрытию представляют собой ганглиозиды. Ганглиозиды, как правило, имеют общее лакто-церамидное ядро и один или более остатков сиаловой кислоты.

[0132] Дополнительные примеры пригодных ганглиозидных лигандов приведены в Таблице А. Как правило, ганглиозид представляет собой молекулу, состоящую из гликофинголипида с одной или более сиаловыми кислотами (например, н-ацетилнейраминовой кислотой, NANA), присоединенными к цепи сахара.

Таблица А: Структуры типичных примеров ганглиозидных лигандов CD33

GM2-1=aNeu5Ac(2-3)bDGalp(1-?)bDGalNAc(1-?)bDGalNAc(1-?)bDGlc(1-1)Cer
GM3=aNeu5Ac(2-3)bDGalp(1-4)bDGlc(1-1)Cer
GM2,GM2a(?) = bDGalpNAc(1-4)[aNeu5Ac(2-3)]bDGalp(1-4)bDGlc(1-1)Cer
GM2b(?) = aNeu5Ac(2-8)aNeu5Ac(2-3)bDGalp(1-4)bDGlc(1-1)Cer
GM1,GM1a=bDGalp(1-3)bDGalNAc[aNeu5Ac(2-3)]bDGalp(1-4)bDGlc(1-1)Cer
асиало-GM1,GA1=bDGalp(1-3)bDGalpNAc(1-4)bDGalp(1-4)bDGlc(1-1)Cer
асиало-GM2,GA2=bDGalpNAc(1-4)bDGalp(1-4)bDGlc(1-1)Cer
GM1b=aNeu5Ac(2-3)bDGalp(1-3)bDGalNAc(1-4)bDGalp(1-4)bDGlc(1-1)Cer
GD3=aNeu5Ac(2-8)aNeu5Ac(2-3)bDGalp(1-4)bDGlc(1-1)Cer
GD2=bDGalpNAc(1-4)[aNeu5Ac(2-8)aNeu5Ac(2-3)]bDGalp(1-4)bDGlc(1-1)Cer
GD1a=aNeu5Ac(2-3)bDGalp(1-3)bDGalNAc(1-4)[aNeu5Ac(2-3)]bDGalp(1-4)bDGlc(1-1)Cer
GD1альфа=aNeu5Ac(2-3)bDGalp(1-3)bDGalNAc(1-4)[aNeu5Ac(2-6)]bDGalp(1-4)bDGlc(1-1)Cer
GD1b=bDGalp(1-3)bDGalNAc(1-4)[aNeu5Ac(2-8)aNeu5Ac(2-3)]bDGalp(1-4)bDGlc(1-1)Cer
GT1a=aNeu5Ac(2-8)aNeu5Ac(2-3)bDGalp(1-3)bDGalNAc(1-4)[aNeu5Ac(2-3)]bDGalp(1-4)bDGlc(1-1)Cer

GT1,GT1b=aNeu5Ac(2-3)bDGalp(1-3)bDGalNAc(1-4)[aNeu5Ac(2-8)aNeu5Ac(2-3)]bDGalp(1-4)bDGlc(1-1)Cer
 OAc-GT1b=aNeu5Ac(2-3)bDGalp(1-3)bDGalNAc(1-4)aXNeu5Ac9Ac(2-8)aNeu5Ac(2-3)]bDGalp(1-4)bDGlc(1-1)Cer
 GT1c=bDGalp(1-3)bDGalNAc(1-4)[aNeu5Ac(2-8)aNeu5Ac(2-8)aNeu5Ac(2-3)]bDGalp(1-4)bDGlc(1-1)Cer
 GT3=aNeu5Ac(2-8)aNeu5Ac(2-8)aNeu5Ac(2-3)bDGal(1-4)bDGlc(1-1)Cer
 GTQ1b=aNeu5Ac(2-8)aNeu5Ac(2-3)bDGalp(1-3)bDGalNAc(1-4)[aNeu5Ac(2-8)aNeu5Ac(2-3)]bDGalp(1-4)bDGlc(1-1)Cer
 GGal=aNeu5Ac(2-3)bDGalp(1-1)Cer
 где:
 aNeu5Ac=5-ацетил-альфа-нейраминовая кислота
 aNeu5Ac9Ac=5,9-диацетил-альфа-нейраминовая кислота
 bDGalp=бета-D-галактопираноза
 bDGalpNAc=N-ацетил-бета-D-галактопираноза
 bDGlc(1-1)=бета-D-глюкопираноза
 Cer=церамид (вообще N-ацилированный сфингоид)

Антитела CD33

[0133] Некоторые аспекты настоящего раскрытия относятся к анти-CD33 антителам, имеющим одну или более улучшенных и/или повышенных функциональных характеристик. В некоторых вариантах осуществления, анти-CD33 антитела согласно настоящему раскрытию имеют одну или более улучшенных и/или повышенных функциональных характеристик по сравнению с контрольным антителом (например, контрольным анти-CD33 антителом, содержащим переменную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 34, и переменную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 77; контрольным анти-CD33 антителом, содержащим переменную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 40, и переменную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 86; и контрольным анти-CD33 антителом, содержащим переменную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 52, и переменную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 86; и/или контрольным анти-CD33 антителом, содержащим переменную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 103, и переменную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 104). В некоторых вариантах осуществления, анти-CD33 антитела согласно настоящему раскрытию имеют аффинность к CD33 (например, человеческому CD33), которая выше значения для контрольного анти-CD33 антитела (например, контрольного анти-CD33 антитела, содержащего переменную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 34, и переменную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 77; контрольного анти-CD33 антитела, содержащего переменную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 40, и переменную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 86; и

контрольного анти-CD33 антитела, содержащего переменную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 52, и переменную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 86; и/или контрольного анти-CD33 антитела, содержащего переменную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 103, и переменную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 104). В некоторых вариантах осуществления, анти-CD33 антитела согласно настоящему раскрытию связываются с человеческими клетками, такими как дендритные клетки, с полумаксимальной эффективной концентрацией (EC_{50}), которая ниже значения для контрольного антитела (например, контрольного анти-CD33 антитела, содержащего переменную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 34, и переменную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 77; контрольного анти-CD33 антитела, содержащего переменную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 40, и переменную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 86; и контрольного анти-CD33 антитела, содержащего переменную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 52, и переменную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 86; и/или контрольного анти-CD33 антитела, содержащего переменную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 103, и переменную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 104). В некоторых вариантах осуществления, анти-CD33 антитела согласно настоящему раскрытию снижают клеточные уровни (например, уровни клеточной поверхности) CD33 с полумаксимальной эффективной концентрацией (EC_{50}), которая ниже значения для контрольного антитела (например, контрольного анти-CD33 антитела, содержащего переменную область тяжелой цепи, содержащую последовательность SEQ ID NO: 103, и переменную область легкой цепи, содержащую последовательность SEQ ID NO: 104).

[0134] Клеточные уровни CD33 могут относиться, без ограничений, к уровням CD33 клеточной поверхности, внутриклеточным уровням CD33, и общим уровням CD33. В некоторых вариантах осуществления, снижение клеточных уровней CD33 включает снижение уровней CD33 клеточной поверхности. В некоторых вариантах осуществления, анти-CD33 антитела согласно настоящему раскрытию, которые снижают клеточные уровни CD33 (например, уровни CD33 клеточной поверхности), имеют одну или более из следующих характеристик: (1) ингибируют или снижают одну или более активностей CD33; (2) способность ингибировать или снижать связывание CD33 с одним или несколькими из его лигандов; (3) способность снижать экспрессию CD33 в CD33-экспрессирующих клетках; (4) способность взаимодействовать, связывать или распознавать белок CD33; (5) способность специфически взаимодействовать с или связываться с белком CD33; и (6) способность исцелять, ослаблять или предотвращать

любой аспект заболевания или расстройства, описанных или предусматриваемых в настоящем описании.

[0135] Анти-антитела CD33 согласно настоящему раскрытию могут иметь наномолярные или даже пикомолярные аффинности к антигену-мишени (например, человеческому CD33). В некоторых вариантах осуществления, константа диссоциации (K_D) антитела составляет от приблизительно 0,001 до приблизительно 100 нМ. В некоторых вариантах осуществления, K_D антитела составляет от приблизительно 0,01 до приблизительно 10 нМ. В некоторых вариантах осуществления, K_D антитела составляет от приблизительно 0,202 до приблизительно 8,57 нМ. В некоторых вариантах осуществления, K_D антитела имеет значение, меньшее чем приблизительно, или равное приблизительно 100 нМ, 90 нМ, 80 нМ, 70 нМ, 60 нМ, 50 нМ, 40 нМ, 30 нМ, 20 нМ, 10 нМ, 9,5 нМ, 9 нМ, 8,5 нМ, 8 нМ, 7,5 нМ, 7 нМ, 6,5 нМ, 6 нМ, 5,5 нМ, 5 нМ, 4,5 нМ, 4 нМ, 3,5 нМ, 3 нМ, 2,5 нМ, 2 нМ, 1,5 нМ, 1 нМ, 0,9 нМ, 0,8 нМ, 0,7 нМ, 0,6 нМ, 0,5 нМ, 0,4 нМ, 0,3 нМ, 0,2 нМ, 0,1 нМ, 0,05 нМ, 0,01 нМ, или 0,005 нМ. В некоторых вариантах осуществления, K_D антитела составляет менее приблизительно 5,22 нМ. В некоторых вариантах осуществления, K_D антитела имеет значение, большее чем приблизительно, или равное приблизительно 0,001 нМ, 0,005 нМ, 0,01 нМ, 0,05 нМ, 0,1 нМ, 0,2 нМ, 0,3 нМ, 0,4 нМ, 0,5 нМ, 0,6 нМ, 0,7 нМ, 0,8 нМ, 0,9 нМ, 1 нМ, 1,5 нМ, 2 нМ, 2,5 нМ, 3 нМ, 3,5 нМ, 4 нМ, 4,5 нМ, 5 нМ, 5,5 нМ, 6 нМ, 6,5 нМ, 7 нМ, 7,5 нМ, 8 нМ, 8,5 нМ, 9 нМ, 9,5 нМ, 10 нМ, 20 нМ, 30 нМ, 40 нМ, 50 нМ, 60 нМ, 70 нМ, 80 нМ, или 90 нМ. Другими словами, K_D антитела может быть любым из диапазонов аффинности, имеющих верхний предел, равный приблизительно 100 нМ, 90 нМ, 80 нМ, 70 нМ, 60 нМ, 50 нМ, 40 нМ, 30 нМ, 20 нМ, 10 нМ, 9,5 нМ, 9 нМ, 8,5 нМ, 8 нМ, 7,5 нМ, 7 нМ, 6,5 нМ, 6 нМ, 5,5 нМ, 5 нМ, 4,5 нМ, 4 нМ, 3,5 нМ, 3 нМ, 2,5 нМ, 2 нМ, 1,5 нМ, 1 нМ, 0,9 нМ, 0,8 нМ, 0,7 нМ, 0,6 нМ, 0,5 нМ, 0,4 нМ, 0,3 нМ, 0,2 нМ, 0,1 нМ, 0,05 нМ, 0,01 нМ, или 0,005 нМ, и независимо выбранный нижний предел, равный приблизительно 0,001 нМ, 0,005 нМ, 0,01 нМ, 0,05 нМ, 0,1 нМ, 0,2 нМ, 0,3 нМ, 0,4 нМ, 0,5 нМ, 0,6 нМ, 0,7 нМ, 0,8 нМ, 0,9 нМ, 1 нМ, 1,5 нМ, 2 нМ, 2,5 нМ, 3 нМ, 3,5 нМ, 4 нМ, 4,5 нМ, 5 нМ, 5,5 нМ, 6 нМ, 6,5 нМ, 7 нМ, 7,5 нМ, 8 нМ, 8,5 нМ, 9 нМ, 9,5 нМ, 10 нМ, 20 нМ, 30 нМ, 40 нМ, 50 нМ, 60 нМ, 70 нМ, 80 нМ, или 90 нМ, при этом нижний предел имеет меньшее значение, чем верхний предел. В некоторых вариантах осуществления, K_D антитела имеет любое значение из приблизительно 10 нМ, приблизительно 9 нМ, приблизительно 8 нМ, приблизительно 7 нМ, приблизительно 6 нМ, приблизительно 5 нМ, приблизительно 4 нМ, приблизительно 3 нМ, приблизительно 2 нМ, приблизительно 1 нМ, приблизительно 900 пМ, приблизительно 800 пМ, приблизительно 700 пМ, приблизительно 600 пМ, приблизительно 500 пМ, приблизительно 400 пМ, приблизительно 300 пМ, приблизительно 200 пМ, или приблизительно 100 пМ. Различные способы измерения аффинности антител известны специалистам, включая, например, использование поверхностного плазмонного резонанса или интерферометрии биослоев (см., например, Пример 1 ниже). В некоторых вариантах осуществления, K_D CD33 определяют при температуре приблизительно 25 °C. В

некоторых вариантах осуществления, K_D CD33 определяют при температуре приблизительно 4 °C. В некоторых вариантах осуществления, K_D определяют с использованием моновалентного антитела (например, Fab) или полноразмерного антитела в моновалентной форме. В некоторых вариантах осуществления, K_D определяют с использованием бивалентного антитела и мономерного рекомбинантного белка CD33.

[0136] В некоторых вариантах осуществления, анти-CD33 антитела согласно настоящему раскрытию имеют более низкую константу диссоциации (K_D) CD33, чем контрольное анти-CD33 антитело (например, контрольное анти-CD33 антитело, содержащее переменную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 34, и переменную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 77; контрольное анти-CD33 антитело, содержащее переменную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 40, и переменную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 86; и контрольное анти-CD33 антитело, содержащее переменную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 52, и переменную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 86; и/или контрольное анти-CD33 антитело, содержащее переменную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 103, и переменную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 104). В некоторых вариантах осуществления, анти-CD33 антитела согласно настоящему раскрытию имеют K_D с мишенью (например, человеческим CD33), которая является на по меньшей мере приблизительно 5%, по меньшей мере приблизительно 10%, по меньшей мере приблизительно 15%, по меньшей мере приблизительно 20%, по меньшей мере приблизительно 25%, по меньшей мере приблизительно 30%, по меньшей мере приблизительно 35%, по меньшей мере приблизительно 40%, по меньшей мере приблизительно 45%, по меньшей мере приблизительно 50%, по меньшей мере приблизительно 55%, по меньшей мере приблизительно 60%, по меньшей мере приблизительно 65%, по меньшей мере приблизительно 70%, по меньшей мере приблизительно 75%, по меньшей мере приблизительно 80%, по меньшей мере приблизительно 85%, по меньшей мере приблизительно 90%, по меньшей мере приблизительно 95%, или по меньшей мере приблизительно 99% ниже, чем K_D контрольного анти-CD33 антитела с указанной мишенью (например, контрольного анти-CD33 антитела, содержащего переменную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 34, и переменную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 77; контрольного анти-CD33 антитела, содержащего переменную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 40, и переменную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 86; и контрольного анти-CD33 антитела, содержащего переменную область тяжелой цепи, содержащую

аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 52, и вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 86; и/или контрольного анти-CD33 антитела, содержащего вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 103, и вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 104).

В некоторых вариантах осуществления, анти-CD33 антитела согласно настоящему раскрытию имеют K_D с мишенью (например, человеческим CD33), которая является в по меньшей мере приблизительно 1 раз, по меньшей мере приблизительно 1,1 раза, по меньшей мере приблизительно 1,5 раза, по меньшей мере приблизительно 2 раза, по меньшей мере приблизительно 3 раза, по меньшей мере приблизительно 4 раза, по меньшей мере приблизительно 5 раз, по меньшей мере приблизительно 6 раз, по меньшей мере приблизительно 7 раз, по меньшей мере приблизительно 8 раз, по меньшей мере приблизительно 9 раз, по меньшей мере приблизительно 10 раз, по меньшей мере приблизительно 12,5 раз, по меньшей мере приблизительно 15 раз, по меньшей мере приблизительно 17,5 раз, по меньшей мере приблизительно 20 раз, по меньшей мере приблизительно 22,5 раз, по меньшей мере приблизительно 25 раз, по меньшей мере приблизительно 27,5 раз, по меньшей мере приблизительно 30 раз, по меньшей мере приблизительно 50 раз, или по меньшей мере приблизительно 100 раз ниже, чем K_D контрольного анти-CD33 антитела с мишенью (например, контрольного анти-CD33 антитела, содержащего вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 34, и вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 77; контрольного анти-CD33 антитела, содержащего вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 40, и вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 86; и контрольного анти-CD33 антитела, содержащего вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 52, и вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 86; и/или контрольного анти-CD33 антитела, содержащего вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 103, и вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 104).

В некоторых вариантах осуществления, анти-CD33 антитела согласно настоящему раскрытию имеют K_D с человеческим CD33, которая в по меньшей мере 9 раз больше, чем для анти-CD33 антитела, имеющего вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 34, и вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 77. В некоторых вариантах осуществления, анти-CD33 антитела согласно настоящему раскрытию имеют K_D с человеческим CD33, которая по меньшей мере в 3 раза больше, чем для анти-CD33 антитела, имеющего вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 40, и вариабельную область легкой цепи, содержащую

аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 86. В некоторых вариантах осуществления, анти-CD33 антитела согласно настоящему раскрытию имеют K_D с человеческим CD33, которая по меньшей мере в 3 раза больше, чем для анти-CD33 антитела, имеющего переменную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 52, и переменную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 86. В некоторых вариантах осуществления, аффинность измеряют методом поверхностного плазмонного резонанса. В некоторых вариантах осуществления, аффинность измеряют при температуре приблизительно 25 °C. В некоторых вариантах осуществления, аффинность измеряют при температуре приблизительно 4 °C. В некоторых вариантах осуществления, аффинность измеряют с использованием экспериментального подхода, описанного в Примере 1 ниже.

[0137] Анти-антитела CD33 согласно настоящему раскрытию могут снижать клеточные уровни (например, уровни клеточной поверхности) CD33 с полумаксимальной эффективной концентрацией (EC_{50}) (например, при измерении *in vitro* с использованием первичных человеческих дендритных клеток) в пикомолярном диапазоне значений. В некоторых вариантах осуществления, EC_{50} антитела составляет от приблизительно 0,1 до приблизительно 500 пМ. В некоторых вариантах осуществления, EC_{50} антитела составляет от приблизительно 1 до приблизительно 250 пМ. В некоторых вариантах осуществления, EC_{50} антитела составляет от приблизительно 4,1 до приблизительно 151,1 пМ. В некоторых вариантах осуществления, EC_{50} антитела имеет значение, меньшее чем приблизительно, или равное приблизительно 500 пМ, 400 пМ, 300 пМ, 250 пМ, 225 пМ, 200 пМ, 175 пМ, 150 пМ, 125 пМ, 100 пМ, 75 пМ, 50 пМ, 25 пМ, 10 пМ, 1 пМ, или 0,5 пМ. В некоторых вариантах осуществления, EC_{50} антитела составляет менее приблизительно 74,3 пМ. В некоторых вариантах осуществления, EC_{50} антитела имеет значение, большее чем приблизительно, или равное приблизительно 0,1 пМ, 0,5 пМ, 1 пМ, 10 пМ, 25 пМ, 50 пМ, 75 пМ, 100 пМ, 125 пМ, 150 пМ, 175 пМ, 200 пМ, 225 пМ, 250 пМ, 300 пМ, или 400 пМ. Другими словами, EC_{50} антитела могут быть любым из диапазонов, имеющих верхний предел, равный приблизительно 500 пМ, 400 пМ, 300 пМ, 250 пМ, 225 пМ, 200 пМ, 175 пМ, 150 пМ, 125 пМ, 100 пМ, 75 пМ, 50 пМ, 25 пМ, 10 пМ, 1 пМ, или 0,5 пМ, и независимо выбранный нижний предел, равный приблизительно 0,1 пМ, 0,5 пМ, 1 пМ, 10 пМ, 25 пМ, 50 пМ, 75 пМ, 100 пМ, 125 пМ, 150 пМ, 175 пМ, 200 пМ, 225 пМ, 250 пМ, 300 пМ, или 400 пМ, при этом нижний предел имеет меньшее значение, чем верхний предел. В некоторых вариантах осуществления, EC_{50} антитела имеет любое значение из приблизительно 1 пМ, 2 пМ, 3 пМ, 4 пМ, 5 пМ, 6 пМ, 7 пМ, 8 пМ, 9 пМ, 10 пМ, 15 пМ, 20 пМ, 25 пМ, 30 пМ, 35 пМ, 40 пМ, 45 пМ, 50 пМ, 55 пМ, 60 пМ, 65 пМ, 70 пМ, 75 пМ, 80 пМ, 85 пМ, 90 пМ, 95 пМ, 100 пМ, 105 пМ, 110 пМ, 115 пМ, 120 пМ, 125 пМ, 130 пМ, 135 пМ, 140 пМ, 145 пМ, 150 пМ, 155 пМ, 160 пМ, 165 пМ, 170 пМ, 175 пМ, 180 пМ, 185 пМ, 190 пМ, 195 пМ, или 200 пМ. Различные способы измерения значений EC_{50} антител известны специалистам, включая, например, метод проточной цитометрии (см., например, Пример 2 ниже). В некоторых вариантах осуществления, EC_{50} измеряют *in vitro* с

использованием первичных человеческих дендритных клеток. В некоторых вариантах осуществления, EC_{50} измеряют *in vitro* с использованием первичных человеческих моноцитов. В некоторых вариантах осуществления, EC_{50} измеряют *in vitro* с использованием первичных человеческих макрофагов. В некоторых вариантах осуществления, EC_{50} измеряют *in vitro* с использованием культивируемых клеток, трансфицированных человеческим CD33. В некоторых вариантах осуществления, EC_{50} измеряют при температуре приблизительно 4 °C. В некоторых вариантах осуществления, EC_{50} измеряют при температуре приблизительно 25 °C. В некоторых вариантах осуществления, EC_{50} измеряют при температуре приблизительно 35 °C. В некоторых вариантах осуществления, EC_{50} измеряют при температуре приблизительно 37 °C. В некоторых вариантах осуществления, EC_{50} определяют с использованием моновалентного антитела (например, Fab) или полноразмерного антитела в моновалентной форме. В некоторых вариантах осуществления, EC_{50} определяют с использованием антитела, содержащего константные области, которые демонстрируют повышенное связывание Fc-рецептора. В некоторых вариантах осуществления, EC_{50} определяют с использованием антитела, содержащего константные области, которые демонстрируют пониженное связывание Fc-рецептора.

[0138] В некоторых вариантах осуществления, анти-CD33 антитела согласно настоящему раскрытию снижают клеточные уровни (например, уровни клеточной поверхности) CD33 с более низким значением EC_{50} (например, путем измерения *in vitro* с использованием первичных человеческих дендритных клеток), чем контрольное анти-CD33 антитело (например, контрольное анти-CD33 антитело, содержащее переменную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 34, и переменную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 77; контрольное анти-CD33 антитело, содержащее переменную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 40, и переменную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 86; и контрольное анти-CD33 антитело, содержащее переменную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 52, и переменную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 86; и/или контрольное анти-CD33 антитело, содержащее переменную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 103, и переменную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 104). В некоторых вариантах осуществления, анти-CD33 антитела согласно настоящему раскрытию снижают клеточные уровни (например, уровни клеточной поверхности) CD33 с EC_{50} , которая имеет значение на по меньшей мере приблизительно 5%, по меньшей мере приблизительно 10%, по меньшей мере приблизительно 15%, по меньшей мере приблизительно 20%, по меньшей мере приблизительно 25%, по меньшей мере приблизительно 30%, по меньшей мере приблизительно 35%, по меньшей мере приблизительно 40%, по меньшей мере

приблизительно 45%, по меньшей мере приблизительно 50%, по меньшей мере приблизительно 55%, по меньшей мере приблизительно 60%, по меньшей мере приблизительно 65%, по меньшей мере приблизительно 70%, по меньшей мере приблизительно 75%, по меньшей мере приблизительно 80%, по меньшей мере приблизительно 85%, по меньшей мере приблизительно 90%, по меньшей мере приблизительно 95%, или по меньшей мере приблизительно 99%, ниже, чем EC₅₀ контрольного анти-CD33 антитела (например, контрольного анти-CD33 антитела, содержащего вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 34, и вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 77; контрольного анти-CD33 антитела, содержащего вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 40, и вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 86; и контрольного анти-CD33 антитела, содержащего вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 52, и вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 86; и/или контрольного анти-CD33 антитела, содержащего вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 103, и вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 104).

В некоторых вариантах осуществления, анти-CD33 антитела согласно настоящему раскрытию снижают клеточные уровни (например, уровни клеточной поверхности) CD33 с EC₅₀, которая имеет значение в по меньшей мере приблизительно 1 раз, по меньшей мере приблизительно 1,1 раза, по меньшей мере приблизительно 1,5 раза, по меньшей мере приблизительно 2 раза, по меньшей мере приблизительно 3 раза, по меньшей мере приблизительно 4 раза, по меньшей мере приблизительно 5 раз, по меньшей мере приблизительно 6 раз, по меньшей мере приблизительно 7 раз, по меньшей мере приблизительно 8 раз, по меньшей мере приблизительно 9 раз, по меньшей мере приблизительно 10 раз, по меньшей мере приблизительно 12,5 раз, по меньшей мере приблизительно 15 раз, по меньшей мере приблизительно 17,5 раз, по меньшей мере приблизительно 20 раз, по меньшей мере приблизительно 22,5 раз, по меньшей мере приблизительно 25 раз, по меньшей мере приблизительно 27,5 раз, по меньшей мере приблизительно 30 раз, по меньшей мере приблизительно 50 раз, или по меньшей мере приблизительно 100 раз ниже, чем EC₅₀ контрольного анти-CD33 антитела (например, контрольного анти-CD33 антитела, содержащего вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 34, и вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 77; контрольного анти-CD33 антитела, содержащего вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 40, и вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 86; и контрольного анти-CD33 антитела, содержащего вариабельную область тяжелой цепи,

содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 52, и переменную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 86; и/или контрольного анти-CD33 антитела, содержащего переменную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 103, и переменную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 104). В некоторых вариантах осуществления, анти-CD33 антитела согласно настоящему раскрытию имеют EC_{50} , которая по меньшей мере в 1,6 раза ниже, чем у анти-CD33 антитела, имеющего переменную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 34, и переменную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 77. В некоторых вариантах осуществления, анти-CD33 антитела согласно настоящему раскрытию имеют EC_{50} , которая по меньшей мере в 1,05 раза ниже, чем у анти-CD33 антитела, имеющего переменную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 40, и переменную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 86. В некоторых вариантах осуществления, анти-CD33 антитела согласно настоящему раскрытию имеют EC_{50} , которая по меньшей мере в 1,07 раза ниже, чем у анти-CD33 антитела, имеющего переменную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 52, и переменную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 86. В некоторых вариантах осуществления, анти-CD33 антитела согласно настоящему раскрытию имеют EC_{50} , которая по меньшей мере в 1,2 раза ниже, чем у анти-CD33 антитела, имеющего переменную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 103, и переменную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 104. В некоторых вариантах осуществления, EC_{50} измеряют *in vitro* с использованием первичных человеческих дендритных клеток. В некоторых вариантах осуществления, EC_{50} измеряют *in vitro* с использованием первичных человеческих моноцитов. В некоторых вариантах осуществления, EC_{50} измеряют *in vitro* с использованием первичных человеческих макрофагов. В некоторых вариантах осуществления, EC_{50} измеряют *in vitro* с использованием культивируемых клеток, трансфицированных человеческим CD33. В некоторых вариантах осуществления, EC_{50} измеряют методом проточной цитометрии. В некоторых вариантах осуществления, EC_{50} измеряют при температуре приблизительно 25 °C. В некоторых вариантах осуществления, EC_{50} измеряют при температуре приблизительно 35 °C. В некоторых вариантах осуществления, EC_{50} измеряют при температуре приблизительно 37 °C. В некоторых вариантах осуществления, EC_{50} определяют с использованием антитела, содержащего константные области, которые демонстрируют повышенное связывание Fc-рецептора. В некоторых вариантах осуществления, EC_{50} определяют с использованием антитела, содержащего константные области, которые демонстрируют пониженное связывание Fc-рецептора. В некоторых вариантах осуществления, EC_{50} измеряют с использованием экспериментального подхода,

описанного в Пример 2 ниже.

[0139] Любые *in vitro* клеточные анализы или пригодные *in vivo* модели, описанные в настоящем описании или известные специалистам, могут быть использованы для измерения ингибирования взаимодействия (например, связывания) между CD33 и одним или несколькими лигандами CD33. В некоторых вариантах осуществления, анти-CD33 антитела согласно настоящему раскрытию ингибируют взаимодействие (например, связывание) между CD33 и одним или несколькими лигандами CD33 на по меньшей мере 21%, по меньшей мере 22%, по меньшей мере 23%, по меньшей мере 24%, по меньшей мере 25%, по меньшей мере 26%, по меньшей мере 27%, по меньшей мере 28%, по меньшей мере 29%, по меньшей мере 30%, по меньшей мере 31%, по меньшей мере 32%, по меньшей мере 33%, по меньшей мере 34%, по меньшей мере 35%, по меньшей мере 36%, по меньшей мере 37%, по меньшей мере 38%, по меньшей мере 39%, по меньшей мере 40%, по меньшей мере 41%, по меньшей мере 42%, по меньшей мере 43%, по меньшей мере 44%, по меньшей мере 45%, по меньшей мере 46%, по меньшей мере 47%, по меньшей мере 48%, по меньшей мере 49%, по меньшей мере 50%, по меньшей мере 51%, по меньшей мере 52%, по меньшей мере 53%, по меньшей мере 54%, по меньшей мере 55%, по меньшей мере 56%, по меньшей мере 57%, по меньшей мере 58%, по меньшей мере 59%, по меньшей мере 60%, по меньшей мере 61%, по меньшей мере 62%, по меньшей мере 63%, по меньшей мере 64%, по меньшей мере 65%, по меньшей мере 66%, по меньшей мере 67%, по меньшей мере 68%, по меньшей мере 69%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 71%, по меньшей мере 72%, по меньшей мере 73%, по меньшей мере 74%, по меньшей мере 75%, по меньшей мере 76%, по меньшей мере 77%, по меньшей мере 78%, по меньшей мере 79%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 81%, по меньшей мере 82%, по меньшей мере 83%, по меньшей мере 84%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99%, или больше, при насыщающей концентрации антитела при использовании любого *in vitro* анализа или анализа клеточной культуры, описанных в настоящем описании или известных специалистам.

[0140] В некоторых вариантах осуществления, анти-CD33 антитела согласно настоящему раскрытию ингибируют кластеризацию CD33 на клеточной поверхности. В некоторых вариантах осуществления, анти-CD33 антитела согласно настоящему раскрытию ингибируют одну или более активностей белка CD33, включая, без ограничений, противодействие одному или нескольким из фосфорилирования Tyr-340 и Tyr-358 тирозинкиназой семейства Src, такой как LCK и FYN; рекрутирование и связывания с тирозинспецифическими протеинфосфатазами SHP1 и SHP2; рекрутирование и связывания с PLC-гамма-1, которая выступает в роли фактора обмена гуанинового нуклеотида для Dynamin-1; рекрутирование и связывания с белком,

содержащим SH2-домен (например, Crkl); рекрутирование и связывания с тирозинкиназой селезенки Syk; рекрутирование и связывания с белком 2, связанным с рецепторами фактора роста SH3-SH2-SH3 (Grb2); рекрутирование и связывания с множеством SH2-содержащих белков; фосфорилирования Ser-307 и Ser-342 протеинкиназой C; модулированной экспрессии одного или нескольких противовоспалительных цитокинов, IL-4, IL-10, IL-13, IL-35, IL-16, TGF-бета, IL-1Ra, G-CSF, и растворимых рецепторов TNF, IFN-бета 1a, IFN-бета 1b, или IL-6 в моноцитах, макрофагах, Т-клетках, дендритных клетках, нейтрофилах и/или микроглии; снижения внутриклеточной мобилизации кальция; модулированной экспрессии одного или нескольких провоспалительных цитокинов IFN-a4, IFN-b, IL-1 β , TNF- α , IL-6, IL-8, CRP, членов семейства IL-20, LIF, IFN-гамма, OSM, CNTF, GM-CSF, IL-11, IL-12, IL-17, IL-18, IL-23, CXCL10, IL-33, CRP, IL-33, MCP-1, и MIP-1-бета в моноцитах, макрофагах, Т-клетках, дендритных клетках, нейтрофилах и/или микроглии; модулированной экспрессии одного или нескольких белков, выбранных из C1qa, C1qB, C1qC, C1s, C1R, C4, C2, C3, ITGB2, HMOX1, LAT2, CASP1, CSTA, VSIG4, MS4A4A, C3AR1, GPX1, TyroBP, ALOX5AP, ITGAM, SLC7A7, CD4, ITGAX, PYCARD, CD14, CD16, HLA-DR, и CCR2; ингибирования фосфорилирования регулируемой внеклеточными сигналами киназы (ERK); снижения фосфорилирования тирозина во множестве клеточных белков; модулированной экспрессии рецептора 7 хемокина C-C (CCR7); ингибирования хемотаксиса микроглиальных клеток по отношению к клеткам, экспрессирующим CCL19 и CCL21; активации фосфоинозитид-3-киназы; снижения клеточного роста моноцитов, макрофагов, Т-клеток, дендритных клеток и/или микроглии; снижения пролиферации Т-клеток, индуцируемой дендритными клетками, дендритными клетками костномозгового происхождения, моноцитами, микроглией, микроглией M1, активированной микроглией M1, микроглией M2, макрофагами, макрофагами M1, активированными макрофагами M1 и/или макрофагами M2; ингибирования продуцирования остеокластов, пониженной скорости остеокластогенеза, или обоих; снижения выживания нейтрофилов, дендритных клеток, дендритных клеток костномозгового происхождения, макрофагов, макрофагов M1, активированных макрофагов M1, макрофагов M2, моноцитов, остеокластов, Т-клеток, Т-хелперных клеток, цитотоксических Т-клеток, гранулоцитов, микроглии, микроглии M1, активированной микроглии M1, и/или микроглии M2; снижения пролиферации нейтрофилов, дендритных клеток, дендритных клеток костномозгового происхождения, макрофагов, макрофагов M1, активированных макрофагов M1, макрофагов M2, моноцитов, остеокластов, Т-клеток, Т-хелперных клеток, цитотоксических Т-клеток, гранулоцитов, микроглии, микроглии M1, активированной микроглии M1, и/или микроглии M2; ингибирования миграции нейтрофилов, дендритных клеток, дендритных клеток костномозгового происхождения, макрофагов, макрофагов M1, активированных макрофагов M1, макрофагов M2, моноцитов, остеокластов, Т-клеток, Т-хелперных клеток, цитотоксических Т-клеток, гранулоцитов, микроглии, микроглии M1, активированной микроглии M1, и/или микроглии M2; снижения одной

или нескольких функций нейтрофилов, дендритных клеток, дендритных клеток костномозгового происхождения, макрофагов, макрофагов M1, активированных макрофагов M1, макрофагов M2, моноцитов, остеокластов, Т-клеток, Т-хелперных клеток, цитотоксических Т-клеток, гранулоцитов, микроглии, микроглии M1, активированной микроглии M1, и/или микроглии M2; ингибирования созревания нейтрофилов, дендритных клеток, дендритных клеток костномозгового происхождения, макрофагов, макрофагов M1, активированных макрофагов M1, макрофагов M2, моноцитов, остеокластов, Т-клеток, Т-хелперных клеток, цитотоксических Т-клеток, гранулоцитов, микроглии, микроглии M1, активированной микроглии M1, и/или микроглии M2; увеличения клеточной гибели и апоптоза моноцитов, макрофагов, Т-клеток, дендритных клеток, нейтрофилов и/или микроглии; снижения фагоцитарной активности моноцитов, макрофагов, Т-клеток, дендритных клеток, нейтрофилов и/или микроглии; уменьшения пролиферации моноцитов, макрофагов, Т-клеток, дендритных клеток, нейтрофилов и/или микроглии; снижения общей функциональности моноцитов, макрофагов, Т-клеток, дендритных клеток, нейтрофилов и/или микроглии; фосфорилирования рецептора, содержащего ITAM; фосфорилирования сигнальных молекул, которые опосредуют сигнализацию ITAM; снижения активации рецепторов распознавания паттернов; снижения активации Toll-подобных рецепторов; снижения активации связанного с поражениями клиренса клеточного и белкового дебриса; взаимодействия между CD33 и одним или несколькими его лигандами; взаимодействия между CD33 и корецептором, таким как CD64; снижения одного или нескольких типов клиренса, выбранных из клиренса апоптозных нейронов, клиренса дебриса нервной ткани, клиренса дисфункциональных синапсов, клиренса дебриса не-нервной ткани, клиренса бактерий или других чужеродных тел, клиренса патогенного белка, и клиренса опухолевых клеток; ингибирования фагоцитоза чего-то одного или нескольких из апоптотических нейронов, дебриса нервной ткани, дебриса не-нервной ткани, бактерий, других инородных тел, патогенных белков, патогенных пептидов, патогенных нуклеиновых кислот, патогенных липидов или опухолевых клеток; ингибирования клиренса патогенной нуклеиновой кислоты, такой как патогенной нуклеиновой кислоты, представляющей собой антисмысловую РНК с экспансией повторов GGCCCC (G2C4); активацию клиренса патогенного белка, выбранного из бета-амилоида, бета-амилоидных бляшек, белка-предшественника амилоида или его фрагментов, тау (Tau)-белка, IAPP, альфа-синуклеина, TDP-43, белка FUS, C9orf72 (открытая рамка считывания 72 хромосомы 9), белка c9RAN, прионного белка, PrPSc, хантингтина, кальцитонина, супероксиддисмутаза, атаксина, атаксина 1, атаксина 2, атаксина 3, атаксина 7, атаксина 8, атаксина 10, телец Леви, предсердного натриуретического фактора, островкового амилоидного полипептида, инсулина, аполипопротеина AI, сывороточного амилоида A, медины, пролактина, транстиретина, лизоцима, бета-2-микроглобулина, гелсолина, кератоэпителина, цистатина, иммуноглобулина легкой цепи AL, белка S-IBM, связанных с не-ATG повторами (RAN) продуктов трансляции, пептидов с дипептидными повторами

(DPR), пептидов с повторами глицин–аланин (GA), пептидов с повторами глицин–пролин (GP), пептидов с повторами глицин–аргинин (GR), пептидов с повторами пролин–аланин (PA), убиквитина, и пептидов с повторами пролин–аргинин (PR); ингибирования благоприятного иммунного ответа на разные типы рака, выбранные из рака мочевого пузыря, рака головного мозга, рака молочной железы, рака толстой кишки, рака прямой кишки, эндометриального рака, рака почки, почечноклеточного рака, рака почечной лоханки, лейкоза, рака легкого, меланомы, неходжкинской лимфомы, острого миелолейкоза, рака поджелудочной железы, рака предстательной железы, рака яичника, фибросаркомы и рака щитовидной железы; ингибирования благоприятного иммунного ответа на разные типы неврологических расстройств, выбранных из деменции, лобно–височной деменции, болезни Альцгеймера, сосудистой деменции, смешанной деменции, болезни Крейтцфельда–Якоба, нормотензивной гидроцефалии, бокового амиотрофического склероза, болезни Гентингтона, таупатии, болезни Насу–Хакола, инсульта, острой травмы, хронической травмы, эссенциального тремора, болезни Бехчета, болезни Паркинсона, деменции с тельцами Леви, мультисистемной атрофии, синдрома Шая–Дрейджера, прогрессирующего надъядерного паралича, кортикобазальной ганглионарной дегенерации, острого рассеянного энцефаломиелита, гранулематозных расстройств, саркоидоза, болезней старения, эпилептических припадков, повреждения спинного мозга, травматического повреждения головного мозга, возрастной макулярной дегенерации, глаукомы, пигментного ретинита, дегенерации сетчатки и рассеянного склероза; ингибирования благоприятного иммунного ответа на разные типы воспалительных и инфекционных расстройств, выбранных из волчанки, острого и хронического колита, заживления ран, болезни Крона, воспалительного заболевания кишечника, неспецифического язвенного колита, ожирения, малярии, инфекции дыхательных путей, сепсиса, глазной инфекции, системной инфекции, волчанки, артрита, низкой плотности костной ткани, остеопороза, остеогенеза, остеопетрозного заболевания и деформирующего остита; связывания с лигандом CD33 на опухолевых клетках; связывания с лигандом CD33 на дендритных клетках, дендритных клетках костномозгового происхождения, моноцитах, микроглии, Т–клетках, нейтрофилах и/или макрофагах; ингибирования уничтожения опухолевых клеток чем–то одним или несколькими из микроглии, макрофагов, дендритных клеток, дендритных клеток костномозгового происхождения, нейтрофилов, Т–клеток, Т–хелперных клеток или цитотоксических Т–клеток; ингибирования активности против пролиферации опухолевых клеток чего–то одного или нескольких из микроглии, макрофагов, дендритных клеток, дендритных клеток костномозгового происхождения, нейтрофилов, Т–клеток, Т–хелперных клеток или цитотоксических Т–клеток; ингибирования активности против метастазирования опухолевых клеток чего–то одного или нескольких из микроглии, макрофагов, дендритных клеток, дендритных клеток костномозгового происхождения, нейтрофилов, Т–клеток, Т–хелперных клеток или цитотоксических Т–клеток; промотирования иммуносупрессорных дендритных клеток, иммуносупрессорных

макрофагов, супрессорных клеток миелоидного происхождения, опухоль-ассоциированных макрофагов или регуляторных Т-клеток; ингибирования одного или нескольких рецепторов, содержащих мотив ITAM, таких как TREM1, TREM2, FcγR, DAP10, и DAP12; ингибирования одного или нескольких рецепторов, содержащих мотив D/Ex0-2YxxL/IX6-8YxxL/I (SEQ ID NO: 165); ингибирования сигнализации одного или нескольких рецепторов распознавания паттернов (PRR), таких как рецепторы, которые идентифицируют связанные с патогенами молекулярные паттерны (PAMP), и рецепторы, которые идентифицируют связанные с повреждениями молекулярные паттерны (DAMP); ингибирования сигнализации одного или нескольких Toll-подобных рецепторов; ингибирования сигнального пути JAK-STAT; ингибирования ядерного фактора каппа-легкой цепи-энхансера активированных В клеток (NFκB); ингибирования PLCγ/PKC/мобилизации кальция; ингибирования сигнализации PI3K/Akt, Ras/MAPK; пониженной экспрессии одного или нескольких воспалительных рецепторов, таких как CD86, экспрессируемый на чем-то одном или нескольких из микроглии, макрофагов, дендритных клеток, дендритных клеток костномозгового происхождения, нейтрофилов, Т-клеток, Т-хелперных клеток или цитотоксических Т-клеток; увеличения экспрессии одного или нескольких CD33-зависимых генов; нормализации нарушенной CD33-зависимой генной экспрессии; и снижения экспрессии одного или нескольких ITAM-зависимых генов, таких как факторы транскрипции NFAT.

[0141] В некоторых вариантах осуществления, анти-CD33 антитела согласно настоящему раскрытию проявляют одну или более активностей белка CD33, включая, без ограничений, увеличение численности опухоль-инфильтрующих CD3⁺ Т-клеток; снижение клеточных уровней CD33 в CD14⁺миелоидных клетках, таких как опухоль-инфильтрующие CD14⁺ миелоидные клетки и CD14⁺ миелоидные клетки, присутствующие в крови; уменьшение численности CD14⁺ миелоидных клеток, таких как опухоль-инфильтрующие CD14⁺ миелоидные клетки и CD14⁺ миелоидные клетки, присутствующие в крови; снижение уровней PD-L1, PD-L2, B7-H7, B7-H3, CD200R, CD163, и/или CD206 в одной или нескольких клетках, таких как супрессорные клетки миелоидного происхождения (MDSC); снижение скорости роста солидных опухолей; уменьшение объема опухоли; увеличение эффективности одного или нескольких ингибиторов PD-1; увеличение эффективности одной или нескольких терапий ингибиторами контрольных точек и/или иммуномодулирующих терапий, таких как терапии ингибиторами контрольных точек и/или иммуномодулирующие терапии, нацеленные на что-то одно или несколько из CTL4, аденозинового пути, PD-L1, PD-L2, OX40, TIM3, LAG3, или любой их комбинации; увеличение эффективности одного или нескольких химиотерапевтических агентов, необязательно, при этом один или более химиотерапевтических агентов представляют собой гемцитабин, капецитабин, антрациклины, доксорубицин (адриамицин (Adriamycin[®])), эпирубицин (элленс (Ellence[®])), таксаны, паклитаксел (таксол (Taxol[®])), доцетаксел (таксотере (Taxotere[®])), 5-фторурацил (5-FU), циклофосфамид (цитоксан (Cytosan[®])), карбоплатин (параплатин

(Paraplatin[®])), оксалиплатин (элотаксин (Elotaxin[®])), лейковорин, темазоламид (темодар (Temodar[®])), и любую их комбинацию; повышение пролиферации Т-клеток в присутствии супрессорных клеток миелоидного происхождения (MDSC); ингибирование дифференцировки, выживания и/или одной или нескольких функций супрессорных клеток миелоидного происхождения (MDSC); и уничтожение экспрессирующих CD33 иммуносупрессорных нетуморогенных миелоидных клеток и/или нетуморогенных экспрессирующих CD14 клеток в солидных опухолях и связанных с ними кровеносных сосудах при конъюгации с химическим или радиоактивным токсином.

[0142] В некоторых вариантах осуществления, анти-CD33 антитела ингибируют взаимодействие (например, связывание) между белком CD33 согласно настоящему раскрытию и одним или несколькими лигандами CD33, включая, без ограничений, лиганды CD33, экспрессируемые на красных кровяных клетках, лиганды CD33, экспрессируемые на бактериальных клетках, лиганды CD33, экспрессируемые на апоптотических клетках, лиганды CD33, экспрессируемые на опухолевых клетках, лиганды CD33, экспрессируемые на вирусах, лиганды CD33, экспрессируемые на дендритных клетках, лиганды CD33, экспрессируемые на нервных клетках, лиганды CD33, экспрессируемые на глиальных клетках, лиганды CD33, экспрессируемые на микроглии, лиганды CD33, экспрессируемые на астроцитах, лиганды CD33 на бета-амилоидных бляшках, лиганды CD33 на клубках тау-белка, лиганды CD33 на патогенных белках, лиганды CD33 на патогенных пептидах, лиганды CD33, экспрессируемые на макрофагах, лиганды CD33, экспрессируемые на естественных киллерных клетках, лиганды CD33, экспрессируемые на Т-клетках, лиганды CD33, экспрессируемые на Т-хелперных клетках, лиганды CD33, экспрессируемые на цитотоксических Т-клетках, лиганды CD33, экспрессируемые на В-клетках, лиганды CD33, экспрессируемые на внутриопухолевых (tumor-imbedded) иммуносупрессорных дендритных клетках, лиганды CD33, экспрессируемые на внутриопухолевых иммуносупрессорных макрофагах, лиганды CD33, экспрессируемые на супрессорных клетках миелоидного происхождения, лиганды CD33, экспрессируемые на регуляторных Т-клетках, секретируемые муцины, сиаловую кислоту, содержащие сиаловую кислоту гликолипиды, содержащие сиаловую кислоту гликопротеины, альфа-2,6-связанные содержащие сиаловую кислоту гликолипиды, альфа-2,6-связанные содержащие сиаловую кислоту гликопротеины, альфа-2,3-связанные содержащие сиаловую кислоту гликолипиды, альфа-2,3-связанные содержащие сиаловую кислоту гликопротеины, альфа-1-кислый гликопротеин (AGP), белок CD24 и ганглиозиды.

[0143] В некоторых вариантах осуществления, анти-CD33 антитела согласно настоящему раскрытию связываются с белком CD33 согласно настоящему раскрытию, экспрессируемым на поверхности клетки, и голые антитела ингибируют взаимодействие (например, связывание) между белком CD33 и одним или несколькими лигандами CD33. В некоторых вариантах осуществления, анти-CD33 антитела согласно настоящему раскрытию, которые связываются с белком CD33 согласно настоящему раскрытию (of the

present), ингибируют взаимодействие (например, связывание) между белком CD33 и одним или несколькими лигандами CD33 путем снижения эффективных уровней CD33, доступных для взаимодействия с этими белками на поверхности клетки или внутри клетки. В некоторых вариантах осуществления, анти-CD33 антитела согласно настоящему раскрытию, которые связываются с белком CD33 согласно настоящему раскрытию, ингибируют взаимодействие (например, связывание) между белком CD33 и одним или несколькими лигандами CD33 путем индуцирования дегградации CD33.

[0144] В используемом в настоящем описании значении, уровни CD33 могут относиться к уровням экспрессии гена, кодирующего CD33; к уровням экспрессии одного или нескольких транскриптов, кодирующих CD33; к уровням экспрессии белка CD33; и/или к количеству белка CD33, присутствующего внутри клеток и/или на поверхности клеток. Любые известные специалистам способы измерения уровней генной экспрессии, транскрипции, трансляции, и/или относительного содержания (abundance), или локализации белка могут быть использованы для определения уровней CD33.

[0145] Дополнительно, анти-CD33 антитела согласно настоящему раскрытию могут быть использованы для профилактики, снижения риска или лечения деменции, лобно-височной деменции, болезни Альцгеймера, сосудистой деменции, смешанной деменции, болезни Крейтцфельда-Якоба, нормотензивной гидроцефалии, бокового амиотрофического склероза, болезни Гентингтона, таупатии, болезни Насу-Хакола, инсульта, острой травмы, хронической травмы, волчанки, острого и хронического колита, ревматоидного артрита, заживления ран, болезни Крона, воспалительного заболевания кишечника, неспецифического язвенного колита, ожирения, малярии, эссенциального тремора, волчанки центральной нервной системы, болезни Бехчета, болезни Паркинсона, деменции с тельцами Леви, мультисистемной атрофии, синдрома Шая-Дрейджера, прогрессирующего надъядерного паралича, кортикобазальной ганглионарной дегенерации, острого рассеянного энцефаломиелита, гранулематозных расстройств, саркоидоза, болезней старения, эпилептических припадков, повреждения спинного мозга, травматического повреждения головного мозга, возрастной макулярной дегенерации, глаукомы, пигментного ретинита, дегенерации сетчатки, инфекции дыхательных путей, сепсиса, глазной инфекции, системной инфекции, волчанки, артрита, рассеянного склероза, низкой плотности костной ткани, остеопороза, остеогенеза, остеопетрозного заболевания, деформирующего остита, рака, включая рак мочевого пузыря, рак головного мозга, рак молочной железы, рак толстой кишки, рак прямой кишки, эндометриальный рак, рак почки, почечноклеточный рак, рак почечной лоханки, лейкоз, рак легкого, меланому, неходжкинскую лимфому, рак поджелудочной железы, рак предстательной железы, рак яичника, фибросаркому, острый лимфобластный лейкоз (ОЛЛ), острый миелолейкоз (ОМЛ), хронический лимфоцитарный лейкоз (ХЛЛ), хронический миелоидный лейкоз (ХМЛ), множественную миелому, истинную красную полицитемию, эссенциальный тромбоцитоз, первичный или идиопатический миелофиброз, первичный или идиопатический миелосклероз, опухоли миелоидного происхождения, опухоли,

экспрессирующие CD33, рак щитовидной железы, инфекции, герпес ЦНС, паразитарные инфекции, трипаносомную инфекцию, инфекцию *Trypanosoma cruzi*, инфекцию *Pseudomonas aeruginosa*, инфекцию *Leishmania donovani*, инфекцию *Streptococcus* группы В, инфекцию *Campylobacter jejuni*, инфекцию *Neisseria meningitidis*, ВИЧ типа I, и/или палочку Пфайффера (*Haemophilus influenza*). В некоторых вариантах осуществления, анти-CD33 антитела согласно настоящему раскрытию могут быть использованы для индуцирования или промотирования выживания, созревания, функциональности, миграции или пролиферации одной или нескольких иммунных клеток у нуждающегося в этом индивидуума; или для снижения активности, функциональности или выживания регуляторных Т-клеток, внутриопухолевых иммуносупрессорных дендритных клеток, внутриопухолевых иммуносупрессорных макрофагов, супрессорных клеток миелоидного происхождения, опухоль-ассоциированных макрофагов, клеток острого миелолейкоза (ОМЛ), клеток хронического лимфоцитарного лейкоза (ХЛЛ), и/или клеток хронического миелоидного лейкоза (ХМЛ) у нуждающегося в этом индивидуума. В некоторых вариантах осуществления, анти-CD33 антитела согласно настоящему раскрытию представляют собой моноклональные антитела.

[0146] В некоторых вариантах осуществления, выделенное анти-CD33 антитело согласно настоящему раскрытию снижает клеточные уровни CD33 (например, уровни клеточной поверхности, внутриклеточные уровни и/или общие уровни). В некоторых вариантах осуществления, выделенное анти-CD33 антитело согласно настоящему раскрытию индуцирует снижение экспрессии (downregulation) CD33. В некоторых вариантах осуществления, выделенное анти-CD33 антитело согласно настоящему раскрытию индуцирует расщепление CD33. В некоторых вариантах осуществления, выделенное анти-CD33 антитело согласно настоящему раскрытию индуцирует интернализацию CD33. В некоторых вариантах осуществления, выделенное анти-CD33 антитело согласно настоящему раскрытию индуцирует шеддинг CD33. В некоторых вариантах осуществления, выделенное анти-CD33 антитело согласно настоящему раскрытию индуцирует деградацию CD33. В некоторых вариантах осуществления, выделенное анти-CD33 антитело согласно настоящему раскрытию индуцирует десенсибилизацию CD33. В некоторых вариантах осуществления, выделенное анти-CD33 антитело согласно настоящему раскрытию действует как миметик лиганда, транзientно активируя CD33. В некоторых вариантах осуществления, выделенное анти-CD33 антитело согласно настоящему раскрытию действует как миметик лиганда и транзientно активирует CD33 перед индуцированием снижения клеточных уровней CD33 и/или ингибирования взаимодействия (например, связывания) между CD33 и одним или несколькими лигандами CD33. В некоторых вариантах осуществления, выделенное анти-CD33 антитело согласно настоящему раскрытию действует как миметик лиганда и транзientно активирует CD33 перед индуцированием деградации CD33. В некоторых вариантах осуществления, выделенное анти-CD33 антитело согласно настоящему раскрытию действует как миметик лиганда и транзientно активирует CD33 перед

индуцированием расщепления CD33. В некоторых вариантах осуществления, выделенное анти-CD33 антитело согласно настоящему раскрытию действует как миметик лиганда и транзientно активирует CD33 перед индуцированием интернализации CD33. В некоторых вариантах осуществления, выделенное анти-CD33 антитело согласно настоящему раскрытию действует как миметик лиганда и транзientно активирует CD33 перед индуцированием шеддинга CD33. В некоторых вариантах осуществления, выделенное анти-CD33 антитело согласно настоящему раскрытию действует как миметик лиганда и транзientно активирует CD33 перед индуцированием понижающей регуляции экспрессии CD33. В некоторых вариантах осуществления, выделенное анти-CD33 антитело согласно настоящему раскрытию действует как миметик лиганда и транзientно активирует CD33 перед индуцированием десенсибилизации CD33.

[0147] В некоторых вариантах осуществления, выделенное анти-CD33 антитело согласно настоящему раскрытию представляет собой человеческое антитело, гуманизированное антитело, биспецифическое антитело, моноклональное антитело, поливалентное антитело, или химерное антитело. Типичные примеры описания таких антител приведены в настоящем раскрытии.

[0148] В некоторых вариантах осуществления, анти-CD33 антитела согласно настоящему раскрытию связываются с человеческим CD33, или его гомологом, включая, без ограничений, белок CD33 млекопитающих. В некоторых вариантах осуществления, анти-CD33 антитела согласно настоящему раскрытию специфически связываются с человеческим CD33. В некоторых вариантах осуществления, анти-CD33 антитела согласно настоящему раскрытию связываются с человеческим CD33 и не являются перекрестно реактивными с ортологами CD33 или гомологами других видов.

[0149] В некоторых вариантах осуществления, анти-CD33 антитела согласно настоящему раскрытию связываются с белком CD33 согласно настоящему раскрытию, экспрессируемым на поверхности клетки, и модулируют (например, индуцируют или ингибируют) одну или более активностей CD33 согласно настоящему раскрытию после связывания с поверхностно экспрессируемым белком CD33. В некоторых вариантах осуществления, анти-CD33 антитела согласно настоящему раскрытию представляют собой инертные антитела.

Области, связывающие анти-CD33 антитело

[0150] В некоторых вариантах осуществления, анти-CD33 антитела согласно настоящему раскрытию могут связывать конформационный эпитоп. В некоторых вариантах осуществления, анти-CD33 антитела согласно настоящему раскрытию могут связывать эпитоп CD33 прерывистого типа. В некоторых вариантах осуществления, эпитоп CD33 прерывистого типа содержит два или больше пептидов, три или больше пептидов, четыре или больше пептидов, пять или больше пептидов, шесть или больше пептидов, семь или больше пептидов, восемь или больше пептидов, девять или больше пептидов, или 10 или больше пептидов. В некоторых вариантах осуществления, анти-CD33 антитела согласно настоящему раскрытию могут связывать эпитоп CD33,

содержащий один или более пептидов. Как раскрыто в настоящем описании, эпитопы CD33 могут содержать один или более пептидов, содержащих пять или больше, шесть или больше, семь или больше, восемь или больше, девять или больше, 10 или больше, 11 или больше, 12 или больше, 13 или больше 14 или больше, 15 или больше, 16 или больше, 17 или больше, 18 или больше, 19 или больше, или 20 или больше аминокислотных остатков аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 1, или пять или больше, шесть или больше, семь или больше, восемь или больше, девять или больше, 10 или больше, 11 или больше, 12 или больше, 13 или больше 14 или больше, 15 или больше, 16 или больше, 17 или больше, 18 или больше, 19 или больше, или 20 или больше аминокислотных остатков белка CD33 млекопитающих, соответствующих аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 1.

[0151] В некоторых вариантах осуществления, анти-CD33 антитела согласно настоящему раскрытию связываются с эпитопом человеческого CD33, который является таким же или перекрывается с эпитопом CD33, связываемым анти-CD33 антителом, содержащим переменную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 103, и переменную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 104. В некоторых вариантах осуществления, анти-CD33 антитела согласно настоящему раскрытию связывают по существу тот же эпитоп CD33, что и связываемый анти-CD33 антителом, содержащим переменную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 103, и переменную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 104.

[0152] В некоторых вариантах осуществления, анти-CD33 антитела согласно настоящему раскрытию конкурентно ингибируют связывание анти-CD33 антитела, содержащего переменную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 103, и переменную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 104. В некоторых вариантах осуществления, анти-CD33 антитела согласно настоящему раскрытию конкурируют с анти-CD33 антителом, содержащим переменную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 103, и переменную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 104 для связывания с CD33.

[0153] В некоторых вариантах осуществления, анти-CD33 антитела согласно настоящему раскрытию конкурентно ингибируют связывание по меньшей мере одного антитела, выбранного из любых антител, указанных в Таблицах **3A–3C, 4A–4C, 5A–5D, 6A–6D, 7 и 8**. В некоторых вариантах осуществления, анти-CD33 антитела согласно настоящему раскрытию конкурентно ингибируют связывание по меньшей мере одного антитела, выбранного из AB-14.1, AB-14.2, AB-14.3, AB-14.4, AB-14.5, AB-14.6, AB-14.7, AB-14.8, AB-14.9, AB-14.10, AB-14.11, AB-63.4, AB-63.5, AB-63.6, AB-63.7, AB-63.8, AB-63.9, AB-63.10, AB-63.11, AB-63.12, AB-63.13, AB-63.14, AB-63.15, AB-63.16,

AB-63.17, AB-63.18, AB-64.1, AB-64.2, AB-64.3, AB-64.4, AB-64.5, AB-64.6, AB-64.7, AB-64.8, AB-64.1.1, AB-64.1.2, AB-64.1.3, AB-64.1.4, AB-64.1.5, AB-64.1.6, AB-64.1.7, AB-64.1.8, AB-64.1.9, AB-64.1.10, AB-64.1.11, AB-64.1.12, AB-64.1.13, AB-64.1.14, AB-64.1.15, AB-H2, AB-H9, AB-H14, AB-H15, AB-H63, AB-H64, AB-H65, AB-H66, и любой их комбинации. В некоторых вариантах осуществления, анти-CD33 антитело согласно настоящему раскрытию конкурирует с одним или несколькими антителами, выбранными из AB-14.1, AB-14.2, AB-14.3, AB-14.4, AB-14.5, AB-14.6, AB-14.7, AB-14.8, AB-14.9, AB-14.10, AB-14.11, AB-63.4, AB-63.5, AB-63.6, AB-63.7, AB-63.8, AB-63.9, AB-63.10, AB-63.11, AB-63.12, AB-63.13, AB-63.14, AB-63.15, AB-63.16, AB-63.17, AB-63.18, AB-64.1, AB-64.2, AB-64.3, AB-64.4, AB-64.5, AB-64.6, AB-64.7, AB-64.8, AB-64.1.1, AB-64.1.2, AB-64.1.3, AB-64.1.4, AB-64.1.5, AB-64.1.6, AB-64.1.7, AB-64.1.8, AB-64.1.9, AB-64.1.10, AB-64.1.11, AB-64.1.12, AB-64.1.13, AB-64.1.14, AB-64.1.15, AB-H2, AB-H9, AB-H14, AB-H15, AB-H63, AB-H64, AB-H65, AB-H66, и любой их комбинации, за связывание с CD33, когда анти-CD33 антитело снижает связывание одного или нескольких антител, выбранных из AB-14.1, AB-14.2, AB-14.3, AB-14.4, AB-14.5, AB-14.6, AB-14.7, AB-14.8, AB-14.9, AB-14.10, AB-14.11, AB-63.4, AB-63.5, AB-63.6, AB-63.7, AB-63.8, AB-63.9, AB-63.10, AB-63.11, AB-63.12, AB-63.13, AB-63.14, AB-63.15, AB-63.16, AB-63.17, AB-63.18, AB-64.1, AB-64.2, AB-64.3, AB-64.4, AB-64.5, AB-64.6, AB-64.7, AB-64.8, AB-64.1.1, AB-64.1.2, AB-64.1.3, AB-64.1.4, AB-64.1.5, AB-64.1.6, AB-64.1.7, AB-64.1.8, AB-64.1.9, AB-64.1.10, AB-64.1.11, AB-64.1.12, AB-64.1.13, AB-64.1.14, AB-64.1.15, AB-H2, AB-H9, AB-H14, AB-H15, AB-H63, AB-H64, AB-H65, AB-H66, и любой их комбинации, с CD33, на величину, составляющую от приблизительно 50% до 100%, по сравнению со связыванием с CD33 в отсутствие анти-CD33 антитела. В некоторых вариантах осуществления, анти-CD33 антитело согласно настоящему раскрытию конкурирует с одним или несколькими антителами, выбранными из AB-14.1, AB-14.2, AB-14.3, AB-14.4, AB-14.5, AB-14.6, AB-14.7, AB-14.8, AB-14.9, AB-14.10, AB-14.11, AB-63.4, AB-63.5, AB-63.6, AB-63.7, AB-63.8, AB-63.9, AB-63.10, AB-63.11, AB-63.12, AB-63.13, AB-63.14, AB-63.15, AB-63.16, AB-63.17, AB-63.18, AB-64.1, AB-64.2, AB-64.3, AB-64.4, AB-64.5, AB-64.6, AB-64.7, AB-64.8, AB-64.1.1, AB-64.1.2, AB-64.1.3, AB-64.1.4, AB-64.1.5, AB-64.1.6, AB-64.1.7, AB-64.1.8, AB-64.1.9, AB-64.1.10, AB-64.1.11, AB-64.1.12, AB-64.1.13, AB-64.1.14, AB-64.1.15, AB-H2, AB-H9, AB-H14, AB-H15, AB-H63, AB-H64, AB-H65, AB-H66, и любой их комбинации, за связывание с CD33, когда анти-CD33 антитело снижает связывание одного или нескольких антител, выбранных из AB-14.1, AB-14.2, AB-14.3, AB-14.4, AB-14.5, AB-14.6, AB-14.7, AB-14.8, AB-14.9, AB-14.10, AB-14.11, AB-63.4, AB-63.5, AB-63.6, AB-63.7, AB-63.8, AB-63.9, AB-63.10, AB-63.11, AB-63.12, AB-63.13, AB-63.14, AB-63.15, AB-63.16, AB-63.17, AB-63.18, AB-64.1, AB-64.2, AB-64.3, AB-64.4, AB-64.5, AB-64.6, AB-64.7, AB-64.8, AB-64.1.1, AB-64.1.2, AB-64.1.3, AB-64.1.4, AB-64.1.5, AB-64.1.6, AB-64.1.7, AB-64.1.8, AB-64.1.9, AB-64.1.10, AB-64.1.11, AB-64.1.12, AB-64.1.13, AB-64.1.14, AB-64.1.15, AB-H2, AB-H9, AB-H14, AB-H15, AB-H63, AB-H64, AB-H65, AB-H66, и любой

их комбинации, с CD33, на по меньшей мере 50%, по меньшей мере 55%, на по меньшей мере 60%, по меньшей мере 65%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, или 100%, по сравнению со связыванием с CD33 в отсутствие анти-CD33 антитела. В некоторых вариантах осуществления, анти-CD33 антитело согласно настоящему раскрытию, которое снижает связывание одного или нескольких антител, выбранных из АВ-14.1, АВ-14.2, АВ-14.3, АВ-14.4, АВ-14.5, АВ-14.6, АВ-14.7, АВ-14.8, АВ-14.9, АВ-14.10, АВ-14.11, АВ-63.4, АВ-63.5, АВ-63.6, АВ-63.7, АВ-63.8, АВ-63.9, АВ-63.10, АВ-63.11, АВ-63.12, АВ-63.13, АВ-63.14, АВ-63.15, АВ-63.16, АВ-63.17, АВ-63.18, АВ-64.1, АВ-64.2, АВ-64.3, АВ-64.4, АВ-64.5, АВ-64.6, АВ-64.7, АВ-64.8, АВ-64.1.1, АВ-64.1.2, АВ-64.1.3, АВ-64.1.4, АВ-64.1.5, АВ-64.1.6, АВ-64.1.7, АВ-64.1.8, АВ-64.1.9, АВ-64.1.10, АВ-64.1.11, АВ-64.1.12, АВ-64.1.13, АВ-64.1.14, АВ-64.1.15, АВ-Н2, АВ-Н9, АВ-Н14, АВ-Н15, АВ-Н63, АВ-Н64, АВ-Н65, АВ-Н66, и любой их комбинации, с CD33 на 100%, указывает на то, что анти-CD33 антитело по существу полностью блокирует связывание одного или нескольких антител, выбранных из АВ-14.1, АВ-14.2, АВ-14.3, АВ-14.4, АВ-14.5, АВ-14.6, АВ-14.7, АВ-14.8, АВ-14.9, АВ-14.10, АВ-14.11, АВ-63.4, АВ-63.5, АВ-63.6, АВ-63.7, АВ-63.8, АВ-63.9, АВ-63.10, АВ-63.11, АВ-63.12, АВ-63.13, АВ-63.14, АВ-63.15, АВ-63.16, АВ-63.17, АВ-63.18, АВ-64.1, АВ-64.2, АВ-64.3, АВ-64.4, АВ-64.5, АВ-64.6, АВ-64.7, АВ-64.8, АВ-64.1.1, АВ-64.1.2, АВ-64.1.3, АВ-64.1.4, АВ-64.1.5, АВ-64.1.6, АВ-64.1.7, АВ-64.1.8, АВ-64.1.9, АВ-64.1.10, АВ-64.1.11, АВ-64.1.12, АВ-64.1.13, АВ-64.1.14, АВ-64.1.15, АВ-Н2, АВ-Н9, АВ-Н14, АВ-Н15, АВ-Н63, АВ-Н64, АВ-Н65, АВ-Н66, и любой их комбинации, с CD33. В некоторых вариантах осуществления, анти-CD33 антитело и одно или несколько антител, выбранных из АВ-14.1, АВ-14.2, АВ-14.3, АВ-14.4, АВ-14.5, АВ-14.6, АВ-14.7, АВ-14.8, АВ-14.9, АВ-14.10, АВ-14.11, АВ-63.4, АВ-63.5, АВ-63.6, АВ-63.7, АВ-63.8, АВ-63.9, АВ-63.10, АВ-63.11, АВ-63.12, АВ-63.13, АВ-63.14, АВ-63.15, АВ-63.16, АВ-63.17, АВ-63.18, АВ-64.1, АВ-64.2, АВ-64.3, АВ-64.4, АВ-64.5, АВ-64.6, АВ-64.7, АВ-64.8, АВ-64.1.1, АВ-64.1.2, АВ-64.1.3, АВ-64.1.4, АВ-64.1.5, АВ-64.1.6, АВ-64.1.7, АВ-64.1.8, АВ-64.1.9, АВ-64.1.10, АВ-64.1.11, АВ-64.1.12, АВ-64.1.13, АВ-64.1.14, АВ-64.1.15, АВ-Н2, АВ-Н9, АВ-Н14, АВ-Н15, АВ-Н63, АВ-Н64, АВ-Н65, АВ-Н66, и любой их комбинации, присутствуют в количествах, которые соответствуют соотношению 10:1, соотношению 9:1, соотношению 8:1, соотношению 7:1, соотношению 6:1, соотношению 5:1, соотношению 4:1, соотношению 3:1, соотношению 2:1, соотношению 1:1, соотношению 0,75:1, соотношению 0,5:1, соотношению 0,25:1, соотношению 0,1:1, соотношению 0,075:1, соотношению 0,050:1, соотношению 0,025:1, соотношению 0,01:1, соотношению 0,0075:1, соотношению 0,0050:1, соотношению 0,0025:1, соотношению 0,001:1, соотношению 0,00075:1, соотношению 0,00050:1, соотношению 0,00025:1, соотношению 0,0001:, соотношению 1:10, соотношению 1:9, соотношению 1:8, соотношению 1:7, соотношению 1:6, соотношению 1:5, соотношению 1:4, соотношению 1:3, соотношению 1:2, соотношению 1:0,75, соотношению 1:0,5, соотношению 1:0,25, соотношению 1:0,1,

соотношению 1:0,075, соотношению 1:0,050, соотношению 1:0,025, соотношению 1:0,01, соотношению 1:0,0075, соотношению 1:0,0050, соотношению 1:0,0025, соотношению 1:0,001, соотношению 1:0,00075, соотношению 1:0,00050, соотношению 1:0,00025, или соотношению 1:0,0001, анти-CD33 антитела с одним или несколькими антителами, выбранными из АВ-14.1, АВ-14.2, АВ-14.3, АВ-14.4, АВ-14.5, АВ-14.6, АВ-14.7, АВ-14.8, АВ-14.9, АВ-14.10, АВ-14.11, АВ-63.4, АВ-63.5, АВ-63.6, АВ-63.7, АВ-63.8, АВ-63.9, АВ-63.10, АВ-63.11, АВ-63.12, АВ-63.13, АВ-63.14, АВ-63.15, АВ-63.16, АВ-63.17, АВ-63.18, АВ-64.1, АВ-64.2, АВ-64.3, АВ-64.4, АВ-64.5, АВ-64.6, АВ-64.7, АВ-64.8, АВ-64.1.1, АВ-64.1.2, АВ-64.1.3, АВ-64.1.4, АВ-64.1.5, АВ-64.1.6, АВ-64.1.7, АВ-64.1.8, АВ-64.1.9, АВ-64.1.10, АВ-64.1.11, АВ-64.1.12, АВ-64.1.13, АВ-64.1.14, АВ-64.1.15, АВ-Н2, АВ-Н9, АВ-Н14, АВ-Н15, АВ-Н63, АВ-Н64, АВ-Н65, АВ-Н66, и любой их комбинации. В некоторых вариантах осуществления, анти-CD33 антитело присутствует в избытке в диапазоне значений от приблизительно 1,5-кратного до 100-кратного, или больше 100-кратного, по сравнению с количеством одного или нескольких антител, выбранных из АВ-14.1, АВ-14.2, АВ-14.3, АВ-14.4, АВ-14.5, АВ-14.6, АВ-14.7, АВ-14.8, АВ-14.9, АВ-14.10, АВ-14.11, АВ-63.4, АВ-63.5, АВ-63.6, АВ-63.7, АВ-63.8, АВ-63.9, АВ-63.10, АВ-63.11, АВ-63.12, АВ-63.13, АВ-63.14, АВ-63.15, АВ-63.16, АВ-63.17, АВ-63.18, АВ-64.1, АВ-64.2, АВ-64.3, АВ-64.4, АВ-64.5, АВ-64.6, АВ-64.7, АВ-64.8, АВ-64.1.1, АВ-64.1.2, АВ-64.1.3, АВ-64.1.4, АВ-64.1.5, АВ-64.1.6, АВ-64.1.7, АВ-64.1.8, АВ-64.1.9, АВ-64.1.10, АВ-64.1.11, АВ-64.1.12, АВ-64.1.13, АВ-64.1.14, АВ-64.1.15, АВ-Н2, АВ-Н9, АВ-Н14, АВ-Н15, АВ-Н63, АВ-Н64, АВ-Н65, АВ-Н66, и любой их комбинации. В некоторых вариантах осуществления, анти-CD33 антитело присутствует в количестве, являющимся примерно 2-кратным, 3-кратным, 4-кратным, 5-кратным, 6-кратным, 7-кратным, 8-кратным, 9-кратным, 10-кратным, 15-кратным, 20-кратным, 25-кратным, 30-кратным, 35-кратным, 40-кратным, 45-кратным, 50-кратным, 55-кратным, 60-кратным, 65-кратным, 70-кратным, 75-кратным, 80-кратным, 85-кратным, 90-кратным, 95-кратным, или 100-кратным избытком по сравнению с количеством одного или нескольких антител, выбранных из АВ-14.1, АВ-14.2, АВ-14.3, АВ-14.4, АВ-14.5, АВ-14.6, АВ-14.7, АВ-14.8, АВ-14.9, АВ-14.10, АВ-14.11, АВ-63.4, АВ-63.5, АВ-63.6, АВ-63.7, АВ-63.8, АВ-63.9, АВ-63.10, АВ-63.11, АВ-63.12, АВ-63.13, АВ-63.14, АВ-63.15, АВ-63.16, АВ-63.17, АВ-63.18, АВ-64.1, АВ-64.2, АВ-64.3, АВ-64.4, АВ-64.5, АВ-64.6, АВ-64.7, АВ-64.8, АВ-64.1.1, АВ-64.1.2, АВ-64.1.3, АВ-64.1.4, АВ-64.1.5, АВ-64.1.6, АВ-64.1.7, АВ-64.1.8, АВ-64.1.9, АВ-64.1.10, АВ-64.1.11, АВ-64.1.12, АВ-64.1.13, АВ-64.1.14, АВ-64.1.15, АВ-Н2, АВ-Н9, АВ-Н14, АВ-Н15, АВ-Н63, АВ-Н64, АВ-Н65, АВ-Н66, и любой их комбинации.

[0154] В некоторых вариантах осуществления, анти-CD33 антитела согласно настоящему раскрытию связываются с эпитопом человеческого CD33, который является таким же или перекрывается с эпитопом CD33, связываемым по меньшей мере одним антителом, выбранным из любых антител, указанных в Таблицах **3А-3С**, **4А-4С**, **5А-5D**, **6А-6D**, **7** и **8**. В некоторых вариантах осуществления, анти-CD33 антитела согласно

настоящему раскрытию связываются с эпитопом человеческого CD33, который является таким же или перекрывается с эпитопом CD33, связываемым по меньшей мере одним антителом, выбранным из АВ-14.1, АВ-14.2, АВ-14.3, АВ-14.4, АВ-14.5, АВ-14.6, АВ-14.7, АВ-14.8, АВ-14.9, АВ-14.10, АВ-14.11, АВ-63.4, АВ-63.5, АВ-63.6, АВ-63.7, АВ-63.8, АВ-63.9, АВ-63.10, АВ-63.11, АВ-63.12, АВ-63.13, АВ-63.14, АВ-63.15, АВ-63.16, АВ-63.17, АВ-63.18, АВ-64.1, АВ-64.2, АВ-64.3, АВ-64.4, АВ-64.5, АВ-64.6, АВ-64.7, АВ-64.8, АВ-64.1.1, АВ-64.1.2, АВ-64.1.3, АВ-64.1.4, АВ-64.1.5, АВ-64.1.6, АВ-64.1.7, АВ-64.1.8, АВ-64.1.9, АВ-64.1.10, АВ-64.1.11, АВ-64.1.12, АВ-64.1.13, АВ-64.1.14, АВ-64.1.15, АВ-Н2, АВ-Н9, АВ-Н14, АВ-Н15, АВ-Н63, АВ-Н64, АВ-Н65, АВ-Н66.

[0155] В некоторых вариантах осуществления, анти-CD33 антитела согласно настоящему раскрытию связывают по существу тот же эпитоп CD33, что и связываемый по меньшей мере одним антителом, выбранным из любых антител, указанных в Таблицах **3А-3С, 4А-4С, 5А-5D, 6А-6D, 7 и 8**. В некоторых вариантах осуществления, анти-CD33 антитела согласно настоящему раскрытию связывают по существу тот же эпитоп CD33, что и связываемый по меньшей мере одним антителом, выбранным из АВ-14.1, АВ-14.2, АВ-14.3, АВ-14.4, АВ-14.5, АВ-14.6, АВ-14.7, АВ-14.8, АВ-14.9, АВ-14.10, АВ-14.11, АВ-63.4, АВ-63.5, АВ-63.6, АВ-63.7, АВ-63.8, АВ-63.9, АВ-63.10, АВ-63.11, АВ-63.12, АВ-63.13, АВ-63.14, АВ-63.15, АВ-63.16, АВ-63.17, АВ-63.18, АВ-64.1, АВ-64.2, АВ-64.3, АВ-64.4, АВ-64.5, АВ-64.6, АВ-64.7, АВ-64.8, АВ-64.1.1, АВ-64.1.2, АВ-64.1.3, АВ-64.1.4, АВ-64.1.5, АВ-64.1.6, АВ-64.1.7, АВ-64.1.8, АВ-64.1.9, АВ-64.1.10, АВ-64.1.11, АВ-64.1.12, АВ-64.1.13, АВ-64.1.14, АВ-64.1.15, АВ-Н2, АВ-Н9, АВ-Н14, АВ-Н15, АВ-Н63, АВ-Н64, АВ-Н65, АВ-Н66. Подробное описание типичных методов картирования эпитопа, с которым связывается антитело, приведены Morris (1996) "Epitope Mapping Protocols", в Methods in Molecular Biology vol. 66 (Humana Press, Totowa, NJ).

[0156] В некоторых вариантах осуществления, анти-CD33 антитела согласно настоящему раскрытию конкурируют с одним или несколькими антителами, выбранными из АВ-14.1, АВ-14.2, АВ-14.3, АВ-14.4, АВ-14.5, АВ-14.6, АВ-14.7, АВ-14.8, АВ-14.9, АВ-14.10, АВ-14.11, АВ-63.4, АВ-63.5, АВ-63.6, АВ-63.7, АВ-63.8, АВ-63.9, АВ-63.10, АВ-63.11, АВ-63.12, АВ-63.13, АВ-63.14, АВ-63.15, АВ-63.16, АВ-63.17, АВ-63.18, АВ-64.1, АВ-64.2, АВ-64.3, АВ-64.4, АВ-64.5, АВ-64.6, АВ-64.7, АВ-64.8, АВ-64.1.1, АВ-64.1.2, АВ-64.1.3, АВ-64.1.4, АВ-64.1.5, АВ-64.1.6, АВ-64.1.7, АВ-64.1.8, АВ-64.1.9, АВ-64.1.10, АВ-64.1.11, АВ-64.1.12, АВ-64.1.13, АВ-64.1.14, АВ-64.1.15, АВ-Н2, АВ-Н9, АВ-Н14, АВ-Н15, АВ-Н63, АВ-Н64, АВ-Н65, АВ-Н66, и любой их комбинации, за связывание с CD33.

[0157] Любой пригодный конкурентный анализ или анализ связывания CD33, известный специалистам, такой как анализ ВІАcore, ИФА-анализы или проточная цитометрия, может быть использован для определения того, конкурирует ли анти-CD33 антитело с одним или несколькими антителами, выбранными из АВ-14.1, АВ-14.2, АВ-14.3, АВ-14.4, АВ-14.5, АВ-14.6, АВ-14.7, АВ-14.8, АВ-14.9, АВ-14.10, АВ-14.11, АВ-63.4, АВ-63.5, АВ-63.6, АВ-63.7, АВ-63.8, АВ-63.9, АВ-63.10, АВ-63.11, АВ-63.12, АВ-

63.13, АВ-63.14, АВ-63.15, АВ-63.16, АВ-63.17, АВ-63.18, АВ-64.1, АВ-64.2, АВ-64.3, АВ-64.4, АВ-64.5, АВ-64.6, АВ-64.7, АВ-64.8, АВ-64.1.1, АВ-64.1.2, АВ-64.1.3, АВ-64.1.4, АВ-64.1.5, АВ-64.1.6, АВ-64.1.7, АВ-64.1.8, АВ-64.1.9, АВ-64.1.10, АВ-64.1.11, АВ-64.1.12, АВ-64.1.13, АВ-64.1.14, АВ-64.1.15, АВ-Н2, АВ-Н9, АВ-Н14, АВ-Н15, АВ-Н63, АВ-Н64, АВ-Н65, АВ-Н66, и любой их комбинации, за связывание с CD33. В типичном примере конкурентного анализа, иммобилизованный CD33 или клетки, экспрессирующие CD33 на поверхности клетки, инкубируют в растворе, содержащем первое меченое антитело, которое связывается с CD33 (например, человеческое или принадлежащее не являющемуся человеком примату), и второе немеченое антитело, которое тестируют на его способность конкурировать с первым антителом за связывание с CD33. Второе антитело может присутствовать в супернатанте гибридомы. В качестве контроля, иммобилизованный CD33 или клетки, экспрессирующие CD33, инкубируют в растворе, содержащем первое меченое антитело, но не второе немеченое антитело. После инкубации в условиях, пермиссивных для связывания первого антитела с CD33, избыток несвязанного антитела удаляют, и измеряют количество метки, связанной с иммобилизованным CD33 или клетками, экспрессирующими CD33. Если количество метки, связанной с иммобилизованным CD33 или клетками, экспрессирующими CD33, существенно снижено в тестируемом образце по сравнению с контрольным образцом, то это указывает, что второе антитело конкурирует с первым антителом за связывание с CD33. См., Harlow and Lane (1988) *Antibodies: A Laboratory Manual* ch,14 (Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, NY).

Вариабельные области легкой цепи и тяжелой цепи анти-антитела CD33

[0158] В некоторых вариантах осуществления, анти-CD33 антитела согласно настоящему раскрытию содержат вариабельную область тяжелой цепи, содержащую один или более (например, один или больше, два или больше, или все три) HVR, выбранных из HVR-H1, HVR-H2 и HVR-H3 (как указано в Таблицах 3A-3C). В некоторых вариантах осуществления, вариабельная область тяжелой цепи содержит HVR-H1, HVR-H2 и HVR-H3 (как указано в Таблицах 3A-3C). В некоторых вариантах осуществления, антитело не является антителом, содержащим вариабельную область тяжелой цепи, содержащую HVR-H1, содержащий последовательность GYTFTDYNLH (SEQ ID NO: 105), HVR-H2, содержащий последовательность FIYPSNGITG (SEQ ID NO: 115), и HVR-H3, содержащий последовательность STVDYFDY (SEQ ID NO: 121).

[0159] В некоторых вариантах осуществления, HVR-H1 содержит последовательность в соответствии с Формулой I: $GX_1X_2X_3TDYNX_4H$ (SEQ ID NO: 152), где X_1 представляет собой Y, A, или V, X_2 представляет собой T или A, X_3 представляет собой F, E или H, и X_4 представляет собой L, F, Y или N. В некоторых вариантах осуществления, HVR-H1 содержит последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 105-114. В некоторых вариантах осуществления, HVR-H2 содержит последовательность в соответствии с Формулой II: $FIYPX_1NX_2IX_3G$ (SEQ ID NO: 153), где X_1 представляет собой S или A, X_2 представляет собой G, Q, R или V, и X_3 представляет собой T или R. В

некоторых вариантах осуществления, HVR–H2 содержит последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 115–120. В некоторых вариантах осуществления, HVR–H3 содержит последовательность в соответствии с Формулой III: $SX_1VDYFDX_2$ (SEQ ID NO: 154), где X_1 представляет собой T, D, F, или S, и X_2 представляет собой Y, D или L. В некоторых вариантах осуществления, HVR–H3 содержит последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 121–126.

[0160] В некоторых вариантах осуществления, переменная область тяжелой цепи содержит HVR–H1 в соответствии с Формулой I, HVR–H2 в соответствии с Формулой II, и HVR–H3 в соответствии с Формулой III, и антитело не является антителом, содержащим переменную область тяжелой цепи, содержащую HVR–H1, содержащий последовательность GYTFTDYNLH (SEQ ID NO: 105), HVR–H2, содержащий последовательность FIYPSNGITG (SEQ ID NO: 115), и HVR–H3, содержащий последовательность STVDYFDY (SEQ ID NO: 121). В некоторых вариантах осуществления, переменная область тяжелой цепи содержит HVR–H1, содержащий последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 105–114, и HVR–H2, содержащий последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 115–120, и HVR–H3, содержащий последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 121–126, и антитело не является антителом, содержащим переменную область тяжелой цепи, содержащую HVR–H1, содержащий последовательность GYTFTDYNLH (SEQ ID NO: 105), HVR–H2, содержащий последовательность FIYPSNGITG (SEQ ID NO: 115), и HVR–H3, содержащий последовательность STVDYFDY (SEQ ID NO: 121).

[0161] В некоторых вариантах осуществления, переменная область тяжелой цепи содержит HVR–H1, HVR–H2 и HVR–H3 антитела AB–14.1, AB–14.2, AB–14.3, AB–14.4, AB–14.5, AB–14.6, AB–14.7, AB–14.8, AB–14.9, AB–14.10, AB–14.11, AB–63.4, AB–63.5, AB–63.8, AB–63.9, AB–63.10, AB–63.11, AB–63.12, AB–63.13, AB–63.14, AB–63.15, AB–63.16, AB–63.17, AB–63.18, AB–64.1, AB–64.3, AB–64.4, AB–64.5, AB–64.6, AB–64.7, AB–64.8, AB–64.1.1, AB–64.1.2, AB–64.1.3, AB–64.1.4, AB–64.1.5, AB–64.1.6, AB–64.1.7, AB–64.1.8, AB–64.1.9, AB–64.1.10, AB–64.1.11, AB–64.1.12, AB–64.1.13, AB–64.1.14, или AB–64.1.15, и любой их комбинации (как указано в Таблицах 3A–3C).

[0162] В некоторых вариантах осуществления, анти–CD33 антитела согласно настоящему раскрытию содержат переменную область тяжелой цепи, при этом переменная область тяжелой цепи содержит один или более из: (a) HVR–H1, содержащего аминокислотную последовательность с по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99%, или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью HVR–H1 антитела AB–14.1, AB–14.2, AB–14.3, AB–14.4, AB–14.5, AB–14.6, AB–14.7, AB–14.8, AB–14.9, AB–14.10, AB–14.11, AB–63.4, AB–63.5, AB–63.6, AB–63.7, AB–63.8, AB–63.9, AB–63.10, AB–63.11, AB–63.12, AB–

63.13, АВ-63.14, АВ-63.15, АВ-63.16, АВ-63.17, АВ-63.18, АВ-64.1, АВ-64.2, АВ-64.3, АВ-64.4, АВ-64.5, АВ-64.6, АВ-64.7, АВ-64.8, АВ-64.1.1, АВ-64.1.2, АВ-64.1.3, АВ-64.1.4, АВ-64.1.5, АВ-64.1.6, АВ-64.1.7, АВ-64.1.8, АВ-64.1.9, АВ-64.1.10, АВ-64.1.11, АВ-64.1.12, АВ-64.1.13, АВ-64.1.14, или АВ-64.1.15; (b) HVR-H2, содержащего аминокислотную последовательность с по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99%, или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью HVR-H2 антитела АВ-14.1, АВ-14.2, АВ-14.3, АВ-14.4, АВ-14.5, АВ-14.6, АВ-14.7, АВ-14.8, АВ-14.9, АВ-14.10, АВ-14.11, АВ-63.4, АВ-63.5, АВ-63.6, АВ-63.7, АВ-63.8, АВ-63.9, АВ-63.10, АВ-63.11, АВ-63.12, АВ-63.13, АВ-63.14, АВ-63.15, АВ-63.16, АВ-63.17, АВ-63.18, АВ-64.1, АВ-64.2, АВ-64.3, АВ-64.4, АВ-64.5, АВ-64.6, АВ-64.7, АВ-64.8, АВ-64.1.1, АВ-64.1.2, АВ-64.1.3, АВ-64.1.4, АВ-64.1.5, АВ-64.1.6, АВ-64.1.7, АВ-64.1.8, АВ-64.1.9, АВ-64.1.10, АВ-64.1.11, АВ-64.1.12, АВ-64.1.13, АВ-64.1.14, или АВ-64.1.15; и (c) HVR-H3, содержащего аминокислотную последовательность с по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99%, или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью HVR-H3 антитела АВ-14.1, АВ-14.2, АВ-14.3, АВ-14.4, АВ-14.5, АВ-14.6, АВ-14.7, АВ-14.8, АВ-14.9, АВ-14.10, АВ-14.11, АВ-63.4, АВ-63.5, АВ-63.6, АВ-63.7, АВ-63.8, АВ-63.9, АВ-63.10, АВ-63.11, АВ-63.12, АВ-63.13, АВ-63.14, АВ-63.15, АВ-63.16, АВ-63.17, АВ-63.18, АВ-64.1, АВ-64.2, АВ-64.3, АВ-64.4, АВ-64.5, АВ-64.6, АВ-64.7, АВ-64.8, АВ-64.1.1, АВ-64.1.2, АВ-64.1.3, АВ-64.1.4, АВ-64.1.5, АВ-64.1.6, АВ-64.1.7, АВ-64.1.8, АВ-64.1.9, АВ-64.1.10, АВ-64.1.11, АВ-64.1.12, АВ-64.1.13, АВ-64.1.14, или АВ-64.1.15, и антитело не является антителом, содержащим вариабельную область тяжелой цепи, содержащую HVR-H1, содержащий последовательность GYTFTDYNLH (SEQ ID NO: 105), HVR-H2, содержащий последовательность FIYPSNGITG (SEQ ID NO: 115), и HVR-H3, содержащий последовательность STVDYFDY (SEQ ID NO: 121).

[0163] В некоторых вариантах осуществления, анти-CD33 антитела согласно настоящему раскрытию содержат HVR-H1, содержащий аминокислотную последовательность GYTFTDYNLH (SEQ ID NO: 105), HVR-H2, содержащий аминокислотную последовательность FIYPSNRITG (SEQ ID NO: 119), и HVR-H3, содержащий аминокислотную последовательность SDVDYFDY (SEQ ID NO: 122). В некоторых вариантах осуществления, анти-CD33 антитела согласно настоящему раскрытию содержат HVR-H1, содержащий аминокислотную последовательность GYTFTDYNLH (SEQ ID NO: 105), HVR-H2, содержащий аминокислотную последовательность FIYPSNQITG (SEQ ID NO: 118), и HVR-H3, содержащий

аминокислотную последовательность SDVDYFDY (SEQ ID NO: 122).

[0164] В некоторых вариантах осуществления, анти-CD33 антитела согласно настоящему раскрытию содержат вариабельную область легкой цепи, содержащую один или более (например, один или больше, два или больше, или все три) HVR, выбранных из HVR-L1, HVR-L2 и HVR-L3 (как указано в Таблицах 4A-4C). В некоторых вариантах осуществления, вариабельная область легкой цепи содержит HVR-L1, HVR-L2 и HVR-L3 (как указано в Таблицах 4A-4C). В некоторых вариантах осуществления, антитело не является антителом, содержащим вариабельную область легкой цепи, содержащую HVR-L1, содержащий последовательность RASQSVSTSTYSYMH (SEQ ID NO: 127), HVR-L2, содержащий последовательность YASNLES (SEQ ID NO: 135), и HVR-L3, содержащий последовательность QHSWEIPLT (SEQ ID NO: 146).

[0165] В некоторых вариантах осуществления, HVR-L1 содержит последовательность в соответствии с Формулой IV: $X_1X_2SQX_3VX_4X_5STYSYMH$ (SEQ ID NO: 155), где X_1 представляет собой R или K, X_2 представляет собой A, G, или V, X_3 представляет собой S или D, X_4 представляет собой S, G, или H, и X_5 представляет собой T или A. В некоторых вариантах осуществления, HVR-L1 содержит последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 127-134. В некоторых вариантах осуществления, HVR-L2 содержит последовательность в соответствии с Формулой V: $YX_1X_2X_3X_4X_5S$ (SEQ ID NO: 156), где X_1 представляет собой A, V или E, X_2 представляет собой S, V или F, X_3 представляет собой N, A, Y или F, X_4 представляет собой L или V, и X_5 представляет собой E, G, или N. В некоторых вариантах осуществления, HVR-L2 содержит последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 135-145. В некоторых вариантах осуществления, HVR-L3 содержит последовательность в соответствии с Формулой VI: $X_1HSX_2X_3X_4PLX_5$ (SEQ ID NO: 157), где X_1 представляет собой Q или E, X_2 представляет собой W или E, X_3 представляет собой E или A, X_4 представляет собой I или L, и X_5 представляет собой T или E. В некоторых вариантах осуществления, HVR-L3 содержит последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 146-151.

[0166] В некоторых вариантах осуществления, вариабельная область легкой цепи содержит HVR-L1 в соответствии с Формулой IV, HVR-L2 в соответствии с Формулой V, и HVR-L3 в соответствии с Формулой VI, и антитело не является антителом, содержащим вариабельную область легкой цепи, содержащую HVR-L1, содержащий последовательность RASQSVSTSTYSYMH (SEQ ID NO: 127), HVR-L2, содержащий последовательность YASNLES (SEQ ID NO: 135), и HVR-L3, содержащий последовательность QHSWEIPLT (SEQ ID NO: 146). В некоторых вариантах осуществления, вариабельная область легкой цепи содержит HVR-L1, содержащий последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 127-134, и HVR-L2, содержащий последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 135-145, и HVR-L3, содержащий последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 146-151, и антитело не является антителом, содержащим вариабельную область легкой цепи, содержащую HVR-L1, содержащий последовательность RASQSVSTSTYSYMH (SEQ ID NO: 127), HVR-L2,

содержащий последовательность YASNLES (SEQ ID NO: 135), и HVR-L3, содержащий последовательность QHSWEIPLT (SEQ ID NO: 146).

[0167] В некоторых вариантах осуществления, вариабельная область легкой цепи содержит HVR-L1, HVR-L2 и HVR-L3 антитела AB-14.3, AB-14.4, AB-14.6, AB-14.7, AB-14.8, AB-14.9, AB-14.10, AB-14.11, AB-63.6, AB-63.7, AB-63.8, AB-63.9, AB-63.10, AB-63.11, AB-63.12, AB-63.14, AB-63.15, AB-63.16, AB-63.17, AB-63.18, AB-64.2, AB-64.3, AB-64.4, AB-64.5, AB-64.6, AB-64.7, или AB-64.8, и любой их комбинации (как указано в Таблицах 4A-4C).

[0168] В некоторых вариантах осуществления, анти-CD33 антитела согласно настоящему раскрытию содержат вариабельную область легкой цепи, при этом вариабельная область легкой цепи содержит один или более из: (a) HVR-L1, содержащего аминокислотную последовательность с по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99%, или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью HVR-L1 антитела AB-14.1, AB-14.2, AB-14.3, AB-14.4, AB-14.5, AB-14.6, AB-14.7, AB-14.8, AB-14.9, AB-14.10, AB-14.11, AB-63.4, AB-63.5, AB-63.6, AB-63.7, AB-63.8, AB-63.9, AB-63.10, AB-63.11, AB-63.12, AB-63.13, AB-63.14, AB-63.15, AB-63.16, AB-63.17, AB-63.18, AB-64.1, AB-64.2, AB-64.3, AB-64.4, AB-64.5, AB-64.6, AB-64.7, AB-64.8, AB-64.1.1, AB-64.1.2, AB-64.1.3, AB-64.1.4, AB-64.1.5, AB-64.1.6, AB-64.1.7, AB-64.1.8, AB-64.1.9, AB-64.1.10, AB-64.1.11, AB-64.1.12, AB-64.1.13, AB-64.1.14, или AB-64.1.15; (b) HVR-L2, содержащего аминокислотную последовательность с по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99%, или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью HVR-L2 антитела AB-14.1, AB-14.2, AB-14.3, AB-14.4, AB-14.5, AB-14.6, AB-14.7, AB-14.8, AB-14.9, AB-14.10, AB-14.11, AB-63.4, AB-63.5, AB-63.6, AB-63.7, AB-63.8, AB-63.9, AB-63.10, AB-63.11, AB-63.12, AB-63.13, AB-63.14, AB-63.15, AB-63.16, AB-63.17, AB-63.18, AB-64.1, AB-64.2, AB-64.3, AB-64.4, AB-64.5, AB-64.6, AB-64.7, AB-64.8, AB-64.1.1, AB-64.1.2, AB-64.1.3, AB-64.1.4, AB-64.1.5, AB-64.1.6, AB-64.1.7, AB-64.1.8, AB-64.1.9, AB-64.1.10, AB-64.1.11, AB-64.1.12, AB-64.1.13, AB-64.1.14, или AB-64.1.15; и (c) HVR-L3, содержащего аминокислотную последовательность с по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99%, или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью HVR-L3 антитела AB-14.1, AB-

14.2, AB-14.3, AB-14.4, AB-14.5, AB-14.6, AB-14.7, AB-14.8, AB-14.9, AB-14.10, AB-14.11, AB-63.4, AB-63.5, AB-63.6, AB-63.7, AB-63.8, AB-63.9, AB-63.10, AB-63.11, AB-63.12, AB-63.13, AB-63.14, AB-63.15, AB-63.16, AB-63.17, AB-63.18, AB-64.1, AB-64.2, AB-64.3, AB-64.4, AB-64.5, AB-64.6, AB-64.7, AB-64.8, AB-64.1.1, AB-64.1.2, AB-64.1.3, AB-64.1.4, AB-64.1.5, AB-64.1.6, AB-64.1.7, AB-64.1.8, AB-64.1.9, AB-64.1.10, AB-64.1.11, AB-64.1.12, AB-64.1.13, AB-64.1.14, или AB-64.1.15, и антители не являются антителом, содержащим вариабельную область легкой цепи, содержащую HVR-L1, содержащий последовательность RASQSVSTSTYSYMH (SEQ ID NO: 127), HVR-L2, содержащий последовательность YASNLES (SEQ ID NO: 135), и HVR-L3, содержащий последовательность QHSWEIPLT (SEQ ID NO: 146).

[0169] В некоторых вариантах осуществления, анти-CD33 антитела согласно настоящему раскрытию содержат HVR-L1, содержащий аминокислотную последовательность RASQSVSTSTYSYMH (SEQ ID NO: 127), HVR-L2, содержащий аминокислотную последовательность YASNLES (SEQ ID NO: 135), и HVR-L3, содержащий аминокислотную последовательность QHSWEIPLT (SEQ ID NO: 146). В некоторых вариантах осуществления, анти-CD33 антитела согласно настоящему раскрытию содержат HVR-L1, содержащий аминокислотную последовательность RASQSVSTSTYSYMH (SEQ ID NO: 127), HVR-L2, содержащий аминокислотную последовательность YASNLES (SEQ ID NO: 135), и HVR-L3, содержащий аминокислотную последовательность QHSWEIPLT (SEQ ID NO: 146).

[0170] В некоторых вариантах осуществления, анти-CD33 антитела согласно настоящему раскрытию содержат вариабельную область тяжелой цепи, содержащую один или более (например, один или больше, два или больше, или все три) HVR, выбранных из HVR-H1, HVR-H2 и HVR-H3 (как указано в Таблицах 3A-3C), и вариабельную область легкой цепи, содержащую один или более (например, один или больше, два или больше, или все три) HVR, выбранных из HVR-L1, HVR-L2 и HVR-L3 (как указано в Таблицах 4A-4C). В некоторых вариантах осуществления, вариабельная область тяжелой цепи содержит HVR-H1, HVR-H2 и HVR-H3 (как указано в Таблицах 3A-3C), и вариабельная область легкой цепи содержит HVR-L1, HVR-L2 и HVR-L3 (как указано в Таблицах 4A-4C). В некоторых вариантах осуществления, антитело не является антителом, содержащим вариабельную область тяжелой цепи, содержащую HVR-H1, содержащий последовательность GYTFTDYNLH (SEQ ID NO: 105), HVR-H2, содержащий последовательность FIYPSNGITG (SEQ ID NO: 115), и HVR-H3, содержащий последовательность STVDYFDY (SEQ ID NO: 121), и вариабельную область легкой цепи, содержащую HVR-L1, содержащий последовательность RASQSVSTSTYSYMH (SEQ ID NO: 127), HVR-L2, содержащий последовательность YASNLES (SEQ ID NO: 135), и HVR-L3, содержащий последовательность QHSWEIPLT (SEQ ID NO: 146).

[0171] В некоторых вариантах осуществления, вариабельная область тяжелой цепи содержит HVR-H1 в соответствии с Формулой I, HVR-H2 в соответствии с Формулой II, и HVR-H3 в соответствии с Формулой III, и вариабельная область легкой цепи содержит

HVR–L1 в соответствии с Формулой IV, HVR–L2 в соответствии с Формулой V, и HVR–L3 в соответствии с Формулой VI, и антитело не является антителом, содержащим переменную область тяжелой цепи, содержащую HVR–H1, содержащий последовательность GYTFTDYNLH (SEQ ID NO: 105), HVR–H2, содержащий последовательность FIYPSNGITG (SEQ ID NO: 115), и HVR–H3, содержащий последовательность STVDYFDY (SEQ ID NO: 121), и переменную область легкой цепи, содержащую HVR–L1, содержащий последовательность RASQSVSTSTYSYMH (SEQ ID NO: 127), HVR–L2, содержащий последовательность YASNLES (SEQ ID NO: 135), и HVR–L3, содержащий последовательность QHSWEIPLT (SEQ ID NO: 146). В некоторых вариантах осуществления, переменная область тяжелой цепи содержит HVR–H1, содержащий последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 105–114, и HVR–H2, содержащий последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 115–120, и HVR–H3, содержащий последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 121–126, и переменная область легкой цепи содержит HVR–L1, содержащий последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 127–134, и HVR–L2, содержащий последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 135–145, и HVR–L3, содержащий последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 146–151, и антитело не является антителом, содержащим переменную область тяжелой цепи, содержащую HVR–H1, содержащий последовательность GYTFTDYNLH (SEQ ID NO: 105), HVR–H2, содержащий последовательность FIYPSNGITG (SEQ ID NO: 115), и HVR–H3, содержащий последовательность STVDYFDY (SEQ ID NO: 121), и переменную область легкой цепи, содержащую HVR–L1, содержащий последовательность RASQSVSTSTYSYMH (SEQ ID NO: 127), HVR–L2, содержащий последовательность YASNLES (SEQ ID NO: 135), и HVR–L3, содержащий последовательность QHSWEIPLT (SEQ ID NO: 146).

[0172] В некоторых вариантах осуществления, анти-CD33 антитела согласно настоящему раскрытию содержат переменную область тяжелой цепи, содержащую HVR–H1, HVR–H2 и HVR–H3 антитела AB–14.1, AB–14.2, AB–14.3, AB–14.4, AB–14.5, AB–14.6, AB–14.7, AB–14.8, AB–14.9, AB–14.10, AB–14.11, AB–63.4, AB–63.5, AB–63.8, AB–63.9, AB–63.10, AB–63.11, AB–63.12, AB–63.13, AB–63.14, AB–63.15, AB–63.16, AB–63.17, AB–63.18, AB–64.1, AB–64.3, AB–64.4, AB–64.5, AB–64.6, AB–64.7, AB–64.8, AB–64.1.1, AB–64.1.2, AB–64.1.3, AB–64.1.4, AB–64.1.5, AB–64.1.6, AB–64.1.7, AB–64.1.8, AB–64.1.9, AB–64.1.10, AB–64.1.11, AB–64.1.12, AB–64.1.13, AB–64.1.14, или AB–64.1.15, и любой их комбинации (как указано в Таблицах 3A–3C); и переменную область легкой цепи, содержащую HVR–L1, HVR–L2 и HVR–L3 антитела AB–14.3, AB–14.4, AB–14.6, AB–14.7, AB–14.8, AB–14.9, AB–14.10, AB–14.11, AB–63.6, AB–63.7, AB–63.8, AB–63.9, AB–63.10, AB–63.11, AB–63.12, AB–63.14, AB–63.15, AB–63.16, AB–63.17, AB–63.18, AB–64.2, AB–64.3, AB–64.4, AB–64.5, AB–64.6, AB–64.7, или AB–64.8, и любой их комбинации (как указано в Таблицах 4A–4C). В некоторых вариантах осуществления, анти-CD33 антитела согласно настоящему раскрытию содержат переменную область тяжелой цепи, содержащую HVR–H1, HVR–H2 и HVR–H3, и переменную область

легкой цепи, содержащую HVR–L1, HVR–L2 и HVR–L3, при этом антитело содержит HVR–H1, HVR–H2, HVR–H3, HVR–L1, HVR–L2 и HVR–L3 антитела АВ–14.1, АВ–14.2, АВ–14.3, АВ–14.4, АВ–14.5, АВ–14.6, АВ–14.7, АВ–14.8, АВ–14.9, АВ–14.10, АВ–14.11, АВ–63.4, АВ–63.5, АВ–63.6, АВ–63.7, АВ–63.8, АВ–63.9, АВ–63.10, АВ–63.11, АВ–63.12, АВ–63.13, АВ–63.14, АВ–63.15, АВ–63.16, АВ–63.17, АВ–63.18, АВ–64.1, АВ–64.2, АВ–64.3, АВ–64.4, АВ–64.5, АВ–64.6, АВ–64.7, АВ–64.8, АВ–64.1.1, АВ–64.1.2, АВ–64.1.3, АВ–64.1.4, АВ–64.1.5, АВ–64.1.6, АВ–64.1.7, АВ–64.1.8, АВ–64.1.9, АВ–64.1.10, АВ–64.1.11, АВ–64.1.12, АВ–64.1.13, АВ–64.1.14, или АВ–64.1.15 (как указано в Таблицах 3А–3С и 4А–4С).

[0173] В некоторых вариантах осуществления, анти–CD33 антитела согласно настоящему раскрытию содержат переменную область тяжелой цепи и переменную область легкой цепи, при этом переменная область тяжелой цепи содержит один или более из: (а) HVR–H1, содержащего аминокислотную последовательность с по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99%, или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью HVR–H1 антитела АВ–14.1, АВ–14.2, АВ–14.3, АВ–14.4, АВ–14.5, АВ–14.6, АВ–14.7, АВ–14.8, АВ–14.9, АВ–14.10, АВ–14.11, АВ–63.4, АВ–63.5, АВ–63.6, АВ–63.7, АВ–63.8, АВ–63.9, АВ–63.10, АВ–63.11, АВ–63.12, АВ–63.13, АВ–63.14, АВ–63.15, АВ–63.16, АВ–63.17, АВ–63.18, АВ–64.1, АВ–64.2, АВ–64.3, АВ–64.4, АВ–64.5, АВ–64.6, АВ–64.7, АВ–64.8, АВ–64.1.1, АВ–64.1.2, АВ–64.1.3, АВ–64.1.4, АВ–64.1.5, АВ–64.1.6, АВ–64.1.7, АВ–64.1.8, АВ–64.1.9, АВ–64.1.10, АВ–64.1.11, АВ–64.1.12, АВ–64.1.13, АВ–64.1.14, или АВ–64.1.15; (b) HVR–H2, содержащего аминокислотную последовательность с по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99%, или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью HVR–H2 антитела АВ–14.1, АВ–14.2, АВ–14.3, АВ–14.4, АВ–14.5, АВ–14.6, АВ–14.7, АВ–14.8, АВ–14.9, АВ–14.10, АВ–14.11, АВ–63.4, АВ–63.5, АВ–63.6, АВ–63.7, АВ–63.8, АВ–63.9, АВ–63.10, АВ–63.11, АВ–63.12, АВ–63.13, АВ–63.14, АВ–63.15, АВ–63.16, АВ–63.17, АВ–63.18, АВ–64.1, АВ–64.2, АВ–64.3, АВ–64.4, АВ–64.5, АВ–64.6, АВ–64.7, АВ–64.8, АВ–64.1.1, АВ–64.1.2, АВ–64.1.3, АВ–64.1.4, АВ–64.1.5, АВ–64.1.6, АВ–64.1.7, АВ–64.1.8, АВ–64.1.9, АВ–64.1.10, АВ–64.1.11, АВ–64.1.12, АВ–64.1.13, АВ–64.1.14, или АВ–64.1.15; и (с) HVR–H3, содержащего аминокислотную последовательность с по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере

мере 98%, по меньшей мере 99%, или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью HVR-H3 антитела АВ-14.1, АВ-14.2, АВ-14.3, АВ-14.4, АВ-14.5, АВ-14.6, АВ-14.7, АВ-14.8, АВ-14.9, АВ-14.10, АВ-14.11, АВ-63.4, АВ-63.5, АВ-63.6, АВ-63.7, АВ-63.8, АВ-63.9, АВ-63.10, АВ-63.11, АВ-63.12, АВ-63.13, АВ-63.14, АВ-63.15, АВ-63.16, АВ-63.17, АВ-63.18, АВ-64.1, АВ-64.2, АВ-64.3, АВ-64.4, АВ-64.5, АВ-64.6, АВ-64.7, АВ-64.8, АВ-64.1.1, АВ-64.1.2, АВ-64.1.3, АВ-64.1.4, АВ-64.1.5, АВ-64.1.6, АВ-64.1.7, АВ-64.1.8, АВ-64.1.9, АВ-64.1.10, АВ-64.1.11, АВ-64.1.12, АВ-64.1.13, АВ-64.1.14, или АВ-64.1.15, и антитело не является антителом, содержащим переменную область тяжелой цепи, содержащую HVR-H1, содержащий последовательность GYTFTDYNLH (SEQ ID NO: 105), HVR-H2, содержащий последовательность FIYPSNGITG (SEQ ID NO: 115), и HVR-H3, содержащий последовательность STVDYFDY (SEQ ID NO: 121); и при этом переменная область легкой цепи содержит один или более из: (а) HVR-L1, содержащего аминокислотную последовательность с по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99%, или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью HVR-L1 антитела АВ-14.1, АВ-14.2, АВ-14.3, АВ-14.4, АВ-14.5, АВ-14.6, АВ-14.7, АВ-14.8, АВ-14.9, АВ-14.10, АВ-14.11, АВ-63.4, АВ-63.5, АВ-63.6, АВ-63.7, АВ-63.8, АВ-63.9, АВ-63.10, АВ-63.11, АВ-63.12, АВ-63.13, АВ-63.14, АВ-63.15, АВ-63.16, АВ-63.17, АВ-63.18, АВ-64.1, АВ-64.2, АВ-64.3, АВ-64.4, АВ-64.5, АВ-64.6, АВ-64.7, АВ-64.8, АВ-64.1.1, АВ-64.1.2, АВ-64.1.3, АВ-64.1.4, АВ-64.1.5, АВ-64.1.6, АВ-64.1.7, АВ-64.1.8, АВ-64.1.9, АВ-64.1.10, АВ-64.1.11, АВ-64.1.12, АВ-64.1.13, АВ-64.1.14, или АВ-64.1.15; (б) HVR-L2, содержащего аминокислотную последовательность с по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99%, или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью HVR-L2 антитела В-14.1, АВ-14.2, АВ-14.3, АВ-14.4, АВ-14.5, АВ-14.6, АВ-14.7, АВ-14.8, АВ-14.9, АВ-14.10, АВ-14.11, АВ-63.4, АВ-63.5, АВ-63.6, АВ-63.7, АВ-63.8, АВ-63.9, АВ-63.10, АВ-63.11, АВ-63.12, АВ-63.13, АВ-63.14, АВ-63.15, АВ-63.16, АВ-63.17, АВ-63.18, АВ-64.1, АВ-64.2, АВ-64.3, АВ-64.4, АВ-64.5, АВ-64.6, АВ-64.7, АВ-64.8, АВ-64.1.1, АВ-64.1.2, АВ-64.1.3, АВ-64.1.4, АВ-64.1.5, АВ-64.1.6, АВ-64.1.7, АВ-64.1.8, АВ-64.1.9, АВ-64.1.10, АВ-64.1.11, АВ-64.1.12, АВ-64.1.13, АВ-64.1.14, или АВ-64.1.15; и (с) HVR-L3, содержащего аминокислотную последовательность с по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере

97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99%, или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью HVR-L3 антитела АВ-14.1, АВ-14.2, АВ-14.3, АВ-14.4, АВ-14.5, АВ-14.6, АВ-14.7, АВ-14.8, АВ-14.9, АВ-14.10, АВ-14.11, АВ-63.4, АВ-63.5, АВ-63.6, АВ-63.7, АВ-63.8, АВ-63.9, АВ-63.10, АВ-63.11, АВ-63.12, АВ-63.13, АВ-63.14, АВ-63.15, АВ-63.16, АВ-63.17, АВ-63.18, АВ-64.1, АВ-64.2, АВ-64.3, АВ-64.4, АВ-64.5, АВ-64.6, АВ-64.7, АВ-64.8, АВ-64.1.1, АВ-64.1.2, АВ-64.1.3, АВ-64.1.4, АВ-64.1.5, АВ-64.1.6, АВ-64.1.7, АВ-64.1.8, АВ-64.1.9, АВ-64.1.10, АВ-64.1.11, АВ-64.1.12, АВ-64.1.13, АВ-64.1.14, или АВ-64.1.15, и антитело не является антителом, содержащим вариабельную область легкой цепи, содержащую HVR-L1, содержащий последовательность RASQSVSTSTYSYMH (SEQ ID NO: 127), HVR-L2, содержащий последовательность YASNLES (SEQ ID NO: 135), и HVR-L3, содержащий последовательность QHSWEIPLT (SEQ ID NO: 146).

[0174] В некоторых вариантах осуществления, анти-CD33 антитела согласно настоящему раскрытию содержат HVR-H1, содержащий аминокислотную последовательность GYTFTDYNLH (SEQ ID NO: 105), HVR-H2, содержащий аминокислотную последовательность FIYPSNRITG (SEQ ID NO: 119), HVR-H3, содержащий аминокислотную последовательность SDVDYFDY (SEQ ID NO: 122), HVR-L1, содержащий аминокислотную последовательность RASQSVSTSTYSYMH (SEQ ID NO: 127), HVR-L2, содержащий аминокислотную последовательность YASNLES (SEQ ID NO: 135), и HVR-L3, содержащий аминокислотную последовательность QHSWEIPLT (SEQ ID NO: 146). В некоторых вариантах осуществления, анти-CD33 антитела согласно настоящему раскрытию содержат HVR-H1, содержащий аминокислотную последовательность GYTFTDYNLH (SEQ ID NO: 105), HVR-H2, содержащий аминокислотную последовательность FIYPSNQITG (SEQ ID NO: 118), HVR-H3, содержащий аминокислотную последовательность SDVDYFDY (SEQ ID NO: 122), HVR-L1, содержащий аминокислотную последовательность RASQSVSTSTYSYMH (SEQ ID NO: 127), HVR-L2, содержащий аминокислотную последовательность YASNLES (SEQ ID NO: 135), и HVR-L3, содержащий аминокислотную последовательность QHSWEIPLT (SEQ ID NO: 146).

[0175] В некоторых вариантах осуществления, анти-CD33 антитела согласно настоящему раскрытию содержат вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 34-72. В некоторых вариантах осуществления, вариабельная область тяжелой цепи содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 59. В некоторых вариантах осуществления, вариабельная область тяжелой цепи содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 65. В некоторых вариантах осуществления, анти-CD33 антитела согласно настоящему раскрытию содержат вариабельную область тяжелой цепи антитела АВ-14.1, АВ-14.2, АВ-14.3, АВ-14.4, АВ-14.5, АВ-14.6, АВ-14.7, АВ-14.8, АВ-14.9, АВ-14.10, АВ-14.11, АВ-63.4, АВ-63.5, АВ-63.6, АВ-63.7, АВ-63.8, АВ-63.9, АВ-63.10, АВ-63.11, АВ-63.12, АВ-63.13, АВ-63.14, АВ-63.15, АВ-63.16, АВ-63.17, АВ-63.18, АВ-64.1, АВ-64.2, АВ-

64.3, AB-64.4, AB-64.5, AB-64.6, AB-64.7, AB-64.8, AB-64.1.1, AB-64.1.2, AB-64.1.3, AB-64.1.4, AB-64.1.5, AB-64.1.6, AB-64.1.7, AB-64.1.8, AB-64.1.9, AB-64.1.10, AB-64.1.11, AB-64.1.12, AB-64.1.13, AB-64.1.14, или AB-64.1.15 (как указано в Таблице 7). В некоторых вариантах осуществления, анти-CD33 антитела согласно настоящему раскрытию содержат вариабельную область тяжелой цепи, содержащую HVR-H1, содержащий аминокислотную последовательность GYTFTDYNLH (SEQ ID NO: 105), HVR-H2, содержащий аминокислотную последовательность FIYPSNRITG (SEQ ID NO: 119), и HVR-H3, содержащий аминокислотную последовательность SDVDYFDY (SEQ ID NO: 122). В некоторых вариантах осуществления, анти-CD33 антитела согласно настоящему раскрытию содержат вариабельную область тяжелой цепи, содержащую HVR-H1, содержащий аминокислотную последовательность GYTFTDYNLH (SEQ ID NO: 105), HVR-H2, содержащий аминокислотную последовательность FIYPSNQITG (SEQ ID NO: 118), и HVR-H3, содержащий аминокислотную последовательность SDVDYFDY (SEQ ID NO: 122).

[0176] В некоторых вариантах осуществления, анти-CD33 антитела согласно настоящему раскрытию содержат вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 77–101. В некоторых вариантах осуществления, вариабельная область легкой цепи содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 86. В некоторых вариантах осуществления, анти-CD33 антитела согласно настоящему раскрытию содержат вариабельную область легкой цепи антитела AB-14.1, AB-14.2, AB-14.3, AB-14.4, AB-14.5, AB-14.6, AB-14.7, AB-14.8, AB-14.9, AB-14.10, AB-14.11, AB-63.4, AB-63.5, AB-63.6, AB-63.7, AB-63.8, AB-63.9, AB-63.10, AB-63.11, AB-63.12, AB-63.13, AB-63.14, AB-63.15, AB-63.16, AB-63.17, AB-63.18, AB-64.1, AB-64.2, AB-64.3, AB-64.4, AB-64.5, AB-64.6, AB-64.7, AB-64.8, AB-64.1.1, AB-64.1.2, AB-64.1.3, AB-64.1.4, AB-64.1.5, AB-64.1.6, AB-64.1.7, AB-64.1.8, AB-64.1.9, AB-64.1.10, AB-64.1.11, AB-64.1.12, AB-64.1.13, AB-64.1.14, или AB-64.1.15 (как указано в Таблице 8). В некоторых вариантах осуществления, анти-CD33 антитела согласно настоящему раскрытию содержат вариабельную область легкой цепи, содержащую HVR-L1, содержащий аминокислотную последовательность RASQSVSTSTYSYMH (SEQ ID NO: 127), HVR-L2, содержащий аминокислотную последовательность YASNLES (SEQ ID NO: 135), и HVR-L3, содержащий аминокислотную последовательность QHSWEIPLT (SEQ ID NO: 146). В некоторых вариантах осуществления, анти-CD33 антитела согласно настоящему раскрытию содержат вариабельную область легкой цепи, содержащую HVR-L1, содержащий аминокислотную последовательность RASQSVSTSTYSYMH (SEQ ID NO: 127), HVR-L2, содержащий аминокислотную последовательность YASNLES (SEQ ID NO: 135), и HVR-L3, содержащий аминокислотную последовательность QHSWEIPLT (SEQ ID NO: 146).

[0177] В некоторых вариантах осуществления, анти-CD33 антитела согласно настоящему раскрытию содержат вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 34–72, и вариабельную

область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 77–101. В некоторых вариантах осуществления, переменная область тяжелой цепи содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 59, и переменная область легкой цепи содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 86. В некоторых вариантах осуществления, переменная область тяжелой цепи содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 65, и переменная область легкой цепи содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 86. В некоторых вариантах осуществления, анти-CD33 антитела согласно настоящему раскрытию содержат переменную область тяжелой цепи антитела АВ-14.1, АВ-14.2, АВ-14.3, АВ-14.4, АВ-14.5, АВ-14.6, АВ-14.7, АВ-14.8, АВ-14.9, АВ-14.10, АВ-14.11, АВ-63.4, АВ-63.5, АВ-63.6, АВ-63.7, АВ-63.8, АВ-63.9, АВ-63.10, АВ-63.11, АВ-63.12, АВ-63.13, АВ-63.14, АВ-63.15, АВ-63.16, АВ-63.17, АВ-63.18, АВ-64.1, АВ-64.2, АВ-64.3, АВ-64.4, АВ-64.5, АВ-64.6, АВ-64.7, АВ-64.8, АВ-64.1.1, АВ-64.1.2, АВ-64.1.3, АВ-64.1.4, АВ-64.1.5, АВ-64.1.6, АВ-64.1.7, АВ-64.1.8, АВ-64.1.9, АВ-64.1.10, АВ-64.1.11, АВ-64.1.12, АВ-64.1.13, АВ-64.1.14, или АВ-64.1.15 (как указано в Таблице 7), и переменную область легкой цепи антитела АВ-14.1, АВ-14.2, АВ-14.3, АВ-14.4, АВ-14.5, АВ-14.6, АВ-14.7, АВ-14.8, АВ-14.9, АВ-14.10, АВ-14.11, АВ-63.4, АВ-63.5, АВ-63.6, АВ-63.7, АВ-63.8, АВ-63.9, АВ-63.10, АВ-63.11, АВ-63.12, АВ-63.13, АВ-63.14, АВ-63.15, АВ-63.16, АВ-63.17, АВ-63.18, АВ-64.1, АВ-64.2, АВ-64.3, АВ-64.4, АВ-64.5, АВ-64.6, АВ-64.7, АВ-64.8, АВ-64.1.1, АВ-64.1.2, АВ-64.1.3, АВ-64.1.4, АВ-64.1.5, АВ-64.1.6, АВ-64.1.7, АВ-64.1.8, АВ-64.1.9, АВ-64.1.10, АВ-64.1.11, АВ-64.1.12, АВ-64.1.13, АВ-64.1.14, или АВ-64.1.15 (как указано в Таблице 8). В некоторых вариантах осуществления, анти-CD33 антитела согласно настоящему раскрытию содержат переменную область тяжелой цепи, содержащую HVR-H1, содержащий аминокислотную последовательность GYTFTDYNLH (SEQ ID NO: 105), HVR-H2, содержащий аминокислотную последовательность FIYPSNRITG (SEQ ID NO: 119), HVR-H3, содержащий аминокислотную последовательность SDVDYFDY (SEQ ID NO: 122), и переменную область легкой цепи, содержащую HVR-L1, содержащий аминокислотную последовательность RASQSVSTSTYSYMH (SEQ ID NO: 127), HVR-L2, содержащий аминокислотную последовательность YASNLES (SEQ ID NO: 135), и HVR-L3, содержащий аминокислотную последовательность QHSWEIPLT (SEQ ID NO: 146). В некоторых вариантах осуществления, анти-CD33 антитела согласно настоящему раскрытию содержат переменную область тяжелой цепи, содержащую HVR-H1, содержащий аминокислотную последовательность GYTFTDYNLH (SEQ ID NO: 105), HVR-H2, содержащий аминокислотную последовательность FIYPSNQITG (SEQ ID NO: 118), HVR-H3, содержащий аминокислотную последовательность SDVDYFDY (SEQ ID NO: 122), и переменную область легкой цепи, содержащую HVR-L1, содержащий аминокислотную последовательность RASQSVSTSTYSYMH (SEQ ID NO: 127), HVR-L2, содержащий аминокислотную последовательность YASNLES (SEQ ID NO: 135), и HVR-L3, содержащий аминокислотную последовательность QHSWEIPLT (SEQ ID NO: 146).

[0178] В некоторых вариантах осуществления, анти-CD33 антитела согласно настоящему раскрытию содержат вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 34, 40, 42, 52, 53, и 73–76. В некоторых вариантах осуществления, антитело содержит вариабельную область тяжелой цепи АВ–Н2, АВ–Н9, АВ–Н14, АВ–Н15, АВ–Н63, АВ–Н64, АВ–Н65, или АВ–Н66 (как указано в Таблице 7). В некоторых вариантах осуществления, анти-CD33 антитела согласно настоящему раскрытию содержат вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 77, 86, и 102. В некоторых вариантах осуществления, антитело содержит вариабельную область легкой цепи антитела АВ–Н2, АВ–Н9, АВ–Н14, АВ–Н15, АВ–Н63, АВ–Н64, АВ–Н65, или АВ–Н66 (как указано в Таблице 8). В некоторых вариантах осуществления, анти-CD33 антитела согласно настоящему раскрытию содержат вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 34, 40, 42, 52, 53, и 73–76, и вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 77, 86 и 102. В некоторых вариантах осуществления, антитело содержит вариабельную область тяжелой цепи АВ–Н2, АВ–Н9, АВ–Н14, АВ–Н15, АВ–Н63, АВ–Н64, АВ–Н65, или АВ–Н66 (как указано в Таблице 7), и вариабельную область легкой цепи антитела АВ–Н2, АВ–Н9, АВ–Н14, АВ–Н15, АВ–Н63, АВ–Н64, АВ–Н65, или АВ–Н66 (как указано в Таблице 8).

[0179] Любое из антител согласно настоящему раскрытию может продуцироваться клеточной линией. В некоторых вариантах осуществления, клеточная линия может быть клеточной линией млекопитающего. В некоторых вариантах осуществления, клеточная линия может быть гибридной клеточной линией. В других вариантах осуществления, клеточная линия может быть дрожжевой клеточной линией. Любая известная специалистам клеточная линия, пригодная для продуцирования антител, может быть использована для продуцирования антитела согласно настоящему раскрытию. Типичные примеры клеточных линий для продуцирования антител описаны в настоящем раскрытии.

[0180] В некоторых вариантах осуществления, анти-CD33 антитело представляет собой анти-CD33 моноклональное антитело, выбранное из АВ–14.1, АВ–14.2, АВ–14.3, АВ–14.4, АВ–14.5, АВ–14.6, АВ–14.7, АВ–14.8, АВ–14.9, АВ–14.10, АВ–14.11, АВ–63.4, АВ–63.5, АВ–63.6, АВ–63.7, АВ–63.8, АВ–63.9, АВ–63.10, АВ–63.11, АВ–63.12, АВ–63.13, АВ–63.14, АВ–63.15, АВ–63.16, АВ–63.17, АВ–63.18, АВ–64.1, АВ–64.2, АВ–64.3, АВ–64.4, АВ–64.5, АВ–64.6, АВ–64.7, АВ–64.8, АВ–64.1.1, АВ–64.1.2, АВ–64.1.3, АВ–64.1.4, АВ–64.1.5, АВ–64.1.6, АВ–64.1.7, АВ–64.1.8, АВ–64.1.9, АВ–64.1.10, АВ–64.1.11, АВ–64.1.12, АВ–64.1.13, АВ–64.1.14, АВ–64.1.15, АВ–Н2, АВ–Н9, АВ–Н14, АВ–Н15, АВ–Н63, АВ–Н64, АВ–Н65, или АВ–Н66.

[0181] В некоторых вариантах осуществления, анти-CD33 антитела согласно настоящему раскрытию содержат вариабельный домен легкой цепи и вариабельный домен тяжелой цепи, при этом вариабельный домен тяжелой цепи содержит аминокислотную последовательность с по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере

87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99%, или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью переменного домена тяжелой цепи антитела AB-64.1 или с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 52; и/или переменный домен легкой цепи содержит аминокислотную последовательность с по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99%, или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью переменного домена легкой цепи антитела AB-64.1 или с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 86. В некоторых вариантах осуществления, анти-CD33 антитела согласно настоящему раскрытию содержат переменный домен тяжелой цепи, содержащий аминокислотную последовательность с по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99%, или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью переменного домена тяжелой цепи антитела AB-64.1 или с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 52, при этом переменный домен тяжелой цепи содержит аминокислотные последовательности HVR-H1, HVR-H2 и HVR-H3 антитела AB-64.1. В некоторых вариантах осуществления, анти-CD33 антитела согласно настоящему раскрытию содержат переменный домен легкой цепи, содержащий аминокислотную последовательность с по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99%, или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью переменного домена легкой цепи антитела AB-64.1 или с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 86, при этом переменный домен легкой цепи содержит аминокислотные последовательности HVR-L1, HVR-L2 и HVR-L3 антитела AB-64.1. В некоторых вариантах осуществления, анти-CD33 антитело содержит последовательность переменного домена тяжелой цепи (VH), имеющую по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99%, или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью переменного домена тяжелой

цепи антитела АВ-64.1 или с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 52, и содержащую замены (например, консервативные замены, инсерции или делеции по сравнению с референсной последовательностью), но анти-CD33 антитело, содержащее такую последовательность, сохраняет способность связываться с CD33. В некоторых вариантах осуществления, в общей сложности, от 1 до 10 аминокислот было замещено, вставлено, и/или делетировано в аминокислотной последовательности переменного домена тяжелой цепи антитела АВ-64.1 или аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 52. В некоторых вариантах осуществления, в общей сложности, от 1 до 5 аминокислот было замещено, вставлено, и/или делетировано в аминокислотной последовательности переменного домена тяжелой цепи антитела АВ-64.1 или аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 52. В некоторых вариантах осуществления, замены, инсерции или делеции расположены в областях вне HVR (т.е., на FR-участках). В некоторых вариантах осуществления, замены, инсерции или делеции расположены на FR-участках. Необязательно, анти-CD33 антитело содержит последовательность VH антитела CD33 или SEQ ID NO: 52, включая посттрансляционные модификации этой последовательности. В конкретном варианте осуществления, VH содержит один, два или три HVR, выбранных из: (а) аминокислотной последовательности HVR-H1 антитела АВ-64.1. (b) аминокислотной последовательности HVR-H2 антитела АВ-64.1. и (с) аминокислотной последовательности HVR-H3 антитела АВ-64.1. В некоторых вариантах осуществления, анти-CD33 антитела согласно настоящему раскрытию содержат последовательность переменного домена легкой цепи (VL), имеющую по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99%, или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью переменного домена легкой цепи антитела АВ-64.1 или с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 86, и содержащую замены (например, консервативные замены, инсерции или делеции по сравнению с референсной последовательностью), но анти-CD33 антитело, содержащее такую последовательность, сохраняет способность связываться с CD33. В некоторых вариантах осуществления, в общей сложности, от 1 до 10 аминокислот было замещено, вставлено, и/или делетировано в аминокислотной последовательности переменного домена легкой цепи антитела АВ-64.1 или аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 86. В некоторых вариантах осуществления, в общей сложности, от 1 до 5 аминокислот было замещено, вставлено, и/или делетировано в аминокислотной последовательности переменного домена легкой цепи антитела АВ-64.1 или аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 86. В некоторых вариантах осуществления, замены, инсерции или делеции расположены в областях вне HVR (т.е., на FR-участках). В некоторых вариантах осуществления, замены, инсерции или делеции расположены на FR-участках. Необязательно, анти-CD33 антитело

содержит последовательность VL антитела AB-64.1 или SEQ ID NO: 86, включая посттрансляционные модификации этой последовательности. В конкретном варианте осуществления, VL содержит один, два или три HVR, выбранных из: (a) аминокислотной последовательности HVR-L1 антитела AB-64.1. (b) аминокислотной последовательности HVR-L2 антитела AB-64.1. и (c) аминокислотной последовательности HVR-L3 антитела AB-64.1.

[0182] В некоторых вариантах осуществления, анти-CD33 антитела согласно настоящему раскрытию содержат переменный домен легкой цепи и переменный домен тяжелой цепи, при этом переменный домен тяжелой цепи содержит аминокислотную последовательность с по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99%, или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью переменного домена тяжелой цепи антитела AB-64.1.1 или с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 58; и/или переменный домен легкой цепи содержит аминокислотную последовательность с по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99%, или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью переменного домена легкой цепи антитела AB-64.1.1 или с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 86. В некоторых вариантах осуществления, анти-CD33 антитела согласно настоящему раскрытию содержат переменный домен тяжелой цепи, содержащий аминокислотную последовательность с по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99%, или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью переменного домена тяжелой цепи антитела AB-64.1.1 или с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 58, при этом переменный домен тяжелой цепи содержит аминокислотные последовательности HVR-H1, HVR-H2 и HVR-H3 антитела AB-64.1.1. В некоторых вариантах осуществления, анти-CD33 антитела согласно настоящему раскрытию содержат переменный домен легкой цепи, содержащий аминокислотную последовательность с по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99%, или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью

переменного домена легкой цепи антитела АВ-64.1.1 или с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 86, при этом переменный домен легкой цепи содержит аминокислотные последовательности HVR-L1, HVR-L2 и HVR-L3 антитела АВ-64.1.1. В некоторых вариантах осуществления, анти-CD33 антитело содержит последовательность переменного домена тяжелой цепи (VH), имеющую по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99%, или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью переменного домена тяжелой цепи антитела АВ-64.1.1 или с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 58, и содержащую замены (например, консервативные замены, инсерции или делеции по сравнению с референсной последовательностью), но анти-CD33 антитело, содержащее такую последовательность, сохраняет способность связываться с CD33. В некоторых вариантах осуществления, в общей сложности, от 1 до 10 аминокислот было замещено, вставлено, и/или делетировано в аминокислотной последовательности переменного домена тяжелой цепи антитела АВ-64.1.1 или аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 58. В некоторых вариантах осуществления, в общей сложности, от 1 до 5 аминокислот было замещено, вставлено, и/или делетировано в аминокислотной последовательности переменного домена тяжелой цепи антитела АВ-64.1.1 или аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 58. В некоторых вариантах осуществления, замены, инсерции или делеции расположены в областях вне HVR (т.е., на FR-участках). В некоторых вариантах осуществления, замены, инсерции или делеции расположены на FR-участках. Необязательно, анти-CD33 антитело содержит последовательность VH антитела CD33 или SEQ ID NO: 58, включая посттрансляционные модификации этой последовательности. В конкретном варианте осуществления, VH содержит один, два или три HVR, выбранных из: (а) аминокислотной последовательности HVR-H1 антитела АВ-64.1.1, (b) аминокислотной последовательности HVR-H2 антитела АВ-64.1.1, и (c) аминокислотной последовательности HVR-H3 антитела АВ-64.1.1. В некоторых вариантах осуществления, анти-CD33 антитела согласно настоящему раскрытию содержат последовательность переменного домена легкой цепи (VL), имеющую по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99%, или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью переменного домена легкой цепи антитела АВ-64.1.1 или с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 86, и содержащую замены (например, консервативные замены, инсерции или делеции по сравнению с референсной последовательностью), но анти-CD33 антитело, содержащее такую последовательность, сохраняет способность

связываться с CD33. В некоторых вариантах осуществления, в общей сложности, от 1 до 10 аминокислот было замещено, вставлено, и/или делетировано в аминокислотной последовательности переменного домена легкой цепи антитела AB-64.1.1 или аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 86. В некоторых вариантах осуществления, в общей сложности, от 1 до 5 аминокислот было замещено, вставлено, и/или делетировано в аминокислотной последовательности переменного домена легкой цепи антитела AB-64.1.1 или аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 86. В некоторых вариантах осуществления, замены, инсерции или делеции расположены в областях вне HVR (т.е., на FR-участках). В некоторых вариантах осуществления, замены, инсерции или делеции расположены на FR-участках. Необязательно, анти-CD33 антитело содержит последовательность VL антитела AB-64.1.1 или SEQ ID NO: 86, включая посттрансляционные модификации этой последовательности. В конкретном варианте осуществления, VL содержит один, два или три HVR, выбранных из: (a) аминокислотной последовательности HVR-L1 антитела AB-64.1.1, (b) аминокислотной последовательности HVR-L2 антитела AB-64.1.1, и (c) аминокислотной последовательности HVR-L3 антитела AB-64.1.1.

[0183] В некоторых вариантах осуществления, анти-CD33 антитела согласно настоящему раскрытию содержат переменный домен легкой цепи и переменный домен тяжелой цепи, при этом переменный домен тяжелой цепи содержит аминокислотную последовательность с по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99%, или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью переменного домена тяжелой цепи антитела AB-64.1.2 или с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 59; и/или переменный домен легкой цепи содержит аминокислотную последовательность с по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99%, или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью переменного домена легкой цепи антитела AB-64.1.2 или с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 86. В некоторых вариантах осуществления, анти-CD33 антитела согласно настоящему раскрытию содержат переменный домен тяжелой цепи, содержащий аминокислотную последовательность с по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99%, или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью переменного домена

тяжелой цепи антитела АВ-64.1.2 или с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 59, при этом переменный домен тяжелой цепи содержит аминокислотные последовательности HVR-H1, HVR-H2 и HVR-H3 антитела АВ-64.1.2. В некоторых вариантах осуществления, анти-CD33 антитела согласно настоящему раскрытию содержат переменный домен легкой цепи, содержащий аминокислотную последовательность с по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99%, или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью переменного домена легкой цепи антитела АВ-64.1.2 или с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 86, при этом переменный домен легкой цепи содержит аминокислотные последовательности HVR-L1, HVR-L2 и HVR-L3 антитела АВ-64.1.2. В некоторых вариантах осуществления, анти-CD33 антитело содержит последовательность переменного домена тяжелой цепи (VH), имеющую по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99%, или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью переменного домена тяжелой цепи антитела АВ-64.1.2 или с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 59, и содержащую замены (например, консервативные замены, инсерции или делеции по сравнению с референсной последовательностью), но анти-CD33 антитело, содержащее такую последовательность, сохраняет способность связываться с CD33. В некоторых вариантах осуществления, в общей сложности, от 1 до 10 аминокислот было замещено, вставлено, и/или делетировано в аминокислотной последовательности переменного домена тяжелой цепи антитела АВ-64.1.2 или аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 59. В некоторых вариантах осуществления, в общей сложности, от 1 до 5 аминокислот было замещено, вставлено, и/или делетировано в аминокислотной последовательности переменного домена тяжелой цепи антитела АВ-64.1.2 или аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 59. В некоторых вариантах осуществления, замены, инсерции или делеции расположены в областях вне HVR (т.е., на FR-участках). В некоторых вариантах осуществления, замены, инсерции или делеции расположены на FR-участках. Необязательно, анти-CD33 антитело содержит последовательность VH антитела CD33 или SEQ ID NO: 59, включая посттрансляционные модификации этой последовательности. В конкретном варианте осуществления, VH содержит один, два или три HVR, выбранных из: (а) аминокислотной последовательности HVR-H1 антитела АВ-64.1.2, (b) аминокислотной последовательности HVR-H2 антитела АВ-64.1.2, и (c) аминокислотной последовательности HVR-H3 антитела АВ-64.1.2. В некоторых вариантах осуществления, анти-CD33 антитела согласно настоящему

раскрытию содержат последовательность переменного домена легкой цепи (VL), имеющую по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99%, или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью переменного домена легкой цепи антитела AB-64.1.2 или с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 86, и содержащую замены (например, консервативные замены, инсерции или делеции по сравнению с референсной последовательностью), но анти-CD33 антитело, содержащее такую последовательность, сохраняет способность связываться с CD33. В некоторых вариантах осуществления, в общей сложности, от 1 до 10 аминокислот было замещено, вставлено, и/или делетировано в аминокислотной последовательности переменного домена легкой цепи антитела AB-64.1.2 или аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 86. В некоторых вариантах осуществления, в общей сложности, от 1 до 5 аминокислот было замещено, вставлено, и/или делетировано в аминокислотной последовательности переменного домена легкой цепи антитела AB-64.1.2 или аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 86. В некоторых вариантах осуществления, замены, инсерции или делеции расположены в областях вне HVR (т.е., на FR-участках). В некоторых вариантах осуществления, замены, инсерции или делеции расположены на FR-участках. Необязательно, анти-CD33 антитело содержит последовательность VL антитела AB-64.1.2 или SEQ ID NO: 86, включая посттрансляционные модификации этой последовательности. В конкретном варианте осуществления, VL содержит один, два или три HVR, выбранных из: (a) аминокислотной последовательности HVR-L1 антитела AB-64.1.2, (b) аминокислотной последовательности HVR-L2 антитела AB-64.1.2, и (c) аминокислотной последовательности HVR-L3 антитела AB-64.1.2.

[0184] В некоторых вариантах осуществления, анти-CD33 антитело согласно настоящему раскрытию содержит переменный домен легкой цепи и переменный домен тяжелой цепи, при этом переменный домен тяжелой цепи содержит аминокислотную последовательность с по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99%, или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью переменного домена тяжелой цепи антитела AB-64.1.3 или с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 60; и/или переменный домен легкой цепи содержит аминокислотную последовательность с по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере

мере 98%, по меньшей мере 99%, или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью переменного домена легкой цепи антитела AB-64.1.3 или с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 86. В некоторых вариантах осуществления, анти-CD33 антитела согласно настоящему раскрытию содержат переменный домен тяжелой цепи, содержащий аминокислотную последовательность с по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99%, или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью переменного домена тяжелой цепи антитела AB-64.1.3 или с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 60, при этом переменный домен тяжелой цепи содержит аминокислотные последовательности HVR-H1, HVR-H2 и HVR-H3 антитела AB-64.1.3. В некоторых вариантах осуществления, анти-CD33 антитела согласно настоящему раскрытию содержат переменный домен легкой цепи, содержащий аминокислотную последовательность с по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99%, или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью переменного домена легкой цепи антитела AB-64.1.3 или с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 86, при этом переменный домен легкой цепи содержит аминокислотные последовательности HVR-L1, HVR-L2 и HVR-L3 антитела AB-64.1.3. В некоторых вариантах осуществления, анти-CD33 антитело содержит последовательность переменного домена тяжелой цепи (VH), имеющую по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99%, или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью переменного домена тяжелой цепи антитела AB-64.1.3 или с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 60, и содержащую замены (например, консервативные замены, инсерции или делеции по сравнению с референсной последовательностью), но анти-CD33 антитело, содержащее такую последовательность, сохраняет способность связываться с CD33. В некоторых вариантах осуществления, в общей сложности, от 1 до 10 аминокислот было замещено, вставлено, и/или делетировано в аминокислотной последовательности переменного домена тяжелой цепи антитела AB-64.1.3 или аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 60. В некоторых вариантах осуществления, в общей сложности, от 1 до 5 аминокислот было замещено, вставлено, и/или делетировано в аминокислотной последовательности переменного домена тяжелой цепи антитела AB-64.1.3 или

аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 60. В некоторых вариантах осуществления, замены, инсерции или делеции расположены в областях вне HVR (т.е., на FR-участках). В некоторых вариантах осуществления, замены, инсерции или делеции расположены на FR-участках. Необязательно, анти-CD33 антитело содержит последовательность VH антитела CD33 или SEQ ID NO: 60, включая посттрансляционные модификации этой последовательности. В конкретном варианте осуществления, VH содержит один, два или три HVR, выбранных из: (a) аминокислотной последовательности HVR-H1 антитела AB-64.1.3, (b) аминокислотной последовательности HVR-H2 антитела AB-64.1.3, и (c) аминокислотной последовательности HVR-H3 антитела AB-64.1.3. В некоторых вариантах осуществления, анти-CD33 антитела согласно настоящему раскрытию содержат последовательность переменного домена легкой цепи (VL), имеющую по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99%, или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью переменного домена легкой цепи антитела AB-64.1.3 или с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 86, и содержащую замены (например, консервативные замены, инсерции или делеции по сравнению с референсной последовательностью), но анти-CD33 антитело, содержащее такую последовательность, сохраняет способность связываться с CD33. В некоторых вариантах осуществления, в общей сложности, от 1 до 10 аминокислот было замещено, вставлено, и/или делетировано в аминокислотной последовательности переменного домена легкой цепи антитела AB-64.1.3 или аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 86. В некоторых вариантах осуществления, в общей сложности, от 1 до 5 аминокислот было замещено, вставлено, и/или делетировано в аминокислотной последовательности переменного домена легкой цепи антитела AB-64.1.3 или аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 86. В некоторых вариантах осуществления, замены, инсерции или делеции расположены в областях вне HVR (т.е., на FR-участках). В некоторых вариантах осуществления, замены, инсерции или делеции расположены на FR-участках. Необязательно, анти-CD33 антитело содержит последовательность VL антитела AB-64.1.3 или SEQ ID NO: 86, включая посттрансляционные модификации этой последовательности. В конкретном варианте осуществления, VL содержит один, два или три HVR, выбранных из: (a) аминокислотной последовательности HVR-L1 антитела AB-64.1.3, (b) аминокислотной последовательности HVR-L2 антитела AB-64.1.3, и (c) аминокислотной последовательности HVR-L3 антитела AB-64.1.3.

[0185] В некоторых вариантах осуществления, анти-CD33 антитела согласно настоящему раскрытию содержат переменный домен легкой цепи и переменный домен тяжелой цепи, при этом переменный домен тяжелой цепи содержит аминокислотную последовательность с по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере

87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99%, или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью переменного домена тяжелой цепи антитела AB-64.1.4 или с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 61; и/или переменный домен легкой цепи содержит аминокислотную последовательность с по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99%, или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью переменного домена легкой цепи антитела AB-64.1.4 или с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 86. В некоторых вариантах осуществления, анти-CD33 антитела согласно настоящему раскрытию содержат переменный домен тяжелой цепи, содержащий аминокислотную последовательность с по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99%, или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью переменного домена тяжелой цепи антитела AB-64.1.4 или с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 61, при этом переменный домен тяжелой цепи содержит аминокислотные последовательности HVR-H1, HVR-H2 и HVR-H3 антитела AB-64.1.4. В некоторых вариантах осуществления, анти-CD33 антитела согласно настоящему раскрытию содержат переменный домен легкой цепи, содержащий аминокислотную последовательность с по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99%, или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью переменного домена легкой цепи антитела AB-64.1.4 или с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 86, при этом переменный домен легкой цепи содержит аминокислотные последовательности HVR-L1, HVR-L2 и HVR-L3 антитела AB-64.1.4. В некоторых вариантах осуществления, анти-CD33 антитело содержит последовательность переменного домена тяжелой цепи (VH), имеющую по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99%, или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью переменного домена тяжелой

цепи антитела АВ–64.1.4 или с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 61, и содержащую замены (например, консервативные замены, инсерции или делеции по сравнению с референсной последовательностью), но анти–CD33 антитело, содержащее такую последовательность, сохраняет способность связываться с CD33. В некоторых вариантах осуществления, в общей сложности, от 1 до 10 аминокислот было замещено, вставлено, и/или делетировано в аминокислотной последовательности переменного домена тяжелой цепи антитела АВ–64.1.4 или аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 61. В некоторых вариантах осуществления, в общей сложности, от 1 до 5 аминокислот было замещено, вставлено, и/или делетировано в аминокислотной последовательности переменного домена тяжелой цепи антитела АВ–64.1.4 или аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 61. В некоторых вариантах осуществления, замены, инсерции или делеции расположены в областях вне HVR (т.е., на FR–участках). В некоторых вариантах осуществления, замены, инсерции или делеции расположены на FR–участках. Необязательно, анти–CD33 антитело содержит последовательность VH антитела CD33 или SEQ ID NO: 61, включая посттрансляционные модификации этой последовательности. В конкретном варианте осуществления, VH содержит один, два или три HVR, выбранных из: (а) аминокислотной последовательности HVR–H1 антитела АВ–64.1.4, (b) аминокислотной последовательности HVR–H2 антитела АВ–64.1.4, и (с) аминокислотной последовательности HVR–H3 антитела АВ–64.1.4. В некоторых вариантах осуществления, анти–CD33 антитела согласно настоящему раскрытию содержат последовательность переменного домена легкой цепи (VL), имеющую по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99%, или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью переменного домена легкой цепи антитела АВ–64.1.4 или с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 86, и содержащую замены (например, консервативные замены, инсерции или делеции по сравнению с референсной последовательностью), но анти–CD33 антитело, содержащее такую последовательность, сохраняет способность связываться с CD33. В некоторых вариантах осуществления, в общей сложности, от 1 до 10 аминокислот было замещено, вставлено, и/или делетировано в аминокислотной последовательности переменного домена легкой цепи антитела АВ–64.1.4 или аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 86. В некоторых вариантах осуществления, в общей сложности, от 1 до 5 аминокислот было замещено, вставлено, и/или делетировано в аминокислотной последовательности переменного домена легкой цепи антитела АВ–64.1.4 или аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 86. В некоторых вариантах осуществления, замены, инсерции или делеции расположены в областях вне HVR (т.е., на FR–участках). В некоторых вариантах осуществления, замены, инсерции или делеции расположены на FR–участках. Необязательно, анти–CD33 антитело

содержит последовательность VL антитела AB-64.1.4 или SEQ ID NO: 86, включая посттрансляционные модификации этой последовательности. В конкретном варианте осуществления, VL содержит один, два или три HVR, выбранных из: (a) аминокислотной последовательности HVR-L1 антитела AB-64.1.4, (b) аминокислотной последовательности HVR-L2 антитела AB-64.1.4, и (c) аминокислотной последовательности HVR-L3 антитела AB-64.1.4.

[0186] В некоторых вариантах осуществления, анти-CD33 антитела согласно настоящему раскрытию содержат переменный домен легкой цепи и переменный домен тяжелой цепи, при этом переменный домен тяжелой цепи содержит аминокислотную последовательность с по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99%, или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью переменного домена тяжелой цепи антитела AB-64.1.5 или с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 62; и/или переменный домен легкой цепи содержит аминокислотную последовательность с по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99%, или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью переменного домена легкой цепи антитела AB-64.1.5 или с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 86. В некоторых вариантах осуществления, анти-CD33 антитела согласно настоящему раскрытию содержат переменный домен тяжелой цепи, содержащий аминокислотную последовательность с по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99%, или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью переменного домена тяжелой цепи антитела AB-64.1.5 или с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 62, при этом переменный домен тяжелой цепи содержит аминокислотные последовательности HVR-H1, HVR-H2 и HVR-H3 антитела AB-64.1.5. В некоторых вариантах осуществления, анти-CD33 антитела согласно настоящему раскрытию содержат переменный домен легкой цепи, содержащий аминокислотную последовательность с по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99%, или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью

переменного домена легкой цепи антитела АВ-64.1.5 или с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 86, при этом переменный домен легкой цепи содержит аминокислотные последовательности HVR-L1, HVR-L2 и HVR-L3 антитела АВ-64.1.5. В некоторых вариантах осуществления, анти-CD33 антитело содержит последовательность переменного домена тяжелой цепи (VH), имеющую по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99%, или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью переменного домена тяжелой цепи антитела АВ-64.1.5 или с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 62, и содержащую замены (например, консервативные замены, инсерции или делеции по сравнению с референсной последовательностью), но анти-CD33 антитело, содержащее такую последовательность, сохраняет способность связываться с CD33. В некоторых вариантах осуществления, в общей сложности, от 1 до 10 аминокислот было замещено, вставлено, и/или делетировано в аминокислотной последовательности переменного домена тяжелой цепи антитела АВ-64.1.5 или аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 62. В некоторых вариантах осуществления, в общей сложности, от 1 до 5 аминокислот было замещено, вставлено, и/или делетировано в аминокислотной последовательности переменного домена тяжелой цепи антитела АВ-64.1.5 или аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 62. В некоторых вариантах осуществления, замены, инсерции или делеции расположены в областях вне HVR (т.е., на FR-участках). В некоторых вариантах осуществления, замены, инсерции или делеции расположены на FR-участках. Необязательно, анти-CD33 антитело содержит последовательность VH антитела CD33 или SEQ ID NO: 62, включая посттрансляционные модификации этой последовательности. В конкретном варианте осуществления, VH содержит один, два или три HVR, выбранных из: (а) аминокислотной последовательности HVR-H1 антитела АВ-64.1.5, (b) аминокислотной последовательности HVR-H2 антитела АВ-64.1.5, и (с) аминокислотной последовательности HVR-H3 антитела АВ-64.1.5. В некоторых вариантах осуществления, анти-CD33 антитела согласно настоящему раскрытию содержат последовательность переменного домена легкой цепи (VL), имеющую по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99%, или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью переменного домена легкой цепи антитела АВ-64.1.5 или с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 86, и содержащую замены (например, консервативные замены, инсерции или делеции по сравнению с референсной последовательностью), но анти-CD33 антитело, содержащее такую последовательность, сохраняет способность

связываться с CD33. В некоторых вариантах осуществления, в общей сложности, от 1 до 10 аминокислот было замещено, вставлено, и/или делетировано в аминокислотной последовательности переменного домена легкой цепи антитела AB-64.1.5 или аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 86. В некоторых вариантах осуществления, в общей сложности, от 1 до 5 аминокислот было замещено, вставлено, и/или делетировано в аминокислотной последовательности переменного домена легкой цепи антитела AB-64.1.5 или аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 86. В некоторых вариантах осуществления, замены, инсерции или делеции расположены в областях вне HVR (т.е., на FR-участках). В некоторых вариантах осуществления, замены, инсерции или делеции расположены на FR-участках. Необязательно, анти-CD33 антитело содержит последовательность VL антитела AB-64.1.5 или SEQ ID NO: 86, включая посттрансляционные модификации этой последовательности. В конкретном варианте осуществления, VL содержит один, два или три HVR, выбранных из: (a) аминокислотной последовательности HVR-L1 антитела AB-64.1.5, (b) аминокислотной последовательности HVR-L2 антитела AB-64.1.5, и (c) аминокислотной последовательности HVR-L3 антитела AB-64.1.5.

[0187] В некоторых вариантах осуществления, анти-CD33 антитела согласно настоящему раскрытию содержат переменный домен легкой цепи и переменный домен тяжелой цепи, при этом переменный домен тяжелой цепи содержит аминокислотную последовательность с по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99%, или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью переменного домена тяжелой цепи антитела AB-64.1.6 или с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 63; и/или переменный домен легкой цепи содержит аминокислотную последовательность с по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99%, или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью переменного домена легкой цепи антитела AB-64.1.6 или с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 86. В некоторых вариантах осуществления, анти-CD33 антитела согласно настоящему раскрытию содержат переменный домен тяжелой цепи, содержащий аминокислотную последовательность с по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99%, или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью переменного домена

тяжелой цепи антитела АВ–64.1.6 или с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 63, при этом переменный домен тяжелой цепи содержит аминокислотные последовательности HVR–H1, HVR–H2 и HVR–H3 антитела АВ–64.1.6. В некоторых вариантах осуществления, анти–CD33 антитела согласно настоящему раскрытию содержат переменный домен легкой цепи, содержащий аминокислотную последовательность с по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99%, или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью переменного домена легкой цепи антитела АВ–64.1.6 или с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 86, при этом переменный домен легкой цепи содержит аминокислотные последовательности HVR–L1, HVR–L2 и HVR–L3 антитела АВ–64.1.6. В некоторых вариантах осуществления, анти–CD33 антитело содержит последовательность переменного домена тяжелой цепи (VH), имеющую по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99%, или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью переменного домена тяжелой цепи антитела АВ–64.1.6 или с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 63, и содержащую замены (например, консервативные замены, инсерции или делеции по сравнению с референсной последовательностью), но анти–CD33 антитело, содержащее такую последовательность, сохраняет способность связываться с CD33. В некоторых вариантах осуществления, в общей сложности, от 1 до 10 аминокислот было замещено, вставлено, и/или делетировано в аминокислотной последовательности переменного домена тяжелой цепи антитела АВ–64.1.6 или аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 63. В некоторых вариантах осуществления, в общей сложности, от 1 до 5 аминокислот было замещено, вставлено, и/или делетировано в аминокислотной последовательности переменного домена тяжелой цепи антитела АВ–64.1.6 или аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 63. В некоторых вариантах осуществления, замены, инсерции или делеции расположены в областях вне HVR (т.е., на FR–участках). В некоторых вариантах осуществления, замены, инсерции или делеции расположены на FR–участках. Необязательно, анти–CD33 антитело содержит последовательность VH антитела CD33 или SEQ ID NO: 63, включая посттрансляционные модификации этой последовательности. В конкретном варианте осуществления, VH содержит один, два или три HVR, выбранных из: (а) аминокислотной последовательности HVR–H1 антитела АВ–64.1.6, (b) аминокислотной последовательности HVR–H2 антитела АВ–64.1.6, и (с) аминокислотной последовательности HVR–H3 антитела АВ–64.1.6. В некоторых вариантах осуществления, анти–CD33 антитела согласно настоящему

раскрытию содержат последовательность вариабельного домена легкой цепи (VL), имеющую по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99%, или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью вариабельного домена легкой цепи антитела AB-64.1.6 или с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 86, и содержащую замены (например, консервативные замены, инсерции или делеции по сравнению с референсной последовательностью), но анти-CD33 антитело, содержащее такую последовательность, сохраняет способность связываться с CD33. В некоторых вариантах осуществления, в общей сложности, от 1 до 10 аминокислот было замещено, вставлено, и/или делетировано в аминокислотной последовательности вариабельного домена легкой цепи антитела AB-64.1.6 или аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 86. В некоторых вариантах осуществления, в общей сложности, от 1 до 5 аминокислот было замещено, вставлено, и/или делетировано в аминокислотной последовательности вариабельного домена легкой цепи антитела AB-64.1.6 или аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 86. В некоторых вариантах осуществления, замены, инсерции или делеции расположены в областях вне HVR (т.е., на FR-участках). В некоторых вариантах осуществления, замены, инсерции или делеции расположены на FR-участках. Необязательно, анти-CD33 антитело содержит последовательность VL антитела AB-64.1.6 или SEQ ID NO: 86, включая посттрансляционные модификации этой последовательности. В конкретном варианте осуществления, VL содержит один, два или три HVR, выбранных из: (a) аминокислотной последовательности HVR-L1 антитела AB-64.1.6, (b) аминокислотной последовательности HVR-L2 антитела AB-64.1.6, и (c) аминокислотной последовательности HVR-L3 антитела AB-64.1.6.

[0188] В некоторых вариантах осуществления, анти-CD33 антитела согласно настоящему раскрытию содержат вариабельный домен легкой цепи и вариабельный домен тяжелой цепи, при этом вариабельный домен тяжелой цепи содержит аминокислотную последовательность с по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99%, или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью вариабельного домена тяжелой цепи антитела AB-64.1.7 или с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 64; и/или вариабельный домен легкой цепи содержит аминокислотную последовательность с по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере

мере 98%, по меньшей мере 99%, или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью переменного домена легкой цепи антитела AB-64.1.7 или с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 86. В некоторых вариантах осуществления, анти-CD33 антитела согласно настоящему раскрытию содержат переменный домен тяжелой цепи, содержащий аминокислотную последовательность с по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99%, или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью переменного домена тяжелой цепи антитела AB-64.1.7 или с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 64, при этом переменный домен тяжелой цепи содержит аминокислотные последовательности HVR-H1, HVR-H2 и HVR-H3 антитела AB-64.1.7. В некоторых вариантах осуществления, анти-CD33 антитела согласно настоящему раскрытию содержат переменный домен легкой цепи, содержащий аминокислотную последовательность с по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99%, или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью переменного домена легкой цепи антитела AB-64.1.7 или с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 86, при этом переменный домен легкой цепи содержит аминокислотные последовательности HVR-L1, HVR-L2 и HVR-L3 антитела AB-64.1.7. В некоторых вариантах осуществления, анти-CD33 антитело содержит последовательность переменного домена тяжелой цепи (VH), имеющую по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99%, или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью переменного домена тяжелой цепи антитела AB-64.1.7 или с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 64, и содержащую замены (например, консервативные замены, инсерции или делеции по сравнению с референсной последовательностью), но анти-CD33 антитело, содержащее такую последовательность, сохраняет способность связываться с CD33. В некоторых вариантах осуществления, в общей сложности, от 1 до 10 аминокислот было замещено, вставлено, и/или делетировано в аминокислотной последовательности переменного домена тяжелой цепи антитела AB-64.1.7 или аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 64. В некоторых вариантах осуществления, в общей сложности, от 1 до 5 аминокислот было замещено, вставлено, и/или делетировано в аминокислотной последовательности переменного домена тяжелой цепи антитела AB-64.1.7 или

аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 64. В некоторых вариантах осуществления, замены, инсерции или делеции расположены в областях вне HVR (т.е., на FR-участках). В некоторых вариантах осуществления, замены, инсерции или делеции расположены на FR-участках. Необязательно, анти-CD33 антитело содержит последовательность VH антитела CD33 или SEQ ID NO: 64, включая посттрансляционные модификации этой последовательности. В конкретном варианте осуществления, VH содержит один, два или три HVR, выбранных из: (a) аминокислотной последовательности HVR-H1 антитела AB-64.1.7, (b) аминокислотной последовательности HVR-H2 антитела AB-64.1.7, и (c) аминокислотной последовательности HVR-H3 антитела AB-64.1.7. В некоторых вариантах осуществления, анти-CD33 антитела согласно настоящему раскрытию содержат последовательность переменного домена легкой цепи (VL), имеющую по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99%, или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью переменного домена легкой цепи антитела AB-64.1.7 или с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 86, и содержащую замены (например, консервативные замены, инсерции или делеции по сравнению с референсной последовательностью), но анти-CD33 антитело, содержащее такую последовательность, сохраняет способность связываться с CD33. В некоторых вариантах осуществления, в общей сложности, от 1 до 10 аминокислот было замещено, вставлено, и/или делетировано в аминокислотной последовательности переменного домена легкой цепи антитела AB-64.1.7 или аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 86. В некоторых вариантах осуществления, в общей сложности, от 1 до 5 аминокислот было замещено, вставлено, и/или делетировано в аминокислотной последовательности переменного домена легкой цепи антитела AB-64.1.7 или аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 86. В некоторых вариантах осуществления, замены, инсерции или делеции расположены в областях вне HVR (т.е., на FR-участках). В некоторых вариантах осуществления, замены, инсерции или делеции расположены на FR-участках. Необязательно, анти-CD33 антитело содержит последовательность VL антитела AB-64.1.7 или SEQ ID NO: 86, включая посттрансляционные модификации этой последовательности. В конкретном варианте осуществления, VL содержит один, два или три HVR, выбранных из: (a) аминокислотной последовательности HVR-L1 антитела AB-64.1.7, (b) аминокислотной последовательности HVR-L2 антитела AB-64.1.7, и (c) аминокислотной последовательности HVR-L3 антитела AB-64.1.7.

[0189] В некоторых вариантах осуществления, анти-CD33 антитела согласно настоящему раскрытию содержат переменный домен легкой цепи и переменный домен тяжелой цепи, при этом переменный домен тяжелой цепи содержит аминокислотную последовательность с по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере

87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99%, или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью переменного домена тяжелой цепи антитела AB-64.1.8 или с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 65; и/или переменный домен легкой цепи содержит аминокислотную последовательность с по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99%, или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью переменного домена легкой цепи антитела AB-64.1.8 или с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 86. В некоторых вариантах осуществления, анти-CD33 антитела согласно настоящему раскрытию содержат переменный домен тяжелой цепи, содержащий аминокислотную последовательность с по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99%, или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью переменного домена тяжелой цепи антитела AB-64.1.8 или с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 65, при этом переменный домен тяжелой цепи содержит аминокислотные последовательности HVR-H1, HVR-H2 и HVR-H3 антитела AB-64.1.8. В некоторых вариантах осуществления, анти-CD33 антитела согласно настоящему раскрытию содержат переменный домен легкой цепи, содержащий аминокислотную последовательность с по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99%, или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью переменного домена легкой цепи антитела AB-64.1.8 или с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 86, при этом переменный домен легкой цепи содержит аминокислотные последовательности HVR-L1, HVR-L2 и HVR-L3 антитела AB-64.1.8. В некоторых вариантах осуществления, анти-CD33 антитело содержит последовательность переменного домена тяжелой цепи (VH), имеющую по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99%, или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью переменного домена тяжелой

цепи антитела АВ–64.1.8 или с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 65, и содержащую замены (например, консервативные замены, инсерции или делеции по сравнению с референсной последовательностью), но анти–CD33 антитело, содержащее такую последовательность, сохраняет способность связываться с CD33. В некоторых вариантах осуществления, в общей сложности, от 1 до 10 аминокислот было замещено, вставлено, и/или делетировано в аминокислотной последовательности переменного домена тяжелой цепи антитела АВ–64.1.8 или аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 65. В некоторых вариантах осуществления, в общей сложности, от 1 до 5 аминокислот было замещено, вставлено, и/или делетировано в аминокислотной последовательности переменного домена тяжелой цепи антитела АВ–64.1.8 или аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 65. В некоторых вариантах осуществления, замены, инсерции или делеции расположены в областях вне HVR (т.е., на FR–участках). В некоторых вариантах осуществления, замены, инсерции или делеции расположены на FR–участках. Необязательно, анти–CD33 антитело содержит последовательность VH антитела CD33 или SEQ ID NO: 65, включая посттрансляционные модификации этой последовательности. В конкретном варианте осуществления, VH содержит один, два или три HVR, выбранных из: (а) аминокислотной последовательности HVR–H1 антитела АВ–64.1.8, (b) аминокислотной последовательности HVR–H2 антитела АВ–64.1.8, и (с) аминокислотной последовательности HVR–H3 антитела АВ–64.1.8. В некоторых вариантах осуществления, анти–CD33 антитела согласно настоящему раскрытию содержат последовательность переменного домена легкой цепи (VL), имеющую по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99%, или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью переменного домена легкой цепи антитела АВ–64.1.8 или с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 86, и содержащую замены (например, консервативные замены, инсерции или делеции по сравнению с референсной последовательностью), но анти–CD33 антитело, содержащее такую последовательность, сохраняет способность связываться с CD33. В некоторых вариантах осуществления, в общей сложности, от 1 до 10 аминокислот было замещено, вставлено, и/или делетировано в аминокислотной последовательности переменного домена легкой цепи антитела АВ–64.1.8 или аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 86. В некоторых вариантах осуществления, в общей сложности, от 1 до 5 аминокислот было замещено, вставлено, и/или делетировано в аминокислотной последовательности переменного домена легкой цепи антитела АВ–64.1.8 или аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 86. В некоторых вариантах осуществления, замены, инсерции или делеции расположены в областях вне HVR (т.е., на FR–участках). В некоторых вариантах осуществления, замены, инсерции или делеции расположены на FR–участках. Необязательно, анти–CD33 антитело

содержит последовательность VL антитела AB-64.1.8 или SEQ ID NO: 86, включая посттрансляционные модификации этой последовательности. В конкретном варианте осуществления, VL содержит один, два или три HVR, выбранных из: (a) аминокислотной последовательности HVR-L1 антитела AB-64.1.8, (b) аминокислотной последовательности HVR-L2 антитела AB-64.1.8, и (c) аминокислотной последовательности HVR-L3 антитела AB-64.1.8.

[0190] В некоторых вариантах осуществления, анти-CD33 антитела согласно настоящему раскрытию содержат переменный домен легкой цепи и переменный домен тяжелой цепи, при этом переменный домен тяжелой цепи содержит аминокислотную последовательность с по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99%, или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью переменного домена тяжелой цепи антитела AB-64.1.9 или с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 66; и/или переменный домен легкой цепи содержит аминокислотную последовательность с по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99%, или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью переменного домена легкой цепи антитела AB-64.1.9 или с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 86. В некоторых вариантах осуществления, анти-CD33 антитела согласно настоящему раскрытию содержат переменный домен тяжелой цепи, содержащий аминокислотную последовательность с по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99%, или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью переменного домена тяжелой цепи антитела AB-64.1.9 или с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 66, при этом переменный домен тяжелой цепи содержит аминокислотные последовательности HVR-H1, HVR-H2 и HVR-H3 антитела AB-64.1.9. В некоторых вариантах осуществления, анти-CD33 антитела согласно настоящему раскрытию содержат переменный домен легкой цепи, содержащий аминокислотную последовательность с по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99%, или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью

переменного домена легкой цепи антитела АВ-64.1.9 или с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 86, при этом переменный домен легкой цепи содержит аминокислотные последовательности HVR-L1, HVR-L2 и HVR-L3 антитела АВ-64.1.9. В некоторых вариантах осуществления, анти-CD33 антитело содержит последовательность переменного домена тяжелой цепи (VH), имеющую по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99%, или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью переменного домена тяжелой цепи антитела АВ-64.1.9 или с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 66, и содержащую замены (например, консервативные замены, инсерции или делеции по сравнению с референсной последовательностью), но анти-CD33 антитело, содержащее такую последовательность, сохраняет способность связываться с CD33. В некоторых вариантах осуществления, в общей сложности, от 1 до 10 аминокислот было замещено, вставлено, и/или делетировано в аминокислотной последовательности переменного домена тяжелой цепи антитела АВ-64.1.9 или аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 66. В некоторых вариантах осуществления, в общей сложности, от 1 до 5 аминокислот было замещено, вставлено, и/или делетировано в аминокислотной последовательности переменного домена тяжелой цепи антитела АВ-64.1.9 или аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 66. В некоторых вариантах осуществления, замены, инсерции или делеции расположены в областях вне HVR (т.е., на FR-участках). В некоторых вариантах осуществления, замены, инсерции или делеции расположены на FR-участках. Необязательно, анти-CD33 антитело содержит последовательность VH антитела CD33 или SEQ ID NO: 66, включая посттрансляционные модификации этой последовательности. В конкретном варианте осуществления, VH содержит один, два или три HVR, выбранных из: (а) аминокислотной последовательности HVR-H1 антитела АВ-64.1.9, (b) аминокислотной последовательности HVR-H2 антитела АВ-64.1.9, и (с) аминокислотной последовательности HVR-H3 антитела АВ-64.1.9. В некоторых вариантах осуществления, анти-CD33 антитела согласно настоящему раскрытию содержат последовательность переменного домена легкой цепи (VL), имеющую по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99%, или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью переменного домена легкой цепи антитела АВ-64.1.9 или с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 86, и содержащую замены (например, консервативные замены, инсерции или делеции по сравнению с референсной последовательностью), но анти-CD33 антитело, содержащее такую последовательность, сохраняет способность

связываться с CD33. В некоторых вариантах осуществления, в общей сложности, от 1 до 10 аминокислот было замещено, вставлено, и/или делетировано в аминокислотной последовательности переменного домена легкой цепи антитела AB-64.1.9 или аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 86. В некоторых вариантах осуществления, в общей сложности, от 1 до 5 аминокислот было замещено, вставлено, и/или делетировано в аминокислотной последовательности переменного домена легкой цепи антитела AB-64.1.9 или аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 86. В некоторых вариантах осуществления, замены, инсерции или делеции расположены в областях вне HVR (т.е., на FR-участках). В некоторых вариантах осуществления, замены, инсерции или делеции расположены на FR-участках. Необязательно, анти-CD33 антитело содержит последовательность VL антитела AB-64.1.9 или SEQ ID NO: 86, включая посттрансляционные модификации этой последовательности. В конкретном варианте осуществления, VL содержит один, два или три HVR, выбранных из: (a) аминокислотной последовательности HVR-L1 антитела AB-64.1.9, (b) аминокислотной последовательности HVR-L2 антитела AB-64.1.9, и (c) аминокислотной последовательности HVR-L3 антитела AB-64.1.9.

[0191] В некоторых вариантах осуществления, анти-CD33 антитела согласно настоящему раскрытию содержат переменный домен легкой цепи и переменный домен тяжелой цепи, при этом переменный домен тяжелой цепи содержит аминокислотную последовательность с по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99%, или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью переменного домена тяжелой цепи антитела AB-64.1.10 или с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 67; и/или переменный домен легкой цепи содержит аминокислотную последовательность с по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99%, или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью переменного домена легкой цепи антитела AB-64.1.10 или с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 86. В некоторых вариантах осуществления, анти-CD33 антитела согласно настоящему раскрытию содержат переменный домен тяжелой цепи, содержащий аминокислотную последовательность с по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99%, или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью переменного домена

тяжелой цепи антитела AB-64.1.10 или с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 67, при этом переменный домен тяжелой цепи содержит аминокислотные последовательности HVR-H1, HVR-H2 и HVR-H3 антитела AB-64.1.10. В некоторых вариантах осуществления, анти-CD33 антитела согласно настоящему раскрытию содержат переменный домен легкой цепи, содержащий аминокислотную последовательность с по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99%, или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью переменного домена легкой цепи антитела AB-64.1.10 или с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 86, при этом переменный домен легкой цепи содержит аминокислотные последовательности HVR-L1, HVR-L2 и HVR-L3 антитела AB-64.1.10. В некоторых вариантах осуществления, анти-CD33 антитело содержит последовательность переменного домена тяжелой цепи (VH), имеющую по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99%, или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью переменного домена тяжелой цепи антитела AB-64.1.10 или с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 67, и содержащую замены (например, консервативные замены, инсерции или делеции по сравнению с референсной последовательностью), но анти-CD33 антитело, содержащее такую последовательность, сохраняет способность связываться с CD33. В некоторых вариантах осуществления, в общей сложности, от 1 до 10 аминокислот было замещено, вставлено, и/или делетировано в аминокислотной последовательности переменного домена тяжелой цепи антитела AB-64.1.10 или аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 67. В некоторых вариантах осуществления, в общей сложности, от 1 до 5 аминокислот было замещено, вставлено, и/или делетировано в аминокислотной последовательности переменного домена тяжелой цепи антитела AB-64.1.10 или аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 67. В некоторых вариантах осуществления, замены, инсерции или делеции расположены в областях вне HVR (т.е., на FR-участках). В некоторых вариантах осуществления, замены, инсерции или делеции расположены на FR-участках. Необязательно, анти-CD33 антитело содержит последовательность VH антитела CD33 или SEQ ID NO: 67, включая посттрансляционные модификации этой последовательности. В конкретном варианте осуществления, VH содержит один, два или три HVR, выбранных из: (a) аминокислотной последовательности HVR-H1 антитела AB-64.1.10, (b) аминокислотной последовательности HVR-H2 антитела AB-64.1.10, и (c) аминокислотной последовательности HVR-H3 антитела AB-64.1.10. В некоторых вариантах осуществления, анти-CD33 антитела согласно

настоящему раскрытию содержат последовательность вариабельного домена легкой цепи (VL), имеющую по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99%, или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью вариабельного домена легкой цепи антитела AB-64.1.10 или с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 86, и содержащую замены (например, консервативные замены, инсерции или делеции по сравнению с референсной последовательностью), но анти-CD33 антитело, содержащее такую последовательность, сохраняет способность связываться с CD33. В некоторых вариантах осуществления, в общей сложности, от 1 до 10 аминокислот было замещено, вставлено, и/или делетировано в аминокислотной последовательности вариабельного домена легкой цепи антитела AB-64.1.10 или аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 86. В некоторых вариантах осуществления, в общей сложности, от 1 до 5 аминокислот было замещено, вставлено, и/или делетировано в аминокислотной последовательности вариабельного домена легкой цепи антитела AB-64.1.10 или аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 86. В некоторых вариантах осуществления, замены, инсерции или делеции расположены в областях вне HVR (т.е., на FR-участках). В некоторых вариантах осуществления, замены, инсерции или делеции расположены на FR-участках. Необязательно, анти-CD33 антитело содержит последовательность VL антитела AB-64.1.10 или SEQ ID NO: 86, включая посттрансляционные модификации этой последовательности. В конкретном варианте осуществления, VL содержит один, два или три HVR, выбранных из: (a) аминокислотной последовательности HVR-L1 антитела AB-64.1.10, (b) аминокислотной последовательности HVR-L2 антитела AB-64.1.10, и (c) аминокислотной последовательности HVR-L3 антитела AB-64.1.10.

[0192] В некоторых вариантах осуществления, анти-CD33 антитела согласно настоящему раскрытию содержат вариабельный домен легкой цепи и вариабельный домен тяжелой цепи, при этом вариабельный домен тяжелой цепи содержит аминокислотную последовательность с по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99%, или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью вариабельного домена тяжелой цепи антитела AB-64.1.11 или с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 68; и/или вариабельный домен легкой цепи содержит аминокислотную последовательность с по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере

мере 98%, по меньшей мере 99%, или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью переменного домена легкой цепи антитела AB-64.1.11 или с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 86. В некоторых вариантах осуществления, анти-CD33 антитела согласно настоящему раскрытию содержат переменный домен тяжелой цепи, содержащий аминокислотную последовательность с по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99%, или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью переменного домена тяжелой цепи антитела AB-64.1.11 или с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 68, при этом переменный домен тяжелой цепи содержит аминокислотные последовательности HVR-H1, HVR-H2 и HVR-H3 антитела AB-64.1.11. В некоторых вариантах осуществления, анти-CD33 антитела согласно настоящему раскрытию содержат переменный домен легкой цепи, содержащий аминокислотную последовательность с по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99%, или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью переменного домена легкой цепи антитела AB-64.1.11 или с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 86, при этом переменный домен легкой цепи содержит аминокислотные последовательности HVR-L1, HVR-L2 и HVR-L3 антитела AB-64.1.11. В некоторых вариантах осуществления, анти-CD33 антитело содержит последовательность переменного домена тяжелой цепи (VH), имеющую по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99%, или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью переменного домена тяжелой цепи антитела AB-64.1.11 или с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 68, и содержащую замены (например, консервативные замены, инсерции или делеции по сравнению с референсной последовательностью), но анти-CD33 антитело, содержащее такую последовательность, сохраняет способность связываться с CD33. В некоторых вариантах осуществления, в общей сложности, от 1 до 10 аминокислот было замещено, вставлено, и/или делетировано в аминокислотной последовательности переменного домена тяжелой цепи антитела AB-64.1.11 или аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 68. В некоторых вариантах осуществления, в общей сложности, от 1 до 5 аминокислот было замещено, вставлено, и/или делетировано в аминокислотной последовательности переменного домена тяжелой цепи антитела AB-64.1.11 или

аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 68. В некоторых вариантах осуществления, замены, инсерции или делеции расположены в областях вне HVR (т.е., на FR-участках). В некоторых вариантах осуществления, замены, инсерции или делеции расположены на FR-участках. Необязательно, анти-CD33 антитело содержит последовательность VH антитела CD33 или SEQ ID NO: 68, включая посттрансляционные модификации этой последовательности. В конкретном варианте осуществления, VH содержит один, два или три HVR, выбранных из: (a) аминокислотной последовательности HVR-H1 антитела AB-64.1.11, (b) аминокислотной последовательности HVR-H2 антитела AB-64.1.11, и (c) аминокислотной последовательности HVR-H3 антитела AB-64.1.11. В некоторых вариантах осуществления, анти-CD33 антитела согласно настоящему раскрытию содержат последовательность переменного домена легкой цепи (VL), имеющую по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99%, или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью переменного домена легкой цепи антитела AB-64.1.11 или с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 86, и содержащую замены (например, консервативные замены, инсерции или делеции по сравнению с референсной последовательностью), но анти-CD33 антитело, содержащее такую последовательность, сохраняет способность связываться с CD33. В некоторых вариантах осуществления, в общей сложности, от 1 до 10 аминокислот было замещено, вставлено, и/или делетировано в аминокислотной последовательности переменного домена легкой цепи антитела AB-64.1.11 или аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 86. В некоторых вариантах осуществления, в общей сложности, от 1 до 5 аминокислот было замещено, вставлено, и/или делетировано в аминокислотной последовательности переменного домена легкой цепи антитела AB-64.1.11 или аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 86. В некоторых вариантах осуществления, замены, инсерции или делеции расположены в областях вне HVR (т.е., на FR-участках). В некоторых вариантах осуществления, замены, инсерции или делеции расположены на FR-участках. Необязательно, анти-CD33 антитело содержит последовательность VL антитела AB-64.1.11 или SEQ ID NO: 86, включая посттрансляционные модификации этой последовательности. В конкретном варианте осуществления, VL содержит один, два или три HVR, выбранных из: (a) аминокислотной последовательности HVR-L1 антитела AB-64.1.11, (b) аминокислотной последовательности HVR-L2 антитела AB-64.1.11, и (c) аминокислотной последовательности HVR-L3 антитела AB-64.1.11.

[0193] В некоторых вариантах осуществления, анти-CD33 антитела согласно настоящему раскрытию содержат переменный домен легкой цепи и переменный домен тяжелой цепи, при этом переменный домен тяжелой цепи содержит аминокислотную последовательность с по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере

87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99%, или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью переменного домена тяжелой цепи антитела АВ-64.1.12 или с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 69; и/или переменный домен легкой цепи содержит аминокислотную последовательность с по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99%, или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью переменного домена легкой цепи антитела АВ-64.1.12 или с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 86. В некоторых вариантах осуществления, анти-CD33 антитела согласно настоящему раскрытию содержат переменный домен тяжелой цепи, содержащий аминокислотную последовательность с по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99%, или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью переменного домена тяжелой цепи антитела АВ-64.1.12 или с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 69, при этом переменный домен тяжелой цепи содержит аминокислотные последовательности HVR-H1, HVR-H2 и HVR-H3 антитела АВ-64.1.12. В некоторых вариантах осуществления, анти-CD33 антитела согласно настоящему раскрытию содержат переменный домен легкой цепи, содержащий аминокислотную последовательность с по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99%, или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью переменного домена легкой цепи антитела АВ-64.1.12 или с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 86, при этом переменный домен легкой цепи содержит аминокислотные последовательности HVR-L1, HVR-L2 и HVR-L3 антитела АВ-64.1.12. В некоторых вариантах осуществления, анти-CD33 антитело содержит последовательность переменного домена тяжелой цепи (VH), имеющую по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99%, или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью переменного домена тяжелой

цепи антитела АВ-64.1.12 или с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 69, и содержащую замены (например, консервативные замены, инсерции или делеции по сравнению с референсной последовательностью), но анти-CD33 антитело, содержащее такую последовательность, сохраняет способность связываться с CD33. В некоторых вариантах осуществления, в общей сложности, от 1 до 10 аминокислот было замещено, вставлено, и/или делетировано в аминокислотной последовательности переменного домена тяжелой цепи антитела АВ-64.1.12 или аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 69. В некоторых вариантах осуществления, в общей сложности, от 1 до 5 аминокислот было замещено, вставлено, и/или делетировано в аминокислотной последовательности переменного домена тяжелой цепи антитела АВ-64.1.12 или аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 69. В некоторых вариантах осуществления, замены, инсерции или делеции расположены в областях вне HVR (т.е., на FR-участках). В некоторых вариантах осуществления, замены, инсерции или делеции расположены на FR-участках. Необязательно, анти-CD33 антитело содержит последовательность VH антитела CD33 или SEQ ID NO: 69, включая посттрансляционные модификации этой последовательности. В конкретном варианте осуществления, VH содержит один, два или три HVR, выбранных из: (а) аминокислотной последовательности HVR-H1 антитела АВ-64.1.12, (b) аминокислотной последовательности HVR-H2 антитела АВ-64.1.12, и (с) аминокислотной последовательности HVR-H3 антитела АВ-64.1.12. В некоторых вариантах осуществления, анти-CD33 антитело согласно настоящему раскрытию содержит последовательность переменного домена легкой цепи (VL), имеющую по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99%, или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью переменного домена легкой цепи антитела АВ-64.1.12 или с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 86, и содержащую замены (например, консервативные замены, инсерции или делеции по сравнению с референсной последовательностью), но анти-CD33 антитело, содержащее такую последовательность, сохраняет способность связываться с CD33. В некоторых вариантах осуществления, в общей сложности, от 1 до 10 аминокислот было замещено, вставлено, и/или делетировано в аминокислотной последовательности переменного домена легкой цепи антитела АВ-64.1.12 или аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 86. В некоторых вариантах осуществления, в общей сложности, от 1 до 5 аминокислот было замещено, вставлено, и/или делетировано в аминокислотной последовательности переменного домена легкой цепи антитела АВ-64.1.12 или аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 86. В некоторых вариантах осуществления, замены, инсерции или делеции расположены в областях вне HVR (т.е., на FR-участках). В некоторых вариантах осуществления, замены, инсерции или делеции расположены на FR-участках. Необязательно, анти-CD33 антитело

содержит последовательность VL антитела АВ-64.1.12 или SEQ ID NO: 86, включая посттрансляционные модификации этой последовательности. В конкретном варианте осуществления, VL содержит один, два или три HVR, выбранных из: (a) аминокислотной последовательности HVR-L1 антитела АВ-64.1.12, (b) аминокислотной последовательности HVR-L2 антитела АВ-64.1.12, и (c) аминокислотной последовательности HVR-L3 антитела АВ-64.1.12.

[0194] В некоторых вариантах осуществления, анти-CD33 антитела согласно настоящему раскрытию содержат переменный домен легкой цепи и переменный домен тяжелой цепи, при этом переменный домен тяжелой цепи содержит аминокислотную последовательность с по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99%, или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью переменного домена тяжелой цепи антитела АВ-64.1.13 или с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 52; и/или переменный домен легкой цепи содержит аминокислотную последовательность с по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99%, или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью переменного домена легкой цепи антитела АВ-64.1.13 или с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 86. В некоторых вариантах осуществления, анти-CD33 антитела согласно настоящему раскрытию содержат переменный домен тяжелой цепи, содержащий аминокислотную последовательность с по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99%, или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью переменного домена тяжелой цепи антитела АВ-64.1.13 или с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 52, при этом переменный домен тяжелой цепи содержит аминокислотные последовательности HVR-H1, HVR-H2 и HVR-H3 антитела АВ-64.1.13. В некоторых вариантах осуществления, анти-CD33 антитела согласно настоящему раскрытию содержат переменный домен легкой цепи, содержащий аминокислотную последовательность с по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99%, или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью

переменного домена легкой цепи антитела АВ-64.1.13 или с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 86, при этом переменный домен легкой цепи содержит аминокислотные последовательности HVR-L1, HVR-L2 и HVR-L3 антитела АВ-64.1.13. В некоторых вариантах осуществления, анти-CD33 антитело содержит последовательность переменного домена тяжелой цепи (VH), имеющую по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99%, или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью переменного домена тяжелой цепи антитела АВ-64.1.13 или с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 52, и содержащую замены (например, консервативные замены, вставки или делеции по сравнению с референсной последовательностью), но анти-CD33 антитело, содержащее такую последовательность, сохраняет способность связываться с CD33. В некоторых вариантах осуществления, в общей сложности, от 1 до 10 аминокислот было замещено, вставлено, и/или делетировано в аминокислотной последовательности переменного домена тяжелой цепи антитела АВ-64.1.13 или аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 52. В некоторых вариантах осуществления, в общей сложности, от 1 до 5 аминокислот было замещено, вставлено, и/или делетировано в аминокислотной последовательности переменного домена тяжелой цепи антитела АВ-64.1.13 или аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 52. В некоторых вариантах осуществления, замены, вставки или делеции расположены в областях вне HVR (т.е., на FR-участках). В некоторых вариантах осуществления, замены, вставки или делеции расположены на FR-участках. Необязательно, анти-CD33 антитело содержит последовательность VH антитела CD33 или SEQ ID NO: 52, включая посттрансляционные модификации этой последовательности. В конкретном варианте осуществления, VH содержит один, два или три HVR, выбранных из: (а) аминокислотной последовательности HVR-H1 антитела АВ-64.1.13, (б) аминокислотной последовательности HVR-H2 антитела АВ-64.1.13, и (с) аминокислотной последовательности HVR-H3 антитела АВ-64.1.13. В некоторых вариантах осуществления, анти-CD33 антитело согласно настоящему раскрытию содержит последовательность переменного домена легкой цепи (VL), имеющую по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99%, или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью переменного домена легкой цепи антитела АВ-64.1.13 или с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 86, и содержащую замены (например, консервативные замены, вставки или делеции по сравнению с референсной последовательностью), но анти-CD33 антитело, содержащее такую последовательность, сохраняет способность

связываться с CD33. В некоторых вариантах осуществления, в общей сложности, от 1 до 10 аминокислот было замещено, вставлено, и/или делетировано в аминокислотной последовательности переменного домена легкой цепи антитела AB-64.1.13 или аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 86. В некоторых вариантах осуществления, в общей сложности, от 1 до 5 аминокислот было замещено, вставлено, и/или делетировано в аминокислотной последовательности переменного домена легкой цепи антитела AB-64.1.13 или аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 86. В некоторых вариантах осуществления, замены, инсерции или делеции расположены в областях вне HVR (т.е., на FR-участках). В некоторых вариантах осуществления, замены, инсерции или делеции расположены на FR-участках. Необязательно, анти-CD33 антитело содержит последовательность VL антитела AB-64.1.13 или SEQ ID NO: 86, включая посттрансляционные модификации этой последовательности. В конкретном варианте осуществления, VL содержит один, два или три HVR, выбранных из: (a) аминокислотной последовательности HVR-L1 антитела AB-64.1.13, (b) аминокислотной последовательности HVR-L2 антитела AB-64.1.13, и (c) аминокислотной последовательности HVR-L3 антитела AB-64.1.13.

[0195] В некоторых вариантах осуществления, анти-CD33 антитела согласно настоящему раскрытию содержат переменный домен легкой цепи и переменный домен тяжелой цепи, при этом переменный домен тяжелой цепи содержит аминокислотную последовательность с по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99%, или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью переменного домена тяжелой цепи антитела AB-64.1.14 или с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 71; и/или переменный домен легкой цепи содержит аминокислотную последовательность с по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99%, или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью переменного домена легкой цепи антитела AB-64.1.14 или с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 86. В некоторых вариантах осуществления, анти-CD33 антитела согласно настоящему раскрытию содержат переменный домен тяжелой цепи, содержащий аминокислотную последовательность с по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99%, или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью переменного домена

тяжелой цепи антитела АВ-64.1.14 или с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 71, при этом переменный домен тяжелой цепи содержит аминокислотные последовательности HVR-H1, HVR-H2 и HVR-H3 антитела АВ-64.1.14. В некоторых вариантах осуществления, анти-CD33 антитела согласно настоящему раскрытию содержат переменный домен легкой цепи, содержащий аминокислотную последовательность с по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99%, или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью переменного домена легкой цепи антитела АВ-64.1.14 или с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 86, при этом переменный домен легкой цепи содержит аминокислотные последовательности HVR-L1, HVR-L2 и HVR-L3 антитела АВ-64.1.14. В некоторых вариантах осуществления, анти-CD33 антитело содержит последовательность переменного домена тяжелой цепи (VH), имеющую по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99%, или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью переменного домена тяжелой цепи антитела АВ-64.1.14 или с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 71, и содержащую замены (например, консервативные замены, инсерции или делеции по сравнению с референсной последовательностью), но анти-CD33 антитело, содержащее такую последовательность, сохраняет способность связываться с CD33. В некоторых вариантах осуществления, в общей сложности, от 1 до 10 аминокислот было замещено, вставлено, и/или делетировано в аминокислотной последовательности переменного домена тяжелой цепи антитела АВ-64.1.14 или аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 71. В некоторых вариантах осуществления, в общей сложности, от 1 до 5 аминокислот было замещено, вставлено, и/или делетировано в аминокислотной последовательности переменного домена тяжелой цепи антитела АВ-64.1.14 или аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 71. В некоторых вариантах осуществления, замены, инсерции или делеции расположены в областях вне HVR (т.е., на FR-участках). В некоторых вариантах осуществления, замены, инсерции или делеции расположены на FR-участках. Необязательно, анти-CD33 антитело содержит последовательность VH антитела CD33 или SEQ ID NO: 71, включая посттрансляционные модификации этой последовательности. В конкретном варианте осуществления, VH содержит один, два или три HVR, выбранных из: (a) аминокислотной последовательности HVR-H1 антитела АВ-64.1.14, (b) аминокислотной последовательности HVR-H2 антитела АВ-64.1.14, и (c) аминокислотной последовательности HVR-H3 антитела АВ-64.1.14. В некоторых вариантах осуществления, анти-CD33 антитела согласно

настоящему раскрытию содержат последовательность вариабельного домена легкой цепи (VL), имеющую по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99%, или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью вариабельного домена легкой цепи антитела AB-64.1.14 или с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 86, и содержащую замены (например, консервативные замены, инсерции или делеции по сравнению с референсной последовательностью), но анти-CD33 антитело, содержащее такую последовательность, сохраняет способность связываться с CD33. В некоторых вариантах осуществления, в общей сложности, от 1 до 10 аминокислот было замещено, вставлено, и/или делетировано в аминокислотной последовательности вариабельного домена легкой цепи антитела AB-64.1.14 или аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 86. В некоторых вариантах осуществления, в общей сложности, от 1 до 5 аминокислот было замещено, вставлено, и/или делетировано в аминокислотной последовательности вариабельного домена легкой цепи антитела AB-64.1.14 или аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 86. В некоторых вариантах осуществления, замены, инсерции или делеции расположены в областях вне HVR (т.е., на FR-участках). В некоторых вариантах осуществления, замены, инсерции или делеции расположены на FR-участках. Необязательно, анти-CD33 антитело содержит последовательность VL антитела AB-64.1.14 или SEQ ID NO: 86, включая посттрансляционные модификации этой последовательности. В конкретном варианте осуществления, VL содержит один, два или три HVR, выбранных из: (a) аминокислотной последовательности HVR-L1 антитела AB-64.1.14, (b) аминокислотной последовательности HVR-L2 антитела AB-64.1.14, и (c) аминокислотной последовательности HVR-L3 антитела AB-64.1.14.

[0196] В некоторых вариантах осуществления, анти-CD33 антитела согласно настоящему раскрытию содержат вариабельный домен легкой цепи и вариабельный домен тяжелой цепи, при этом вариабельный домен тяжелой цепи содержит аминокислотную последовательность с по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99%, или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью вариабельного домена тяжелой цепи антитела AB-64.1.15 или с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 72; и/или вариабельный домен легкой цепи содержит аминокислотную последовательность с по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере

мере 98%, по меньшей мере 99%, или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью переменного домена легкой цепи антитела AB-64.1.15 или с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 86. В некоторых вариантах осуществления, анти-CD33 антитела согласно настоящему раскрытию содержат переменный домен тяжелой цепи, содержащий аминокислотную последовательность с по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99%, или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью переменного домена тяжелой цепи антитела AB-64.1.15 или с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 72, при этом переменный домен тяжелой цепи содержит аминокислотные последовательности HVR-H1, HVR-H2 и HVR-H3 антитела AB-64.1.15. В некоторых вариантах осуществления, анти-CD33 антитела согласно настоящему раскрытию содержат переменный домен легкой цепи, содержащий аминокислотную последовательность с по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99%, или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью переменного домена легкой цепи антитела AB-64.1.15 или с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 86, при этом переменный домен легкой цепи содержит аминокислотные последовательности HVR-L1, HVR-L2 и HVR-L3 антитела AB-64.1.15. В некоторых вариантах осуществления, анти-CD33 антитело содержит последовательность переменного домена тяжелой цепи (VH), имеющую по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99%, или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью переменного домена тяжелой цепи антитела AB-64.1.15 или с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 72, и содержащую замены (например, консервативные замены, инсерции или делеции по сравнению с референсной последовательностью), но анти-CD33 антитело, содержащее такую последовательность, сохраняет способность связываться с CD33. В некоторых вариантах осуществления, в общей сложности, от 1 до 10 аминокислот было замещено, вставлено, и/или делетировано в аминокислотной последовательности переменного домена тяжелой цепи антитела AB-64.1.15 или аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 72. В некоторых вариантах осуществления, в общей сложности, от 1 до 5 аминокислот было замещено, вставлено, и/или делетировано в аминокислотной последовательности переменного домена тяжелой цепи антитела AB-64.1.15 или

аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 72. В некоторых вариантах осуществления, замены, инсерции или делеции расположены в областях вне HVR (т.е., на FR-участках). В некоторых вариантах осуществления, замены, инсерции или делеции расположены на FR-участках. Необязательно, анти-CD33 антитело содержит последовательность VH антитела CD33 или SEQ ID NO: 72, включая посттрансляционные модификации этой последовательности. В конкретном варианте осуществления, VH содержит один, два или три HVR, выбранных из: (a) аминокислотной последовательности HVR-H1 антитела AB-64.1.15, (b) аминокислотной последовательности HVR-H2 антитела AB-64.1.15, и (c) аминокислотной последовательности HVR-H3 антитела AB-64.1.15. В некоторых вариантах осуществления, анти-CD33 антитела согласно настоящему раскрытию содержат последовательность переменного домена легкой цепи (VL), имеющую по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99%, или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью переменного домена легкой цепи антитела AB-64.1.15 или с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 86, и содержащую замены (например, консервативные замены, инсерции или делеции по сравнению с референсной последовательностью), но анти-CD33 антитело, содержащее такую последовательность, сохраняет способность связываться с CD33. В некоторых вариантах осуществления, в общей сложности, от 1 до 10 аминокислот было замещено, вставлено, и/или делетировано в аминокислотной последовательности переменного домена легкой цепи антитела AB-64.1.15 или аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 86. В некоторых вариантах осуществления, в общей сложности, от 1 до 5 аминокислот было замещено, вставлено, и/или делетировано в аминокислотной последовательности переменного домена легкой цепи антитела AB-64.1.15 или аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 86. В некоторых вариантах осуществления, замены, инсерции или делеции расположены в областях вне HVR (т.е., на FR-участках). В некоторых вариантах осуществления, замены, инсерции или делеции расположены на FR-участках. Необязательно, анти-CD33 антитело содержит последовательность VL антитела AB-64.1.15 или SEQ ID NO: 86, включая посттрансляционные модификации этой последовательности. В конкретном варианте осуществления, VL содержит один, два или три HVR, выбранных из: (a) аминокислотной последовательности HVR-L1 антитела AB-64.1.15, (b) аминокислотной последовательности HVR-L2 антитела AB-64.1.15, и (c) аминокислотной последовательности HVR-L3 антитела AB-64.1.15.

[0197] В некоторых вариантах осуществления, анти-CD33 антитело представляет собой моноклональное анти-CD33 антитело AB-64.1.2. В некоторых вариантах осуществления, анти-CD33 антитело представляет собой выделенное антитело, которое связывает по существу тот же эпитоп CD33, что и AB-64.1.2. В некоторых вариантах

осуществления, анти-CD33 антитело представляет собой выделенное антитело, содержащее HVR-H1, HVR-H2 и HVR-H3 переменного домена тяжелой цепи моноклонального антитела AB-64.1.2. В некоторых вариантах осуществления, анти-CD33 антитело представляет собой выделенное антитело, содержащее HVR-L1, HVR-L2 и HVR-L3 легкой цепи переменного домена моноклонального антитела AB-64.1.2. В некоторых вариантах осуществления, анти-CD33 антитело представляет собой выделенное антитело, содержащее HVR-H1, HVR-H2 и HVR-H3 переменного домена тяжелой цепи, и HVR-L1, HVR-L2 и HVR-L3 легкой цепи переменного домена моноклонального антитела AB-64.1.2.

[0198] В некоторых вариантах осуществления, анти-CD33 антитело представляет собой моноклональное анти-CD33 антитело AB-64.1.8. В некоторых вариантах осуществления, анти-CD33 антитело представляет собой выделенное антитело, которое связывает по существу тот же эпитоп CD33, что и AB-64.1.8. В некоторых вариантах осуществления, анти-CD33 антитело представляет собой выделенное антитело, содержащее HVR-H1, HVR-H2 и HVR-H3 переменного домена тяжелой цепи моноклонального антитела AB-64.1.8. В некоторых вариантах осуществления, анти-CD33 антитело представляет собой выделенное антитело, содержащее HVR-L1, HVR-L2 и HVR-L3 легкой цепи переменного домена моноклонального антитела AB-64.1.8. В некоторых вариантах осуществления, анти-CD33 антитело представляет собой выделенное антитело, содержащее HVR-H1, HVR-H2 и HVR-H3 переменного домена тяжелой цепи, и HVR-L1, HVR-L2 и HVR-L3 легкой цепи переменного домена моноклонального антитела AB-64.1.8.

[0199] В некоторых вариантах осуществления, анти-CD33 антитело представляет собой антагонистическое антитело. В некоторых вариантах осуществления, анти-CD33 антитело представляет собой агонистическое антитело или инертное антитело. В некоторых вариантах осуществления, анти-CD33 антитела согласно настоящему раскрытию принадлежат к классу IgG, классу IgM, или классу IgA. В некоторых вариантах осуществления, анти-CD33 антитела согласно настоящему раскрытию принадлежат к классу IgG и имеют изотип IgG1, IgG2, IgG3 или IgG4.

[0200] Дополнительные анти-CD33 антитела, например, антитела, которые специфически связываются с белком CD33 согласно настоящему раскрытию, могут быть идентифицированы, подвергнуты скринингу, и/или охарактеризованы для определения их физических/химических свойств и/или биологических активностей различными методами анализа, известными специалистам.

Анти-CD33 антитела, способные связывать Fc-гамма-рецепторы

[0201] В некоторых вариантах осуществления, анти-CD33 антитела согласно настоящему раскрытию сохраняют способность связывать Fc-гамма-рецепторы. В некоторых вариантах осуществления, такие антитела, когда они имеют правильную специфичность эпитопа, совместимую с активацией рецептора, могут обладать свойствами, которые позволяют им кластеризоваться и транзистентно стимулировать,

например, рецептор CD33. В некоторых вариантах осуществления, такие антитела могут впоследствии выступать в роли долговременных ингибиторов экспрессии CD33 и/или одной или нескольких активностей белка CD33 путем индуцирования деградации CD33, десенсибилизации CD33, расщепления CD33, интернализации CD33, шеддинга CD33, понижающей регуляции экспрессии CD33, и/или лизосомальной деградации CD33.

[0202] In vivo, анти-CD33 антитела согласно настоящему раскрытию могут кластеризовать рецепторы и транзистентно активировать CD33 посредством любого одного или нескольких из множества потенциальных механизмов. Некоторые изотипы человеческих антител, такие как IgG2, имеют, благодаря своей уникальной структуре, врожденную способность кластеризовать рецепторы, или удерживать рецепторы в кластеризованной конфигурации, тем самым транзистентно активируя рецепторы, такие как CD33, без связывания с Fc-рецептором (например, White et al., (2015) Cancer Cell 27, 138–148).

[0203] В некоторых вариантах осуществления, другие антитела могут кластеризовать рецепторы (например, CD33) путем связывания с рецепторами Fcγ на прилегающих клетках. В некоторых вариантах осуществления, связывание константного Fc-участка IgG антитела с рецепторами Fcγ может приводить к агрегации антител, и антитела в свою очередь могут агрегировать рецепторы, с которыми они связываются посредством своей вариабельной области (Chu et al. (2008) Mol Immunol, 45:3926–3933; и Wilson et al., (2011) Cancer Cell 19, 101–113). В некоторых вариантах осуществления, связывание с ингибирующим Fcγ рецептором FcγR (FcγRIIB), который не вызывает секреции цитокинов, окислительного взрыва, повышенного фагоцитоза и повышенной антителозависимой клеточноопосредованной цитотоксичности (ADCC), представляет собой предпочтительный путь кластеризации антител in vivo, поскольку связывание с FcγRIIB не связано с эффектом нежелательного иммунного ответа.

[0204] Существуют другие механизмы, по которым анти-CD33 антитела согласно настоящему раскрытию могут кластеризовать рецепторы. Например, фрагменты антител (например, фрагменты Fab), которые являются сшитыми вместе, могут быть использованы для кластеризации рецепторов (например, CD33), аналогично антителам с Fc-участками, которые связывают рецепторы Fcγ, как описано выше. В некоторых вариантах осуществления, сшитые фрагменты антител (например, фрагменты Fab) могут транзистентно функционировать как агонистические антитела, если они индуцируют кластеризацию рецепторов на поверхности клетки и связывают соответствующий эпитоп на мишени (например, CD33).

[0205] Поэтому, в некоторых вариантах осуществления, антитела согласно настоящему раскрытию, связывающие белок CD33, могут включать антитела, которые благодаря своей специфичности к эпитопу связывают CD33 и транзистентно активируют одну или более активностей CD33, перед тем как они, например, снижают клеточные уровни CD33, ингибируют одну или более активностей CD33, и/или ингибируют взаимодействие (например, связывание) между CD33 и одним или несколькими

лигандами CD33. В некоторых вариантах осуществления, такие антитела могут связываться с лигандсвязывающим сайтом CD33 и транзистентно имитировать действие природного лиганда, или стимулировать антиген–мишень к трансдукции сигнала путем связывания с одним или несколькими доменами, не являющимися лигандсвязывающими сайтами. В некоторых вариантах осуществления, такие антитела не будут препятствовать связыванию лиганда. В некоторых вариантах осуществления, независимо от того, связываются антитела с лигандсвязывающим сайтом CD33 или не связываются, антитела могут впоследствии выступать в роли долговременных ингибиторов экспрессии CD33 и/или одной или нескольких активностей белка CD33 путем индуцирования деградации CD33, десенсибилизации CD33, расщепления CD33, интернализации CD33, шеддинга CD33, понижающей регуляции экспрессии CD33, и/или лизосомальной деградации CD33.

[0206] В некоторых вариантах осуществления, анти-CD33 антитело согласно настоящему раскрытию представляет собой антитело, которое транзистентно индуцирует одну или более активностей белка CD33. В некоторых вариантах осуществления, антитело транзистентно индуцирует одну или более активностей после связывания с белком CD33 который экспрессируется в клетке. В некоторых вариантах осуществления, белок CD33 экспрессируется на поверхности клетки. В некоторых вариантах осуществления, одна или несколько активностей белка CD33, которые транзистентно индуцируются анти-CD33 антителами согласно настоящему раскрытию, могут включать, без ограничений, фосфорилирование Tyr-340 и Tyr-358 тирозинкиназой семейства Src, такой как LCK и FYN; рекрутирование и связывание с тирозинспецифическими протеинфосфатазами SHP1 и SHP2; рекрутирование и связывание с PLC-гамма-1, который выступает в роли фактора обмена гуанинового нуклеотида для Dynamini-1; рекрутирование и связывание с белок, содержащих SH2-домен (например, Crkl); рекрутирование и связывание с тирозинкиназой селезенки Syk; рекрутирование и связывание с SH3-SH2-SH3 белком, связанным с рецептором фактора роста 2 (Grb2); рекрутирование и связывание с множеством SH2-содержащих белков; фосфорилирование Ser-307 и Ser-342 протеинкиназой C; модулированную экспрессию одного или нескольких противовоспалительных цитокинов, IL-4, IL-10, IL-13, IL-35, IL-16, TGF-бета, IL-1Ra, G-CSF, и растворимых рецепторов TNF, IFN-бета-1a, IFN-бета-1b, или IL-6 в моноцитах, макрофагах, Т-клетках, дендритных клетках, нейтрофилах и/или микроглии; снижение внутриклеточной мобилизации кальция; модулированную экспрессию одного или нескольких провоспалительных цитокинов IFN-a4, IFN-b, IL-1β, TNF-α, IL-6, IL-8, CRP, членов семейства IL-20, LIF, IFN-гамма, OSM, CNTF, GM-CSF, IL-11, IL-12, IL-17, IL-18, IL-23, CXCL10, IL-33, CRP, IL-33, MCP-1, и MIP-1-бета в моноцитах, макрофагах, Т-клетках, дендритных клетках, нейтрофилах и/или микроглии; модулированную экспрессию одного или нескольких белков, выбранных из C1qa, C1qB, C1qC, C1s, C1R, C4, C2, C3, ITGB2, HMOX1, LAT2, CASP1, CSTA, VSIG4, MS4A4A, C3AR1, GPX1, TyroBP, ALOX5AP, ITGAM, SLC7A7, CD4, ITGAX, PYCARD, CD14, CD16, HLA-DR, и CCR2; ингибирование фосфорилирования регулируемой внеклеточными сигналами

киназы (ERK); снижение фосфорилирования тирозина во множестве клеточных белков; модулированную экспрессию C–С рецептора хемокина 7 (CCR7); ингибирование хемотаксиса микроглиальных клеток по отношению к клеткам, экспрессирующим CCL19 и CCL21; активацию фосфоинозитид–3–киназы; снижение клеточного роста моноцитов, макрофагов, Т–клеток, дендритных клеток и/или микроглии; снижение пролиферации Т–клеток, индуцируемой дендритными клетками, дендритными клетками костномозгового происхождения, моноцитами, микроглией, микроглией M1, активированной микроглией M1, микроглией M2, макрофагами, макрофагами M1, активированными макрофагами M1 и/или макрофагами M2; ингибирование продуцирования остеокластов, пониженную скорость остеокластогенеза, или оба эти эффекта; снижение выживания нейтрофилов, дендритных клеток, дендритных клеток костномозгового происхождения, макрофагов, макрофагов M1, активированных макрофагов M1, макрофагов M2, моноцитов, остеокластов, Т–клеток, Т–хелперных клеток, цитотоксических Т–клеток, гранулоцитов, микроглии, микроглии M1, активированной микроглии M1, и/или микроглии M2; снижение пролиферации нейтрофилов, дендритных клеток, дендритных клеток костномозгового происхождения, макрофагов, макрофагов M1, активированных макрофагов M1, макрофагов M2, моноцитов, остеокластов, Т–клеток, Т–хелперных клеток, цитотоксических Т–клеток, гранулоцитов, микроглии, микроглии M1, активированной микроглии M1, и/или микроглии M2; ингибирование миграции нейтрофилов, дендритных клеток, дендритных клеток костномозгового происхождения, макрофагов, макрофагов M1, активированных макрофагов M1, макрофагов M2, моноцитов, остеокластов, Т–клеток, Т–хелперных клеток, цитотоксических Т–клеток, гранулоцитов, микроглии, микроглии M1, активированной микроглии M1, и/или микроглии M2; снижение одной или нескольких функций нейтрофилов, дендритных клеток, дендритных клеток костномозгового происхождения, макрофагов, макрофагов M1, активированных макрофагов M1, макрофагов M2, моноцитов, остеокластов, Т–клеток, Т–хелперных клеток, цитотоксических Т–клеток, гранулоцитов, микроглии, микроглии M1, активированной микроглии M1, и/или микроглии M2; ингибирование созревания нейтрофилов, дендритных клеток, дендритных клеток костномозгового происхождения, макрофагов, макрофагов M1, активированных макрофагов M1, макрофагов M2, моноцитов, остеокластов, Т–клеток, Т–хелперных клеток, цитотоксических Т–клеток, гранулоцитов, микроглии, микроглии M1, активированной микроглии M1, и/или микроглии M2; увеличение клеточной гибели и апоптоза моноцитов, макрофагов, Т–клеток, дендритных клеток, нейтрофилов и/или микроглии; снижение фагоцитарной активности моноцитов, макрофагов, Т–клеток, дендритных клеток, нейтрофилов и/или микроглии; уменьшение пролиферации моноцитов, макрофагов, Т–клеток, дендритных клеток, нейтрофилов и/или микроглии; снижение общей функциональности моноцитов, макрофагов, Т–клеток, дендритных клеток, нейтрофилов и/или микроглии, фосфорилирование ITAM–содержащего рецептора; фосфорилирование сигнальных молекул, которые опосредуют сигнализацию ITAM; снижение активации

рецепторов распознавания паттернов; снижение активации Toll-подобных рецепторов; снижение активации клиренса связанного с повреждениями клеточного и белкового дебриса; взаимодействие между CD33 и одним или несколькими его лигандами; взаимодействие между CD33 и корецептором, таким как CD64; снижение одного или нескольких типов клиренса, выбранных из клиренса апоптозных нейронов, клиренса дисфункциональных синапсов, клиренса дебриса нервной ткани, клиренса дебриса не-нервной ткани, клиренса бактерий или других чужеродных тел, клиренса патогенного белка, и клиренса опухолевых клеток; ингибирование фагоцитоза чего-то одного или нескольких из апоптотических нейронов, дебриса нервной ткани, дебриса не-нервной ткани, бактерий, других инородных тел, патогенных белков, патогенных пептидов, патогенной нуклеиновой кислоты, патогенных липидов, или опухолевых клеток; ингибирование клиренса патогенной нуклеиновой кислоты, такой как патогенная нуклеиновая кислота, представляющая собой антисмысловую РНК с экспансией повторов GGCCCC (G2C4); активацию клиренса патогенного белка, выбранного из бета-амилоида, бета-амилоидных бляшек, белка-предшественника амилоида или его фрагментов, тау (Tau)-белка, IAPP, альфа-синуклеина, TDP-43, белка FUS, C9orf72 (открытая рамка считывания 72 хромосомы 9), белка с9RAN, прионного белка, PrPSc, хантинтина, кальцитонина, супероксиддисмутазы, атаксина, атаксина 1, атаксина 2, атаксина 3, атаксина 7, атаксина 8, атаксина 10, телец Леви, предсердного натриуретического фактора, островкового амилоидного полипептида, инсулина, аполипопротеина AI, сывороточного амилоида A, медины, пролактина, транстиретина, лизоцима, бета-2-микроглобулина, гелсолина, кератоэпителина, цистатина, иммуноглобулина легкой цепи AL, белка S-IBM, связанных с не-ATG повторами (RAN) продуктов трансляции, пептидов с дипептидными повторами (DPR), пептидов с повторами глицин-аланин (GA), пептидов с повторами глицин-пролин (GP), пептидов с повторами глицин-аргинин (GR), пептидов с повторами пролин-аланин (PA), убиквитина, и пептидов с повторами пролин-аргинин (PR); ингибирование благоприятного иммунного ответа на разные типы рака, выбранные из рака мочевого пузыря, рака головного мозга, рака молочной железы, рака толстой кишки, рака прямой кишки, эндометриального рака, рака почки, почечноклеточного рака, рака почечной лоханки, лейкоза, рака легкого, меланомы, неходжкинской лимфомы, острого миелолейкоза, рака поджелудочной железы, рака предстательной железы, рака яичника, фибросаркомы и рака щитовидной железы; ингибирование благоприятного иммунного ответа на разные типы неврологических расстройств, выбранных из деменции, лобно-височной деменции, болезни Альцгеймера, сосудистой деменции, смешанной деменции, болезни Крейтцфельда-Якоба, нормотензивной гидроцефалии, бокового амиотрофического склероза, болезни Гентингтона, таупатии, болезни Насу-Хакола, инсульта, острой травмы, хронической травмы, эссенциального тремора, болезни Бехчета, болезни Паркинсона, деменции с тельцами Леви, мультисистемной атрофии, синдрома Шая-Дрейджера, прогрессирующего надъядерного паралича, кортикобазальной ганглионарной дегенерации, острого

рассеянного энцефаломиелита, гранулематозных расстройств, саркоидоза, болезней старения, эпилептических припадков, повреждения спинного мозга, травматического повреждения головного мозга, возрастной макулярной дегенерации, глаукомы, пигментного ретинита, дегенерации сетчатки и рассеянного склероза; ингибирование благоприятного иммунного ответа на разные типы воспалительных и инфекционных расстройств, выбранных из волчанки, острого и хронического колита, заживления ран, болезни Крона, воспалительного заболевания кишечника, неспецифического язвенного колита, ожирения, малярии, инфекции дыхательных путей, сепсиса, глазной инфекции, системной инфекции, волчанки, артрита, низкой плотности костной ткани, остеопороза, остеогенеза, остеопетрозного заболевания и деформирующего остита; ингибирование фагоцитоза чего-то одного или нескольких из апоптотических нейронов, дебриса нервной ткани, дисфункциональных синапсов, дебриса не-нервной ткани, бактерий, других инородных тел, патогенных белков, патогенных пептидов, патогенных нуклеиновых кислот, или опухолевых клеток, при этом патогенные нуклеиновые кислоты могут быть антисмысловой РНК с экспансией повторов GGCCCC (G2C4), патогенные белки могут включать бета-амилоид, олигомерный бета-амилоид, бета-амилоидные бляшки, белок-предшественник амилоида или его фрагменты, тау-белок (Tau), IAPP, альфа-синуклеин, TDP-43, белок FUS, C9orf72 (открытая рамка считывания 72 хромосомы 9), белок c9RAN, прионный белок, PrPSc, хантингтин, кальцитонин, супероксиддисмутаза, атаксин, атаксин 1, атаксин 2, атаксин 3, атаксин 7, атаксин 8, атаксин 10, тельца Леви, предсердный натриуретический фактор, островковый амилоидный полипептид, инсулин, апополипротеин AI, сывороточный амилоид A, медин, пролактин, транстиретин, лизоцим, бета-2-микроглобулин, гелсолин, кератоэпителин, цистатин, иммуноглобулин легкой цепи AL, белок S-IBM, связанные с не-ATG повторами (RAN) продукты трансляции, пептиды с дипептидными повторами (DPR), пептиды с повторами глицин-аланин (GA), пептиды с повторами глицин-пролин (GP), пептиды с повторами глицин-аргинин (GR), пептиды с повторами пролин-аланин (PA), убиквитин, и пептиды с повторами пролин-аргинин (PR), и опухолевые клетки могут относиться к раку, выбранному из рака мочевого пузыря, рака головного мозга, рака молочной железы, рака толстой кишки, рака прямой кишки, эндометриального рака, рака почки, почечноклеточного рака, рака почечной лоханки, лейкоза, рака легкого, меланомы, неходжкинской лимфомы, рака поджелудочной железы, рака предстательной железы, рака яичника, фибросаркомы, или рака щитовидной железы; связывание с лигандом CD33 на опухолевых клетках; связывание с лигандом CD33 на дендритных клетках, дендритных клетках костномозгового происхождения, моноцитах, микроглии, Т-клетках, нейтрофилах и/или макрофагах; ингибирование уничтожения опухолевых клеток чем-то одним или несколькими из микроглии, макрофагов, дендритных клеток, дендритных клеток костномозгового происхождения, нейтрофилов, Т-клеток, Т-хелперных клеток или цитотоксических Т-клеток; ингибирование активности против пролиферации опухолевых клеток чего-то одного или нескольких из микроглии, макрофагов, дендритных клеток,

дендритных клеток костномозгового происхождения, нейтрофилов, Т-клеток, Т-хелперных клеток или цитотоксических Т-клеток; ингибирование активности против метастазирования опухолевых клеток чего-то одного или нескольких из микроглии, макрофагов, дендритных клеток, дендритных клеток костномозгового происхождения, нейтрофилов, Т-клеток, Т-хелперных клеток или цитотоксических Т-клеток; промотирование иммуносупрессорных дендритных клеток, иммуносупрессорных макрофагов, супрессорных клеток миелоидного происхождения, опухоль-ассоциированных макрофагов, или регуляторных Т-клеток; ингибирование одного или нескольких рецепторов, содержащих мотив ITAM, таких как TREM1, TREM2, FcγR, DAP10, и DAP12; ингибирование одного или нескольких рецепторов, содержащих мотив D/Ex0-2YxxL/IX6-8YxxL/I (SEQ ID NO:165); ингибирование сигнализации одного или нескольких рецепторов распознавания паттернов (PRR), таких как рецепторы, которые идентифицируют связанные с патогенами молекулярные паттерны (PAMP), и рецепторы, которые идентифицируют связанные с повреждениями молекулярные паттерны (DAMP); ингибирование сигнализации одного или нескольких Toll-подобных рецепторов; ингибирование сигнального пути JAK-STAT; ингибирование ядерного фактора каппа-легкой цепи-энхансера активированных В-клеток (NFκB); ингибирование PLCγ/PKC/мобилизации кальция; ингибирование сигнализации PI3K/Akt, Ras/MAPK; модулированную экспрессию одношо или нескольких воспалительных рецепторов, таких как CD86, экспрессируемый на чем-то одном или нескольких из микроглии, макрофагов, дендритных клеток, дендритных клеток костномозгового происхождения, нейтрофилов, Т-клеток, Т-хелперных клеток или цитотоксических Т-клеток; увеличение экспрессии одного или нескольких CD33-зависимых генов; нормализация нарушенной CD33-зависимой генной экспрессии; и снижение экспрессии одного или нескольких ITAM-зависимых генов, таких как факторы транскрипции NFAT. Анти-CD33 антитела согласно настоящему раскрытию могут быть протестированы на их способность транзистентно индуцировать одну или более активностей белка CD33 с использованием любой пригодной методики или анализа, известных специалистам и раскрытых в настоящем описании. Независимо от активностей, которые такие антитела транзистентно индуцируют, такие антитела могут впоследствии действовать как долговременные ингибиторы экспрессии CD33 и/или одной или нескольких активностей белка CD33 путем индуцирования деградации CD33, десенсибилизации CD33, расщепления CD33, интернализации CD33, шеддинга CD33, понижающей регуляции экспрессии CD33, и/или лизосомальной деградации CD33. В некоторых вариантах осуществления, антитело CD33 транзистентно индуцирует одну или более активностей белка CD33 независимо от связывания с Fc-рецептором.

[0207] Типичные примеры изотипов и модификаций Fc антитела представлены в **Таблице В** ниже. В некоторых вариантах осуществления, анти-CD33 антитело согласно настоящему раскрытию, которое способно связывать Fc-гамма-рецептор, имеет изотип Fc, указанный в **Таблице В** ниже.

Таблица В: Типичные примеры изоформ Fc анти-CD33 антитела, способных связывать Fc-гамма-рецептор

Изотип Fc	Мутация (схема нумерации EU)
IgG1	N297A
IgG1	D265A и N297A
IgG1	D270A
IgG1	L234A и L235A L234A и G237A L234A и L235A и G237A
IgG1	D270A, и/или P238D, и/или L328E, и/или E233D, и/или G237D и/или H268D, и/или P271G, и/или A330R
IgG1	P238D и L328E и E233D и G237D и H268D и P271G и A330R
IgG1	P238D и L328E и G237D и H268D и P271G и A330R
IgG1	P238D и S267E и L328F и E233D и G237D и H268D и P271G и A330R
IgG1	P238D и S267E и L328F и G237D и H268D и P271G и A330R
IgG2	V234A и G237A
IgG4	L235A и G237A и E318A
IgG4	S228P и L236E
гибрид IgG2/4	IgG2 аминокислоты 118–260 и IgG4 аминокислоты 261–447
	H268Q и V309L; и A330S и P331S
IgG1	C226S и C229S и E233P и L234V и L235A
IgG1	L234F и L235E и P331S
IgG2	C232S или C233S
IgG2	A330S и P331S
IgG1	S267E и L328F только S267E
IgG2	S267E и L328F
IgG4	S267E и L328F
IgG2	НС WT (дикого типа) с каппа-LC (легкая цепь) НС C127S с каппа-LC каппа-LC C214S каппа-LC C214S и НС C233S каппа-LC C214S и НС C232S

Изотип Fc	Мутация (схема нумерации EU)
	любая из вышеуказанных мутаций вместе с мутациями P330S и P331S фрагмент F(ab') ₂ IgG1 WT (дикого типа) и любая из вышеуказанных мутаций
IgG1	замена области константного домена 1 тяжелой цепи (CH1) и шарнирной области IgG1 на CH1 и шарнирную область IgG2 ASTKGPSVFP LAPCSRSTSE STAALGCLVK DYFPEPVTVS WNSGALTSGV HTFPAVLQSS GLYSLSSVVT VPSSNFGTQT YTCNVDHKPS NTKVDKTVK KCCVECPCPC (SEQ ID NO: 166) с каппа–LC
IgG1	Любая из вышеуказанных мутаций вместе с A330L/A330S и/или L234F и/или L235E и/или P331S
IgG1, IgG2, или IgG4	Любая из вышеуказанных мутаций вместе с M252Y и/или S254T и/или T256E
мышинный IgG1, мышинный IgG2a, мышинный IgG2b	для мышинных моделей заболевания
IgG4	WT (дикого типа)
IgG1	любая из вышеуказанных мутаций вместе с E430G, E430S, E430F, E430T, E345K, E345Q, E345R, E345Y, S440Y, S440W и/или любой их комбинацией.
IgG2	любая из вышеуказанных мутаций вместе с E430G, E430S, E430F, E430T, E345K, E345Q, E345R, E345Y, S440Y, S440W и/или любой их комбинацией.

[0208] В дополнение к изотипам, описанным в Таблице С, и без желания ограничиваться теорией, укажем, что, как считается, антитела с изотипами человеческих IgG1 или IgG3 и их мутанты (например, Strohl (2009) Current Opinion in Biotechnology 2009, 20:685–691), которые связывают рецепторы Fcγ I, IIА, IIС, IIIА, IIIВ у людей и/или рецепторы Fcγ I, III и IV у мышей, могут также выступать в качестве транзистентных агонистических антител.

[0209] В некоторых вариантах осуществления, антитело, связывающее Fc–гамма–рецептор, принадлежит к классу IgG, классу IgM, или классу IgA. В некоторых вариантах осуществления, антитело, связывающее Fc–гамма–рецептор, имеет изотип IgG1, IgG2, IgG3 или IgG4. В некоторых вариантах осуществления, антитело содержит одну или более (например, одну или больше, две или больше, три или больше, четыре или больше, пять

или больше, шесть или больше, семь или больше, восемь или больше, девять или больше, 10 или больше, 11 или больше, 12 или больше, или все тринадцать) аминокислотных замен на Fc-участке в положении остатка, выбранном из группы, состоящей из: C127S, L234A, L234F, L235A, L235E, S267E, K322A, L328F, A330S, P331S, E345R, E430G, S440Y в любой комбинации (положения остатков в соответствии с нумерацией EU или Кабата). В некоторых вариантах осуществления, Fc-участок содержит аминокислотную замену в положении E430G. В некоторых вариантах осуществления, Fc-участок содержит аминокислотные замены в положениях L243A, L235A, и P331A. В некоторых вариантах осуществления, Fc-участок содержит аминокислотные замены в положениях L243A, L235A, P331A. В некоторых вариантах осуществления, Fc-участок содержит аминокислотные замены в положениях K322A и E430G. В некоторых вариантах осуществления, Fc-участок содержит аминокислотные замены в положениях P331S и E430G. В некоторых вариантах осуществления, Fc-участок содержит аминокислотные замены в положениях A330S, P331S, и E430G. В некоторых вариантах осуществления, Fc-участок содержит аминокислотные замены в положениях K322A, A330S и P331S. В некоторых вариантах осуществления, Fc-участок содержит аминокислотные замены в положениях K322A, P331S, и E430G. В некоторых вариантах осуществления, Fc-участок содержит аминокислотные замены в положениях A330S, P331S, и E430G. В некоторых вариантах осуществления, Fc-участок содержит аминокислотные замены в положениях S267E и L328F. В некоторых вариантах осуществления, Fc-участок содержит аминокислотную замену в положении C127S. В некоторых вариантах осуществления, Fc-участок содержит аминокислотные замены в положениях E345R, E430G и S440Y. В некоторых вариантах осуществления, Fc-участок содержит аминокислотные замены в положениях L243A, L235A и P331S.

[0210] В некоторых вариантах осуществления, антитело, связывающее Fc-гамма-рецептор, имеет изотип IgG2. В некоторых вариантах осуществления, антитело, связывающее Fc-гамма-рецептор, содержит константную область человеческого IgG2. В некоторых вариантах осуществления, константная область человеческого IgG2 включает Fc-участок. В некоторых вариантах осуществления, антитело, связывающее Fc-гамма-рецептор, связывает ингибирующий Fc-рецептор. В некоторых вариантах осуществления, ингибирующий Fc-рецептор представляет собой ингибирующий Fc-гамма-рецептор IIb (FcγIIb). В некоторых вариантах осуществления, Fc-участок содержит одну или более модификаций. Например, в некоторых вариантах осуществления, Fc-участок содержит одну или более аминокислотных замен (например, по сравнению с Fc-участком дикого типа того же изотипа). В некоторых вариантах осуществления, одну или более аминокислотных замен выбирают из V234A (Alegre et al., (1994) Transplantation 57:1537–1543. 31; Xu et al., (2000) Cell Immunol, 200:16–26), G237A (Cole et al. (1999) Transplantation, 68:563–571), H268Q, V309L, A330S, P331S (US 2007/0148167; Armour et al. (1999) Eur J Immunol 29: 2613–2624; Armour et al. (2000) The Haematology Journal 1(Suppl,1):27; Armour et al. (2000) The Haematology Journal 1(Suppl,1):27), C232S и/или

C233S (White et al.(2015) *Cancer Cell* 27, 138–148), S267E, L328F (Chu et al., (2008) *Mol Immunol*, 45:3926–3933), M252Y, S254T, и/или T256E, при этом положения аминокислот находятся в соответствии с системой нумерации EU или Кабата.

[0211] В некоторых вариантах осуществления, антитело, связывающее Fc–гамма–рецептор, имеет изотип IgG2 с константным доменом тяжелой цепи, который содержит аминокислотную замену C127S, при этом положения аминокислот находятся в соответствии с системой нумерации EU или Кабата (White et al., (2015) *Cancer Cell* 27, 138–148; Lightle et al., (2010) *PROTEIN SCIENCE* 19:753–762; и WO2008079246).

[0212] В некоторых вариантах осуществления, антитело, связывающее Fc–гамма–рецептор, имеет изотип IgG2 с константным доменом легкой цепи–каппа, который содержит аминокислотную замену C214S, при этом положения аминокислот находятся в соответствии с системой нумерации EU или Кабата (White et al., (2015) *Cancer Cell* 27, 138–148; Lightle et al., (2010) *PROTEIN SCIENCE* 19:753–762; и WO2008079246).

[0213] В некоторых вариантах осуществления, антитело, связывающее Fc–гамма–рецептор, имеет изотип IgG1. В некоторых вариантах осуществления, антитело, связывающее Fc–гамма–рецептор, содержит константную область мышиного IgG1. В некоторых вариантах осуществления, антитело, связывающее Fc–гамма–рецептор, содержит константную область человеческого IgG1. В некоторых вариантах осуществления, константная область человеческого IgG1 содержит Fc–участок. В некоторых вариантах осуществления, антитело, связывающее Fc–гамма–рецептор, связывает ингибирующий Fc–рецептор. В некоторых вариантах осуществления, ингибирующий Fc–рецептор представляет собой ингибирующий Fc–гамма–рецептор IIb (FcγIIb). В некоторых вариантах осуществления, Fc–участок содержит одну или более модификаций. Например, в некоторых вариантах осуществления, Fc–участок содержит одну или более аминокислотных замен (например, по сравнению с Fc–участком дикого типа того же изотипа). В некоторых вариантах осуществления, одну или более аминокислотных замен выбирают из N297A (Bolt S et al. (1993) *Eur J Immunol* 23:403–411), D265A (Shields et al. (2001) *R. J. Biol. Chem.* 276, 6591–6604), D270A, L234A, L235A (Hutchins et al. (1995) *Proc Natl Acad Sci USA*, 92:11980–11984; Alegre et al., (1994) *Transplantation* 57:1537–1543. 31; Xu et al., (2000) *Cell Immunol*, 200:16–26), G237A (Alegre et al. (1994) *Transplantation* 57:1537–1543. 31; Xu et al. (2000) *Cell Immunol*, 200:16–26), P238D, L328E, E233D, G237D, H268D, P271G, A330R, C226S, C229S, E233P, L234V, L234F, L235E (McEarchern et al., (2007) *Blood*, 109:1185–1192), P331S (Sazinsky et al., (2008) *Proc Natl Acad Sci USA* 2008, 105:20167–20172), S267E, L328F, A330L, M252Y, S254T, T256E, N297Q, P238S, P238A, A327Q, A327G, P329A, K322A, и/или T394D, при этом положения аминокислот находятся в соответствии с системой нумерации EU или Кабата.

[0214] В некоторых вариантах осуществления, антитело содержит константный домен 1 тяжелой цепи изотипа IgG2 (CH1) и шарнирную область (White et al., (2015) *Cancer Cell* 27, 138–148). В некоторых вариантах осуществления, CH1 изотипа IgG2 и

шарнирная область содержат аминокислотную последовательность
ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS
GLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVKDKTVERKCCVECPPCP (SEQ ID NO:
166). В некоторых вариантах осуществления, Fc-участок антитела содержит
аминокислотную замену S267E, аминокислотную замену L328F, или обе, и/или
аминокислотную замену N297A или N297Q, при этом положения аминокислот находятся
в соответствии с системой нумерации EU или Кабата.

[0215] В некоторых вариантах осуществления, антитело, связывающее Fc-гамма-
рецептор, имеет изотип IgG4. В некоторых вариантах осуществления, антитело,
связывающее Fc-гамма-рецептор, содержит константную область человеческого IgG4. В
некоторых вариантах осуществления, константная область человеческого IgG4 содержит
Fc-участок. В некоторых вариантах осуществления, антитело, связывающее Fc-гамма-
рецептор, связывает ингибирующий Fc-рецептор. В некоторых вариантах осуществления,
ингибирующий Fc-рецептор представляет собой ингибирующий Fc-гамма-рецептор IIb
(FcγIIb). В некоторых вариантах осуществления, Fc-участок содержит одну или более
модификаций. Например, в некоторых вариантах осуществления, Fc-участок содержит
одну или более аминокислотных замен (например, по сравнению с Fc-участком дикого
типа того же изотипа). В некоторых вариантах осуществления, одну или более
аминокислотных замен выбирают из L235A, G237A, S228P, L236E (Reddy et al., (2000) J
Immunol, 164:1925–1933), S267E, E318A, L328F, M252Y, S254T, и/или T256E, при этом
положения аминокислот находятся в соответствии с системой нумерации EU или Кабата.

[0216] В некоторых вариантах осуществления, антитело, связывающее Fc-гамма-
рецептор, имеет гибридный изотип IgG2/4. В некоторых вариантах осуществления,
антитело, связывающее Fc-гамма-рецептор, содержит аминокислотную
последовательность, содержащую аминокислоты 118–260 в соответствии с нумерацией
EU или Кабата человеческого IgG2, и аминокислоты 261–447 в соответствии с
нумерацией EU или Кабата человеческого IgG4 (WO 1997/11971; WO 2007/106585).

[0217] В некоторых вариантах осуществления, антитело содержит константную
область мышиного IgG4 (Bartholomaeus, et al. (2014). J. Immunol. 192, 2091–2098).

[0218] В некоторых вариантах осуществления, Fc-участок дополнительно
содержит одну или более дополнительных аминокислотных замен, выбранных из группы,
состоящей из A330L, L234F; L235E или P331S, в соответствии с нумерацией EU или
Кабата; и любой их комбинации.

[0219] В некоторых вариантах осуществления, антитело содержит одну или более
аминокислотных замен на Fc-участке в положении остатка, выбранном из C127S, L234A,
L234F, L235A, L235E, S267E, K322A, L328F, A330S, P331S, E345R, E430G, S440Y, и
любой их комбинации, при этом нумерация остатков соответствует схемам нумерации EU
или Кабата. В некоторых вариантах осуществления, Fc-участок содержит
аминокислотную замену в положениях E430G, L243A, L235A и P331S, при этом
нумерация положения остатка соответствует системе нумерации EU. В некоторых

вариантах осуществления, Fc-участок содержит аминокислотную замену в положениях E430G и P331S, при этом нумерация положения остатка соответствует системе нумерации EU. В некоторых вариантах осуществления, Fc-участок содержит аминокислотную замену в положениях E430G и K322A, при этом нумерация положения остатка соответствует системе нумерации EU. В некоторых вариантах осуществления, Fc-участок содержит аминокислотную замену в положениях E430G, A330S и P331S, при этом нумерация положения остатка соответствует системе нумерации EU. В некоторых вариантах осуществления, Fc-участок содержит аминокислотную замену в положениях E430G, K322A, A330S и P331S, при этом нумерация положения остатка соответствует системе нумерации EU. В некоторых вариантах осуществления, Fc-участок содержит аминокислотную замену в положениях E430G, K322A и A330S, при этом нумерация положения остатка соответствует системе нумерации EU. В некоторых вариантах осуществления, Fc-участок содержит аминокислотную замену в положениях E430G, K322A и P331S, при этом нумерация положения остатка соответствует системе нумерации EU. В некоторых вариантах осуществления, Fc-участок содержит аминокислотную замену в положениях E430G, K322A и P331S, при этом нумерация положения остатка соответствует системе нумерации EU. В некоторых вариантах осуществления, Fc-участок содержит аминокислотную замену в положениях S267E и L328F, при этом нумерация положения остатка соответствует системе нумерации EU. В некоторых вариантах осуществления, Fc-участок содержит аминокислотную замену в положении C127S, при этом нумерация положения остатка соответствует системе нумерации EU. В некоторых вариантах осуществления, Fc-участок содержит аминокислотную замену в положениях E345R, E430G и S440Y, при этом нумерация положения остатка соответствует системе нумерации EU. В некоторых вариантах осуществления, Fc-участок содержит аминокислотные замены в положениях L243A, L235A и P331S, при этом нумерация положений остатков соответствует системе нумерации EU.

Инертные антитела

[0220] Другой класс анти-CD33 антител согласно настоящему раскрытию включает инертные антитела. В используемом в настоящем описании значении, “инертные” антитела относятся к антителам, которые специфически связывают их антиген-мишень (например, CD33), но не модулируют (например, снижают/ингибируют или активируют/индуцируют) функцию антигена. Например, в случае CD33, инертные антитела не модулируют клеточные уровни CD33, не модулируют взаимодействие (например, связывание) между CD33 и одним или несколькими лигандами CD33, или не модулируют одну или более активностей белка CD33. В некоторых вариантах осуществления, антитела, которые не обладают способностью кластеризовать CD33 на поверхности клетки, могут быть инертными антителами, даже если они обладают специфичностью эпитопа, совместимой с активацией рецептора.

[0221] В некоторых вариантах осуществления, антитела, которые связывают белок CD33, могут включать антитела, которые связывают CD33 но, вследствие их специфичности эпитопа, или характеристик, не снижают клеточные уровни CD33 и/или ингибируют взаимодействие (например, связывание) между CD33 и одним или

несколькими лигандами CD33. В некоторых вариантах осуществления, такие антитела могут быть использованы в качестве груза, например, транспортных токсинов (например, химиотерапевтических лекарственных средств) в опухолевые клетки. Поэтому, в некоторых вариантах осуществления, антитела согласно настоящему раскрытию представляют собой инертные антитела, которые связывают CD33, но неспособны снижать клеточные уровни CD33, ингибировать взаимодействие (например, связывание) между CD33 и одним или несколькими лигандами CD33, или индуцировать одну или более активностей белка CD33.

[0222] Антитела, которые снижают или не снижают клеточные уровни CD33 на клетках, могут быть скомбинированы с инертным Fc-участком, который демонстрирует пониженное связывание с одним или несколькими Fcγ-рецепторами. Примеры таких Fc-участки и модификации представлены в Таблице D ниже. В некоторых вариантах осуществления, антитело с инертным Fc-участком имеет изотип Fc, указанный в Таблице D ниже.

Ингибирующие анти-CD33 антитела

[0223] Третий класс анти-CD33 антител согласно настоящему раскрытию включает антитела, которые блокируют или иначе ингибируют одну или более активностей CD33. В некоторых вариантах осуществления, антитела, которые связывают белок CD33, могут включать антитела, которые снижают клеточные уровни CD33 (например, уровни CD33 клеточной поверхности), ингибируют взаимодействие (например, связывание) между CD33 и/или одним или несколькими лигандами CD33, и ингибируют одну или более активностей белка CD33. Такие антитела ингибируют одну или более активностей белка CD33 или путем предотвращения взаимодействия (например, связывания) между CD33 и одним или несколькими лигандами CD33, или путем предотвращения трансдукции сигнала от внеклеточного домена CD33 в цитоплазму клетки в присутствии одного или нескольких лигандов CD33. Антитела также могут ингибировать одну или более активностей белка CD33 путем снижения уровней CD33 клеточной поверхности путем индуцирования деградации CD33, десенсибилизации CD33, расщепления CD33, интернализации CD33, шеддинга CD33, понижающей регуляции экспрессии CD33, и/или лизосомальной деградации CD33. В некоторых вариантах осуществления, такие анти-CD33 антитела не могут транзистентно активировать CD33.

[0224] В некоторых вариантах осуществления, анти-CD33 антитела согласно настоящему раскрытию могут иметь специфичность эпитопа транзистентного агонистического анти-CD33 антитела согласно настоящему раскрытию, но имеют Fc-домен, который не способен связывать Fcγ-рецепторы и, таким образом, не способен, например, транзистентно кластеризовать и активировать CD33.

[0225] В некоторых вариантах осуществления, анти-CD33 антитела согласно настоящему раскрытию имеют, без ограничений, одну или более из следующих активностей: способность снижать связывание белка CD33 с одним или несколькими лигандами CD33, такими как содержащие сialовую кислоту гликолипиды или

содержащие сialовую кислоту гликопротеины, способность снижать связывание белка супрессора цитокиновой сигнализации (SOCS) (например, белка SOCS3) с белком CD33, способность увеличивать протеасомальную деградацию белка CD33, способность понижать функциональную экспрессию CD33 на поверхности циркулирующих дендритных клеток, макрофагов, моноцитов, Т-клеток и/или микроглии, способность понижать фосфорилирование Tyr-340 и Tyr-358 тирозинкиназой семейства Src, такой как LCK и FYN, способность снижать рекрутирование и связывание с тирозинспецифическими протеинфосфатазами SHP1 и SHP2, способность снижать рекрутирование и связывание с PLC- γ 1, выступающей в роли фактора обмена гуанинового нуклеотида для Dynamin-1, способность снижать рекрутирование и связывание с Csk1, способность снижать рекрутирование и связывание с тирозинкиназой селезенки Syk, способность снижать рекрутирование и связывание с SH3-SH2-SH3 белком, связанным с рецептором фактора роста 2 (Grb2), способность снижать рекрутирование и связывание с множеством белков, содержащих SH2, способность увеличивать внутриклеточную мобилизацию кальция, способность модулировать продуцирование провоспалительных цитокинов IL-1 β , IL-8, и TNF- α , способность снижать активацию фосфоинозитид-3-киназы, способность увеличивать рост моноцитов, макрофагов, дендритных клеток, Т-клеток и/или микроглии, способность увеличивать выживание моноцитов, макрофагов, дендритных клеток, Т-клеток и/или микроглии, способность увеличивать фосфорилирование тирозина во множестве клеточных белков, способность увеличивать фагоцитарную активность моноцитов, макрофагов, дендритных клеток и/или микроглии, способность увеличивать клеточную пролиферацию моноцитов, макрофагов, дендритных клеток, Т-клеток и/или микроглии, способность увеличивать фосфорилирование сигнальных молекул, которые опосредуют сигнализацию ITAM, способность увеличивать функцию рецепторов распознавания паттернов, способность увеличивать функцию Toll-подобных рецепторов, способность увеличивать функцию рецепторов молекулярных паттернов, связанных с повреждениями (DAMP), способность модулировать экспрессию C-C рецептора хемокина 7 (CCR7), и способность увеличивать клиренс клеточного и белкового дебриса.

[0226] В некоторых вариантах осуществления, анти-CD33 антитела согласно настоящему раскрытию имеют Fc-участок, который демонстрирует пониженное связывание с одним или несколькими Fc γ -рецепторами. Примеры таких Fc-участков и модификаций представлены в Таблице D ниже. В некоторых вариантах осуществления, антитело имеет изотип Fc, указанный в Таблице D ниже.

Изотипы Fc антител с пониженным связыванием с Fc-гамма-рецепторами

[0227] В некоторых вариантах осуществления, анти-CD33 антитела с пониженным связыванием с Fc-гамма-рецепторами имеют изотип Fc, вказанный в Таблице C ниже.

Таблица C: Типичные примеры изотипов Fc анти-CD33 антител с пониженным связыванием с Fc-гамма-рецепторами

Изотип Fc	Мутация (EU схема нумерации)
-----------	------------------------------

Изотип Fc	Мутация (EU схема нумерации)
IgG1	N297A или N297Q и/или D270A
IgG1	D265A, D270A, и/или N297A
IgG1	L234A и L235A
IgG2	V234A и G237A
IgG4	F235A и G237A и E318A E233P и/или F234V N297A или N297Q
IgG4	S228P и L236E S241P S241P и L248E S228P и F234A и L235A
IgG2	H268Q и V309L и A330S и P331S
IgG1	C220S и C226S и C229S и P238S
IgG1	C226S и C229S и E233P и L234V, и L235A
IgG1	E233P и L234V и L235A и делеция G236 P238A D265A N297A A327Q или A327G P329A
IgG1	K322A и L234A и L235A
IgG1	L234F и L235E и P331S
IgG1 или IgG4	T394D
IgG2	C232S или C233S N297A или N297Q
IgG2	V234A и G237A и P238S и H268A и V309L и A330S и P331S
IgG1, IgG2, или IgG4	модификации дельта a, b, c, ab, ac, g
IgG1	любая из вышеуказанных мутаций вместе с A330L или L234F и/или L235E и/или P331S
IgG1, IgG2, или IgG4	любая из вышеуказанных мутаций вместе с M252Y и/или S254T и/или T256E

[0228] В некоторых вариантах осуществления, анти-CD33антитело имеет изотип IgG1. В некоторых вариантах осуществления, антитело содержит константную область мышиного IgG1. В некоторых вариантах осуществления, антитело содержит константную область человеческого IgG1. В некоторых вариантах осуществления, константная область человеческого IgG1 содержит Fc-участок. В некоторых вариантах осуществления, Fc-

участок содержит одну или более модификаций. Например, в некоторых вариантах осуществления, Fc-участок содержит одну или более аминокислотных замен (например, по сравнению с Fc-участком дикого типа того же изотипа).

[0229] В некоторых вариантах осуществления, одну или более аминокислотных замен выбирают из N297A, N297Q (Bolt S et al. (1993) *Eur J Immunol* 23:403–411), D265A, D270A, L234A, L235A (McEarchern et al., (2007) *Blood*, 109:1185–1192), C226S, C229S (McEarchern et al., (2007) *Blood*, 109:1185–1192), P238S (Davis et al., (2007) *J Rheumatol*, 34:2204–2210), E233P, L234V (McEarchern et al., (2007) *Blood*, 109:1185–1192), P238A, A327Q, A327G, P329A (Shields RL, et al., (2001) *J Biol Chem*. 276(9):6591–604), K322A, L234F, L235E (Hezareh, et al., (2001) *J Virol* 75, 12161–12168; Oganessian et al., (2008). *Acta Crystallographica* 64, 700–704), P331S (Oganessian et al., (2008) *Acta Crystallographica* 64, 700–704), T394D (Wilkinson et al. (2013) *MAbs* 5(3): 406–417), A330L, M252Y, S254T, и/или T256E, при этом положения аминокислот находятся в соответствии с системой нумерации EU или Кабата. В некоторых вариантах осуществления, Fc-участок дополнительно содержит аминокислотную делецию в положении, соответствующем глицину 236, в соответствии со схемой нумерации EU или Кабата.

[0230] В некоторых вариантах осуществления, анти-CD33 антитело имеет изотип IgG1 с константной областью тяжелой цепи, которая содержит аминокислотную замену C220S в соответствии с системой нумерации EU или Кабата. В некоторых вариантах осуществления, Fc-участок дополнительно содержит одну или более дополнительных аминокислотных замен, выбранных из A330L, L234F; L235E, и/или P331S в соответствии с системой нумерации EU или Кабата. В некоторых вариантах осуществления, анти-CD33 антитело имеет изотип IgG2. В некоторых вариантах осуществления, анти-CD33 антитело содержит константную область человеческого IgG2. В некоторых вариантах осуществления, константная область человеческого IgG2 содержит Fc-участок. В некоторых вариантах осуществления, Fc-участок содержит одну или более модификаций. Например, в некоторых вариантах осуществления, Fc-участок содержит одну или более аминокислотных замен (например, по сравнению с Fc-участком дикого типа того же изотипа). В некоторых вариантах осуществления, одну или более аминокислотных замен выбирают из P238S, V234A, G237A, H268A, H268Q, H268E, V309L, N297A, N297Q, V309L, A330S, P331S, C232S, C233S, M252Y, S254T, и/или T256E, при этом положения аминокислот находятся в соответствии с системой нумерации EU или Кабата (Vafa O. et al., (2014) *Methods* 65:114–126).

[0231] В некоторых вариантах осуществления, анти-CD33 антитело имеет изотип IgG4. В некоторых вариантах осуществления, анти-CD33 антитело содержит константную область человеческого IgG4. В некоторых вариантах осуществления, константная область человеческого IgG4 содержит Fc-участок. В некоторых вариантах осуществления, Fc-участок содержит одну или более модификаций. Например, в некоторых вариантах осуществления, Fc-участок содержит одну или более аминокислотных замен (например, по сравнению с Fc-участком дикого типа того же изотипа). В некоторых вариантах

осуществления, одну или более аминокислотных замен выбирают из E233P, F234V, L235A, G237A, E318A (Hutchins et al. (1995) Proc Natl Acad Sci USA, 92:11980–11984), S228P, L234A/F234A, L236E, S241P, L248E (Reddy et al., (2000) J Immunol, 164:1925–1933; Angal et al., (1993) Mol Immunol. 30(1):105–8; US 8614299 B2; Vafa O. et al., (2014) Methods 65:114–126), T394D, M252Y, S254T, T256E, N297A, и/или N297Q, при этом положения аминокислот находятся в соответствии с системой нумерации EU или Кабата. В некоторых вариантах осуществления антитело имеет изотип IgG4, и содержит аминокислотную замену S228P в положении остатка 228, аминокислотную замену F234A в положении остатка 234, и аминокислотную замену L235A в положении остатка 235 (положение остатка указано в соответствии с нумерацией EU).

[0232] В некоторых вариантах осуществления, Fc-участок дополнительно содержит одну или более дополнительных аминокислотных замен, выбранных из M252Y, S254T, и/или T256E, при этом положения аминокислот находятся в соответствии с системой нумерации EU или Кабата.

Дополнительные мутации IgG

[0233] В некоторых вариантах осуществления, один или более вариантов IgG1, описанных в настоящем описании, могут быть скомбинированы с мутацией A330L (Lazar et al., (2006) Proc Natl Acad Sci USA, 103:4005–4010), или одной или более из мутаций L234F, L235E и/или P331S (Sazinsky et al., (2008) Proc Natl Acad Sci USA, 105:20167–20172), при этом положения аминокислот находятся в соответствии с системой нумерации EU или Кабата, для устранения активации комплемента. В некоторых вариантах осуществления, варианты IgG, описанные в настоящем описании, могут быть скомбинированы с одной или более мутациями для увеличения периода полувыведения анти-CD33 антитела в сыворотке человека (например, мутациями M252Y, S254T, T256E в соответствии с системой нумерации EU или Кабата) (Dall'Acqua et al., (2006) J Biol Chem, 281:23514–23524; и Strohl et al., (2009) Current Opinion in Biotechnology, 20:685–691).

[0234] В некоторых вариантах осуществления, вариант IgG4 согласно настоящему раскрытию может быть скомбинирован с мутацией S228P в соответствии с системой нумерации EU или Кабата (Angal et al., (1993) Mol Immunol, 30:105–108) и/или с одной или более мутациями, описанными в Peters et al., (2012) J Biol Chem. 13;287(29):24525–33), для повышения стабилизации антитела.

Биспецифические антитела

[0235] Некоторые аспекты настоящего раскрытия относятся к биспецифическим антителам, которые связываются с одним или несколькими доменами белка CD33 согласно настоящему раскрытию и вторым антигеном. Способы получения биспецифических антител хорошо известны специалистам и описаны в настоящем описании. В некоторых вариантах осуществления, биспецифические антитела согласно настоящему раскрытию связываются с одним или несколькими аминокислотными остатками белка CD33 согласно настоящему раскрытию, такими как один или более

аминокислотных остатков человеческого CD33 (SEQ ID NO: 1), или аминокислотные остатки белка CD33, соответствующие аминокислотным остаткам SEQ ID NO: 1. В некоторых вариантах осуществления, биспецифические антитела согласно настоящему раскрытию распознают первый антиген и второй антиген. В некоторых вариантах осуществления, первый антиген представляет собой белок CD33 или его природный вариант. В некоторых вариантах осуществления, второй антиген также представляет собой белок CD33 или его природный вариант. В некоторых вариантах осуществления, второй антиген представляет собой антиген, облегчающий транспорт через гематоэнцефалический барьер (см., например, Gabathuler R., Neurobiol. Dis. 37 (2010) 48–57). Такие вторые антигены включают, без ограничений, рецептор трансферрина (TR), рецептор инсулина (HIR), рецептор инсулиноподобного фактора роста (IGFR), белки 1 и 2, родственные рецептору липопротейна низкой плотности (LPR–1 и 2), рецептор дифтерийного токсина, CRM197, однодоменное антитело ламы, TMEM 30(A), домен белковой трансдукции, TAT, Syn-B, пенетратин, полиаргининовый пептид, пептиды Angioper, такие как ANG1005 (см., например, Gabathuler, 2010), и другие белки клеточной поверхности с повышенным содержанием на эндотелиальных клетках гематоэнцефалического барьера (см., например, Daneman et al., PLoS One. 2010 Oct 29;5(10):e13741). В некоторых вариантах осуществления, второй антиген представляет собой патогенный белок, включая, без ограничений, бета-амилоид, олигомерный бета-амилоид, бета-амилоидные бляшки, белок-предшественник амилоида или его фрагменты, тау-белок (Tau), IAPP, альфа-синуклеин, TDP-43, белок FUS, C9orf72 (открытая рамка считывания 72 хромосомы 9), белок c9RAN, прионный белок, PrPSc, хантингтин, кальцитонин, супероксиддисмутазу, атаксин, атаксин 1, атаксин 2, атаксин 3, атаксин 7, атаксин 8, атаксин 10, тельца Леви, предсердный натриуретический фактор, островковый амилоидный полипептид, инсулин, аполипептидин AI, сывороточный амилоид A, медин, пролактин, транстиретин, лизоцим, бета-2-микроглобулин, гелсолин, кератоэпителин, цистатин, иммуноглобулин легкой цепи AL, белок S-IBM, связанные с не-ATG повторами (RAN) продукты трансляции, пептиды с дипептидными повторами (DPR), пептиды с повторами глицин-аланин (GA), пептиды с повторами глицин-пролин (GP), пептиды с повторами глицин-аргинин (GR), пептиды с повторами пролин-аланин (PA), убиквитин, и пептиды с повторами пролин-аргинин (PR). В некоторых вариантах осуществления, второй антиген представляет собой один или более лигандов и/или белков, экспрессируемых на иммунных клетках, включая, без ограничений, CD40, OX40, ICOS, CD28, CD137/4-1BB, CD27, GITR, PD-L1, CTLA4, PD-L2, PD-1, B7-H3, B7-H4, HVEM, LIGHT, BTLA, CD38, TIGIT, VISTA, KIR, GAL9, TIM1, TIM3, TIM4, A2AR, LAG3, DR5, CD39, CD70, CD73, TREM1, TREM2, Siglec-5, Siglec-7, Siglec-9, Siglec-11, SirpA, CD47, рецептор CSF1, CD3, и фосфатидилсерин. В некоторых вариантах осуществления, второй антиген представляет собой белок, липид, полисахарид или гликолипид, экспрессируемый на одной или нескольких опухолевых клетках.

Фрагменты антител

[0236] Некоторые аспекты настоящего раскрытия относятся к фрагментам антител, которые связываются с одним или несколькими белками CD33 согласно настоящему раскрытию, природным вариантом белок CD33, и вариантом заболевания белка CD33. В некоторых вариантах осуществления, фрагмент антитела представляет собой Fab-, Fab'-, Fab'-SH-, F(ab')₂-, Fv- или scFv-фрагмент.

[0237] В некоторых вариантах осуществления, фрагмент антитела используется в комбинации со вторым антителом CD33 и/или с одним или несколькими антителами, которые специфически связывают патогенный белок, выбранный из: бета-амилоида, олигомерного бета-амилоида, бета-амилоидных бляшек, белка-предшественника амилоида или его фрагментов, тау (Tau)-белка, IAPP, альфа-синуклеина, TDP-43, белка FUS, C9orf72 (открытая рамка считывания 72 хромосомы 9), белка с9RAN, прионного белка, PrPSc, хантингтина, кальцитонина, супероксиддисмутазы, атаксина, атаксина 1, атаксина 2, атаксина 3, атаксина 7, атаксина 8, атаксина 10, телец Леви, предсердного натриуретического фактора, островкового амилоидного полипептида, инсулина, аполипопротеина AI, сывороточного амилоида A, медины, пролактина, транстиретина, лизоцима, бета-2-микроглобулина, гелсолина, кератоэпителина, цистатина, иммуноглобулина легкой цепи AL, белка S-IBM, связанных с не-ATG повторами (RAN) продуктов трансляции, пептидов с дипептидными повторами (DPR), пептидов с повторами глицин-аланин (GA), пептидов с повторами глицин-пролин (GP), пептидов с повторами глицин-аргинин (GR), пептидов с повторами пролин-аланин (PA), убиквитина, и пептидов с повторами пролин-аргинин (PR), и любой их комбинации; или с одним или несколькими антителами, которые связывают иммуномодулирующий белок, выбранный из группы, состоящей из: CD40, OX40, ICOS, CD28, CD137/4-1BB, CD27, GITR, PD-L1, CTLA4, PD-L2, PD-1, B7-H3, B7-H4, HVEM, LIGHT, BTLA, CD38, TIGIT, VISTA, KIR, GAL9, TIM1, TIM3, TIM4, A2AR, LAG3, DR5, CD39, CD70, CD73, TREM1, TREM2, CD47, рецептора CSF-1, Siglec-5, Siglec-7, Siglec-9, Siglec-11, фосфатидилсерина, и любой их комбинации.

[0238] В некоторых вариантах осуществления, фрагменты антител согласно настоящему раскрытию могут быть функциональными фрагментами которые связывают тот же эпитоп, что и любое из анти-CD33 антител согласно настоящему раскрытию. В некоторых вариантах осуществления, фрагменты антител представляют собой миниатюризованные варианты анти-CD33 антител или фрагментов антител согласно настоящему раскрытию, которые имеют тот же эпитоп соответствующего полноразмерного антитела, но значительно меньший вес молекулы. Такие миниатюризованные фрагменты анти-CD33 антител могут иметь лучшую способность проникать в головной мозг и более короткий период полувыведения, который является предпочтительным для применения в визуализации и диагностике (см. например, Lütje S et al., *Bioconjug Chem.* 2014 Feb 19;25(2):335-41; Tavaré R et al., *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2014 Jan 21;111(3):1108-13; и Wiehr S et al., *Prostate.* 2014 May;74(7):743-55). Соответственно, в некоторых вариантах осуществления, фрагменты анти-CD33 антител

согласно настоящему раскрытию имеют лучшую способность проникновения в головной мозг по сравнению с их соответствующими полноразмерными антителами и/или имеют более короткий период полувыведения по сравнению с их соответствующими полноразмерными антителами.

Каркасы антител

[0239] Любые антитела, описанные в настоящем описании, дополнительно содержат каркас. В некоторых вариантах осуществления, каркас представляет собой каркас человеческого иммуноглобулина. Например, в некоторых вариантах осуществления, антитело (например, анти-CD33 антитело) содержит HVR, как в любом из вышеописанных вариантов осуществления, и дополнительно содержит человеческий каркас-акцептор, например, каркас человеческого иммуноглобулина или человеческий консенсусный каркас. Каркасы человеческих иммуноглобулинов могут быть частью человеческого антитела, или нечеловеческое антитело может быть гуманизировано путем замены одного или нескольких эндогенных каркасных участков на человеческие. Человеческие каркасные участки, которые могут быть использованы для гуманизации, включают, без ограничений: каркасные участки, выбранные с использованием способа "наилучшего соответствия" (см., например, Sims et al. J. Immunol. 151:2296 (1993)); каркасные участки, полученные из консенсусной последовательности конкретной подгруппы вариабельных областей легкой или тяжелой цепей человеческих антител (см., например, Carter et al. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 89:4285 (1992); и Presta et al. J. Immunol., 151:2623 (1993)); человеческие зрелые (соматически мутированные) каркасные участки или каркасные участки человеческой зародышевой линии (см., например, Almagro and Fransson, Front. Biosci. 13:1619–1633 (2008)); и каркасные участки, полученные в результате скрининга библиотек FR (см., например, Vaca et al., J. Biol. Chem. 272:10678–10684 (1997) и Rosok et al., J. Biol. Chem. 271:22611–22618 (1996)).

[0240] В некоторых вариантах осуществления, анти-CD33 антитела согласно настоящему раскрытию содержат вариабельную область тяжелой цепи, содержащую один или более (например, один или больше, два или больше, три или больше, или все четыре) каркасных участков, выбранных из VH FR1, VH FR2, VH FR3, и VH FR4 (как указано в Таблицах 5A–5D). В некоторых вариантах осуществления, VH FR1 содержит последовательность в соответствии с Формулой VII: QVQLVQSGAEVKKPGX₁SVKX₂SCKAS (SEQ ID NO: 158), где X₁ представляет собой A или S, и X₂ представляет собой V или I. В некоторых вариантах осуществления, VH FR1 содержит последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 2–4. В некоторых вариантах осуществления, VH FR2 содержит последовательность SEQ ID NO: 5. В некоторых вариантах осуществления, VH FR3 содержит последовательность в соответствии с Формулой VIII: X₁AX₂X₃X₄X₅X₆RX₇TX₈TVDX₉X₁₀X₁₁STX₁₂YMELSSLRSED TAVYYCAR (SEQ ID NO: 159), где X₁ представляет собой Y или S, X₂ представляет собой Q или E, X₃ представляет собой K или D, X₄ представляет собой F или D, X₅ представляет собой Q, F, E или T, X₆

представляет собой G, D или H, X₇ представляет собой V или A, X₈ представляет собой M или L, X₉ представляет собой T, N или Q, X₁₀ представляет собой S или P, X₁₁ представляет собой T или A, и X₁₂ представляет собой V или A. В некоторых вариантах осуществления, VH FR3 содержит последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 6–19. В некоторых вариантах осуществления, VH FR4 содержит последовательность в соответствии с Формулой IX: WGQGT LX₁TVSS (SEQ ID NO: 160), где X₁ представляет собой V или L. В некоторых вариантах осуществления, VH FR4 содержит последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 20–21. В некоторых вариантах осуществления, антители содержат вариабельную область тяжелой цепи, содержащую VH FR1 в соответствии с Формулой VII, VH FR2, содержащий последовательность SEQ ID NO: 5, VH FR3 в соответствии с Формулой VIII, и VH FR4 в соответствии с Формулой IX. В некоторых вариантах осуществления, анти-CD33 антитела согласно настоящему раскрытию содержат вариабельную область тяжелой цепи, содержащую VH FR1, содержащий последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 2–4, VH FR2, содержащий последовательность SEQ ID NO: 5, VH FR3, содержащий последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 6–19, и VH FR4, содержащий последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 20–21. В некоторых вариантах осуществления, анти-CD33 антитела согласно настоящему раскрытию содержат вариабельную область тяжелой цепи, содержащую VH FR1, VH FR2, VH FR3, и VH FR4 антитела AB-14.1, AB-14.2, AB-14.3, AB-14.4, AB-14.5, AB-14.6, AB-14.7, AB-14.8, AB-14.9, AB-14.10, AB-14.11, AB-63.4, AB-63.5, AB-63.8, AB-63.9, AB-63.10, AB-63.11, AB-63.12, AB-63.13, AB-63.14, AB-63.15, AB-63.16, AB-63.17, AB-63.18, AB-64.1, AB-64.3, AB-64.4, AB-64.5, AB-64.6, AB-64.7, AB-64.8, AB-64.1.1, AB-64.1.2, AB-64.1.3, AB-64.1.4, AB-64.1.5, AB-64.1.6, AB-64.1.7, AB-64.1.8, AB-64.1.9, AB-64.1.10, AB-64.1.11, AB-64.1.12, AB-64.1.13, AB-64.1.14, или AB-64.1.15 (как указано в Таблице 7).

[0241] В некоторых вариантах осуществления, анти-CD33 антитела согласно настоящему раскрытию содержат вариабельную область легкой цепи, содержащую один или более (например, один или больше, два или больше, три или больше, или все четыре) каркасных участков, выбранных из VL FR1, VL FR2, VL FR3, и VL FR4 (как указано в Таблицах 6A–6D). В некоторых вариантах осуществления, VL FR1 содержит последовательность в соответствии с Формулой X: X₁IX₂X₃TQSPX₄SLX₅X₆SX₇GX₈RX₉TIX₁₀C (SEQ ID NO: 161), где X₁ представляет собой D или G, X₂ представляет собой Q или V, X₃ представляет собой M или L, X₄ представляет собой S или D, X₅ представляет собой S, P или A, X₆ представляет собой A или V, X₇ представляет собой V или L, X₈ представляет собой D или E, X₉ представляет собой V или A, и X₁₀ представляет собой T, N или D. В некоторых вариантах осуществления, VL FR1 содержит последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 22–26. В некоторых вариантах осуществления, VL FR2 содержит последовательность в соответствии с Формулой XI: WYQQKPGX₁X₂PKLLIK (SEQ ID NO: 162), где X₁

представляет собой K или Q, и X₂ представляет собой A или P. В некоторых вариантах осуществления, VL FR2 содержит последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 27–28. В некоторых вариантах осуществления, VL FR3 содержит последовательность в соответствии с Формулой XII: GVPX₁RFSGSGSGTDFTLTISSLQX₂EDX₃AX₄YYC (SEQ ID NO: 163), где X₁ представляет собой S или D, X₂ представляет собой P или A, X₃ представляет собой F, L или V, и X₄ представляет собой T или V. В некоторых вариантах осуществления, VL FR3 содержит последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 29–31. В некоторых вариантах осуществления, VL FR4 содержит последовательность в соответствии с Формулой XIII: FGQGTKLEIX₁ (SEQ ID NO: 164), где X₁ представляет собой K или E. В некоторых вариантах осуществления, VL FR4 содержит последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 32–33. В некоторых вариантах осуществления, анти-CD33 антитела согласно настоящему раскрытию содержат вариабельную область легкой цепи, содержащую VL FR1 в соответствии с Формулой X, VL FR2 в соответствии с Формулой XI, VL FR3 в соответствии с Формулой XII, и VL FR4 в соответствии с Формулой XIII. В некоторых вариантах осуществления, анти-CD33 антитела согласно настоящему раскрытию содержат вариабельную область легкой цепи, содержащую VL FR1, содержащий последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 22–26, VL FR2, содержащий последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 27–28, VL FR3, содержащий последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 29–31, и VL FR4, содержащий последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 32–33. В некоторых вариантах осуществления, анти-CD33 антитела согласно настоящему раскрытию содержат вариабельную область легкой цепи, содержащую VL FR1, VL FR2, VL FR3, и VL FR4 антитела AB-14.1, AB-14.2, AB-14.3, AB-14.4, AB-14.5, AB-14.6, AB-14.7, AB-14.8, AB-14.9, AB-14.10, AB-14.11, AB-63.4, AB-63.5, AB-63.8, AB-63.9, AB-63.10, AB-63.11, AB-63.12, AB-63.13, AB-63.14, AB-63.15, AB-63.16, AB-63.17, AB-63.18, AB-64.1, AB-64.3, AB-64.4, AB-64.5, AB-64.6, AB-64.7, AB-64.8, AB-64.1.1, AB-64.1.2, AB-64.1.3, AB-64.1.4, AB-64.1.5, AB-64.1.6, AB-64.1.7, AB-64.1.8, AB-64.1.9, AB-64.1.10, AB-64.1.11, AB-64.1.12, AB-64.1.13, AB-64.1.14, или AB-64.1.15 (как указано в Таблице 8).

[0242] В некоторых вариантах осуществления, анти-CD33 антитела согласно настоящему раскрытию содержат вариабельную область тяжелой цепи, содержащую один или более (например, один или больше, два или больше, три или больше, или все четыре) каркасных участков, выбранных из VH FR1, VH FR2, VH FR3, и VH FR4 (как указано в Таблицах 5A–5D), и вариабельную область легкой цепи, содержащую один или более (например, один или больше, два или больше, три или больше, или все четыре) каркасных участков, выбранных из VL FR1, VL FR2, VL FR3, и VL FR4 (как указано в Таблицах 6A–6D). В некоторых вариантах осуществления, анти-CD33 антитела согласно настоящему раскрытию содержат вариабельную область тяжелой цепи, содержащую VH FR1 в соответствии с Формулой VII, VH FR2, содержащий последовательность SEQ ID NO: 5,

VH FR3 в соответствии с Формулой VIII, и VH FR4 в соответствии с Формулой IX, и переменную область легкой цепи, содержащую VL FR1 в соответствии с Формулой X, VL FR2 в соответствии с Формулой XI, VL FR3 в соответствии с Формулой XII, и VL FR4 в соответствии с Формулой XIII. В некоторых вариантах осуществления, анти-CD33 антитела согласно настоящему раскрытию содержат переменную область тяжелой цепи, содержащую VH FR1, содержащий последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 2–4, VH FR2, содержащий последовательность SEQ ID NO: 5, VH FR3, содержащий последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 6–19, и VH FR4, содержащий последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 20–21, переменную область легкой цепи, содержащую VL FR1, содержащий последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 22–26, VL FR2, содержащий последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 27–28, VL FR3, содержащий последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 29–31, и VL FR4, содержащий последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 32–33. В некоторых вариантах осуществления, анти-CD33 антитела согласно настоящему раскрытию содержат переменную область тяжелой цепи, содержащую VH FR1, VH FR2, VH FR3, и VH FR4 антитела AB–14.1, AB–14.2, AB–14.3, AB–14.4, AB–14.5, AB–14.6, AB–14.7, AB–14.8, AB–14.9, AB–14.10, AB–14.11, AB–63.4, AB–63.5, AB–63.8, AB–63.9, AB–63.10, AB–63.11, AB–63.12, AB–63.13, AB–63.14, AB–63.15, AB–63.16, AB–63.17, AB–63.18, AB–64.1, AB–64.3, AB–64.4, AB–64.5, AB–64.6, AB–64.7, AB–64.8, AB–64.1.1, AB–64.1.2, AB–64.1.3, AB–64.1.4, AB–64.1.5, AB–64.1.6, AB–64.1.7, AB–64.1.8, AB–64.1.9, AB–64.1.10, AB–64.1.11, AB–64.1.12, AB–64.1.13, AB–64.1.14, или AB–64.1.15 (как указано в Таблице 7), и переменную область легкой цепи, содержащую VL FR1, VL FR2, VL FR3, и VL FR4 антитела AB–14.1, AB–14.2, AB–14.3, AB–14.4, AB–14.5, AB–14.6, AB–14.7, AB–14.8, AB–14.9, AB–14.10, AB–14.11, AB–63.4, AB–63.5, AB–63.8, AB–63.9, AB–63.10, AB–63.11, AB–63.12, AB–63.13, AB–63.14, AB–63.15, AB–63.16, AB–63.17, AB–63.18, AB–64.1, AB–64.3, AB–64.4, AB–64.5, AB–64.6, AB–64.7, AB–64.8, AB–64.1.1, AB–64.1.2, AB–64.1.3, AB–64.1.4, AB–64.1.5, AB–64.1.6, AB–64.1.7, AB–64.1.8, AB–64.1.9, AB–64.1.10, AB–64.1.11, AB–64.1.12, AB–64.1.13, AB–64.1.14, или AB–64.1.15 (как указано в Таблице 8).

Активности CD33

Модулированная экспрессия иммунных белков

[0243] В некоторых вариантах осуществления, анти-CD33 антитела согласно настоящему раскрытию могут модулировать экспрессию PD–L1, PD–L2, B7–H2, B7–H3, CD200R, CD163 и/или CD206 после связывания с белком CD33, экспрессируемым в клетке. Модулированная (например, повышенная или пониженная) экспрессия может включать, без ограничений, модулирование генной экспрессии, модулирование транскрипционной экспрессии, или модулирование экспрессии белка. Может быть использован любой известный специалистам способ определения экспрессии гена, транскрипта (например, мРНК) и/или белка. Например, нозерн–блоттинг может быть использован для определения уровней генной экспрессии противовоспалительного

медиатора, ОТ–ПЦР может быть использована для определения уровня транскрипции противовоспалительного медиатора, и вестерн–блоттинг может быть использован для определения уровней белка противовоспалительного медиатора.

[0244] В используемом в настоящем описании значении, PD–L1, PD–L2, B7–H2, B7–H3, CD200R, CD163 и/или CD206 могут иметь модулированную экспрессию, если их экспрессия в одной или нескольких клетках субъекта, получавшего анти–CD33 антитела согласно настоящему раскрытию, является модулированной (например, повышенной или пониженной) по сравнению с экспрессией PD–L1, PD–L2, B7–H2, B7–H3, CD200R, CD163 и/или CD206, экспрессируемых в одной или нескольких клетках соответствующего субъекта, не получавшего антитело. В некоторых вариантах осуществления, анти–CD33 антитело согласно настоящему раскрытию может модулировать экспрессию PD–L1, PD–L2, B7–H2, B7–H3, CD200R, CD163 и/или CD206 в одной или нескольких клетках субъекта на по меньшей мере 10%, по меньшей мере 15%, по меньшей мере 20%, по меньшей мере 25%, по меньшей мере 30%, по меньшей мере 35%, по меньшей мере 40%, по меньшей мере 45%, по меньшей мере 50%, по меньшей мере 55%, по меньшей мере 60%, по меньшей мере 65%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 100%, по меньшей мере 110%, по меньшей мере 115%, по меньшей мере 120%, по меньшей мере 125%, по меньшей мере 130%, по меньшей мере 135%, по меньшей мере 140%, по меньшей мере 145%, по меньшей мере 150%, по меньшей мере 160%, по меньшей мере 170%, по меньшей мере 180%, по меньшей мере 190%, или по меньшей мере 200%, например, по сравнению с экспрессией PD–L1, PD–L2, B7–H3, CD200R, CD163 и/или CD206 в одной или нескольких клетках соответствующего субъекта, не получавшего антитело. В других вариантах осуществления, анти–CD33 антитело согласно настоящему раскрытию модулирует экспрессию PD–L1, PD–L2, B7–H2, B7–H3, CD200R, CD163 и/или CD206 в одной или нескольких клетках субъекта в по меньшей мере 1,5 раза, по меньшей мере 1,6 раза, по меньшей мере 1,7 раза, по меньшей мере 1,8 раза, по меньшей мере 1,9 раза, по меньшей мере 2,0 раза, по меньшей мере 2,1 раза, по меньшей мере 2,15 раза, по меньшей мере 2,2 раза, по меньшей мере 2,25 раза, по меньшей мере 2,3 раза, по меньшей мере 2,35 раза, по меньшей мере 2,4 раза, по меньшей мере 2,45 раза, по меньшей мере 2,5 раза, по меньшей мере 2,55 раза, по меньшей мере 3,0 раза, по меньшей мере 3,5 раза, по меньшей мере 4,0 раза, по меньшей мере 4,5 раза, по меньшей мере 5,0 раз, по меньшей мере 5,5 раз, по меньшей мере 6,0 раз, по меньшей мере 6,5 раз, по меньшей мере 7,0 раз, по меньшей мере 7,5 раз, по меньшей мере 8,0 раз, по меньшей мере 8,5 раз, по меньшей мере 9,0 раз, по меньшей мере 9,5 раз, или по меньшей мере 10 раз, например, по сравнению с экспрессией PD–L1, PD–L2, B7–H2, B7–H3, CD200R, CD163 и/или CD206 в одной или нескольких клетках соответствующего субъекта, не получавшего антитело.

[0245] В некоторых вариантах осуществления, анти–CD33 антитела согласно настоящему раскрытию пригодны для предотвращения, снижения риска или лечения

состояний и/или болезней, связанных с аномальными уровнями PD-L1, PD-L2, B7-H2, B7-H3, CD200R, CD163 и/или CD206, включая, без ограничений, деменцию, лобно-височную деменцию, болезнь Альцгеймера, сосудистую деменцию, смешанную деменцию, болезнь Крейтцфельда-Якоба, нормотензивную гидроцефалию, боковой амиотрофический склероз, болезнь Гентингтона, таупатию, болезнь Насу-Хакола, инсульт, острую травму, хроническую травму, волчанку, острый и хронический колит, ревматоидный артрит, заживление ран, болезнь Крона, воспалительное заболевание кишечника, неспецифический язвенный колит, ожирение, малярию, эссенциальный тремор, волчанку центральной нервной системы, болезнь Бехчета, болезнь Паркинсона, деменцию с тельцами Леви, мультисистемную атрофию, синдром Шая-Дрейджера, прогрессирующий надъядерный паралич, кортикобазальную ганглионарную дегенерацию, острый рассеянный энцефаломиелит, гранулематозные расстройства, саркоидоз, болезни старения, эпилептические припадки, повреждение спинного мозга, травматическое повреждение головного мозга, возрастную макулярную дегенерацию, глаукому, пигментный ретинит, дегенерацию сетчатки, инфекцию дыхательных путей, сепсис, глазную инфекцию, системную инфекцию, волчанку, артрит, рассеянный склероз, низкую плотность костной ткани, остеопороз, остеогенез, остеопетрозное заболевание, деформирующий остит и рак, включая рак мочевого пузыря, рак головного мозга, рак молочной железы, рак толстой кишки, рак прямой кишки, эндометриальный рак, рак почки, почечноклеточный рак, рак почечной лоханки, лейкоз, рак легкого, меланому, неходжкинскую лимфому, рак поджелудочной железы, рак предстательной железы, рак яичника, фибросаркому, острый лимфобластный лейкоз (ОЛЛ), острый миелолейкоз (ОМЛ), хронический лимфоцитарный лейкоз (ХЛЛ), хронический миелоидный лейкоз (ХМЛ), множественную миелому, истинную красную полицитемию, эссенциальный тромбоцитоз, первичный или идиопатический миелофиброз, первичный или идиопатический миелосклероз, опухоли миелоидного происхождения, опухоли, экспрессирующие CD33, рак щитовидной железы, инфекции, герпес ЦНС, паразитарные инфекции, трипаносомную инфекцию, инфекцию *Trypanosoma cruzi*, инфекцию *Pseudomonas aeruginosa*, инфекцию *Leishmania donovani*, инфекцию *Streptococcus* группы В, инфекцию *Campylobacter jejuni*, инфекцию *Neisseria meningitidis*, ВИЧ типа I, и палочку Пфайффера (*Haemophilus influenza*).

Повышение или нормализация способности дендритных клеток костномозгового происхождения индуцировать антигенспецифическую Т-клеточную пролиферацию

[0246] В некоторых вариантах осуществления, анти-CD33 антитела согласно настоящему раскрытию могут повышать и/или нормализовать способность дендритных клеток костномозгового происхождения индуцировать антигенспецифическую Т-клеточную пролиферацию после связывания с белком CD33, экспрессируемым в клетке.

[0247] В некоторых вариантах осуществления, антагонистические анти-CD33 антитела согласно настоящему раскрытию могут повышать и/или нормализовать способность дендритных клеток костномозгового происхождения индуцировать

антигенспецифическую Т–клеточную пролиферацию в одной или нескольких дендритных клетках костномозгового происхождения субъекта на по меньшей мере 10%, по меньшей мере 15%, по меньшей мере 20%, по меньшей мере 25%, по меньшей мере 30%, по меньшей мере 35%, по меньшей мере 40%, по меньшей мере 45%, по меньшей мере 50%, по меньшей мере 55%, по меньшей мере 60%, по меньшей мере 65%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 100%, по меньшей мере 110%, по меньшей мере 115%, по меньшей мере 120%, по меньшей мере 125%, по меньшей мере 130%, по меньшей мере 135%, по меньшей мере 140%, по меньшей мере 145%, по меньшей мере 150%, по меньшей мере 160%, по меньшей мере 170%, по меньшей мере 180%, по меньшей мере 190%, или по меньшей мере 200%, например, по сравнению со способностью дендритных клеток костномозгового происхождения индуцировать антигенспецифическую Т–клеточную пролиферацию в одной или нескольких дендритных клетках костномозгового происхождения соответствующего пациента, не получавшего антитело. В других вариантах осуществления, антагонистическое анти–CD33 антитело может повышать и/или нормализовать способность дендритных клеток костномозгового происхождения индуцировать антигенспецифическую Т–клеточную пролиферацию в одной или нескольких дендритных клетках костномозгового происхождения пациента в по меньшей мере 1,5 раза, по меньшей мере 1,6 раза, по меньшей мере 1,7 раза, по меньшей мере 1,8 раза, по меньшей мере 1,9 раза, по меньшей мере 2,0 раза, по меньшей мере 2,1 раза, по меньшей мере 2,15 раза, по меньшей мере 2,2 раза, по меньшей мере 2,25 раза, по меньшей мере 2,3 раза, по меньшей мере 2,35 раза, по меньшей мере 2,4 раза, по меньшей мере 2,45 раза, по меньшей мере 2,5 раза, по меньшей мере 2,55 раза, по меньшей мере 3,0 раза, по меньшей мере 3,5 раза, по меньшей мере 4,0 раза, по меньшей мере 4,5 раза, по меньшей мере 5,0 раз, по меньшей мере 5,5 раз, по меньшей мере 6,0 раз, по меньшей мере 6,5 раз, по меньшей мере 7,0 раз, по меньшей мере 7,5 раз, по меньшей мере 8,0 раз, по меньшей мере 8,5 раз, по меньшей мере 9,0 раз, по меньшей мере 9,5 раз, или по меньшей мере 10 раз, например, по сравнению со способностью дендритных клеток костномозгового происхождения индуцировать антигенспецифическую Т–клеточную пролиферацию в одной или нескольких дендритных клетках костномозгового происхождения соответствующего пациента, не получавшего антитело.

[0248] В некоторых вариантах осуществления, анти–CD33 антитела согласно настоящему раскрытию полезны для предотвращения, снижения риска или лечения состояний и/или болезней, связанных с пониженной или дисрегулируемой способностью дендритных клеток костномозгового происхождения индуцировать антигенспецифическую Т–клеточную пролиферацию, включая, без ограничений, деменцию, лобно–височную деменцию, болезнь Альцгеймера, сосудистую деменцию, смешанную деменцию, болезнь Крейтцфельда–Якоба, нормотензивную гидроцефалию, боковой амиотрофический склероз, болезнь Гентингтона, таупатию, болезнь Насу–Хакола, инсульт, острую травму, хроническую травму, волчанку, острый и хронический

колит, ревматоидный артрит, заживление ран, болезнь Крона, воспалительное заболевание кишечника, неспецифический язвенный колит, ожирение, малярию, эссенциальный тремор, волчанку центральной нервной системы, болезнь Бехчета, болезнь Паркинсона, деменцию с тельцами Леви, мультисистемную атрофию, синдром Шая–Дрейджера, прогрессирующий надъядерный паралич, кортикобазальную ганглионарную дегенерацию, острый рассеянный энцефаломиелит, гранулематозные расстройства, саркоидоз, болезни старения, эпилептические припадки, повреждение спинного мозга, травматическое повреждение головного мозга, возрастную макулярную дегенерацию, глаукому, пигментный ретинит, дегенерацию сетчатки, инфекцию дыхательных путей, сепсис, глазную инфекцию, системную инфекцию, волчанку, артрит, рассеянный склероз, низкую плотность костной ткани, остеопороз, остеогенез, остеопетрозное заболевание, деформирующий остит и рак, включая рак мочевого пузыря, рак головного мозга, рак молочной железы, рак толстой кишки, рак прямой кишки, эндометриальный рак, рак почки, почечноклеточный рак, рак почечной лоханки, лейкоз, рак легкого, меланому, неходжкинскую лимфому, рак поджелудочной железы, рак предстательной железы, рак яичника, фибросаркому, острый лимфобластный лейкоз (ОЛЛ), острый миелолейкоз (ОМЛ), хронический лимфоцитарный лейкоз (ХЛЛ), хронический миелоидный лейкоз (ХМЛ), множественную миелому, истинную красную полицитемию, эссенциальный тромбоцитоз, первичный или идиопатический миелофиброз, первичный или идиопатический миелосклероз, опухоли миелоидного происхождения, опухоли, экспрессирующие CD33, рак щитовидной железы, инфекции, герпес ЦНС, паразитарные инфекции, трипаносомную инфекцию, инфекцию *Trypanosoma cruzi*, инфекцию *Pseudomonas aeruginosa*, инфекцию *Leishmania donovani*, инфекцию *Streptococcus* группы В, инфекцию *Campylobacter jejuni*, инфекцию *Neisseria meningitidis*, ВИЧ типа I, и палочку Пфайффера (*Haemophilus influenza*).

Пролиферация и выживание CD33–экспрессирующих клеток

[0249] В некоторых вариантах осуществления, анти-CD33 антитела согласно настоящему раскрытию могут увеличивать пролиферацию, выживание, и/или функцию дендритных клеток, макрофагов, моноцитов, нейтрофилов, остеокластов, клеток Лангеранса кожи, купферовых клеток, Т-клеток, Т-хелперных клеток, цитотоксических Т-клеток и микроглиальных клеток после связывания с белком CD33, экспрессируемым на клетке.

[0250] Микроглиальные клетки представляют собой тип глиальных клеток, являющихся резидентными макрофагами головного и спинного мозга и, таким образом, выступают в роли первичной и основной формы активной иммунной защиты центральной нервной системы (ЦНС). Микроглиальные клетки составляют 20% от общей популяции глиальных клеток в головном мозге. Микроглиальные клетки постоянно очищают ЦНС от бляшек, поврежденных нейронов и инфекционных агентов. Головной и спинной мозг считаются "иммунно–привилегированными" органами, потому что они отделены от остального организма рядом эндотелиальных клеток, известных как

гематоэнцефалический барьер, который препятствует проникновению большинства патогенов в уязвимую нервную ткань. В тех случаях, когда инфекционные агенты попадают непосредственно в головной мозг или пересекают гематоэнцефалический барьер, микроглиальные клетки должны быстро реагировать для ограничения воспаления и уничтожения инфекционных агентов до того, как они повредят чувствительную нервную ткань. Вследствие недоступности антител из остальной части организма (лишь немногие антитела имеют достаточно малый размер для пересечения гематоэнцефалического барьера), микроглия должна быть способна распознавать инородные тела, поглощать их, и выступать в роли антигенпрезентирующих клеток, активирующих Т-клетки. Поскольку этот процесс должен происходить быстро для предотвращения потенциально фатальных повреждений, микроглиальные клетки являются крайне чувствительными к даже незначительным патологическим изменениям в ЦНС. Они достигают такой чувствительности частично благодаря уникальным калиевым каналам, реагирующим даже на незначительные изменения внеклеточного калия.

[0251] В используемом в настоящем описании значении, макрофаги согласно настоящему раскрытию включают, без ограничений, макрофаги M1, активированные макрофаги M1 и макрофаги M2. В используемом в настоящем описании значении, микроглиальные клетки согласно настоящему раскрытию включают, без ограничений, микроглиальные клетки M1, активированные микроглиальные клетки M1 и микроглиальные клетки M2.

[0252] В некоторых вариантах осуществления, анти-CD33 антитела согласно настоящему раскрытию могут увеличивать экспрессию CD80, CD83 и/или CD86 на дендритных клетках, моноцитах и/или макрофагах.

[0253] В используемом в настоящем описании значении, показатели пролиферации, выживания и/или функции макрофагов, дендритных клеток, моноцитов, Т-клеток, нейтрофилов и/или микроглии могут включать повышенную экспрессию, если показатели пролиферации, выживания и/или функции дендритных клеток, макрофагов, моноцитов, нейтрофилов, остеокластов, клеток Лангеранса кожи, купферовых клеток, и/или микроглии у пациента, получающего лечение анти-CD33 антителом согласно настоящему раскрытию, имеют значения больше показателей пролиферации, выживания и/или функции дендритных клеток, макрофагов, моноцитов, остеокластов, клеток Лангеранса кожи, купферовых клеток, Т-клеток, нейтрофилов и/или микроглии у соответствующего пациента, не получающего лечения антителом. В некоторых вариантах осуществления, анти-CD33 антитело согласно настоящему раскрытию может увеличивать показатели пролиферации, выживания и/или функции дендритных клеток, макрофагов, моноцитов, остеокластов, клеток Лангеранса кожи, купферовых клеток, Т-клеток и/или микроглии у пациента на по меньшей мере 10%, по меньшей мере 15%, по меньшей мере 20%, по меньшей мере 25%, по меньшей мере 30%, по меньшей мере 35%, по меньшей мере 40%, по меньшей мере 45%, по меньшей мере 50%, по меньшей мере 55%, по меньшей мере 60%, по меньшей мере 65%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 75%, по меньшей

мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 100%, по меньшей мере 110%, по меньшей мере 115%, по меньшей мере 120%, по меньшей мере 125%, по меньшей мере 130%, по меньшей мере 135%, по меньшей мере 140%, по меньшей мере 145%, по меньшей мере 150%, по меньшей мере 160%, по меньшей мере 170%, по меньшей мере 180%, по меньшей мере 190%, или по меньшей мере 200%, например, по сравнению с показателями пролиферации, выживания и/или функции дендритных клеток, макрофагов, моноцитов, остеокластов, клеток Лангеранса кожи, купферовых клеток, Т-клеток и/или микроглии у соответствующего пациента, не получающего лечения антителом. В других вариантах осуществления, анти-CD33 антитело согласно настоящему раскрытию может увеличивать показатели пролиферации, выживания и/или функции дендритных клеток, макрофагов, моноцитов, остеокластов, клеток Лангеранса кожи, купферовых клеток, Т-клеток и/или микроглии у пациента в по меньшей мере 1,5 раза, по меньшей мере 1,6 раза, по меньшей мере 1,7 раза, по меньшей мере 1,8 раза, по меньшей мере 1,9 раза, по меньшей мере 2,0 раза, по меньшей мере 2,1 раза, по меньшей мере 2,15 раза, по меньшей мере 2,2 раза, по меньшей мере 2,25 раза, по меньшей мере 2,3 раза, по меньшей мере 2,35 раза, по меньшей мере 2,4 раза, по меньшей мере 2,45 раза, по меньшей мере 2,5 раза, по меньшей мере 2,55 раза, по меньшей мере 3,0 раза, по меньшей мере 3,5 раза, по меньшей мере 4,0 раза, по меньшей мере 4,5 раза, по меньшей мере 5,0 раз, по меньшей мере 5,5 раз, по меньшей мере 6,0 раз, по меньшей мере 6,5 раз, по меньшей мере 7,0 раз, по меньшей мере 7,5 раз, по меньшей мере 8,0 раз, по меньшей мере 8,5 раз, по меньшей мере 9,0 раз, по меньшей мере 9,5 раз, или по меньшей мере 10 раз, например, по сравнению с показателями пролиферации, выживания и/или функции дендритных клеток, макрофагов, моноцитов, остеокластов, клеток Лангеранса кожи, купферовых клеток, Т-клеток и/или микроглии у соответствующего пациента, не получающего лечения антителом.

[0254] В некоторых вариантах осуществления, анти-CD33 антитела согласно настоящему раскрытию полезны для предотвращения, снижения риска или лечения состояний и/или болезней, связанных со снижением пролиферации, выживания, повышенного апоптоза и/или функции дендритных клеток, нейтрофилов, макрофагов, моноцитов, остеокластов, клеток Лангеранса кожи, купферовых клеток, Т-клеток и/или микроглии, включая, без ограничений, деменцию, лобно-височную деменцию, болезнь Альцгеймера, сосудистую деменцию, смешанную деменцию, болезнь Крейтцфельда-Якоба, нормотензивную гидроцефалию, боковой амиотрофический склероз, болезнь Гентингтона, таупатию, болезнь Насу-Хакола, инсульт, острую травму, хроническую травму, волчанку, острый и хронический колит, ревматоидный артрит, заживление ран, болезнь Крона, воспалительное заболевание кишечника, неспецифический язвенный колит, ожирение, малярию, эссенциальный тремор, волчанку центральной нервной системы, болезнь Бехчета, болезнь Паркинсона, деменцию с тельцами Леви, мультисистемную атрофию, синдром Шая-Дрейджера, прогрессирующий надъядерный паралич, кортикобазальную ганглионарную дегенерацию, острый рассеянный

энцефаломиелит, гранулематозные расстройства, саркоидоз, болезни старения, эпилептические припадки, повреждение спинного мозга, травматическое повреждение головного мозга, возрастную макулярную дегенерацию, глаукому, пигментный ретинит, дегенерацию сетчатки, инфекцию дыхательных путей, сепсис, глазную инфекцию, системную инфекцию, волчанку, артрит, рассеянный склероз, низкую плотность костной ткани, остеопороз, остеогенез, остеопетрозное заболевание, деформирующий остит и рак, включая рак мочевого пузыря, рак головного мозга, рак молочной железы, рак толстой кишки, рак прямой кишки, эндометриальный рак, рак почки, почечноклеточный рак, рак почечной лоханки, лейкоз, рак легкого, меланому, неходжкинскую лимфому, рак поджелудочной железы, рак предстательной железы, рак яичника, фибросаркому, острый лимфобластный лейкоз (ОЛЛ), острый миелолейкоз (ОМЛ), хронический лимфоцитарный лейкоз (ХЛЛ), хронический миелоидный лейкоз (ХМЛ), множественную миелому, истинную красную полицитемию, эссенциальный тромбоцитоз, первичный или идиопатический миелофиброз, первичный или идиопатический миелосклероз, опухоли миелоидного происхождения, опухоли, экспрессирующие CD33, рак щитовидной железы, инфекции, герпес ЦНС, паразитарные инфекции, трипаносомную инфекцию, инфекцию *Trypanosoma cruzi*, инфекцию *Pseudomonas aeruginosa*, инфекцию *Leishmania donovani*, инфекцию *Streptococcus* группы В, инфекцию *Campylobacter jejuni*, инфекцию *Neisseria meningitidis*, ВИЧ типа I, и палочку Пфайффера (*Haemophilus influenza*).

CD33–зависимая активация иммунных клеток

[0255] В некоторых вариантах осуществления, антагонистические анти-CD33 антитела согласно настоящему раскрытию могут увеличивать активность цитотоксических Т-клеток, хелперных Т-клеток, или обоих. В некоторых вариантах осуществления, антагонистические анти-CD33 антитела согласно настоящему раскрытию полезны для предотвращения, снижения риска или лечения состояний и/или болезней, связанных с пониженной активностью цитотоксических Т-клеток, хелперных Т-клеток, или обоих, включая, без ограничений, опухоли, включая солидные опухоли, такие как рак мочевого пузыря, рак головного мозга, рак молочной железы, рак толстой кишки, рак прямой кишки, эндометриальный рак, рак почки, почечноклеточный рак, рак почечной лоханки, лейкоз, рак легкого, меланома, неходжкинская лимфома, рак поджелудочной железы, рак предстательной железы, рак яичника, фибросаркома, и рак щитовидной железы.

[0256] В некоторых вариантах осуществления, антагонистические анти-CD33 антитела согласно настоящему раскрытию могут индуцировать увеличение пролиферации, выживания, активности, и/или числа Т-клеток, цитотоксических Т-клеток, CD3⁺ Т-клеток, хелперных Т-клеток, дендритных клеток, макрофагов, моноцитов, нейтрофилов, остеокластов, клеток Лангеранса кожи, купферовых клеток, и/или микроглиальных клеток. В некоторых вариантах осуществления, антагонистические анти-CD33 антитела согласно настоящему раскрытию индуцируют увеличение пролиферации, выживания, активности, и/или числа Т-клеток, цитотоксических Т-клеток, CD3⁺ Т-

клеток, хелперных Т-клеток, дендритных клеток, макрофагов, моноцитов, нейтрофилов, остеокластов, клеток Лангеранса кожи, купферовых клеток, и/или микроглиальных клеток в присутствии супрессорных клеток миелоидного происхождения (MDSC).

[0257] В используемом в настоящем описании значении, показатели пролиферации, выживания, активности и/или численности Т-клеток, цитотоксических Т-клеток, CD3⁺ Т-клеток, хелперных Т-клеток, дендритных клеток, макрофагов, моноцитов, нейтрофилов, остеокластов, клеток Лангеранса кожи, купферовых клеток, и/или микроглиальных клеток могут включать повышенные показатели, если показатели пролиферации, выживания, активности и/или численности Т-клеток, цитотоксических Т-клеток, CD3⁺ Т-клеток, хелперных Т-клеток, дендритных клеток, макрофагов, моноцитов, нейтрофилов, остеокластов, клеток Лангеранса кожи, купферовых клеток, и/или микроглиальных клеток у пациента, получающего лечение анти-CD33 антителом согласно настоящему раскрытию, больше показателей пролиферации, выживания, активности, и/или численности Т-клеток, цитотоксических Т-клеток, CD3⁺ Т-клеток, хелперных Т-клеток, дендритных клеток, макрофагов, моноцитов, нейтрофилов, остеокластов, клеток Лангеранса кожи, купферовых клеток, и/или микроглиальных клеток у соответствующего пациента, не получающего лечения антителом. В некоторых вариантах осуществления, анти-CD33 антитело согласно настоящему раскрытию может увеличивать пролиферацию, выживание, активность, и/или численность Т-клеток, цитотоксических Т-клеток, CD3⁺ Т-клеток, хелперных Т-клеток, дендритных клеток, макрофагов, моноцитов, нейтрофилов, остеокластов, клеток Лангеранса кожи, купферовых клеток, и/или микроглиальных клеток у пациента на по меньшей мере 10%, по меньшей мере 15%, по меньшей мере 20%, по меньшей мере 25%, по меньшей мере 30%, по меньшей мере 35%, по меньшей мере 40%, по меньшей мере 45%, по меньшей мере 50%, по меньшей мере 55%, по меньшей мере 60%, по меньшей мере 65%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 100%, по меньшей мере 110%, по меньшей мере 115%, по меньшей мере 120%, по меньшей мере 125%, по меньшей мере 130%, по меньшей мере 135%, по меньшей мере 140%, по меньшей мере 145%, по меньшей мере 150%, по меньшей мере 160%, по меньшей мере 170%, по меньшей мере 180%, по меньшей мере 190%, или по меньшей мере 200%, например, по сравнению с уровнем пролиферации, выживания, активности, и/или численности Т-клеток, цитотоксических Т-клеток, CD3⁺ Т-клетки, хелперных Т-клеток, дендритных клеток, макрофагов, моноцитов, нейтрофилов, остеокластов, клеток Лангеранса кожи, купферовых клеток, и/или микроглиальных клеток у соответствующего пациента, не получающего лечения антителом. В других вариантах осуществления, анти-CD33 антитело согласно настоящему раскрытию может увеличивать пролиферацию, выживание, активность, и/или численность Т-клеток, цитотоксических Т-клеток, CD3⁺ Т-клеток, хелперных Т-клеток, дендритных клеток, макрофагов, моноцитов, нейтрофилов, остеокластов, клеток Лангеранса кожи, купферовых клеток, и/или микроглиальных клеток у пациента в по меньшей мере 1,5 раза, по меньшей мере 1,6 раза,

по меньшей мере 1,7 раза, по меньшей мере 1,8 раза, по меньшей мере 1,9 раза, по меньшей мере 2,0 раза, по меньшей мере 2,1 раза, по меньшей мере 2,15 раза, по меньшей мере 2,2 раза, по меньшей мере 2,25 раза, по меньшей мере 2,3 раза, по меньшей мере 2,35 раза, по меньшей мере 2,4 раза, по меньшей мере 2,45 раза, по меньшей мере 2,5 раза, по меньшей мере 2,55 раза, по меньшей мере 3,0 раза, по меньшей мере 3,5 раза, по меньшей мере 4,0 раза, по меньшей мере 4,5 раза, по меньшей мере 5,0 раз, по меньшей мере 5,5 раз, по меньшей мере 6,0 раз, по меньшей мере 6,5 раз, по меньшей мере 7,0 раз, по меньшей мере 7,5 раз, по меньшей мере 8,0 раз, по меньшей мере 8,5 раз, по меньшей мере 9,0 раз, по меньшей мере 9,5 раз, или по меньшей мере 10 раз, например, по сравнению с уровнем пролиферации, выживания, активности, и/или численности Т-клеток, цитотоксических Т-клеток, CD3⁺ Т-клеток, хелперных Т-клеток, дендритных клеток, макрофагов, моноцитов, нейтрофилов, остеокластов, клеток Лангеранса кожи, купферовых клеток, и/или микроглиальных клеток у соответствующего пациента, не получающего лечения антителом.

CD33–зависимое ингибирование опухолиассоциированных иммунных клеток

[0258] В некоторых вариантах осуществления, агонистические анти–CD33 антитела согласно настоящему раскрытию могут снижать активность, снижать пролиферацию, снижать выживание, снижать функциональность, снижать инфильтрацию в опухоли или лимфоидные органы (например, селезенку и лимфатические узлы), число CD14⁺ миелоидных клеток, снижать скорость роста опухоли, уменьшать объем опухоли, снижать или ингибировать дифференцировку, выживание, и/или одну или более функций супрессорных клеток миелоидного происхождения (MDSC), и/или промотировать апоптоз Т–регуляторных клеток или ингибирующих внутриопухолевых иммуносупрессорных дендритных клеток, или опухоль–ассоциированных макрофагов, или супрессорных клеток миелоидного происхождения. В некоторых вариантах осуществления, агонистические анти–CD33 антитела согласно настоящему раскрытию полезны для предотвращения, снижения риска или лечения состояний и/или болезней, связанных с активностью одного или нескольких типов иммунных супрессорных клеток, включая, без ограничений, опухоли, включая солидные опухоли, которые не экспрессируют CD33, такие как рак мочевого пузыря, рак головного мозга, рак молочной железы, рак толстой кишки, рак прямой кишки, эндометриальный рак, рак почки, почечноклеточный рак, рак почечной лоханки, рак легкого, меланому, неходжкинскую лимфому, рак поджелудочной железы, рак предстательной железы, рак яичника, фибросаркому, рак щитовидной железы, и опухоли крови, экспрессирующие CD33, такие как лейкозные клетки.

[0259] В некоторых вариантах осуществления, антагонистические анти–CD33 антитела согласно настоящему раскрытию могут снижать число CD14⁺ миелоидных клеток, снижать скорость роста опухоли, уменьшать объем опухоли, или снижать или ингибировать дифференцировку, выживание, и/или одну или более функций супрессорных клеток миелоидного происхождения (MDSC).

[0260] В некоторых вариантах осуществления, анти–CD33 антитело согласно

настоящему раскрытию может снижать число CD14⁺ миелоидных клеток, снижать скорость роста опухоли, уменьшать объем опухоли, или снижать или ингибировать дифференцировку, выживание, и/или одну или более функций супрессорных клеток миелоидного происхождения (MDSC) у пациента на по меньшей мере 10%, по меньшей мере 15%, по меньшей мере 20%, по меньшей мере 25%, по меньшей мере 30%, по меньшей мере 35%, по меньшей мере 40%, по меньшей мере 45%, по меньшей мере 50%, по меньшей мере 55%, по меньшей мере 60%, по меньшей мере 65%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 100%, по меньшей мере 110%, по меньшей мере 115%, по меньшей мере 120%, по меньшей мере 125%, по меньшей мере 130%, по меньшей мере 135%, по меньшей мере 140%, по меньшей мере 145%, по меньшей мере 150%, по меньшей мере 160%, по меньшей мере 170%, по меньшей мере 180%, по меньшей мере 190%, или по меньшей мере 200%, например, по сравнению с числом CD14⁺ миелоидных клеток, скоростью роста опухоли, объемом опухоли, или уровнем дифференцировки, выживания, и/или одной или нескольких функций супрессорных клеток миелоидного происхождения (MDSC) у соответствующего пациента, не получающего лечения антителом. В других вариантах осуществления, анти-CD33 антитело согласно настоящему раскрытию может снижать число CD14⁺ миелоидных клеток, снижать скорость роста опухоли, уменьшать объем опухоли, или снижать или ингибировать дифференцировку, выживание, и/или одну или более функций супрессорных клеток миелоидного происхождения (MDSC) у пациента в по меньшей мере 1,5 раза, по меньшей мере 1,6 раза, по меньшей мере 1,7 раза, по меньшей мере 1,8 раза, по меньшей мере 1,9 раза, по меньшей мере 2,0 раза, по меньшей мере 2,1 раза, по меньшей мере 2,15 раза, по меньшей мере 2,2 раза, по меньшей мере 2,25 раза, по меньшей мере 2,3 раза, по меньшей мере 2,35 раза, по меньшей мере 2,4 раза, по меньшей мере 2,45 раза, по меньшей мере 2,5 раза, по меньшей мере 2,55 раза, по меньшей мере 3,0 раза, по меньшей мере 3,5 раза, по меньшей мере 4,0 раза, по меньшей мере 4,5 раза, по меньшей мере 5,0 раз, по меньшей мере 5,5 раз, по меньшей мере 6,0 раз, по меньшей мере 6,5 раз, по меньшей мере 7,0 раз, по меньшей мере 7,5 раз, по меньшей мере 8,0 раз, по меньшей мере 8,5 раз, по меньшей мере 9,0 раз, по меньшей мере 9,5 раз, или по меньшей мере 10 раз, например, по сравнению с числом CD14⁺ миелоидных клеток, скоростью роста опухоли, объемом опухоли, или уровнем дифференцировки, выживания, и/или одной или нескольких функций супрессорных клеток миелоидного происхождения (MDSC) у соответствующего пациента, не получающего лечения антителом.

Повышенная эффективность терапий ингибиторами контрольных точек

[0261] В некоторых вариантах осуществления, антагонистические анти-CD33 антитела согласно настоящему раскрытию могут увеличивать эффективность одной или нескольких терапий ингибиторами контрольных точек и/или иммуномодулирующих терапий, таких как ингибиторов PD-1 или терапий, нацеленных на что-то одно или несколько из CTL4, аденозинового пути, PD-L1, PD-L2, OX40, TIM3, и/или LAG3.

[0262] В некоторых вариантах осуществления, анти-CD33 антитело согласно настоящему раскрытию может увеличивать эффективность одной или нескольких терапий ингибиторами контрольных точек и/или иммуномодулирующих терапий, таких как ингибиторов PD-1 или терапий, нацеленных на что-то одно или несколько из CTL4, аденозинового пути, PD-L1, PD-L2, OX40, TIM3, и/или LAG3, у пациента, получающего такую одну или более терапий, на по меньшей мере 10%, по меньшей мере 15%, по меньшей мере 20%, по меньшей мере 25%, по меньшей мере 30%, по меньшей мере 35%, по меньшей мере 40%, по меньшей мере 45%, по меньшей мере 50%, по меньшей мере 55%, по меньшей мере 60%, по меньшей мере 65%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 100%, по меньшей мере 110%, по меньшей мере 115%, по меньшей мере 120%, по меньшей мере 125%, по меньшей мере 130%, по меньшей мере 135%, по меньшей мере 140%, по меньшей мере 145%, по меньшей мере 150%, по меньшей мере 160%, по меньшей мере 170%, по меньшей мере 180%, по меньшей мере 190%, или по меньшей мере 200%, например, по сравнению с уровнем эффективности одной или нескольких терапий ингибиторами контрольных точек и/или иммуномодулирующих терапий, таких как ингибиторов PD-1 или терапий, нацеленных на что-то одно или несколько из CTL4, аденозинового пути, PD-L1, PD-L2, OX40, TIM3, и/или LAG3, у соответствующего пациента, получающего такую одну или более терапий, который не получает лечения антителом. В других вариантах осуществления, анти-CD33 антитело согласно настоящему раскрытию может увеличивать эффективность одной или нескольких терапий ингибиторами контрольных точек и/или иммуномодулирующих терапий, таких как ингибиторов PD-1 или терапий, нацеленных на что-то одно или несколько из CTL4, аденозинового пути, PD-L1, PD-L2, OX40, TIM3, и/или LAG3 у пациента, получающего такую одну или более терапий, в по меньшей мере 1,5 раза, по меньшей мере 1,6 раза, по меньшей мере 1,7 раза, по меньшей мере 1,8 раза, по меньшей мере 1,9 раза, по меньшей мере 2,0 раза, по меньшей мере 2,1 раза, по меньшей мере 2,15 раза, по меньшей мере 2,2 раза, по меньшей мере 2,25 раза, по меньшей мере 2,3 раза, по меньшей мере 2,35 раза, по меньшей мере 2,4 раза, по меньшей мере 2,45 раза, по меньшей мере 2,5 раза, по меньшей мере 2,55 раза, по меньшей мере 3,0 раза, по меньшей мере 3,5 раза, по меньшей мере 4,0 раза, по меньшей мере 4,5 раза, по меньшей мере 5,0 раз, по меньшей мере 5,5 раз, по меньшей мере 6,0 раз, по меньшей мере 6,5 раз, по меньшей мере 7,0 раз, по меньшей мере 7,5 раз, по меньшей мере 8,0 раз, по меньшей мере 8,5 раз, по меньшей мере 9,0 раз, по меньшей мере 9,5 раз, или по меньшей мере 10 раз, например, по сравнению с уровнем эффективности одной или нескольких терапий ингибиторами контрольных точек и/или иммуномодулирующих терапий, таких как ингибиторов PD-1 или терапий, нацеленных на что-то одно или несколько из CTL4, аденозинового пути, PD-L1, PD-L2, OX40, TIM3, и/или LAG3, у соответствующего пациента, получающего такую одну или более терапий, который не получает лечения антителом.

Повышенная эффективность химиотерапевтических агентов

[0263] В некоторых вариантах осуществления, антагонистические анти-CD33 антитела согласно настоящему раскрытию могут увеличивать эффективность одно или нескольких химиотерапевтических агентов, таких как гемцитабин, капецитабин, антрациклины, доксорубицин (адриамицин (Adriamycin[®])), эпирубицин (элленс (Ellence[®])), таксаны, паклитаксел (таксол (Taxol[®])), доцетаксел (таксотере (Taxotere[®])), 5-фторурацил (5-FU), циклофосфамид (цитоксан (Cytoxan[®])), карбоплатин (параплатин (Paraplatin[®])), оксалиплатин (элотаксин (Elotaxin[®])), лейковорин, и/или темозоломид (темодар (Temodar[®])).

[0264] В некоторых вариантах осуществления, анти-CD33 антитело согласно настоящему раскрытию может увеличивать эффективность одного или нескольких химиотерапевтических агентов у пациента, получающего такую одну или более терапий, на по меньшей мере 10%, по меньшей мере 15%, по меньшей мере 20%, по меньшей мере 25%, по меньшей мере 30%, по меньшей мере 35%, по меньшей мере 40%, по меньшей мере 45%, по меньшей мере 50%, по меньшей мере 55%, по меньшей мере 60%, по меньшей мере 65%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 100%, по меньшей мере 110%, по меньшей мере 115%, по меньшей мере 120%, по меньшей мере 125%, по меньшей мере 130%, по меньшей мере 135%, по меньшей мере 140%, по меньшей мере 145%, по меньшей мере 150%, по меньшей мере 160%, по меньшей мере 170%, по меньшей мере 180%, по меньшей мере 190%, или по меньшей мере 200%, например, по сравнению с уровнем эффективности одного или нескольких химиотерапевтических агентов у соответствующего пациента, получающего такую одну или более терапий, который не получает антитела. В других вариантах осуществления, анти-CD33 антитело согласно настоящему раскрытию может увеличивать эффективность одного или нескольких химиотерапевтических агентов у пациента, получающего такую одну или более терапий, в по меньшей мере 1,5 раза, по меньшей мере 1,6 раза, по меньшей мере 1,7 раза, по меньшей мере 1,8 раза, по меньшей мере 1,9 раза, по меньшей мере 2,0 раза, по меньшей мере 2,1 раза, по меньшей мере 2,15 раза, по меньшей мере 2,2 раза, по меньшей мере 2,25 раза, по меньшей мере 2,3 раза, по меньшей мере 2,35 раза, по меньшей мере 2,4 раза, по меньшей мере 2,45 раза, по меньшей мере 2,5 раза, по меньшей мере 2,55 раза, по меньшей мере 3,0 раза, по меньшей мере 3,5 раза, по меньшей мере 4,0 раза, по меньшей мере 4,5 раза, по меньшей мере 5,0 раз, по меньшей мере 5,5 раз, по меньшей мере 6,0 раз, по меньшей мере 6,5 раз, по меньшей мере 7,0 раз, по меньшей мере 7,5 раз, по меньшей мере 8,0 раз, по меньшей мере 8,5 раз, по меньшей мере 9,0 раз, по меньшей мере 9,5 раз, или по меньшей мере 10 раз, например, по сравнению с уровнем эффективности одного или нескольких химиотерапевтических агентов у соответствующего пациента, получающего такую одну или более терапий, который не получает антитела.

Получение антител

[0265] Анти-CD33 антитела согласно настоящему раскрытию могут охватывать поликлональные антитела, моноклональные антитела, гуманизированные и химерные антитела, человеческие антитела, фрагменты антител (например, Fab, Fab'-SH, Fv, scFv, и F(ab')₂), биспецифические и полиспецифические антитела, поливалентные антитела, гетероконъюгированные антитела, конъюгированные антитела, антитела, полученные из библиотек, антитела, имеющие модифицированные эффекторные функции, гибридные белки, содержащие участок антитела, и любые другие модифицированные конфигурации молекул иммуноглобулина, которые включают сайт распознавания антигена, такой как эпитоп, имеющий аминокислотные остатки белка CD33 согласно настоящему раскрытию, включая варианты гликозилирования антител, варианты аминокислотных последовательностей антител, и ковалентно модифицированные антитела. Анти-CD33 антитела могут быть человеческими, мышинными, крысиными, или иметь любое другое происхождение (включая химерные или гуманизированные антитела).

(1) Поликлональные антитела

[0266] Поликлональные антитела, такие как поликлональные анти-CD33 антитела, как правило, индуцируют у животных путем многократных подкожных (sc) или интраперитонеальных (ip) инъекций релевантного антигена и адъювант. Может быть полезной конъюгация релевантного антигена (например, очищенного или рекомбинантного белка CD33 согласно настоящему раскрытию) с белком, который является иммуногенным у иммунизируемого вида, например, гемоцианином моллюска фиссуреллы (KLH), сывороточным альбумином, бычьим тиреоглобулином, или ингибитором соевого трипсина, с использованием бифункционального или дериватизирующего агента, например, сложного эфира малеимидобензоилсульфосукцинимид (конъюгация через остатки цистеина), N-гидроксисукцинимид (через остатки лизина), глутаральдегида, янтарного ангидрида, SOCl₂, или R¹N=C=NR, где R и R¹ независимо обозначают низшие алкильные группы. Примеры адъювантов, которые могут быть использованы, включают полный адъювант Фрейнда и адъювант MPL-TDM (монофосфорил-липид A, синтетический дикориномиколат трегалозы). Протокол иммунизации может быть выбран специалистом в данной области техники без чрезмерного экспериментирования.

[0267] Животных иммунизируют против желательного антигена, иммуногенных конъюгатов или производных путем скомбинирования, например, 100 мкг (для кроликов) или 5 мкг (для мышей) белка или конъюгата с 3 объемами полного адъюванта Фрейнда, и введения раствора внутрикожной инъекцией в нескольких местах. Через месяц животным делают бустерную инъекцию от 1/5 до 1/10 исходного количества пептида или конъюгата в полном адъюванте Фрейнда подкожной инъекцией в нескольких местах. Через семь-четырнадцать дней, у животных берут кровь и сыворотку анализируют на титр антитела. Животным делают бустерные инъекции до выхода значений титров на плато. Конъюгаты также может быть получены в рекомбинантных клеточных культурах как продукты слияния белков. Также, агрегирующие агенты, такие как квасцы, пригодны для усиления

иммунного ответа.

(2) *Моноклональные антитела*

[0268] Моноклональные антитела, такие как моноклональные анти-CD33 антитела, получают из популяции по существу гомогенных антител, т.е., индивидуальные антитела, составляющие популяцию, являются идентичными, за исключением возможных природных мутаций и/или посттрансляционных модификаций (например, изомеризации, амидирования), которые могут присутствовать в незначительных количествах. Таким образом, определение “моноклональный” указывает, что по своему характеру антитела не являются смесью отдельных антител.

[0269] Например, моноклональные анти-CD33 антитела могут быть получены с использованием гибридного способа, впервые описанного Kohler et al., *Nature*, 256:495 (1975), или могут быть получены методами рекомбинантных ДНК (патент США № 4816567).

[0270] В гибридном способе, мышь или другое пригодное животное-хозяин, такое как хомячок, иммунизируют, как описано выше, для индуцирования лимфоцитов, продуцирующих или способных продуцировать антитела, которые будут специфически связываться с белком, используемым для иммунизации (например, очищенным или рекомбинантным белком CD33 согласно настоящему раскрытию). Альтернативно, лимфоциты могут быть иммунизированы *in vitro*. Лимфоциты затем сливают с клетками миеломы с использованием пригодного агента, вызывающего слияние клеток, такого как полиэтиленгликоль, для получения гибридных клеток (Goding, *Monoclonal Antibodies: Principles and Practice*, pp.59–103 (Academic Press, 1986)).

[0271] Иммунизирующий агент обычно включает антигенный белок (например, очищенный или рекомбинантный белок CD33 согласно настоящему раскрытию) или его гибридный вариант. Как правило, используются лимфоциты периферической крови (“PBL”), если желательны клетки человеческого происхождения, в то время как селезенки или лимфатических узлов используются, если желательными источниками являются млекопитающие, не относящиеся к человеку. Лимфоциты затем сливают с иммортализованной клеточной линией с использованием пригодного агента, вызывающего слияние клеток, такого как полиэтиленгликоль, для получения гибридных клеток. Goding, *Monoclonal Antibodies: Principles and Practice*, Academic Press (1986), pp. 59–103.

[0272] Иммортализованные клеточные линии обычно представляют собой трансформированные клетки млекопитающих, в частности, клетки миеломы грызуна, быка или человека. Обычно, используются клеточные линии миеломы крысы или мыши. Клетки гибридомы, полученные таким образом, высевает и выращивают в пригодной культуральной среде, которая предпочтительно содержит одно или несколько веществ, ингибирующих рост или выживание не подвергнувшихся слиянию исходных клеток миеломы. Например, если исходные клетки миеломы не содержат фермента гипоксантин-гуанинфосфорибозилтрансферазы (HGPRT или HPRT), то культуральная среда для

гибридомы типично будут содержать гипоксантин, аминоптерин и тимидин (среда HAT), которые являются веществами, препятствующими росту HGPRT–дефицитных клеток.

[0273] Предпочтительными иммортализованными клетками миеломы являются клетки, которые эффективно участвуют в слиянии, поддерживают стабильные высокие уровни продуцирования антител выбранными антителопродуцирующими клетками, и являются чувствительными к среде, такой как среда HAT. Из них, предпочтительными являются линии миеломы мышей, такие как полученные из мышинных опухолей MOPC–21 и MPC–11 (поставляются Salk Institute Cell Distribution Center, San Diego, California USA), а также клетки SP–2 и их производные (например, X63–Ag8–653) (доступны из Амеериканской коллекции типовых культур (American Type Culture Collection, Manassas, Virginia USA). Также было описано продуцирование человеческих моноклональных антител клеточными линиями миеломы человека и гетеромиеломы мыши–человека (Kozbor, J. Immunol., 133:3001 (1984); Brodeur et al., Monoclonal Antibody Production Techniques and Applications, pp. 51–63 (Marcel Dekker, Inc., New York, 1987)).

[0274] Культуральную среду, в которой выращиваются клетки гибридомы, анализируют на продуцирование моноклональных антител, направленных против антигена (например, белка CD33 согласно настоящему раскрытию). Предпочтительно, специфичность связывания моноклональных антител, продуцируемых клетками гибридомы, определяют методом иммунопреципитации или *in vitro* анализа связывания, такого как радиоиммуноанализ (РИА) или иммуноферментный анализ (ИФА).

[0275] Культуральная среда, в которой культивируются клетки гибридомы, может быть проанализирована на присутствие моноклональных антител, направленных против желательного антигена (например, белка CD33 согласно настоящему раскрытию). Предпочтительно, аффинность связывания и специфичность моноклонального антитела могут быть определены методом иммунопреципитации или *in vitro* анализа связывания, такого как радиоиммуноанализ (РИА) или иммуноферментный анализ (ИФА). Такие методики и анализы известны специалистам. Например, аффинность связывания может быть определена с помощью анализа Скэтчарда, в соответствии с Munson et al., Anal. Biochem., 107:220 (1980).

[0276] После идентификации клеток гибридомы, которые продуцируют антитела желательной специфичности, аффинности и/или активности, клоны могут быть субклонированы с помощью процедуры лимитирующих разведений и выращены стандартными методами (Goding, *выше*). Пригодные культуральные среды для этой цели включают, например, среды D–MEM или RPMI–1640. Кроме того, клетки гибридомы могут быть выращены *in vivo* в виде опухоли у млекопитающего.

[0277] Моноклональные антитела, секретируемые субклонами, выделяют соответствующим образом из культуральной среды, асцитической жидкости или сыворотки обычными процедурами очистки иммуноглобулинов, такими как, например, хроматография на белке А–сефарозе, хроматография на гидроксипатите, гель–электрофорез, диализ, аффинная хроматография, и другие методы, описанные выше.

[0278] Анти-CD33 моноклональные антитела могут также быть получены методами рекомбинантных ДНК, такими как раскрытые в патенте США № 4816567, и как описано выше. ДНК, кодирующие моноклональные антитела, легко выделить и секвенировать с использованием обычных процедур (например, путем использования олигонуклеотидных зондов, которые специфически связываются с генами, кодирующими тяжелые и легкие цепи мышиных антител). Предпочтительно, источником такой ДНК служат клетки гибридомы. После выделения, ДНК могут быть помещены в экспрессионные векторы, которые затем трансфицируют в клетки-хозяева, такие как клетки *E. coli*, клетки COS обезьян, клетки яичника китайского хомячка (CHO), или клетки миеломы, которые иначе не продуцируют белок иммуноглобулина, для синтеза моноклональных антител в таких рекомбинантных клетках-хозяевах. Обзорные статьи о рекомбинантной экспрессии в бактериях ДНК, кодирующей антитела, включают Skerra et al., *Curr. Opin. Immunol.*, 5:256–262 (1993) и Plückthun, *Immunol. Rev.* 130:151–188 (1992).

[0279] В некоторых вариантах осуществления, анти-CD33 антитела могут быть выделены из фаговых библиотек антител, полученных с использованием методик, описанных в McCafferty et al., *Nature*, 348:552–554 (1990). Clackson et al., *Nature*, 352:624–628 (1991) и Marks et al., *J. Mol. Biol.*, 222:581–597 (1991), описывающих выделение мышиных и человеческих антител, соответственно, из фаговых библиотек. Последующие публикации описывают продуцирование высокоаффинных (наномолярного (“нМ”) диапазона) человеческих антител путем перетасовки цепи (Marks et al., *Bio/Technology*, 10:779–783 (1992)), а также комбинаторной инфекции и *in vivo* рекомбинации как стратегии конструирования очень больших фаговых библиотек (Waterhouse et al., *Nucl. Acids Res.*, 21:2265–2266 (1993)). Таким образом, эти методики являются реальными альтернативами традиционным гибридным методикам моноклональных антител для выделения моноклональных антител желательной специфичности (например, связывающих белок CD33 согласно настоящему раскрытию).

[0280] ДНК, кодирующая антитела или их фрагменты, может также быть модифицирована, например, путем замены гомологичных мышиных последовательностей на кодирующие последовательности константных доменов тяжелой и легкой цепей человека (патент США № 4816567; Morrison, et al., *Proc. Natl Acad. Sci. USA*, 81:6851 (1984)), или путем ковалентного присоединения к кодирующей последовательности иммуноглобулина всей или части кодирующей последовательности полипептида, не относящегося к иммуноглобулину. Типично, на такие не относящиеся к иммуноглобулину полипептиды заменяют константные домены антитела, или на них заменяют переменные домены одного антигенсвязывающего сайта антитела для создания химерного бивалентного антитела, содержащего один антигенсвязывающий сайт, обладающий специфичностью к антигену, и другой антигенсвязывающий сайт, обладающий специфичностью к другому антигену.

[0281] Моноклональные антитела, описанные в настоящем описании (например, анти-CD33 антитела согласно настоящему раскрытию или их фрагменты) могут быть

моновалентными, получение которых хорошо известно специалистам. Например, один способ предусматривает рекомбинантную экспрессию легкой цепи иммуноглобулина и модифицированной тяжелой цепи. Тяжелую цепь укорачивают, как правило, в любой точке Fc-участка, для предотвращения сшивания тяжелой цепи. Альтернативно, соответствующие остатки цистеина могут быть замещены другими аминокислотными остатками или делетированы для предотвращения сшивания. In vitro методы также пригодны для получения моновалентных антител. Гидролиз антител с целью получения их фрагментов, в частности, Fab-фрагментов, может быть проведен с использованием обычных методов, известных специалистам.

[0282] Химерные или гибридные анти-CD33 антитела также могут быть получены in vitro с использованием известных методов химического синтеза белков, включая методы, предусматривающие использование сшивающих агентов. Например, иммунотоксины могут быть сконструированы с использованием реакции дисульфидного обмена или путем образования тиоэфирной связи. Примеры пригодных для этого реагентов включают имиотиолат и метил-4-меркаптобутиримидат.

(3) Гуманизированные антитела

[0283] Анти-CD33 антитела согласно настоящему раскрытию или фрагменты антител могут дополнительно включать гуманизированные или человеческие антитела. Гуманизированные формы нечеловеческих (например, мышиных) антител представляют собой химерные иммуноглобулины, цепи иммуноглобулинов или их фрагменты (такие как Fab, Fab'-SH, Fv, scFv, F(ab')₂ или другие антигенсвязывающие субпоследовательности антител), которые содержат минимальную последовательность, полученную из нечеловеческого иммуноглобулина. Гуманизированные антитела включают человеческие иммуноглобулины (антитело-реципиент), в которых остатки из определяющего комплементарность участка (CDR) реципиента заменены на остатки из CDR вида, не являющегося человеком (донорское антитело), такого как мышь, крыса или кролик, имеющего желательные специфичность, аффинность и функциональные способности. В некоторых случаях, каркасные остатки Fv человеческого иммуноглобулина заменяют на соответствующие не принадлежащие человеку остатки. Гуманизированные антитела могут также содержать остатки, не присутствующие ни в антителе-реципиенте, ни в импортируемых последовательностях CDR или каркасного участка. В общем, гуманизированное антитело будет содержать по существу полностью по меньшей мере один, и типично два, вариабельных домена, в которых все или по существу все области CDR соответствуют нечеловеческому иммуноглобулину, и все или по существу все FR-участки представляют собой консенсусную последовательность человеческого иммуноглобулина. Гуманизированное антитело оптимально будет также содержать по меньшей мере часть константной области иммуноглобулина (Fc), типично, человеческого иммуноглобулина. Jones et al., Nature 321: 522-525 (1986); Riechmann et al., Nature 332: 323-329 (1988) и Presta, Curr. Opin. Struct. Biol. 2: 593-596 (1992).

[0284] Способы гуманизации нечеловеческих антител хорошо известны

специалистам. Как правило, гуманизированное антитело содержит один или более аминокислотных остатков, введенных в него из источника, не являющегося человеком. Эти нечеловеческие аминокислотные остатки часто называются “импортируемыми” остатками, которые типично взяты из “импортируемого” переменного домена. Гуманизация может быть проведена по существу в соответствии со способом Winter и сотр., Jones et al., *Nature* 321:522–525 (1986); Riechmann et al., *Nature* 332:323–327 (1988); Verhoeven et al., *Science* 239:1534–1536 (1988), или путем замены CDR или последовательностей CDR грызунов на соответствующие последовательности человеческого антитела. Соответственно, такие “гуманизированные” антитела представляют собой химерные антитела (патент США № 4816567), в которых по существу менее чем интактный переменный домен человека был замещен на соответствующую последовательность не являющегося человеком вида. На практике, гуманизированные антитела типично представляют собой человеческие антитела, в которых некоторые остатки CDR и, возможно, некоторые остатки FR заменены на остатки из аналогичных сайтов антител грызунов.

[0285] Выбор человеческих переменных доменов как легкой, так и тяжелой цепей, для использования при получении гуманизированных антител очень важен для снижения антигенности. По так называемому способу “наилучшего соответствия”, проводят скрининг последовательности переменного домена антитела грызуна по всей библиотеке известных человеческих последовательностей переменного домена. Человеческую последовательность, наиболее близкую к последовательности грызуна, затем принимают за человеческий каркас (FR) гуманизированного антитела. Sims et al., *J. Immunol.*, 151:2296 (1993); Chothia et al., *J. Mol. Biol.*, 196:901 (1987). Другой способ использует определенный каркас, полученный из консенсусной последовательности определенной подгруппы легких или тяжелых цепей всех человеческих антител. Один и тот же каркас может быть использован для нескольких разных гуманизированных антител. Carter et al., *Proc. Nat'l Acad. Sci. USA* 89:4285 (1992); Presta et al., *J. Immunol.* 151:2623 (1993).

[0286] Кроме того, важно, чтобы антитела гуманизировались с сохранением высокой аффинности к антигену и других полезных биологических свойств. Для достижения этой цели, в соответствии с предпочтительным способом, гуманизированные антитела получают путем проведения анализа исходных последовательностей и различных концептуальных гуманизированных продуктов с использованием трехмерных моделей исходной и гуманизированной последовательностей. Трехмерные модели иммуноглобулина являются общедоступными и известны специалистам в данной области техники. Доступны компьютерные программы, которые демонстрируют и отображают возможные трехмерные конформационные структуры выбранных иммуноглобулиновых последовательностей–кандидатов. Изучение этих изображений позволяет проводить анализ вероятной роли остатков в функционировании последовательности–кандидата иммуноглобулина, т.е., анализ остатков, влияющих на способность иммуноглобулина–

кандидата связываться с его антигеном. Таким образом, могут быть выбраны и скомбинированы остатки из FR реципиента и импортируемых последовательностей, обеспечивающие достижение желательных характеристик антитела, таких как повышенная аффинность к одному или нескольким антигенам–мишеням (например, белкам CD33 согласно настоящему раскрытию). В общем, остатки CDR непосредственно и наиболее существенно влияют на связывание антигена.

[0287] Рассматриваются различные формы гуманизированного анти-CD33 антитела. Например, гуманизированное анти-CD33 антитело может быть фрагментом антитела, таким как Fab, который необязательно конъюгирован с одним или несколькими цитотоксическими агентами с образованием иммуноконъюгата. Альтернативно, гуманизированное анти-CD33 антитело может быть интактным антителом, таким как интактное IgG1 антитело.

(4) Фрагменты антител

[0288] В некоторых вариантах осуществления предпочтительно использовать фрагменты анти-CD33 антител, а не цельные анти-CD33 антитела. Меньшие размеры фрагментов обеспечивают быстрый клиренс и лучшее проникновение в головной мозг.

[0289] Были разработаны различные методики для продуцирования фрагментов антител. Традиционно, такие фрагменты получали путем протеолитического гидролиза интактных антител (см., например, Morimoto et al., J. Biochem. Biophys. Method. 24:107–117 (1992); и Brennan et al., Science 229:81 (1985)). Однако в настоящее время такие фрагменты могут продуцироваться непосредственно рекомбинантными клетками–хозяевами, например, с использованием нуклеиновых кислот, кодирующих анти-CD33 антитела согласно настоящему раскрытию. Fab–, Fv– и scFv–фрагменты антител все могут экспрессироваться в, и секретироваться из, E. coli, тем самым обеспечивая возможность непосредственного продуцирования больших количеств этих фрагментов. Фрагменты анти-CD33 антител также могут быть выделены из фаговых библиотек антител, как описано выше. Альтернативно, Fab'–SH фрагменты могут быть выделены непосредственно из E. coli и подвергнуты химическому спариванию с образованием F(ab')₂–фрагментов (Carter et al., Bio/Technology 10:163–167 (1992)). В соответствии с другим подходом, F(ab')₂–фрагменты могут быть выделены непосредственно из культуры рекомбинантной клетки–хозяина. Продуцирование Fab– и F(ab')₂–фрагментов антител с повышенными периодами полувыведения in vivo описано в патенте США № 5869046. В других вариантах осуществления, антитело предпочтительно представляет собой одноцепочечный Fv–фрагмент (scFv). См. WO 93/16185; патент США № 5571894 и патент США № 5587458. Фрагмент анти-CD33 антитела может также быть “линейным антителом”, например, как описано в патенте США 5641870. Такие линейные фрагменты антител могут быть моноспецифическими или биспецифическими.

(5) Биспецифические и полиспецифические антитела

[0290] Биспецифические антитела (BsAb) представляют собой антитела, которые обладают специфичностью связывания с по меньшей мере двумя разными эпитопами,

включая расположенные на одном и том же или на другом белке (например, на одном или нескольких белках CD33 согласно настоящему раскрытию). Альтернативно, одна часть BsAb может быть предназначена для связывания с антигеном–мишенью CD33, и другая может быть связана с плечом, которое связывается со вторым белком. Такие антитела могут быть получены из полноразмерного антитела или фрагментов антител (например, $F(ab')_2$ –биспецифические антитела).

[0291] Способы получения биспецифических антител известны специалистам. Традиционное продуцирование полноразмерных биспецифических антител основано на совместной экспрессии двух пар тяжелая цепь/легкая цепь иммуноглобулина, при этом две цепи имеют разные специфичности. Millstein et al., *Nature*, 305:537–539 (1983). Из-за случайного характера распределения тяжелых и легких цепей иммуноглобулина, такие гибридомы (квадромы) продуцируют потенциально смесь 10 разных молекул антител, из которых только одна имеет правильную биспецифическую структуру. Очистка правильной молекулы, которая обычно осуществляется постадийно методом аффинной хроматографии, является довольно трудоемкой, с низким выходом продукта. Аналогичные процедуры раскрыты в WO 93/08829 и в Traunecker et al., *EMBO J.*, 10:3655–3659 (1991).

[0292] В соответствии с другим подходом, переменные домены антитела с желательными специфичностями связывания (сайты связывания антитело–антиген) сливают с последовательностями константного домена иммуноглобулина. Слияние предпочтительно осуществляют с константным доменом тяжелой цепи иммуноглобулина, содержащим по меньшей мере часть шарнирной, C_H2 – и C_H3 –областей. Предпочтительно, чтобы константная область первой тяжелой цепи (C_H1), содержащая сайт, необходимый для связывания легкой цепи, присутствовала в по меньшей мере одном из продуктов слияния. ДНК, кодирующие продукты слияния тяжелой цепи иммуноглобулина и, при необходимости, легкой цепи иммуноглобулина, вставляют в отдельные экспрессионные вектора, и подвергают совместной трансфекции в пригодный организм–хозяин. Это обеспечивает большую гибкость регулировки количественных соотношений трех полипептидных фрагментов в вариантах осуществления, в которых неравные количества трех полипептидных цепей, используемых конструкции, обеспечивают оптимальный выход. Однако, можно вставлять кодирующие последовательности двух или всех трех полипептидных цепей в один экспрессионный вектор, если экспрессия по меньшей мере двух полипептидных цепей в равных соотношениях приводит к высокому выходу, или если величина соотношений не имеет особого значения.

[0293] В предпочтительном варианте осуществления этого подхода, биспецифические антитела состоят из гибридной тяжелой цепи иммуноглобулина с первой специфичностью связывания в одном плече, и гибридной пары тяжелая цепь–легкая цепь иммуноглобулина (обеспечивающей вторую специфичность связывания) в другом плече. Было обнаружено, что такая асимметричная структура способствует

отделению желательного биспецифического соединения от нежелательных комбинаций цепей иммуноглобулина, поскольку присутствие легкой цепи иммуноглобулина только в половине биспецифических молекул обеспечивает легкий способ разделения. Этот подход раскрыт в WO 94/04690. Дополнительные подробности получения биспецифических антител, см., например, в Suresh et al., *Methods in Enzymology* 121: 210 (1986).

[0294] В соответствии с другим подходом, описанным в WO 96/27011 или патенте США № 5731168, поверхность раздела между парой молекул антитела может быть модифицирована для максимизации процентного содержания гетеродимеров, которые выделяют из рекомбинантной клеточной культуры. Предпочтительная поверхность раздела содержит по меньшей мере часть области C_H3 константного домена антитела. В этом способе, одну или более аминокислот с малыми боковыми цепями с поверхности раздела первой молекулы антитела заменяют на большие по размеру боковые цепи (например, тирозин или триптофан). Компенсаторные “полости”, идентичные или близкие по размеру к большой боковой цепи (цепям), создаются на поверхности раздела второй молекулы антитела путем замены больших боковых цепей аминокислот на малые (например, аланин или треонин). Это обеспечивает механизм увеличения выхода гетеродимера по сравнению с другими нежелательными конечными продуктами, такими как гомодимеры.

[0295] Методики получения биспецифического антитела из фрагментов антител были описаны в литературе. Например, биспецифические антитела могут быть получены с использованием химических связей. Brennan et al., *Science* 229:81 (1985) описывают процедуру, в которой интактные антитела протеолитически расщепляют для получения F(ab')₂-фрагментов. Эти фрагменты восстанавливают в присутствии дитиол-комплексообразующего агента арсенита натрия для стабилизации вицинальных дитиолов и предотвращения образования межмолекулярных дисульфидных связей. Полученные Fab'-фрагменты затем конвертировали в производные тионитробензоата (TNB). Одно из производных Fab'-TNB затем повторно конвертировали в производное Fab'-TNB для получения биспецифического антитела. Полученные биспецифические антитела могут быть использованы в качестве агентов для селективной иммобилизации ферментов.

[0296] Фрагменты Fab' могут быть выделены непосредственно из *E. coli* и химически связаны с образованием биспецифических антител. Shalaby et al., *J. Exp. Med.* 175: 217–225 (1992) описывает продуцирование молекул полностью гуманизированного биспецифического антитела F(ab')₂. Каждый Fab'-фрагмент отдельно секретируют из *E. coli* и подвергают направленному химическому сочетанию *in vitro* с образованием биспецифического антитела. Биспецифическое антитело, полученное таким образом, было способно связываться с клетками, сверхэкспрессирующими рецептор ErbB2, и нормальными человеческими Т-клетками, а также инициировать литическую активность человеческих цитотоксических лимфоцитов против мишеней человеческой опухоли молочной железы.

[0297] Также были описаны различные методики получения и выделения

бивалентных фрагментов антител непосредственно из рекомбинантных клеточных культур. Например, бивалентные гетеродимеры были получены с использованием лейциновых "молний". Kostelny et al., *J. Immunol.*, 148(5):1547–1553 (1992). Пептиды лейциновой "молнии" из белков Fos и Jun связывали с участками Fab' двух разных антител путем слияния генов. Гомодимеры антитела восстанавливали в шарнирной области с образованием мономеров и затем повторно окисляли для получения гетеродимеров антитела. Технология "диатела", описанная Hollinger et al., *Proc. Nat'l Acad. Sci. USA*, 90: 6444–6448 (1993), обеспечивает альтернативный механизм получения биспецифических/бивалентных фрагментов антител. Фрагменты содержат вариабельный домен тяжелой цепи (V_H), соединенный с вариабельным доменом легкой цепи (V_L) с помощью линкера, слишком короткого для обеспечения возможности спаривания между двумя доменами в одной и той же цепи. Соответственно, домены V_H и V_L одного фрагмента вынуждены спариваться с комплементарными доменами V_L и V_H другого фрагмента, тем самым образуя два антигенсвязывающих сайта. Была также описана другая стратегия получения биспецифических/бивалентных фрагментов антител с использованием димеров одноцепочечных Fv (sFv). См. Gruber et al., *J. Immunol.*, 152:5368 (1994).

[0298] Также рассматриваются антитела с более чем двумя валентностями. Например, могут быть получены триспецифические антитела. Tutt et al., *J. Immunol.* 147:60 (1991).

[0299] Типичные примеры биспецифических антител могут связываться с двумя разными эпитопами данной молекулы (например, белка CD33 согласно настоящему раскрытию). Альтернативно, плечо, нацеленное на сигнальный компонент CD33, может быть скомбинировано с плечом, которое связывается с иницирующей молекулой лейкоцита, такой как молекула T-клеточного рецептора (например, CD2, CD3, CD28 или B7), или Fc-рецепторами IgG (FcγR), такими как FcγRI (CD64), FcγRII (CD32) и FcγRIII (CD16), для того, чтобы сфокусировать клеточные защитные механизмы на клетке, экспрессирующей определенный белок. Биспецифические антитела также могут быть использованы для локализации цитотоксических агентов в клетках, которые экспрессируют конкретный белок. Такие антитела обладают белок-связывающим плечом и плечом, которое связывает цитотоксический агент или хелатор радионуклида, такой как EOTUBE, DPTA, DOTA или TETA. Другое биспецифическое антитело, представляющее интерес, связывает белок, представляющий интерес, и дополнительно связывает тканевый фактор (TF).

(6) Поливалентные антитела

[0300] Поливалентное антитело может быть интернализовано (и/или катаболизировано) клеткой, экспрессирующей антиген, с которым связываются антитела, быстрее, чем бивалентное антитело. Анти-CD33 антитела согласно настоящему раскрытию или фрагменты таких антител могут быть поливалентными антителами (отличными от класса IgM) с тремя или больше антигенсвязывающими сайтами

(например, тетравалентные антитела), которые могут быть легко получены рекомбинантной экспрессией нуклеиновой кислоты, кодирующей полипептидные цепи антитела. Поливалентное антитело может содержать домен димеризации и три или больше антигенсвязывающих сайта. Предпочтительный домен димеризации содержит Fc-участок или шарнирную область. В этом сценарии, антитело будет содержать Fc-участок и три или больше антигенсвязывающих сайта, расположенных со стороны аминоконца от Fc-участка. Предпочтительное поливалентное антитело в настоящем описании содержит от трех до приблизительно восьми, но предпочтительно четыре антигенсвязывающих сайта. Поливалентное антитело содержит по меньшей мере одну полипептидную цепь (и предпочтительно – две полипептидные цепи), при этом полипептидная цепь или цепи содержат два или больше переменных доменов. Например, полипептидная цепь или цепи могут содержать $VD1-(X1)_n-VD2-(X2)_n-Fc$, где $VD1$ представляет собой первый переменный домен, $VD2$ представляет собой второй переменный домен, Fc представляет собой одну полипептидную цепь Fc-участка, $X1$ и $X2$ представляют собой аминокислоту или полипептид, и n равен 0 или 1. Аналогично, полипептидная цепь или цепи могут содержать цепь V_H-C_H1 -гибкий линкер- V_H-C_H1-Fc -участок; или цепь $V_H-C_H1-V_H-C_H1-Fc$ -участок. Поливалентное антитело в настоящем описании предпочтительно дополнительно содержит по меньшей мере два (и предпочтительно четыре) полипептида переменного домена легкой цепи. Поливалентное антитело в настоящем описании может, например, содержать от приблизительно двух до приблизительно восьми полипептиды переменных доменов легкой цепи. Полипептиды переменных доменов легкой цепи, предусматриваемые в настоящем описании, содержат переменный домен легкой цепи и, необязательно, дополнительно содержат CL-домен. Поливалентные антитела могут распознавать CD33 антиген, а также, без ограничений, дополнительные антигены, такие как антиген А-бета пептида, или антиген белка альфа-синуклеина (synuclain), или антиген тау-белка, или антиген белка TDP-43, или антиген прионного белка, или антиген белка хантингтина, или антиген продуктов трансляции RAN, включая дипептидные повторы (пептиды DPR), состоящие из глицина-аланина (GA), глицина-пролина (GP), глицина-аргинина (GR), пролина-аланина (PA) или пролина-аргинина (PR), рецептор инсулина, рецептор инсулиноподобного фактора роста, рецептор трансферрина, или любой другой антиген, который способствует перемещению антитела через гематоэнцефалический барьер.

(7) Гетероконъюгированные антитела

[0301] Гетероконъюгированные антитела также входят в объем настоящего раскрытия. Гетероконъюгированные антитела состоят из двух ковалентно связанных антител (например, анти-CD33 антител согласно настоящему раскрытию или фрагментов таких антител). Например, одно антитело гетероконъюгата может быть связано с авидином, а другое с биотином. Такие антитела были, например, предложены для нацеливания клеток иммунной системы на нежелательные клетки, патент США № 4676980, и использовались для лечения инфекции ВИЧ. Международные публикации №№

WO 91/00360, WO 92/200373 и EP 0308936. Предусматривается, что антитела могут быть получены *in vitro* с использованием известных методов химического синтеза белков, включая связанные с использованием сшивающих агентов. Например, иммунотоксины могут быть сконструированы с использованием реакции дисульфидного обмена или путем образования тиоэфирной связи. Примеры пригодных для этого реагентов включают иминотиолат и метил-4-меркаптобутиримидат, и раскрыты, например, в патенте США № 4676980. Гетероконъюгированные антитела могут быть получены с использованием любых пригодных способов сшивания. Пригодные сшивающие агенты хорошо известны специалистам и раскрыты в патенте США № 4676980, вместе с рядом методик перекрестного сшивания.

(8) Модифицирование эффекторной функции

[0302] Также может быть желательным модифицировать анти-CD33 антитело согласно настоящему раскрытию для модификации эффекторной функции и/или для увеличения периода полувыведения антитела из сыворотки. Например, связывающий сайт Fc-рецептора в константной области может быть модифицирован или мутирован для устранения или уменьшения аффинности связывания с определенными Fc-рецепторами, такими как FcγRI, FcγRII, и/или FcγRIII. В некоторых вариантах осуществления, эффекторную функцию нарушают путем удаления N-гликозилирования Fc-участка (например, в домене CH2 IgG) антитела. В некоторых вариантах осуществления, эффекторную функцию нарушают путем модификации таких областей человеческого IgG, как 233–236, 297, и/или 327–331, как описано в PCT WO 99/58572 и Armour et al., Molecular Immunology 40: 585–593 (2003); Reddy et al., J. Immunology 164:1925–1933 (2000).

[0303] Для увеличения периода полувыведения антител из сыворотки можно включить в антитело (особенно, фрагмент антитела) эпитоп связывания рецептора реутилизации, как описано, например, в патенте США 5739277. В используемом в настоящем описании значении, термин “*эпитоп связывания рецептора реутилизации*” относится к эпитопу Fc-участка молекулы IgG (например, IgG₁, IgG₂, IgG₃, или IgG₄) ответственному за увеличение *in vivo* периода полувыведения из сыворотки молекулы IgG.

(9) Другие модификации аминокислотной последовательности

[0304] Также рассматриваются модификации аминокислотной последовательности анти-CD33 антител согласно настоящему раскрытию, или фрагментов таких антител. Например, может быть желательным улучшить аффинность связывания и/или другие биологические свойства антител или фрагментов антител. Варианты аминокислотных последовательностей антител или фрагментов антител получают путем введения пригодных нуклеотидных изменений в нуклеиновую кислоту, кодирующую антитела или фрагменты антител, или путем пептидного синтеза. Такие модификации включают, например, делеции из, и/или инсерции в, и/или замены, остатков в аминокислотных последовательностях антител. Проводится любая комбинация делеций, инсерций и замен

для получения готового конструктора, при условии, что готовый конструктор обладает желательными характеристиками (т.е., способностью связывать или физически взаимодействовать с белком CD33 согласно настоящему раскрытию). Аминокислотные изменения также могут изменять посттрансляционные процессы антител, такие как изменения числа и положения сайтов гликозилирования.

[0305] Полезный способ идентификации определенных остатков или областей анти-CD33 антитела, которые являются предпочтительными участками мутагенеза, называется “аланин-сканирующий мутагенез”, как описано Cunningham and Wells в *Science*, 244:1081–1085 (1989). В этом случае идентифицируют остаток или группу остатков-мишеней (например, заряженные остатки, такие как arg, asp, his, lys, и glu) и заменяют на нейтральную или отрицательно заряженную аминокислоту (наиболее предпочтительно – аланин или полиаланин) с целью влияния на взаимодействие аминокислоты с антигеном-мишенью. Положения аминокислот, демонстрирующие функциональную чувствительность к заменам, затем уточняют путем введения дополнительных или других вариантов в, или вместо, сайтов замены. Таким образом, хотя сайт введения варианта аминокислотной последовательности определен заранее, характер мутации *per se* не обязательно является предопределенным. Например, для анализа результата мутации в данном сайте, проводят аланин-сканирующий или неспецифический мутагенез целевого кодона или области и экспрессируемые варианты антитела подвергают скринингу на желательную активность.

[0306] Инсерции в аминокислотную последовательность включают аминокислоты (“N”) и/или карбокси- (“C”) концевые слияния, колеблющиеся по длине от одного остатка до полипептидов, содержащих сто или более остатков, а также внутрицепочечные инсерции одного или множества аминокислотных остатков. Примеры терминальных инсерций включают антитело с N-концевым метионильным остатком или антитело, слитое с цитотоксическим полипептидом. Другие инсерционные варианты молекулы антитела включают слияние N- или C-конца антитела с ферментом или полипептидом, которые увеличивают период полувыведения антител сыворотки.

[0307] Другой тип варианта представляет собой вариант аминокислотной замены. Такие варианты имеют в молекуле антитела замену по меньшей мере одного аминокислотного остатка на другой остаток. Сайты, представляющие наибольший интерес для замещающего мутагенеза, включают гипервариабельные участки, но предусматриваются также изменения FR. Консервативные замены приведены в **Таблице D** ниже под заголовком “предпочтительные замены”. Если такие замены приводят к изменению биологической активности, то могут быть введены более значительные замены, названные в **Таблице D** “типичные примеры замен”, или дополнительно описанные ниже со ссылкой на классы аминокислот, и проведен скрининг продуктов.

Таблица D: Аминокислотные замены

Исходный остаток	Типичные примеры замен	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; норлейцин	leu
Leu (L)	норлейцин; ile; val; met; ala; phe	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; норлейцин	leu

[0308] Значительные модификации биологических свойств антитела осуществляются путем выбора замен, значительно отличающихся по своему влиянию на поддержание (а) структуры полипептидного скелета на участке замены, например, с конформацией листа или спирали, (b) заряда или гидрофобности молекулы в сайте-мишени, или (с) объема боковой цепи. Природные остатки делятся на группы по общим свойствам боковых цепей:

- (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, влияющие на ориентацию цепи: gly, pro; и
- (6) ароматические: trp, tyr, phe.

[0309] Неконсервативные замены связаны с заменой члена одного из этих классов на другой класс.

[0310] Любой остаток цистеина, не участвующий в поддержании надлежащей конформации антитела, также может быть замещен, как правило, на серин, для улучшения окислительной стабильности молекулы и предотвращения аберрантного сшивания. Наоборот, цистеиновая связь (связи) могут быть добавлены в антитело для повышения его стабильности (в частности, в случаях, когда антитело представляет собой фрагмент антитела, такой как Fv-фрагмент).

[0311] Особенно предпочтительный тип варианта с заменами включает замену одного или нескольких остатков гипервариабельного участка исходного антитела

(например, гуманизированного или человеческого анти-CD33 антитела). Как правило, полученный вариант(ы), выбранный для дальнейшей разработки, будет иметь улучшенные биологические свойства по сравнению с исходным антителом, из которого его получают. Удобный способ получения таких замещенных вариантов включает созревание аффинности с использованием фагового дисплея. Вкратце, несколько сайтов гипервариабельного участка (например, 6–7 сайтов) мутируют для получения всех возможных аминокислотных (amino) замен в каждом сайте. Полученные таким образом варианты антитела выставляют моновалентно на нитчатых фаговых частицах в виде гибридов с продуктом гена *III M13*, упакованным внутри каждой частицы. Выставленные на фаговом дисплее варианты затем подвергают скринингу на их биологическую активность (например, аффинность связывания), как раскрыто в настоящем описании. Для идентификации сайтов-кандидатов гипервариабельного участка для проведения модификации, может быть проведен аланин-сканирующий мутагенез с целью определения остатков гипервариабельного участка, вносящих существенный вклад в связывание антигена. Альтернативно, или дополнительно, может быть полезно проанализировать кристаллическую структуру комплекса антиген-антитело для определения точек контакта антитела и антигена (например, белка CD33 согласно настоящему раскрытию). Такие контактные остатки и соседние остатки являются кандидатами для замены в соответствии с методиками, разработанными в настоящем описании. После получения таких вариантов, панель вариантов подвергают скринингу, как описано в настоящем описании, и антитела с улучшенными свойствами, определенными одним или несколькими соответствующими анализами, могут быть выбраны для последующей разработки. Созревание аффинности может также проводиться путем использования технологии презентации дрожжами, такой как раскрытая, например, в WO2009/036379A2; WO2010105256; WO2012009568; и Xu et al., *Protein Eng. Des. Sel.*, 26(10): 663–70 (2013).

[0312] Другой тип аминокислотного варианта антитела изменяет исходный характер гликозилирования антитела. Под изменением подразумевается делетирование одного или нескольких углеводных фрагментов, присутствующих в антителе, и/или добавление одного или нескольких сайтов гликозилирования, отсутствующих в антителе.

[0313] Гликозилирование антител обычно является N-связанным или O-связанным. N-связанное относится к присоединению углеводного фрагмента к боковой цепи остатка аспарагина. Трипептидные последовательности аспарагин-X-серин и аспарагин-X-треонин, где X представляет собой любую аминокислоту, за исключением пролина, являются распознающими последовательностями для ферментативного присоединения углеводного фрагмента 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 (acetyl galactosamine), галактозы или ксилозы к гидроксикаминокислоте, чаще всего серину или треонину, хотя также могут

быть использованы 5–гидроксипролин или 5–гидроксилизин.

[0314] Добавление сайтов гликозилирования в антитело удобно осуществлять путем изменения аминокислотной последовательности таким образом, чтобы она содержала одну или более вышеописанных трипептидных последовательностей (для N–связанных сайтов гликозилирования). Изменения могут также быть выполнены путем добавления, или замены, одного или нескольких остатков серина или треонина к последовательности исходного антитела (для O–связанных сайтов гликозилирования).

[0315] Молекулы нуклеиновой кислоты, кодирующие варианты аминокислотных последовательностей анти–IgE антитела, получают различными способами, известными специалистам. Эти способы включают, без ограничений, выделение из природного источника (в случае природных вариантов аминокислотных последовательностей) или получение путем олигонуклеотид–опосредованного (или сайт–специфического) мутагенеза, ПЦР–мутагенеза и кассетного мутагенеза ранее полученного варианта или инвариантной версии антител (например, анти–CD33 антител согласно настоящему раскрытию) или фрагментов антител.

(10) Конъюгаты антител

[0316] Анти–CD33 антитела согласно настоящему раскрытию, или фрагменты таких антител, могут быть конъюгированы с детектируемым маркером, токсином или терапевтическим агентом. Может быть использован любой известный специалистам пригодный способ конъюгирования молекул, таких как детектируемый маркер, токсин или терапевтический агент, с антителами.

[0317] Например, конъюгация с лекарственным средством включает сочетание биологически активной цитотоксической (противораковой) полезной нагрузки или лекарственного средства с антителом, которое специфически нацелено на определенный опухолевый маркер (например, белок, который, идеально, присутствует только в или на опухолевых клетках). Антитела находят эти белки в организме и присоединяются к поверхности раковых клеток. Биохимическая реакция между антителом и белком–мишенью (антигеном) инициирует сигнал в опухолевой клетке, которая затем поглощает или интернализирует антитело вместе с цитотоксином. После интернализации ADC (конъюгат антитело–лекарственное средство), цитотоксическое лекарственное средство высвобождается и уничтожает рак. Благодаря такому нацеливанию лекарственное средство, идеально, имеет более низкие побочные эффекты и создает более широкое терапевтическое окно, чем другие химиотерапевтические агенты. Технические основы конъюгации антител раскрыты и известны специалистам (см., например, Jane de Lartigue, OncLive July 5, 2012; ADC Review on antibody–drug conjugates; и Ducry et al., (2010). Bioconjugate Chemistry 21 (1): 5–13).

[0318] В некоторых вариантах осуществления, анти–CD33 антитело согласно настоящему раскрытию может быть конъюгировано с токсином, выбранным из рицина, Ацепи рицина, доксорубина, даунорубина, майтанзиноида, таксола, этидия бромида, митомицина, этопозиды, тенопозиды, винкристины, винбластина, колхицина,

дигидроксиантрациндина, актиномицина, дифтерийного токсина, экзотоксина *Pseudomonas* (PE) A, PE40, абрина, А-цепи абрина, А-цепи модецина, альфасарцина, гелонина, митогеллина, рестриктоцина (*retstrictocin*), феномицина, эномицина, курицина, кротина, калихеамицина, ингибитора *Saponaria officinalis*, глюкокортикоида, ауристатина, аурамицина, иттрия, висмута, комбрестатина, дуокармицинов, доластатина, cc1065, и цисплатина.

(11) Другие модификации антител

[0319] Анти-CD33 антитела согласно настоящему раскрытию, или фрагменты таких антител, могут быть дополнительно модифицированы таким образом, чтобы они содержали небелковые фрагменты, известные специалистам и являющиеся легкодоступными. Предпочтительно, фрагменты, пригодные для дериватизации антител, представляют собой водорастворимые полимеры. Неограничивающие примеры водорастворимых полимеров включают, без ограничений, полиэтиленгликоль (ПЭГ), сополимеры этиленгликоля/пропиленгликоля, карбоксиметилцеллюлозу, декстран, поливиниловый спирт, поливинилпирролидон, поли-1,3-диоксолан, поли-1,3,6-триоксан, сополимер этилена/малеинового ангидрида, полиаминокислоты (гомополимеры или статистические сополимеры), и декстран или поли(н-винилпирролидон)полиэтиленгликоль, гомополимеры полипропиленгликоля, сополимеры полипропиленоксида/этиленоксида, полиоксиэтилированные полиолы (например, глицерин), поливиниловый спирт, и их смеси. Полиэтиленгликоль-пропионовый альдегид может обладать преимуществом в производстве благодаря своей стабильности в воде. Полимер может иметь любой молекулярный вес, и может быть разветвленным или неразветвленным. Число полимеров, присоединенных к антителу, может меняться, и в случае присоединения более чем одного полимера, они могут быть одинаковыми или разными молекулами. В общем, число и/или тип полимеров, используемых для дериватизации, может быть определено, исходя из соображений, включающих, без ограничений, конкретные свойства или функции антитела, которые должны быть улучшены, предполагаемое использование производного антитела в терапии в определенных условиях и т.д. Такие методики и другие пригодные рецептуры раскрыты в Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 20th Ed., Alfonso Gennaro, Ed., Philadelphia College of Pharmacy and Science (2000).

Анализы связывания и другие анализы

[0320] Анти-CD33 антитела согласно настоящему раскрытию могут быть протестированы на антигенсвязывающую активность, например, известными способами, такими как ИФА, поверхностный плазмонный резонанс (SPR), вестерн-блоттинг и т.д.

[0321] В некоторых вариантах осуществления, конкурентные анализы могут быть использованы для идентификации антитела, которое конкурирует с любым из антител, описанных в настоящем описании. В некоторых вариантах осуществления, конкурентные анализы могут быть использованы для идентификации антитела, которое конкурирует с любым из антител, перечисленных в Таблицах 3А-3С, 4А-34, 5А-5D, 6А-6D, 7 и 8, или

выбранных из АВ-14.1, АВ-14.2, АВ-14.3, АВ-14.4, АВ-14.5, АВ-14.6, АВ-14.7, АВ-14.8, АВ-14.9, АВ-14.10, АВ-14.11, АВ-63.4, АВ-63.5, АВ-63.6, АВ-63.7, АВ-63.8, АВ-63.9, АВ-63.10, АВ-63.11, АВ-63.12, АВ-63.13, АВ-63.14, АВ-63.15, АВ-63.16, АВ-63.17, АВ-63.18, АВ-64.1, АВ-64.2, АВ-64.3, АВ-64.4, АВ-64.5, АВ-64.6, АВ-64.7, АВ-64.8, АВ-64.1.1, АВ-64.1.2, АВ-64.1.3, АВ-64.1.4, АВ-64.1.5, АВ-64.1.6, АВ-64.1.7, АВ-64.1.8, АВ-64.1.9, АВ-64.1.10, АВ-64.1.11, АВ-64.1.12, АВ-64.1.13, АВ-64.1.14, АВ-64.1.15, АВ-Н2, АВ-Н9, АВ-Н14, АВ-Н15, АВ-Н63, АВ-Н64, АВ-Н65, или АВ-Н66, за связывание с CD33. В некоторых вариантах осуществления, такое конкурирующее антитело связывается с тем же эпитопом (например, линейным или конформационным эпитопом), который связывается любым из антител, перечисленных в **Таблицах 3А–3С, 4А–4С, 5А–5D, 6А–6D, 7 и 8**, или выбранных из АВ-14.1, АВ-14.2, АВ-14.3, АВ-14.4, АВ-14.5, АВ-14.6, АВ-14.7, АВ-14.8, АВ-14.9, АВ-14.10, АВ-14.11, АВ-63.4, АВ-63.5, АВ-63.6, АВ-63.7, АВ-63.8, АВ-63.9, АВ-63.10, АВ-63.11, АВ-63.12, АВ-63.13, АВ-63.14, АВ-63.15, АВ-63.16, АВ-63.17, АВ-63.18, АВ-64.1, АВ-64.2, АВ-64.3, АВ-64.4, АВ-64.5, АВ-64.6, АВ-64.7, АВ-64.8, АВ-64.1.1, АВ-64.1.2, АВ-64.1.3, АВ-64.1.4, АВ-64.1.5, АВ-64.1.6, АВ-64.1.7, АВ-64.1.8, АВ-64.1.9, АВ-64.1.10, АВ-64.1.11, АВ-64.1.12, АВ-64.1.13, АВ-64.1.14, АВ-64.1.15, АВ-Н2, АВ-Н9, АВ-Н14, АВ-Н15, АВ-Н63, АВ-Н64, АВ-Н65, или АВ-Н66. Подробное описание типичных методов картирования эпитопа, с которым связывается антитело, приведено Morris (1996) “Epitope Mapping Protocols”, в Methods in Molecular Biology vol. 66 (Humana Press, Totowa, NJ).

[0322] В типичном примере конкурентного анализа, иммобилизованный CD33 или клетки, экспрессирующие CD33 на поверхности клетки, инкубируют в растворе, содержащем первое меченое антитело, которое связывается с CD33 (например, человеческое или принадлежащее не являющимся человеком примату), и второе немеченое антитело, которое тестируют на его способность конкурировать с первым антителом за связывание с CD33. Второе антитело может присутствовать в супернатанте гибридомы. В качестве контроля, иммобилизованный CD33 или клетки, экспрессирующие CD33, инкубируют в растворе, содержащем первое меченое антитело, но не второе немеченое антитело. После инкубации в условиях, пермиссивных для связывания первого антитела с CD33, удаляют избыток несвязанного антитела и измеряют количество метки, связанной с иммобилизованным CD33 или клетками, экспрессирующими CD33. Если количество метки, связанной с иммобилизованным CD33 или клетками, экспрессирующими CD33, существенно снижено в тестируемом образце по сравнению с контрольным образцом, то это указывает, что второе антитело конкурирует с первым антителом за связывание с CD33. См., Harlow and Lane (1988) Antibodies: A Laboratory Manual ch.14 (Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, NY).

Нуклеиновые кислоты, векторы и клетки-хозяева

[0323] Анти-CD33 антитела согласно настоящему раскрытию могут быть получены с использованием рекомбинантных методов и композиций, например, как описано в патенте США № 4816567. В некоторых вариантах осуществления,

предусматриваются выделенные нуклеиновые кислоты, имеющие нуклеотидную последовательность, кодирующую любое из анти-CD33 антител согласно настоящему раскрытию. Такие нуклеиновые кислоты могут кодировать аминокислотную последовательность, содержащую VL, и/или аминокислотную последовательность, содержащую VH анти-CD33 антитела (например, легкую и/или тяжелую цепи антитела). В некоторых вариантах осуществления, предусматриваются один или более векторов (например, экспрессионных векторов), содержащих такие нуклеиновые кислоты. В некоторых вариантах осуществления, также предусматривается клетка-хозяин, содержащая такую нуклеиновую кислоту. В некоторых вариантах осуществления, клетка-хозяин содержит (например, была трансдуцирована): (1) вектор, содержащий нуклеиновую кислоту, которая кодирует аминокислотную последовательность, содержащую VL антитела, и аминокислотную последовательность, содержащую VH антитела, или (2) первый вектор, содержащий нуклеиновую кислоту, которая кодирует аминокислотную последовательность, содержащую VL антитела, и второй вектор, содержащий нуклеиновую кислоту, которая кодирует аминокислотную последовательность, содержащую VH антитела. В некоторых вариантах осуществления, клетка-хозяин является эукариотической, например, клеткой яичника китайского хомячка (CHO) или лимфоидной клеткой (например, клеткой Y0, NS0, Sp20).

[0324] Изобретение относится к способам получения анти-CD33 антитела согласно настоящему раскрытию. В некоторых вариантах осуществления, способ включает культивирование клетки-хозяина согласно настоящему раскрытию, содержащей нуклеиновую кислоту, кодирующую анти-CD33 антитело, в условиях, пригодных для экспрессии антитела. В некоторых вариантах осуществления, антитело затем выделяют из клетки-хозяина (или культуральной среды клетки-хозяина).

[0325] Для рекомбинантного продуцирования анти-CD33 антитела согласно настоящему раскрытию, нуклеиновую кислоту, кодирующую анти-CD33 антитело, выделяют и вставляют в один или более векторов для дальнейшего клонирования и/или экспрессии в клетке-хозяине. Такие нуклеиновые кислоты могут быть легко выделены и секвенированы с использованием обычных процедур (например, путем использования олигонуклеотидных зондов, способных к специфическому связыванию с генами, кодирующими тяжелую и легкую цепи антитела).

[0326] Пригодные векторы, содержащие последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующую любые из анти-CD33 антител согласно настоящему раскрытию, или фрагменты их полипептидов (fragments thereof polypeptides) (включая антитела), описанные в настоящем описании, включают, без ограничений, клонирующие векторы и экспрессионные векторы. Пригодные клонирующие векторы могут быть сконструированы в соответствии со стандартными методиками, или могут быть выбраны из большого числа клонирующих векторов, известных из уровня техники. Хотя выбранный клонирующий вектор может меняться в зависимости от клетки-хозяина, предназначенной для использования, пригодные клонирующие векторы, как правило, обладают способностью к

саморепликации, могут иметь одну мишень для конкретной эндонуклеазы рестрикции, и/или могут нести гены маркера, который может быть использован при выборе клонов, содержащих вектор. Пригодные примеры включают плазмиды и бактериальные вирусы, например, pUC18, pUC19, Bluescript (например, pBS SK+) и его производные, mp18, mp19, pBR322, pMB9, ColE1, pCR1, RP4, фаговые ДНК, и челночные векторы, такие как pSA3 и pAT28. Эти и многие другие клонирующие векторы доступны от коммерческих поставщиков, таких как BioRad, Strategene и Invitrogen.

[0327] Экспрессионные векторы, как правило, представляют собой реплицируемые полинуклеотидные конструкторы, которые содержат нуклеиновую кислоту согласно настоящему раскрытию. Экспрессионный вектор может реплицироваться в клетках-хозяевах в виде эписом или как интегральная часть хромосомальной ДНК. Пригодные экспрессионные векторы включают, без ограничений, плазмиды, вирусные векторы, включая аденовирусы, аденоассоциированные вирусы, ретровирусы, космиды, и экспрессионный вектор (векторы), раскрытые в публикации РСТ № WO 87/04462. Компоненты векторов могут, как правило, включать, без ограничений, что-то одно или несколько из следующих: сигнальную последовательность; точку начала репликации; один или более маркерных генов; пригодные контрольные элементы транскрипции (такие как промоторы, энхансеры и терминатор). Для экспрессии (т.е., трансляции) также обычно требуется один или более контрольных элементов трансляции, таких как сайты связывания рибосом, сайты инициации трансляции, и стоп-кодона.

[0328] Векторы, содержащие нуклеиновые кислоты, представляющие интерес, могут быть введены в клетку-хозяина с помощью любых из ряда пригодных средств, включая электропорацию, трансфекцию с использованием хлорида кальция, хлорида рубидия, фосфата кальция, DEAE-декстрана, или других веществ; бомбардировку микрочастицами; липофекцию; и инфекцию (например, в случаях, когда вектор представляет собой инфекционный агент, такой как вирус осповакцины). Выбор используемых для введения векторов или полинуклеотидов будет часто зависеть от особенностей клетки-хозяина. В некоторых вариантах осуществления, вектор содержит нуклеиновую кислоту, содержащую одну или более аминокислотных последовательностей, кодирующих анти-CD33 антитело согласно настоящему раскрытию.

[0329] Пригодные клетки-хозяева для клонирования или экспрессии кодирующих антитело векторов включают прокариотические или эукариотические клетки. Например, анти-CD33 антитела согласно настоящему раскрытию могут продуцироваться в бактериях, в частности, когда гликозилирование и эффекторная функция Fc не требуются. Для экспрессии фрагментов антител и полипептидов в бактериях (например, патенты США №№ 5648237, 5789199 и 5840523; и Charlton, *Methods in Molecular Biology*, Vol. 248 (B.K.C. Lo, ed., Humana Press, Totowa, NJ, 2003), pp. 245–254, описывающие экспрессию фрагментов антител в *E. coli*). После экспрессии, антитело может быть выделено из пасты бактериальных клеток в растворимой фракции и может быть дополнительно очищено.

[0330] В дополнение к прокариотам, эукариотические микроорганизмы, такие как нитчатые грибы или дрожжи, также являются пригодными хозяевами для клонирования или экспрессии кодирующих антитело векторов, включая штаммы грибов и дрожжей с “гуманизированными” путями гликозилирования, приводящими к продуцированию антитела с частично или полностью человеческим характером гликозилирования (например, Gerngross, Nat. Biotech. 22:1409–1414 (2004); и Li et al., Nat. Biotech. 24:210–215 (2006)).

[0331] Пригодные клетки–хозяева для экспрессии гликозилированного антитела также могут быть получены из многоклеточных организмов (беспозвоночных и позвоночных). Примеры клеток беспозвоночных включают клетки растений и насекомых. Были идентифицированы многочисленные бакуловирусные штаммы, которые могут быть использованы в сочетании с клетками насекомых, в частности, для трансфекции клеток *Spodoptera frugiperda*. Растительные клеточные культуры также могут быть использованы в качестве хозяев (например, патенты США №№ 5959177, 6040498, 6420548, 7125978 и 6417429, описывающие технологию PLANTIBODIES™ продуцирования антител в трансгенных растениях).

[0332] Клетки позвоночных также могут быть использованы в качестве хозяев. Например, могут быть пригодны клеточные линии млекопитающих, адаптированные для выращивания в суспензии. Другими примерами пригодных линий клеток–хозяев млекопитающих являются линия почек обезьян CV1, трансформированная SV40 (COS–7); линия почек человеческого эмбриона (293 или клетки 293, как описано, например, в Graham et al., J. Gen Virol. 36:59 (1977)); клетки почек детенышей хомячков (BHK); клетки Сертоли мыши (клетки TM4, как описано, например, в Mather, Biol. Reprod. 23:243–251 (1980)); клетки почек обезьян (CV1); клетки почек африканских зеленых мартышек (VERO–76); клетки карциномы шейки матки человека (HELA); клетки почек собаки (MDCK; клетки печени серой крысы (buffalo rat) (BRL 3A); клетки легкого человека (W138); клетки печени человека (Hep G2); опухоль молочной железы мыши (MMT 060562); клетки TRI, как описано, например, в Mather et al., Annals N.Y. Acad. Sci. 383:44–68 (1982); клетки MRC 5; и клетки FS4. Другие пригодные линии клеток–хозяев млекопитающих включают клетки яичника китайского хомячка (CHO), включая клетки DHFR–CHO (Urlaub et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 77:4216 (1980)); и клеточные линии миеломы, такие как Y0, NS0 и Sp2/0. Обзор некоторых линий клеток–хозяев млекопитающих, пригодных для продуцирования антител, приведен, например, Yazaki and Wu, Methods in Molecular Biology, Vol. 248 (B.K.C. Lo, ed., Humana Press, Totowa, NJ), pp. 255–268 (2003).

Фармацевтические композиции

[0333] Анти–CD33 антитела согласно настоящему раскрытию могут быть включены в различные составы для терапевтического введения путем скомбинирования анти–CD33 антител с пригодными фармацевтически приемлемыми носителями или разбавителями, и могут быть составлены в виде препаратов в твердой, полутвердой,

жидкой или газообразной форме. Примеры таких композиций включают, без ограничений, таблетки, капсулы, порошки, гранулы, мази, растворы, суппозитории, инъекции, лекарственные формы для ингаляции, гели, микросферы, и аэрозоли. Фармацевтические композиции могут включать, в зависимости от желаемого состава, фармацевтически приемлемые нетоксичные носители или разбавители, которые представляют собой среды, широко используемые при составлении фармацевтических композиций для введения животным или людям. Разбавитель выбирают таким образом, чтобы не повлиять на биологическую активность комбинации. Примеры таких разбавителей включают, без ограничений, дистиллированную воду, забуференную воду, физиологический раствор, PBS (фосфатно-солевой буфер), раствор Рингера, раствор декстрозы, и раствор Хэнкса. Фармацевтическая композиция или состав согласно настоящему раскрытию может дополнительно включать другие носители, адъюванты, или нетоксичные, нетерапевтические, неиммуногенные стабилизаторы, эксципиенты и т.п. Композиции могут также включать дополнительные вещества для приближения к физиологическим условиям, такие как средства регуляции pH и буферные агенты, средства регуляции токсичности, смачивающие агенты и детергенты.

[0334] Фармацевтическая композиция согласно настоящему раскрытию может также включать любые из различных стабилизирующих агентов, такие как антиоксидант, например. В тех случаях, когда фармацевтическая композиция включает полипептид, полипептид может быть закомплексован с различными хорошо известными соединениями, которые увеличивают *in vivo* стабильность полипептида, или иначе улучшают его фармакологические свойства (например, увеличивают период полувыведения полипептида, снижают его токсичность, и повышают растворимость или поглощение). Примеры таких модификаций или комплексообразующих агентов включают, без ограничений, сульфат, глюконат, цитрат и фосфат. Полипептиды композиции также могут быть закомплексованы с молекулами, которые повышают их характеристики *in vivo*. Такие молекулы включают, без ограничений, углеводы, полиамины, аминокислоты, другие пептиды, ионы (например, натрий, калий, кальций, магний, марганец), и липиды.

[0335] Дополнительные примеры композиций, пригодных для различных типов введения, приведены в Remington's Pharmaceutical Sciences, Mace Publishing Company, Philadelphia, PA, 17th ed. (1985). Краткий обзор способов доставки лекарственных средств приведен в Langer, Science 249:1527–1533 (1990).

[0336] Для перорального введения, активный ингредиент может быть введен в твердых лекарственных формах, таких как капсулы, таблетки и порошки, или в жидких лекарственных формах, таких как эликсиры, сиропы и суспензии. Активный компонент(ы) может быть инкапсулирован в желатиновые капсулы вместе с неактивными ингредиентами и порошкообразными носителями, такими как глюкоза, лактоза, сахароза, маннит, крахмал, целлюлоза или производные целлюлозы, стеарат магния, стеариновая кислота, натрия сахарин, тальк, карбонат магния. Примерами дополнительных

неактивных ингредиентов, которые могут быть добавлены для обеспечения желательной окраски, вкуса, стабильности, буферной способности, дисперсности или других известных желательных характеристик, являются красная окись железа, силикагель, лаурилсульфат натрия, диоксид титана, и пищевая белая краска (edible white ink). Аналогичные разбавители могут быть использованы для изготовления прессованных таблеток. Как таблетки, так и капсулы могут быть изготовлены в виде продуктов с замедленным высвобождением для обеспечения непрерывного высвобождения лекарственного средства на протяжении нескольких часов. Прессованные таблетки могут иметь покрытие из сахара или пленочное покрытие для маскировки какого-либо неприятного вкуса и защиты таблетки от атмосферы, или энтеросолюбильное покрытие для селективного распада в желудочно-кишечном тракте. Жидкие лекарственные формы для перорального введения могут содержать красящие и вкусовые вещества для повышения степени приемлемости для пациентов.

[0337] Композиции, пригодные для парентерального введения, включают водные и неводные, изотонические стерильные растворы для инъекций, которые могут содержать антиоксиданты, буферы, бактериостаты, и растворенные вещества, обеспечивающие изотоничность композиции с кровью предполагаемого реципиента, и водные и неводные стерильные суспензии, которые могут включать суспендирующие агенты, солюбилизаторы, загустители, стабилизаторы и консерванты.

[0338] Компоненты, используемые для составления фармацевтических композиций, предпочтительно являются высокочистыми и по существу не содержат потенциально вредных загрязнителей (например, соответствуют по квалификации по меньшей мере национальным нормативам для пищевых продуктов (National Food, NF), как правило, имеют квалификацию по меньшей мере ч.д.а., и более типично, имеют квалификацию по меньшей мере "для фармацевтических продуктов"). Кроме того, композиции, предназначенные для использования *in vivo*, являются обычно стерильными. В той степени, в которой данное соединение должно быть синтезировано перед его использованием, полученный продукт типично по существу не содержит каких-либо потенциально токсичных агентов, в частности, каких-либо эндотоксинов, которые могут присутствовать во время процесса синтеза или очистки. Композиции для парентерального (parental) введения также являются стерильными, по существу изотоническими и изготавливаются в условиях, соответствующих требованиям надлежащей производственной практики (GMP).

[0339] Композиции могут быть оптимизированы для удерживания и стабилизации в головном мозге или центральной нервной системе. В тех случаях, когда агент вводят в краниальный компартмент, желательно, чтобы агент удерживался в компартменте, и не диффундировал или иначе перемещался через гематоэнцефалический барьер. Методы стабилизации включают сшивание, мультимеризацию или связывание с такими группами, как полиэтиленгликоль, полиакриламид, нейтральные белковые носители и т.д. для обеспечения увеличения молекулярного веса.

[0340] Другие стратегии увеличения удерживания включают захват анти-CD33 антитела согласно настоящему раскрытию в биоразлагаемом или биоэродируемом имплантате. Скорость высвобождения терапевтически активного агента ограничивается скоростью транспорта через полимерную матрицу, и биodeградацией имплантата. Транспорт лекарственного средства через полимерный барьер будет также зависеть от растворимости соединения, гидрофильности полимера, степени сшивки полимера, расширения полимера при абсорбции воды с увеличением проницаемости полимерного барьера для лекарственного средства, геометрии имплантата и т.п. Имплантаты имеют размеры, соизмеримые с размерами и формой области, выбранной для имплантации. Имплантаты могут быть частицами, листами, пластырями (patches), накладками (plaques), волокнами, микрокапсулами и т.п., и могут иметь любой размер или форму, совместимые с выбранным местом введения.

[0341] Имплантаты могут быть монолитными, т.е. имеющими гомогенное распределение активного агента в полимерной матрице, или инкапсулированными, когда резервуар активного агента инкапсулирован полимерной матрицей. Выбор используемой полимерной композиции будет меняться в зависимости от места введения, желательного периода лечения, переносимости пациентом, характера заболевания, лечение которой должно проводиться и т.п. Характеристики полимеров будут включать биоразлагаемость в месте имплантации, совместимость с агентом, представляющим интерес, простоту инкапсулирования, период полувыведения в физиологической среде.

[0342] Биоразлагаемые полимерные композиции, пригодные для использования, могут быть органическими сложными эфирами или простыми эфирами, которые при деградации дают физиологически приемлемые продукты деградации, включая мономеры. Могут находить применение ангидриды, амиды, сложные ортоэфиры и т.п., отдельно взятые или в комбинации с другими мономерами. Полимеры представляют собой конденсационные полимеры. Полимеры могут быть сшитыми или несшитыми. Особый интерес представляют полимеры оксалифатических карбоновых кислот, будь то гомо- или сополимеры, и полисахариды. Сложные полиэфиры, представляющие интерес, включают полимеры D-молочной кислоты, L-молочной кислоты, рацемической молочной кислоты, гликолевой кислоты, поликапролактон, и их комбинации. При использовании L-лактата или D-лактата получают медленно биodeградирующий полимер, тогда как для рацемата деградация существенно усиливается. Сопolíмеры гликолевой и молочной кислот представляют особенный интерес, при этом скорость биodeградации контролируется соотношением гликолевой и молочной кислот. Наиболее быстро деградирующий сополимер содержит приблизительно равные количества гликолевой и молочной кислот, тогда как любой гомополимер является более устойчивым к деградации. Соотношение гликолевой кислоты и молочной кислоты будет также влиять на хрупкость имплантата, при этом более гибкий имплантат является желательным при больших геометрических размерах. Полисахаридами, представляющими интерес, являются альгинат кальция и функционализированные целлюлозы, в частности, сложные

эфирь карбоксиметилцеллюлозы, характеризующиеся нерастворимостью в воде, с молекулярным весом от приблизительно 5 кДа до 500 кДа, и т.д. Биоразлагаемые гидрогели также могут быть использованы в имплантатах согласно настоящему раскрытию. Гидрогели типично представляют собой сополимерный материал, характеризующийся способностью поглощать жидкость. Типичные примеры биоразлагаемых гидрогелей, которые могут быть использованы, описаны Heller в: *Hydrogels in Medicine and Pharmacy*, N. A. Peppes ed., Vol. III, CRC Press, Boca Raton, Fla., 1987, pp 137–149.

Фармацевтические дозировки

[0343] Фармацевтические композиции согласно настоящему раскрытию, содержащие анти-CD33 антитело согласно настоящему раскрытию, могут быть введены индивидууму, нуждающемуся в лечении указанным антителом, предпочтительно, человеку, в соответствии с известными способами, такими как внутривенное введение в виде болюса или путем непрерывной инфузии на протяжении некоторого периода времени, внутримышечным, интраперитонеальным, интрацереброспинальным, интракраниальным, интраспинальным, подкожным, внутрисуставным, интрасиновиальным, интратекальным, пероральным, местным путями, или ингаляцией.

[0344] Дозировки и желательные концентрации лекарственных средств в фармацевтических композициях согласно настоящему раскрытию могут меняться в зависимости от конкретного предполагаемого применения. Определение соответствующей дозировки или пути введения не выходит за пределы квалификации рядового специалиста. Эксперименты на животных обеспечивают надежное руководство при определении эффективных доз для лечения людей. Межвидовые коэффициенты пересчета эффективных доз могут быть применяться в соответствии с принципами, описанными в Mordenti, J. and Chappell, W. “The Use of Interspecies Scaling in Toxicokinetics”, в: *Toxicokinetics and New Drug Development*, Yacobi et al., Eds, Pergamon Press, New York 1989, pp.42–46.

[0345] Для *in vivo* введения любых анти-CD33 антител согласно настоящему раскрытию, нормальные величины дозировок могут меняться от приблизительно 10 нг/кг до приблизительно 100 мг/кг веса тела индивидуума или больше в день, предпочтительно, от приблизительно 1 мг/кг/день до 10 мг/кг/день, в зависимости от пути введения. Для повторного введения на протяжении нескольких дней или дольше, в зависимости от тяжести заболевания, расстройства или состояния, требующих лечения, лечение проводится до достижения желательного подавления симптомов.

[0346] Типичный пример схемы введения может включать введение начальной дозы анти-CD33 антитела, равной приблизительно 2 мг/кг, с последующей еженедельной поддерживающей дозой около 1 мг/кг раз в две недели (a weekly maintenance dose ... every other week). Другие схемы введения могут быть пригодными, в зависимости от характера ослабления фармакокинетического эффекта, достижение которого врач считает желательным. Например, в настоящем описании предусматривается введение

индивидууму от одной до двадцати одной дозы в неделю. В некоторых вариантах осуществления, могут быть использованы дозы в диапазоне значений от приблизительно 3 мкг/кг до приблизительно 2 мг/кг (такие как приблизительно 3 мкг/кг, приблизительно 10 мкг/кг, приблизительно 30 мкг/кг, приблизительно 100 мкг/кг, приблизительно 300 мкг/кг, приблизительно 1 мг/кг, и приблизительно 2 мг/кг). В некоторых вариантах осуществления, частота введения доз составляет три раза в день, два раза в день, раз в день, раз в два дня, раз в неделю, раз в две недели, раз в четыре недели, раз в пять недель, раз в шесть недель, раз в семь недель, раз в восемь недель, раз в девять недель, раз в десять недель, или раз в месяц, раз в два месяца, раз в три месяца, или больше. Прогресс терапии легко контролируется обычными методами и анализами. Схема введения, включая вводимое анти-CD33 антитело, может меняться со временем независимо от используемой дозы.

[0347] Дозировки для конкретного анти-CD33 антитела могут быть определены эмпирически на индивидуумах, которые получают одно или несколько введений анти-CD33 антитела. Индивидуумы получают возрастающие дозы анти-CD33 антитела. Для оценки эффективности анти-CD33 антитела может контролироваться какой-либо клинический симптом любых болезней, расстройств или состояний согласно настоящему раскрытию (например, лобно-височная деменция, болезнь Альцгеймера, сосудистая деменция, эпилептические припадки, дистрофия сетчатки, травматическое повреждение головного мозга, повреждение спинного мозга, длительная депрессия, атеросклеротические заболевания сосудов, и нежелательные симптомы нормального старения).

[0348] Введение анти-CD33 антитела согласно настоящему раскрытию может быть непрерывным или прерывистым, в зависимости, например, от физиологического состояния реципиента, от того, является ли цель введения терапевтической или профилактической, и других факторов, известных профессионалам. Введение анти-CD33 антитела может быть по существу непрерывным на протяжении предварительно выбранного периода времени или может быть серией доз, вводимых с промежутками.

[0349] Рекомендации, касающиеся конкретных дозировок и способов доставки, приведены в литературе; см., например, патенты США №№ 4657760; 5206344; или 5225212. Настоящее раскрытие предусматривает, что разные композиции будут эффективными при разных видах лечения и разных расстройствах, и что введение, предназначенное для лечения определенного органа или ткани, может потребовать доставки способом, отличным от используемого для другого органа или ткани. Кроме того, дозировки могут быть введены посредством одного или нескольких отдельных введений, или путем непрерывной инфузии. При повторном введении на протяжении нескольких дней или более длительного периода времени, в зависимости от состояния, лечение проводится до достижения желательного подавления симптомов заболевания. Однако, могут быть полезны другие схемы введения. Прогресс такой терапии легко контролируется обычными методами и анализами.

Терапевтическое применение

[0350] Как раскрыто в настоящем описании, анти-CD33 антитела согласно настоящему раскрытию могут быть использованы для профилактики, снижения риска или лечения деменции, лобно-височной деменции, болезни Альцгеймера, сосудистой деменции, смешанной деменции, болезни Крейтцфельда-Якоба, нормотензивной гидроцефалии, бокового амиотрофического склероза, болезни Гентингтона, таупатии, болезни Насу-Хакола, инсульта, острой травмы, хронической травмы, волчанки, острого и хронического колита, ревматоидного артрита, заживления ран, болезни Крона, воспалительного заболевания кишечника, неспецифического язвенного колита, ожирения, малярии, эссенциального тремора, волчанки центральной нервной системы, болезни Бехчета, болезни Паркинсона, деменции с тельцами Леви, мультисистемной атрофии, синдрома Шая-Дрейджера, прогрессирующего надъядерного паралича, кортикобазальной ганглионарной дегенерации, острого рассеянного энцефаломиелита, гранулематозных расстройств, саркоидоза, болезней старения, эпилептических припадков, повреждения спинного мозга, травматического повреждения головного мозга, возрастной макулярной дегенерации, глаукомы, пигментного ретинита, дегенерации сетчатки, инфекции дыхательных путей, сепсиса, глазной инфекции, системной инфекции, волчанки, артрита, рассеянного склероза, низкой плотности костной ткани, остеопороза, остеогенеза, остеопетрозного заболевания, деформирующего остита и рака, включая рак мочевого пузыря, рак головного мозга, рак молочной железы, рак толстой кишки, рак прямой кишки, эндометриальный рак, рак почки, почечноклеточный рак, рак почечной лоханки, лейкоз, рак легкого, меланому, неходжкинскую лимфому, рак поджелудочной железы, рак предстательной железы, рак яичника, фибросаркому, острый лимфобластный лейкоз (ОЛЛ), острый миелолейкоз (ОМЛ), хронический лимфоцитарный лейкоз (ХЛЛ), хронический миелоидный лейкоз (ХМЛ), множественную миелому, истинную красную полицитемию, эссенциальный тромбоцитоз, первичный или идиопатический миелофиброз, первичный или идиопатический миелосклероз, опухоли миелоидного происхождения, опухоли, экспрессирующие CD33, рак щитовидной железы, инфекции, герпес ЦНС, паразитарные инфекции, трипаносомную инфекцию, инфекцию *Trypanosoma cruzi*, инфекцию *Pseudomonas aeruginosa*, инфекцию *Leishmania donovani*, инфекцию *Streptococcus* группы В, инфекцию *Campylobacter jejuni*, инфекцию *Neisseria meningitidis*, ВИЧ типа I, и/или палочку Пфайффера (*Haemophilus influenza*). В некоторых вариантах осуществления, антитела CD33 являются агонистическими антителами. В некоторых вариантах осуществления, антитела являются инертными антителами. В некоторых вариантах осуществления, антитела являются антагонистическими антителами.

[0351] В некоторых вариантах осуществления, настоящее раскрытие относится к способам профилактики, снижения риска или лечения деменции, лобно-височной деменции, болезни Альцгеймера, сосудистой деменции, смешанной деменции, болезни Крейтцфельда-Якоба, нормотензивной гидроцефалии, бокового амиотрофического склероза, болезни Гентингтона, таупатии, болезни Насу-Хакола, инсульта, острой травмы,

хронической травмы, волчанки, острого и хронического колита, ревматоидного артрита, заживления ран, болезни Крона, воспалительного заболевания кишечника, неспецифического язвенного колита, ожирения, малярии, эссенциального тремора, волчанки центральной нервной системы, болезни Бехчета, болезни Паркинсона, деменции с тельцами Леви, мультисистемной атрофии, синдрома Шая–Дрейджера, прогрессирующего надъядерного паралича, кортикобазальной ганглионарной дегенерации, острого рассеянного энцефаломиелита, гранулематозных расстройств, саркоидоза, болезней старения, эпилептических припадков, повреждения спинного мозга, травматического повреждения головного мозга, возрастной макулярной дегенерации, глаукомы, пигментного ретинита, дегенерации сетчатки, инфекции дыхательных путей, сепсиса, глазной инфекции, системной инфекции, волчанки, артрита, рассеянного склероза, низкой плотности костной ткани, остеопороза, остеогенеза, остеопетрозного заболевания, деформирующего остита, рака, рака мочевого пузыря, рака головного мозга, рака молочной железы, рака толстой кишки, рака прямой кишки, эндометриального рака, рака почки, почечноклеточного рака, рака почечной лоханки, лейкоза, рака легкого, меланомы, неходжкинской лимфомы, рака поджелудочной железы, рака предстательной железы, рака яичника, фибросаркомы, острого лимфобластного лейкоза (ОЛЛ), острого миелолейкоза (ОМЛ), хронического лимфоцитарного лейкоза (ХЛЛ), хронического миелоидного лейкоза (ХМЛ), множественной миеломы, истинной красной полицитемии, эссенциального тромбоцитоза, первичного или идиопатического миелофиброза, первичного или идиопатического миелосклероза, опухолей миелоидного происхождения, опухолей, экспрессирующих CD33, рака щитовидной железы, инфекций, герпеса ЦНС, паразитарных инфекций, трипаносомной инфекции, инфекции *Trypanosoma cruzi*, инфекции *Pseudomonas aeruginosa*, инфекции *Leishmania donovani*, инфекции *Streptococcus* группы В, инфекции *Campylobacter jejuni*, инфекции *Neisseria meningitidis*, типа I, и/или палочки Пфайффера (*Haemophilus influenza*), путем введения нуждающемуся в этом индивидууму терапевтически эффективного количества антитела согласно настоящему раскрытию, которое снижает клеточные уровни CD33, ингибирует взаимодействие между CD33 и одним или несколькими лигандами CD33, или вызывает оба эти эффекта.

[0352] В некоторых вариантах осуществления, настоящее раскрытие относится к способам профилактики, снижения риска или лечения рака, путем введения пациенту терапевтически эффективного количества антитела согласно настоящему раскрытию, которое снижает клеточные уровни CD33, ингибирует взаимодействие между CD33 и одним или несколькими лигандами CD33, или вызывает оба эти эффекта. В некоторых вариантах осуществления, антитело ингибирует одну или более активностей CD33, выбранных из: (а) промотирования пролиферации, созревания, миграции, дифференцировки, и/или функциональности одной или нескольких из иммуносупрессорных дендритных клеток, иммуносупрессорных макрофагов, иммуносупрессорных нейтрофилов, нетуморогенных супрессорных клеток миелоидного

происхождения, опухоль-ассоциированных макрофагов, нетуморогенных CD14⁺ миелоидных клеток, и регуляторных Т-клеток; (b) усиления инфильтрации одной нескольких из иммуносупрессорных дендритных клеток, иммуносупрессорных макрофагов, иммуносупрессорных нейтрофилов, нетуморогенных супрессорных клеток миелоидного происхождения, опухоль-ассоциированных макрофагов, и регуляторных Т-клеток в опухоли; (c) увеличения численности опухоль-промотирующих миелоидных/гранулоцитарных иммуносупрессорных клеток и/или нетуморогенных CD14⁺ миелоидных клеток в опухоли, в периферической крови или другом лимфоидном органе; (d) снижения активации опухоль-специфических Т-лимфоцитов с потенциалом уничтожения опухоли; (e) снижения инфильтрации опухоль-специфических Т-лимфоцитов с потенциалом уничтожения опухоли; (f) увеличения объема опухоли; (g) увеличения скорости роста опухоли; (h) увеличения метастазирования; (i) увеличения частоты рецидивирования опухоли; (j) повышения экспрессии одного или нескольких лигандов PD-1; (k) снижения эффективности одной или нескольких иммунотерапий, которые модулируют противоопухолевые Т-клеточные ответы, необязательно, при этом одна или несколько иммунотерапий представляют собой иммунотерапии, нацеленные на один или более белков, выбранных из группы, состоящей из CD40, OX40, ICOS, CD28, CD137/4-1BB, CD27, GITR, PD-L1, CTLA4, PD-L2, PD-1, B7-H3, B7-H4, HVEM, LIGHT, BTLA, CD38, TIGIT, VISTA, KIR, GAL9, TIM1, TIM3, TIM4, A2AR, LAG3, DR5, CD39, CD70, CD73, TREM1, TREM2, Siglec-5, Siglec-7, Siglec-9, Siglec-11, SirpA, CD47, рецептора CSF-1, и любой их комбинации, или одной или нескольких раковых вакцин; и (l) снижения эффективности одного или нескольких химиотерапевтических агентов, необязательно, при этом один или более химиотерапевтических агентов представляют собой гемцитабин, капецитабин, антрациклины, доксорубин (адриамицин (Adriamycin[®])), эпирубин (элленс (Ellence[®])), таксаны, паклитаксел (таксол (Taxol[®])), доцетаксел (таксотере (Taxotere[®])), 5-фторурацил (5-FU), циклофосфамид (цитоксан (Cytoxan[®])), карбоплатин (параплатин (Paraplatin[®])), оксалиплатин (элотаксин (Elotaxin[®])), лейковорин, темозоломид (temozolmide) (темодар (Temodar[®])), и любую их комбинацию. В некоторых вариантах осуществления, антитело демонстрирует одну или более активностей, выбранных из: (a) увеличения числа опухоль-инфильтрующих CD3⁺ Т-клеток; (b) снижения клеточных уровней CD33 в нетуморогенных CD14⁺ миелоидных клетках, необязательно, при этом нетуморогенные CD14⁺ миелоидные клетки представляют собой опухоль-инфильтрующие клетки или, необязательно, при этом нетуморогенные CD14⁺ миелоидные клетки присутствуют в крови; (c) уменьшения численности нетуморогенных CD14⁺ миелоидных клеток, необязательно, при этом нетуморогенные CD14⁺ миелоидные клетки представляют собой опухоль-инфильтрующие клетки или, необязательно, при этом нетуморогенные CD14⁺ миелоидные клетки присутствуют в крови; (d) снижения уровней PD-L1 в одной или нескольких клетках, необязательно, при этом одна или несколько клеток представляют собой нетуморогенные супрессорные клетки миелоидного происхождения (MDSC); (e)

снижения скорости роста солидных опухолей; (f) уменьшения объема опухоли; (g) увеличения эффективности одного или нескольких ингибиторов PD-1; (h) увеличения эффективности одной или нескольких терапий ингибиторами контрольных точек и/или иммуномодулирующих терапий, необязательно, при этом одна или несколько терапий ингибиторами контрольных точек и/или иммуномодулирующих терапий нацелена на что-то одно или несколько из CTL4, аденозинового пути, PD-L1, PD-L2, OX40, TIM3, LAG3, или любую их комбинацию; (i) увеличения эффективности одного или нескольких химиотерапевтических агентов, необязательно, при этом один или более химиотерапевтических агентов представляют собой гемцитабин, капецитабин, антрациклины, доксорубицин (адриамицин (Adriamycin[®])), эпирубицин (элленс (Ellence[®])), таксаны, паклитаксел (таксол (Taxol[®])), доцетаксел (таксотере (Taxotere[®])), 5-фторурацил (5-FU), циклофосфамид (цитоксан (Cytosan[®])), карбоплатин (параплатин (Paraplatin[®])), оксалиплатин (элотаксин (Elotaxin[®])), лейковорин, темозоломид (temozolmide) (темодар (Temodar[®])), и любую их комбинацию; и (j) уничтожения CD33-экспрессирующих иммуносупрессорных миелоидных клеток и/или CD14-экспрессирующих клеток в солидных опухолях и ассоциированных кровеносных сосудах при конъюгации с химическим или радиоактивным токсином.

[0353] Как раскрыто в настоящем описании, анти-CD33 антитела согласно настоящему раскрытию могут также использоваться для индуцирования и/или промотирования выживания, созревания, функциональности, миграции, или пролиферации одной или нескольких иммунных клеток (например, естественных иммунных клеток или адаптивных иммунных клеток). В некоторых вариантах осуществления, настоящее раскрытие предусматривает способы индуцирования или промотирования выживания, созревания, функциональности, миграции, или пролиферации одной или нескольких иммунных клеток у нуждающегося в этом индивидуума путем введения индивидууму терапевтически эффективного количества антитела согласно настоящему раскрытию, которое снижает клеточные уровни CD33, ингибирует взаимодействие между CD33 и одним или несколькими лигандами CD33, или вызывает оба эти эффекта. В некоторых вариантах осуществления, одну или более иммунных клеток выбирают из дендритных клеток, макрофагов, микроглии, нейтрофилов, Т-клеток, Т-хелперных клеток, цитотоксических Т-клеток, и любой их комбинации.

[0354] В некоторых вариантах осуществления, антитело представляет собой агонистическое анти-CD33 антитело. В некоторых вариантах осуществления, антитело представляет собой транзистентно агонистическое анти-CD33 антитело согласно настоящему раскрытию, которое сначала действует как агонистическое, а затем – как долговременное антагонистическое антитело. В некоторых вариантах осуществления, антитело представляет собой инертное анти-CD33 антитело. В некоторых вариантах осуществления, антитело представляет собой антагонистическое анти-CD33 антитело. В некоторых вариантах осуществления, анти-CD33 антитело снижает клеточные (например, клеточной поверхности, внутриклеточные, или общие) уровни CD33. В некоторых

вариантах осуществления, анти-CD33 антитело индуцирует деградацию CD33. В некоторых вариантах осуществления, анти-CD33 антитело индуцирует расщепление CD33. В некоторых вариантах осуществления, анти-CD33 антитело индуцирует интернализацию CD33. В некоторых вариантах осуществления, анти-CD33 антитело индуцирует шеддинг CD33. В некоторых вариантах осуществления, анти-CD33 антитело индуцирует понижающую регуляцию экспрессии CD33. В некоторых вариантах осуществления, анти-CD33 антитело ингибирует взаимодействие (например, связывание) между CD33 и одним или несколькими лигандами CD33. В некоторых вариантах осуществления, анти-CD33 антитело транзичентно активирует и затем индуцирует деградацию CD33. В некоторых вариантах осуществления, анти-CD33 антитело транзичентно активирует и затем индуцирует расщепление CD33. В некоторых вариантах осуществления, анти-CD33 антитело транзичентно активирует и затем индуцирует интернализацию CD33. В некоторых вариантах осуществления, анти-CD33 антитело транзичентно активирует и затем индуцирует шеддинг CD33. В некоторых вариантах осуществления, анти-CD33 антитело транзичентно активирует и затем индуцирует понижающую регуляцию экспрессии CD33. В некоторых вариантах осуществления, анти-CD33 антитело транзичентно активирует и затем индуцирует пониженную экспрессию CD33. В некоторых вариантах осуществления, индивидуум имеет аллельный вариант CD33, имеющий однонуклеотидные полиморфизмы (SNP) rs3865444 CC или AC. В некоторых вариантах осуществления, индивидуум имеет аллельный вариант CD33, имеющий однонуклеотидные полиморфизмы (SNP) 2459419 CC или CT.

[0355] Как раскрыто в настоящем описании, анти-CD33 антитела согласно настоящему раскрытию могут быть дополнительно использованы для снижения активности, функциональности или выживания регуляторных Т-клеток, внутриопухолевых иммуносупрессорных дендритных клеток, внутриопухолевых иммуносупрессорных макрофагов, супрессорных клеток миелоидного происхождения, опухоль-ассоциированных макрофагов, клеток острого миелоидного лейкоза (ОМЛ), клеток хронического лимфоцитарного лейкоза (ХЛЛ), и/или клеток хронического миелоидного лейкоза (ХМЛ). В некоторых вариантах осуществления, настоящее раскрытие предусматривает способы снижения активности, функциональности или выживания регуляторных Т-клеток, внутриопухолевых иммуносупрессорных дендритных клеток, внутриопухолевых иммуносупрессорных макрофагов, супрессорных клеток миелоидного происхождения, опухоль-ассоциированных макрофагов, клеток острого миелоидного лейкоза (ОМЛ), клеток хронического лимфоцитарного лейкоза (ХЛЛ), или клеток хронического миелоидного лейкоза (ХМЛ) у нуждающегося в этом индивидуума путем введения индивидууму терапевтически эффективного количества антитела, которое связывает, или взаимодействует с, CD33. В некоторых вариантах осуществления, антитело выбирают из антагонистического антитела, инертного антитела, или агонистического антитела. В некоторых вариантах осуществления, антитело представляет собой выделенное анти-CD33 антитело или конъюгат анти-CD33 антитела согласно настоящему

раскрытию. В некоторых вариантах осуществления, конъюгат анти-CD33 антитела содержит анти-CD33 антитело, конъюгированное с детектируемым маркером, токсином, или терапевтическим агентом.

[0356] Как раскрыто в настоящем описании, анти-CD33 антитела согласно настоящему раскрытию могут быть использованы для снижения клеточных уровней CD33, ингибирования взаимодействия между CD33 и одним или несколькими лигандами CD33, или обоих, на одной или нескольких клетках *in vitro* или *in vivo*. В некоторых вариантах осуществления, настоящее раскрытие предусматривает способы снижения клеточных уровней CD33, ингибирования взаимодействия между CD33 и одним или несколькими лигандами CD33, или обоих, на одной или нескольких клетках у нуждающегося в этом индивидуума путем введения индивидууму терапевтически эффективного количества выделенного анти-CD33 антитела согласно настоящему раскрытию. В некоторых вариантах осуществления, анти-CD33 антитело снижает клеточные уровни CD33 *in vivo*.

[0357] Как раскрыто в настоящем описании, анти-CD33 антитела согласно настоящему раскрытию могут быть использованы для снижения клеточных уровней CD33 на одной или нескольких клетках, включая, без ограничений, дендритные клетки, дендритные клетки костномозгового происхождения, моноциты, микроглию, Т-клетки, и макрофаги, и/или клеточные линии. В некоторых вариантах осуществления, настоящее раскрытие предусматривает способы снижения клеточных уровней CD33 на одной или нескольких клетках у нуждающегося в этом индивидуума путем введения индивидууму терапевтически эффективного количества анти-CD33 антитела согласно настоящему раскрытию. В некоторых вариантах осуществления, одну или более клеток выбирают из дендритных клеток, дендритных клеток костномозгового происхождения, моноцитов, микроглии, Т-клеток, и макрофагов, и любой их комбинации. В некоторых вариантах осуществления, анти-CD33 антитело снижает клеточные уровни CD33 *in vivo*. Клеточные уровни CD33 могут относиться к, без ограничений, уровням CD33 клеточной поверхности, внутриклеточным уровням CD33, и общим уровням CD33. В некоторых вариантах осуществления, снижение клеточных уровней CD33 включает снижение уровней CD33 клеточной поверхности. В используемом в настоящем описании значении, уровни CD33 клеточной поверхности могут быть измерены любыми *in vitro* клеточными анализами или в пригодной *in vivo* модели, описанными в настоящем описании или известными специалистам. В некоторых вариантах осуществления, снижение клеточных уровней CD33 включает снижение внутриклеточных уровней CD33. В используемом в настоящем описании значении, внутриклеточные уровни CD33 могут быть измерены любыми *in vitro* клеточными анализами или в пригодной *in vivo* модели, описанными в настоящем описании или известными специалистам. В некоторых вариантах осуществления, снижение клеточных уровней CD33 включает снижение общих уровней CD33. В используемом в настоящем описании значении, общие уровни CD33 могут быть измерены любыми *in vitro* клеточными анализами или в пригодной *in vivo* модели,

описанными в настоящем описании или известными специалистами. В некоторых вариантах осуществления, анти-CD33 антитела индуцируют деградацию CD33, расщепление CD33, интернализацию CD33, шеддинг CD33, и/или понижающую регуляцию экспрессии CD33. В некоторых вариантах осуществления, клеточные уровни CD33 измеряют на первичных клетках (например, дендритных клетках, дендритных клетках костномозгового происхождения, моноцитах, микроглии, Т-клетках, и макрофагах) или на клеточных линиях с использованием *in vitro* клеточного анализа.

[0358] Другие аспекты настоящего раскрытия относятся к способу выбора пациента нуждающегося в лечении анти-CD33 антителом, включающему: а. получение образца (например, образца крови) от пациента; б. детектирование аллелей CD33, присутствующих у пациента; и с. выбор пациента для лечения антителом, которое связывается или взаимодействует с CD33, представляющего собой пациента, имеющего (is the subject has) один или более аллелей CD33, при этом один или более аллелей CD33 выбирают из группы, состоящей из rs3865444^{AC}, и rs3865444^{CC}. Другие аспекты настоящего раскрытия относятся к способу оценки восприимчивости нуждающегося в этом пациента к антителу, которое связывается или взаимодействует с CD33, включающему: а. измерение уровней экспрессии CD45⁺ и CD14⁺ на нетуморогенных миелоидных клетках в образце крови, полученном от пациента до введения пациенту анти-CD33 антитела; б. введение пациенту терапевтически эффективного количества антитела; и с. измерение уровней экспрессии CD45⁺ и CD14⁺ на нетуморогенных миелоидных клетках в образце крови, полученной от пациента после введения анти-CD33 антитела, при этом снижение уровней CD45⁺ CD14⁺ на нетуморогенных миелоидных клетках после введения анти-CD33 антитела указывает, что пациент является восприимчивым к агенту. Могут быть использованы любые пригодные способы получения образца, такого как образец крови. Кроме того, следует понимать, что может быть использован любой известный способ детектирования вариантов и/или аллелей CD33, такой как анализ однонуклеотидных полиморфизмов (SNP). В некоторых вариантах осуществления, способ оценки восприимчивости дополнительно включает введение одного или нескольких дополнительных терапевтически эффективных количеств антитела. В некоторых вариантах осуществления, пациент представляет собой человека.

[0359] В некоторых вариантах осуществления, индивидуум имеет вариант CD33. В некоторых вариантах осуществления, вариант включает, без ограничений, один или более полиморфизмов, выбранных из: (a) SNP rs3865444^{AC}; (b) SNP rs3865444^{CC}; (c) SNP rs35112940^{GG, AA, AG}; и (d) SNP rs12459419^{CC, CT} или ^{TT}; и любые их комбинации.

[0360] В некоторых вариантах осуществления, способы согласно настоящему раскрытию могут дополнительно предусматривать совместное введение анти-CD33 антител или биспецифических анти-CD33 антител, с антителами, которые связываются с рецепторами распознавания паттернов, антителами, которые связываются с Toll-подобными рецепторами, антителами, которые связываются с рецепторами, которые идентифицируют связанные с повреждениями молекулярные паттерны (DAMP), и/или

антителами, которые связываются с цитокином или антителами к интерлейкинам).

[0361] В некоторых вариантах осуществления, способы согласно настоящему раскрытию могут дополнительно включать введение индивидууму по меньшей мере одного антитела, которое специфически связывается с молекулой, ингибирующей контрольную точку, и/или одной или нескольких стандартных или исследовательских противораковых терапий. В некоторых вариантах осуществления, по меньшей мере одно антитело, которое специфически связывается с молекулой, ингибирующей контрольную точку, вводят в комбинации с анти-CD33 антителом. В некоторых вариантах осуществления, по меньшей мере одно антитело, которое специфически связывается с молекулой, ингибирующей контрольную точку, выбирают из анти-PD-L1 антитела, анти-CTLA4 антитела, анти-PD-L2 антитела, анти-PD-1 антитела, анти-B7-H3 антитела, анти-B7-H4 антитела, и анти-HVEM антитела, антитела против В- и Т-лимфоцитарного аттенуатора (BTLA), антитела против ингибиторного рецептора киллера (KIR), анти-GAL9 антитела, анти-TIM3 антитела, анти-A2AR антитела, анти-LAG-3 антитела, антифосфатидилсеринового антитела, анти-CD27 антитела, анти-TNF α антитела, анти-Siglec-5 антитела, анти-Siglec-7 антитела, анти-Siglec-9 антитела, анти-Siglec-11 антитела, антагонистического анти-TREM1 антитела, антагонистического анти-TREM2 антитела, и любой их комбинации. В некоторых вариантах осуществления, одну или более стандартных или исследовательских противораковых терапий выбирают из лучевой терапии, цитотоксической химиотерапии, таргетной терапии, терапии иматинибом, терапии трастузумабом, терапии этанерцептом, терапии адоптивного клеточного переноса (ACT), терапии переноса химерного антигенного рецептора Т-клеток (CAR-T), вакцинотерапии, и цитокиновой терапии.

[0362] В некоторых вариантах осуществления, способы согласно настоящему раскрытию могут дополнительно включать введение индивидууму по меньшей мере одного антитела, которое специфически связывается с ингибирующим цитокином. В некоторых вариантах осуществления, по меньшей мере одно антитело, которое специфически связывается с ингибирующим цитокином, вводят в комбинации с анти-CD33 антителом. В некоторых вариантах осуществления, по меньшей мере одно антитело, которое специфически связывается с ингибирующим цитокином, выбирают из анти-CCL2 антитела, анти-CSF-1 антитела, анти-IL-2 антитела, и любой их комбинации.

[0363] В некоторых вариантах осуществления, способы согласно настоящему раскрытию могут дополнительно включать введение индивидууму по меньшей мере одного агонистического антитела, которое специфически связывается со стимулирующим белком контрольной точки. В некоторых вариантах осуществления, по меньшей мере одно агонистическое антитело, которое специфически связывается со стимулирующим белком контрольной точки, вводят в комбинации с анти-CD33 антителом. В некоторых вариантах осуществления, по меньшей мере одно агонистическое антитело, которое специфически связывается со стимулирующим белком контрольной точки, выбирают из агонистического анти-CD40 антитела, агонистического анти-OX40 антитела,

агонистического анти-ICOS антитела, агонистического анти-CD28 антитела, агонистического анти-TREM1 антитела, агонистического анти-TREM2 антитела, агонистического анти-CD137/4-1BB антитела, агонистического анти-CD27 антитела, агонистического антитела против глюкокортикоид-индуцируемого TNFR-родственного белка GITR, и любой их комбинации.

[0364] В некоторых вариантах осуществления, способы согласно настоящему раскрытию могут дополнительно включать введение индивидууму по меньшей мере одного стимулирующего цитокина. В некоторых вариантах осуществления, по меньшей мере один стимулирующий цитокин вводят в комбинации с анти-CD33 антителом. В некоторых вариантах осуществления, по меньшей мере один стимулирующий цитокин выбирают из IFN- α 4, IFN- β , IL-1 β , TNF- α , IL-6, IL-8, CRP, членов семейства IL-20, LIF, IFN-гамма, OSM, CNTF, GM-CSF, IL-11, IL-12, IL-17, IL-18, IL-23, CXCL10, IL-33, CRP, IL-33, MCP-1, MIP-1-бета, и любой их комбинации.

[0365] В некоторых вариантах осуществления, пациент или индивидуум представляет собой млекопитающее. Млекопитающие включают, без ограничений, одомашненных животных (например, коров, овец, кошек, собак и лошадей), приматов (например, людей и не являющихся человеком приматов, таких как обезьяны), кроликов, и грызунов (например, мышей и крыс). В некоторых вариантах осуществления, пациент или индивидуум представляет собой человека.

Деменция

[0366] Деменция представляет собой неспецифический синдром (т.е., набор признаков и симптомов), проявляющийся у ранее незатронутой osoby в виде серьезной потери общих познавательных способностей, выходящей за пределы ожидаемого при нормальном старении. Деменция может быть статической, в результате уникальной глобальной травмы мозга. Альтернативно, деменция может быть прогрессирующей, приводящей к длительному ухудшению вследствие соматического поражения или заболевания. Хотя деменция значительно более распространена в гериатрической популяции, она может также возникать у людей в возрасте до 65 лет. Когнитивные области, поражаемые при деменции, включают, без ограничений, память, объем внимания, речь и решение задач. Как правило, симптомы должны проявляться на протяжении по меньшей мере шести месяцев до постановки индивидууму диагноза деменции.

[0367] Типичные примеры форм деменции включают, без ограничений, лобно-височную деменцию, болезнь Альцгеймера, сосудистую деменцию, семантическую деменцию и деменцию с тельцами Леви.

[0368] В некоторых вариантах осуществления, введение анти-CD33 антитела согласно настоящему раскрытию может предотвращать, снижать риск, и/или лечить деменцию. В некоторых вариантах осуществления, анти-CD33 антитело может модулировать одну или более активностей CD33 у индивидуума с деменцией.

Лобно-височная деменция

[0369] Лобно–височная деменция (ЛВД) представляет собой состояние, возникающее в результате прогрессирующей дегенерации лобной доли головного мозга. Со временем, дегенерация может захватить височную долю. На долю ЛВД, уступающей по распространенности только болезни Альцгеймера (AD), приходится 20% случаев пресенильной деменции. Клинические признаки ЛВД включают дефициты памяти, поведенческие аномалии, изменения личности и языковые нарушения (Cruts, M. & Van Broeckhoven, C., Trends Genet. 24:186–194 (2008); Neary, D., et al., Neurology 51:1546–1554 (1998); Ratnavalli, E., Brayne, C., Dawson, K. & Hodges, J. R., Neurology 58:1615–1621 (2002)).

[0370] Значительная часть случаев ЛВД наследуется аутосомно–доминантным образом, но даже в одной семье симптомы могут охватывать спектр от ЛВД с поведенческими расстройствами до первичной прогрессирующей афазии, и до кортикобазальной ганглионарной дегенерации. ЛВД, как и большинство нейродегенеративных заболеваний, может характеризоваться патологическим присутствием специфических белковых агрегатов в пораженном заболеванием мозгу. Исторически, в первых описаниях ЛВД отмечалось присутствие внутринейронных скоплений гиперфосфорилированного тау–белка в нейрофибриллярных клубках или тельцах Пика. Причинная роль ассоциированного с микротрубочками тау–белка была подтверждена путем идентификации мутаций в гене, кодирующем тау–белок в нескольких семействах (Hutton, M., et al., Nature 393:702–705 (1998)). Однако, в мозге большинства людей, пораженных ЛВД, не было выявлено накопления гиперфосфорилированного тау–белка, продемонстрирована иммунореактивность к убиквитину (Ub) и ДНК–связывающему белку TAR (TDP43) (Neumann, M., et al., Arch. Neurol. 64:1388–1394 (2007)). Было показано, что большинство таких случаев ЛВД с включениями Ub (ЛВД–U) несут мутации в гене програнулина (Progranulin).

[0371] В некоторых вариантах осуществления, введение анти–CD33 антитела согласно настоящему раскрытию может предотвращать, снижать риск, и/или лечить ЛВД. В некоторых вариантах осуществления, введение анти–CD33 антитела может модулировать одну или более активностей CD33 у индивидуума с ЛВД.

Болезнь Альцгеймера

[0372] Болезнь Альцгеймера (AD) является наиболее распространенной формой деменции. Не существует лечения для заболевания, которая ухудшается по мере прогрессирования, и постепенно приводит к смерти. Чаще всего, AD диагностируется у людей в возрасте старше 65 лет. Однако, менее распространенная форма болезни Альцгеймера с ранними проявлениями может возникать значительно раньше.

[0373] Обычные симптомы болезни Альцгеймера включают поведенческие симптомы, такие как трудность запоминания недавних событий; когнитивные симптомы, спутанность сознания, раздражительность и агрессию, эмоциональную лабильность, проблемы с языком, и потерю долговременной памяти. По мере прогрессирования заболевания утрачиваются телесные функции, что в конечном счете приводит к смерти.

Болезнь Альцгеймера развивается на протяжении неизвестного и непостоянного периода времени до полного ее проявления, и может прогрессировать, годами оставаясь недиагностированной.

[0374] В некоторых вариантах осуществления, введение анти-CD33 антитела согласно настоящему раскрытию может предотвращать, снижать риск, и/или лечить болезнь Альцгеймера. В некоторых вариантах осуществления, введение анти-CD33 антитела может модулировать одну или более активностей CD33 у индивидуума с заболеванием Альцгеймера.

Болезнь Паркинсона

[0375] Болезнь Паркинсона, которая может называться идиопатическим или первичным паркинсонизмом, гипокинетически-ригидным синдромом (HRS), или дрожательным параличом, представляет собой нейродегенеративное расстройство головного мозга, которое поражает контроль за моторной системой. Прогрессирующая гибель продуцирующих допамин клеток головного мозга приводит к значительным симптомам болезни Паркинсона. Чаще всего, болезнь Паркинсона диагностируется у людей старше 50 лет. Болезнь Паркинсона является идиопатической (не имеет известной причины) у большинства людей. Однако, генетические факторы также играют определенную роль в заболевании.

[0376] Симптомы болезни Паркинсона включают, без ограничений, тремор кистей рук, предплечий, ног, нижней челюсти и лица, ригидность мышц конечностей и туловища, замедленные движения (брадикинезия), поструральную неустойчивость, трудности при ходьбе, психоневрологические проблемы, изменения речи или поведения, депрессию, беспокойство, боль, психоз, деменцию, галлюцинации и проблемы со сном.

[0377] В некоторых вариантах осуществления, введение анти-CD33 антитела согласно настоящему раскрытию может предотвращать, снижать риск, и/или лечить болезнь Паркинсона. В некоторых вариантах осуществления, введение анти-CD33 антитела может модулировать одну или более активностей CD33 у индивидуума с заболеванием Паркинсона.

Боковой амиотрофический склероз (БАС)

[0378] В используемом в настоящем описании значении, боковой амиотрофический склероз (БАС), или заболевание моторных нейронов, или болезнь Лу Герига используются взаимозаменяемо и относятся к истощающему заболеванию различной этиологии, характеризующемуся быстро прогрессирующей слабостью, атрофией мышц и фасцикулярным дрожанием, спастичностью мышц, трудностями при разговоре (дизартрия), трудностями при глотании (дисфагия), и трудностями при дыхании (одышка).

[0379] Было показано, что програнулин (Progranulin) играет определенную роль в БАС (Schymick, JC et al., (2007) J Neurol Neurosurg Psychiatry.;78:754–6) и защищает от поражений, причиняемых вызывающими БАС белками, такими как TDP-43 (Laird, AS et al., (2010). PLoS ONE 5: e13368). Было также продемонстрировано, что про-NGF индуцирует p75-опосредованную гибель олигодендроцитов и кортикоспинальных

нейронов после повреждения спинного мозга (Beatty et al., Neuron (2002), 36, pp. 375–386; Giehl et al., Proc. Natl. Acad. Sci USA (2004), 101, pp. 6226–30).

[0380] В некоторых вариантах осуществления, введение анти-CD33 антитела согласно настоящему раскрытию может предотвращать, снижать риск, и/или лечить БАС. В некоторых вариантах осуществления, введение анти-CD33 антитела может модулировать одну или более активностей CD33 у индивидуума с боковым амиотрофическим склерозом.

Болезнь Гентингтона

[0381] Болезнь Гентингтона (HD) представляет собой наследственное нейродегенеративное заболевание, вызываемое аутосомно-доминантной мутацией гена хантингтина (HTT). Экспансия триплетного повтора цитоксин-аденин-гуанин (CAG) в гене хантингтина приводит к продуцированию мутантной формы белка хантингтина (Htt), кодируемого геном. Этот мутантный белок хантингтина (mHtt) является токсичным и участвует в гибели нейронов. Симптомы болезни Гентингтона чаще всего появляются в возрасте от 35 до 44 лет, хотя они могут появиться в любом возрасте.

[0382] Симптомы болезни Гентингтона, включают, без ограничений, проблемы моторного контроля, прерывистые, хаотичные движения (хорея), аномальные движения глаз, нарушения равновесия, эпилептические припадки, трудности при жевании, трудности при глотании, когнитивные проблемы, измененную речь, дефициты памяти, затруднения при мышлении, бессонницу, усталость, деменцию, изменения личности, депрессию, беспокойство, и компульсивное поведение.

[0383] В некоторых вариантах осуществления, введение анти-CD33 антител согласно настоящему раскрытию может предотвращать, снижать риск, и/или лечить болезнь Гентингтона (HD). В некоторых вариантах осуществления, введение анти-CD33 антитела может модулировать одну или более активностей CD33 у индивидуума с заболеванием Гентингтона.

Таупатия

[0384] Таупатии (taupathy diseases или tauopathies), представляют собой класс нейродегенеративных заболеваний, вызванных агрегацией ассоциированного с микротрубочками тау-белка в головном мозге. Болезнь Альцгеймера (AD) является самым известным заболеванием из группы таупатий и включает накопление тау-белка в нейронах в форме нерастворимых нейрофибриллярных клубков (NFT). Другие таупатии и расстройства включают прогрессирующий надъядерный паралич, боксерскую деменцию (хроническую травматическую энцефалопатию), лобно-височную деменцию и паркинсонизм, связанные с хромосомой 17, болезнь Литико-Бодига (Гуамский комплекс паркинсонизм-деменция), деменцию с преобладанием клубков, ганглиоглиому и ганглиоцитому, менингоангиоматоз, подострый склерозирующий панэнцефалит, свинцовую энцефалопатию, туберозный склероз, болезнь Галлервордена-Шпатца, липофусциноз, болезнь Пика, кортикобазальную дегенерацию, болезнь аргирофильных зерен (AGD), болезнь Гентингтона, и фронтотемпоральную лобарную дегенерацию.

[0385] В некоторых вариантах осуществления, введение анти-CD33 антитела согласно настоящему раскрытию может предотвращать, снижать риск, и/или лечить таупатию. В некоторых вариантах осуществления, введение анти-CD33 антитела может модулировать одну или более активностей CD33 у индивидуума с таупатией.

Рассеянный склероз

[0386] Рассеянный склероз (РС) также может называться диссеминированным склерозом или диссеминированным энцефаломиелитом. РС представляет собой воспалительное заболевание, при котором повреждаются жирные миелиновые оболочки вокруг аксонов головного и спинного мозга, что приводит к демиелинизации и рубцеванию, а также широкому спектру признаков и симптомов. РС влияет на способность нервных клеток в головном и спинном мозге эффективно общаться друг с другом. Нервные клетки общаются, посылая электрические сигналы, называемые потенциалами действия, по длинным волокнам, называемым аксонами, которые окружены изолирующим веществом, называемым миелином. При РС, собственная иммунная система организма атакует и повреждает миелин. После утраты миелина аксоны теряют способность эффективно проводить сигналы. Начало РС обычно наблюдается у людей молодого возраста, и чаще – у женщин. http://en.wikipedia.org/wiki/Multiple_sclerosis – cite_note–pmid18970977–1

[0387] Симптомы РС включают, без ограничений, изменения ощущений, такие как потеря чувствительности или покалывание; колющую боль или онемение, такие как гипестезия и парестезия; мышечную слабость; клонус; мышечные спазмы; трудности при движении; осложнения с координацией и равновесием, такие как атаксия; проблемы с речью, такие как дизартрия, или с глотанием, такие как дисфагия; проблемы зрения, такие как нистагм, ретробульбарный неврит, включая фосфен (phosphenes), и диплопия; усталость; острую или хроническую боль; и проблемы с мочевым пузырем и кишечником; когнитивные нарушения разной степени; эмоциональные симптомы депрессии или нестабильное настроение; феномен Утхоффа, который представляет собой обострение наблюдающихся симптомов под воздействием температур, превышающих обычные температуры окружающей среды; и симптом Лермитта, который представляет собой электрическое ощущение, пробегающее по спине при сгибании шеи.

[0388] В некоторых вариантах осуществления, введение анти-CD33 антитела согласно настоящему раскрытию может предотвращать, снижать риск, и/или лечить рассеянный склероз. В некоторых вариантах осуществления, введение анти-CD33 антитела может модулировать одну или более активностей CD33 у индивидуума с рассеянным склерозом.

Рак

[0389] Дополнительные аспекты настоящего раскрытия предусматривают способы профилактики, снижения риска, или лечения рака путем введения пациенту терапевтически эффективного количества выделенного анти-CD33 антитела согласно настоящему раскрытию. Любое из выделенных антител согласно настоящему раскрытию

может быть использовано в таких способах. В некоторых вариантах осуществления, выделенное антитело представляет собой агонистическое антитело согласно настоящему раскрытию. В других вариантах осуществления, выделенное антитело представляет собой антагонистическое антитело согласно настоящему раскрытию. В других вариантах осуществления, выделенное антитело представляет собой инертное антитело согласно настоящему раскрытию. В других вариантах осуществления, выделенное антитело представляет собой конъюгат антитела согласно настоящему раскрытию.

[0390] Как раскрыто в настоящем описании, микроокружение опухоли, как известно, содержит гетерогенный иммунный инфильтрат, который содержит Т-лимфоциты, макрофаги и клетки миелоидного/гранулоцитарного происхождения. Присутствие и активность Т-регуляторных клеток, внутриопухолевых иммуносупрессорных миелоидных клеток и/или М2-макрофагов в опухолях связано с плохим прогнозом. В отличие от этого, присутствие и активность цитотоксических Т-клеток является благоприятным для терапии рака. Ожидается, что терапии, которые прямо или косвенно повышают активность цитотоксических Т-клеток и снижают численность и активность различных иммуносупрессорных клеток, обеспечивают значительную терапевтическую пользу. Плодотворные доклинические исследования продемонстрировали синергизм между лекарственными средствами, нацеленными на иммуносупрессорные клетки (например, антителами, блокирующими CSF1/CSF1R) и иммунными антителами, блокирующими контрольные точки, которые активируют цитотоксические Т-клетки, указывающий на то, что манипулирование этими двумя типами клеток демонстрирует эффективность в моделях опухолей, для которых индивидуальные терапии имеют низкую эффективность (Zhu Y; Cancer Res. 2014 Sep 15; 74(18):5057–69). Поэтому, в некоторых вариантах осуществления, блокирование CD33, который экспрессируется на миелоидных клетках, субпопуляции Т-клеток, и опухолиассоциированных иммунных клетках, может стимулировать благоприятный противоопухолевый иммунный ответ, приводящий к терапевтическому противоопухолевому иммунному ответу.

[0391] В некоторых вариантах осуществления, способы профилактики, снижения риска или лечения индивидуума с раком дополнительно включают введение индивидууму по меньшей мере одного антитела, которое специфически связывается с молекулой, ингибирующей контрольную точку. Примеры антител, которые специфически связываются с молекулой, ингибирующей контрольную точку, включают, без ограничений, анти-PD-L1 антитело, анти-CTLA-4 антитело, анти-PD-L2 антитело, анти-PD-1 антитело, анти-B7-H3 антитело, анти-B7-H4 антитело, и анти-HVEM антитело, анти-BTLA антитело, анти-GAL9 антитело, анти-TIM3 антитело, анти-A2AR антитело, анти-LAG-3 антитело, антифосфатидилсериновое антитело, и любую их комбинацию. В некоторых вариантах осуществления, по меньшей мере одно антитело, которое специфически связывается с молекулой, ингибирующей контрольную точку, вводят в комбинации с антагонистическим анти-CD33 антителом согласно настоящему

раскрытию.

[0392] В некоторых вариантах осуществления, рак, профилактика или лечение которого должны осуществляться способами согласно настоящему раскрытию, включает, без ограничений, плоскоклеточный рак (например, эпителиальный плоскоклеточный рак), рак легкого, включая мелкоклеточный рак легкого, немелкоклеточный рак легкого, аденокарциному легкого и плоскоклеточный рак легкого, рак брюшины, печечно-клеточный рак, гастриальный рак или рак желудка, включая желудочно-кишечный рак и желудочно-кишечный стромальный рак, рак поджелудочной железы, глиобластома, рак шейки матки, рак яичника, рак печени, рак мочевого пузыря, рак мочевых путей, гепатому, рак молочной железы, рак толстой кишки, рак прямой кишки, колоректальный рак, рак эндометрия или матки, рак слюнной железы, рак почки, рак предстательной железы, рак вульвы, рак щитовидной железы, гепатокарциному, анальный рак, рак полового члена, меланому, поверхностную меланому, злокачественную лентиго-меланому, акральные лентигинозные меланомы, узловые меланомы, множественную миелому и В-клеточную лимфому; хронический лимфоцитарный лейкоз (ХЛЛ); острый лимфобластный лейкоз (ОЛЛ); волосатоклеточный лейкоз; хронический миелобластный лейкоз; и посттрансплантационный лимфопролиферативный синдром (ПТЛС), а также аномальную сосудистую пролиферацию, связанную с факоматозами, отек (такой как связанный с опухолями головного мозга), синдром Мейгса, рак головного мозга, а также головы и шеи (brain, as well as head and neck cancer), и связанные с ними метастазы. В некоторых вариантах осуществления, указанный рак представляет собой колоректальный рак. В некоторых вариантах осуществления, рак выбирают из немелкоклеточного рака легкого, глиобластомы, нейробластомы, почечно-клеточного рака, рака мочевого пузыря, рака яичника, меланомы, рака молочной железы, рака желудка, и печечно-клеточного рака. В некоторых вариантах осуществления, указанный рак представляет собой трижды негативный рак молочной железы. В некоторых вариантах осуществления, рак может быть раком ранней стадии или раком поздней стадии. В некоторых вариантах осуществления, рак может быть первичной опухолью. В некоторых вариантах осуществления, рак может быть метастатической опухолью во втором очаге, образовавшемся из любого из вышеуказанных типов рака.

[0393] В некоторых вариантах осуществления, анти-CD33 антитела согласно настоящему раскрытию могут быть использованы для предотвращения, снижения риска или лечения рака, включая, без ограничений, рак мочевого пузыря, рак молочной железы, рак ободочной и прямой кишки, эндометриальный рак, рак почки, почечноклеточный рак, рак почечной лоханки, лейкоз, рак легкого, меланому, неходжкинскую лимфому, рак поджелудочной железы, рак предстательной железы, рак яичника, фибросаркому и рак щитовидной железы.

[0394] В некоторых вариантах осуществления, настоящее раскрытие предусматривает способы предотвращения, снижения риска или лечения индивидуума с раком путем введения индивидууму терапевтически эффективного количества анти-CD33

антитела согласно настоящему раскрытию.

[0395] В некоторых вариантах осуществления, способ дополнительно включает введение индивидууму по меньшей мере одного антитела, которое специфически связывается с молекулой, ингибирующей иммунную контрольную точку, и/или другой стандартной или исследовательской противораковой терапией. В некоторых вариантах осуществления, по меньшей мере одно антитело, которое специфически связывается с молекулой, ингибирующей контрольную точку, вводят в комбинации с анти-CD33 антителом согласно настоящему раскрытию. В некоторых вариантах осуществления, по меньшей мере одно антитело, которое специфически связывается с молекулой, ингибирующей контрольную точку, выбирают из анти-PD-L1 антитела, анти-CTLA-4 антитела, анти-PD-L2 антитела, анти-PD-1 антитела, анти-B7-H3 антитела, анти-B7-H4 антитела и анти-HVEM антитела, антитела против В- и Т-лимфоцитарного аттенюатора (BTLA), антитела против ингибиторного рецептора киллера (KIR), анти-GAL9 антитела, анти-TIM3 антитела, анти-A2AR антитела, анти-LAG-3 антитела, антифосфатидилсеринового антитела, анти-CD27 антител, и любой их комбинации. В некоторых вариантах осуществления, стандартная или исследовательская противораковая терапия представляет собой одну или более терапий, выбранных из лучевой терапии, цитотоксической химиотерапии, таргетной терапии, иматиниба (гливек (Gleevec®)), трастузумаба (герцептин (Herceptin®)), адоптивного клеточного переноса (АСТ), переноса химерного антигенного рецептора Т-клеток (CAR-T), вакцинотерапии, и цитокиновой терапии.

[0396] В некоторых вариантах осуществления, способ дополнительно включает введение индивидууму по меньшей мере одного антитела, которое специфически связывается с ингибирующим цитокином. В некоторых вариантах осуществления, по меньшей мере одно антитело, которое специфически связывается с ингибирующим цитокином, вводят в комбинации с анти-CD33 антителом согласно настоящему раскрытию. В некоторых вариантах осуществления, по меньшей мере одно антитело, которое специфически связывается с ингибирующим цитокином, выбирают из анти-CCL2 антитела, анти-CSF-1 антитела, анти-IL-2 антитела, и любой их комбинации.

[0397] В некоторых вариантах осуществления, способ дополнительно включает введение индивидууму по меньшей мере одного агонистического антитела, которое специфически связывается с белком, стимулирующим иммунную контрольную точку. В некоторых вариантах осуществления, по меньшей мере одно агонистическое антитело, которое специфически связывается со стимулирующим белком контрольной точки, вводят в комбинации с анти-CD33 антителом согласно настоящему раскрытию. В некоторых вариантах осуществления, по меньшей мере одно агонистическое антитело, которое специфически связывается со стимулирующим белком контрольной точки, выбирают из агонистического анти-CD40 антитела, агонистического анти-OX40 антитела, агонистического анти-ICOS антитела, агонистического анти-CD28 антитела, агонистического анти-CD137/4-1BB антитела, агонистического анти-CD27 антитела,

агонистического антитела против глюкокортикоид-индуцируемого TNFR-родственного белка GITR, и любой их комбинации.

[0398] В некоторых вариантах осуществления, способ дополнительно включает введение индивидууму по меньшей мере одного стимулирующего цитокина. В некоторых вариантах осуществления, по меньшей мере один стимулирующий цитокин вводят в комбинации с анти-CD33 антителом согласно настоящему раскрытию. В некоторых вариантах осуществления, по меньшей мере один стимулирующий цитокин выбирают из TNF- α , IL-6, IL-8, CRP, члена семейства IL-20, LIF, OSM, CNTF, IL-11, IL-12, IL-17, IL-8, CRP, IFN- α , IFN- β , IL-2, IL-18, GM-CSF, G-CSF, и любой их комбинации.

Наборы/Изделия

[0399] Настоящее раскрытие также предусматривает наборы и/или изделия, содержащие анти-CD33 антитело, описанное в настоящем описании, или его функциональный фрагмент. Наборы и/или изделия согласно настоящему раскрытию могут содержать один или более контейнеров, содержащих очищенное антитело согласно настоящему раскрытию. В некоторых вариантах осуществления, наборы и/или изделия дополнительно содержат инструкции по использованию в соответствии со способами согласно настоящему раскрытию.

[0400] В некоторых вариантах осуществления, такие инструкции включают описание введения анти-CD33 антитела, описанного в настоящем описании, для предотвращения, снижения риска или лечения индивидуума с заболеванием, расстройством или поражением, выбранным из деменции, лобно-височной деменции, болезни Альцгеймера, сосудистой деменции, смешанной деменции, болезни Крейтцфельда-Якоба, нормотензивной гидроцефалии, бокового амиотрофического склероза, болезни Гентингтона, таупатии, болезни Насу-Хаккола, инсульта, острой травмы, хронической травмы, волчанки, острого и хронического колита, ревматоидного артрита, заживления ран, болезни Крона, воспалительного заболевания кишечника, неспецифического язвенного колита, ожирения, малярии, эссенциального тремора, волчанки центральной нервной системы, болезни Бехчета, болезни Паркинсона, деменции с тельцами Леви, мультисистемной атрофии, синдрома Шая-Дрейджера, прогрессирующего надъядерного паралича, кортикобазальной ганглионарной дегенерации, острого рассеянного энцефаломиелита, гранулематозных расстройств, саркоидоза, болезней старения, эпилептических припадков, повреждения спинного мозга, травматического повреждения головного мозга, возрастной макулярной дегенерации, глаукомы, пигментного ретинита, дегенерации сетчатки, инфекции дыхательных путей, сепсиса, глазной инфекции, системной инфекции, волчанки, артрита, рассеянного склероза, низкой плотности костной ткани, остеопороза, остеогенеза, остеопетрозного заболевания, деформирующего остита и рака, включая рак мочевого пузыря, рак головного мозга, рак молочной железы, рак толстой кишки, рак прямой кишки, эндометриальный рак, рак почки, почечноклеточный рак, рак почечной лоханки, лейкоз, рак легкого, меланому, неходжкинскую лимфому, рак поджелудочной железы, рак

предстательной железы, рак яичника, фибросаркому, острый лимфобластный лейкоз (ОЛЛ), острый миелолейкоз (ОМЛ), хронический лимфоцитарный лейкоз (ХЛЛ), хронический миелоидный лейкоз (ХМЛ), множественную миелому, истинную красную полицитемию, эссенциальный тромбоцитоз, первичный или идиопатический миелофиброз, первичный или идиопатический миелосклероз, опухоли миелоидного происхождения, опухоли, экспрессирующие CD33, рак щитовидной железы, инфекции, герпес ЦНС, паразитарные инфекции, трипаносомную инфекцию, инфекцию *Trypanosoma cruzi*, инфекцию *Pseudomonas aeruginosa*, инфекцию *Leishmania donovani*, инфекцию *Streptococcus* группы В, инфекцию *Campylobacter jejuni*, инфекцию *Neisseria meningitidis*, ВИЧ типа I, и палочку Пфайффера (*Haemophilus influenza*), в соответствии с любыми способами согласно настоящему раскрытию.

[0401] В некоторых вариантах осуществления, инструкции содержат описание того, каким образом следует детектировать белок CD33, например, у индивидуума, в образце ткани, или в клетке. Набор и/или изделие могут дополнительно содержать описание выбора индивидуума, пригодного для лечения на основании определения наличия заболевания у этого индивидуума, и стадии заболевания.

[0402] В некоторых вариантах осуществления, наборы и/или изделия могут дополнительно содержать другое антитело согласно настоящему раскрытию (например, по меньшей мере одно антитело, которое специфически связывается с молекулой, ингибирующей контрольную точку, по меньшей мере одно антитело, которое специфически связывается с ингибирующим цитокином, и/или по меньшей мере одно агонистическое антитело, которое специфически связывается со стимулирующим белком контрольной точки) и/или по меньшей мере один стимулирующий цитокин. В некоторых вариантах осуществления, наборы и/или изделия могут дополнительно содержать инструкции по использованию антитела и/или стимулирующего цитокина в комбинации с анти-CD33 антителом, описанным в настоящем описании, инструкции по использованию анти-CD33 антитела, описанного в настоящем описании, в комбинации с антителом и/или стимулирующим цитокином, или инструкции по использованию анти-CD33 антитела, описанного в настоящем описании, и антитела и/или стимулирующего цитокина, в соответствии с любыми способами согласно настоящему раскрытию.

[0403] Инструкции, как правило, включают информацию, касающуюся дозировки, схемы приема и пути введения предполагаемого лечения. Контейнеры могут быть унифицированными дозами, многодозовыми (bulk packages) (например, многодозовыми (multi-dose) упаковками) или менее чем разовыми (sub-unit) дозами. Инструкции, вкладываемые в наборы и/или изделия согласно настоящему раскрытию, типично представляют собой письменные инструкции на ярлыке или вкладыше в упаковку (например, на бумажном листе, включенном в набор), но приемлемыми являются также машинно-считываемые инструкции (например, инструкции на магнитном или оптическом запоминающем диске).

[0404] Ярлык или вкладыш в упаковку указывают, что композиция используется

для лечения, например, заболевания согласно настоящему раскрытию. Могут быть предусмотрены инструкции для осуществления любого из способов, описанных в настоящем описании.

[0405] Наборы и/или изделия согласно настоящему раскрытию находятся в пригодной упаковке. Пригодная упаковка включает, без ограничений, флаконы, бутылки, банки, гибкую упаковку (например, запечатанные лавсановые (Mylar) или пластиковые пакеты) и т.п. Также предусматриваются упаковки для использования в комбинации с конкретным устройством, таким как ингалятор, устройство для назального введения (например, разбрызгиватель) или инфузионное устройство, такое как мини-насос. Набор и/или изделие может иметь стерильный входной канал (например, контейнер может быть пакетом с раствором для внутривенного введения или флаконом с пробкой, протыкаемой иглой для подкожных инъекций). Контейнер может также иметь стерильный входной канал (например, контейнер может быть пакетом с раствором для внутривенного введения или флаконом с пробкой, протыкаемой иглой для подкожных инъекций). По меньшей мере один активный агент в композиции представляет собой анти-CD33 антитело, описанное в настоящем описании. Контейнер может дополнительно содержать второй фармацевтически активный агент.

[0406] Наборы и/или изделия могут необязательно предусматривать дополнительные компоненты, такие как буферы и пояснительную (interpretive) информацию. Нормально, набор включает контейнер и ярлык или вкладыш(и) в упаковку, на контейнере или связанные с ним.

Диагностическое применение

[0407] Выделенные антитела согласно настоящему раскрытию (например, анти-CD33 антитело, описанное в настоящем описании) также пригодны для использования в диагностике. Настоящее раскрытие, таким образом, относится к способам применения антитела в соответствии с этим раскрытием, или его функциональных фрагментов, в целях диагностики, таких как детектирование белка CD33 у индивидуума или в образцах тканей, полученных от индивидуума.

[0408] В некоторых вариантах осуществления, индивидуум представляет собой человека. В некоторых вариантах осуществления, индивидуум представляет собой пациента, страдающего от, или с риском развития, заболевания, расстройства или поражения согласно настоящему раскрытию. В некоторых вариантах осуществления, диагностические методы предусматривают детектирование белка CD33 в биологическом образце, таком как образец биопсии, ткани, или клеток. Анти-CD33 антитело, описанное в настоящем описании, вводят в контакт с биологическим образцом и детектируют связанное с антигеном антитело. Например, образец биопсии может быть окрашен анти-CD33 антителом, описанным в настоящем описании, для того, чтобы детектировать и/или провести количественное определение связанных с заболеванием клеток. Способ детектирования может включать количественное определение связанного с антигеном антитела. Детектирование антитела в биологических образцах может проводиться любым

способом, известным специалистам, включая иммунофлуоресцентную микроскопию, иммуноцитохимию, иммуногистохимию, ИФА, анализ FACS (сортировка клеток с активацией флуоресценции), иммунопреципитацию, или микро-позитронно-эмиссионную томографию. В некоторых вариантах осуществления, антитело метят радиоактивным изотопом, например, ^{18}F , и затем детектируют с использованием анализа методом микро-позитронно-эмиссионной томографии. Связывание антитела можно также количественно определять у пациента неинвазивными методами, такими как позитронно-эмиссионная томография (ПЭТ), рентгеновская компьютерная томография, однофотонная эмиссионная компьютерная томография (ОФЭКТ), компьютерная томография (КТ), и аксиальная компьютерная томография (АКТ).

[0409] В других вариантах осуществления, выделенное антитело согласно настоящему раскрытию (например, анти-CD33 антитело, описанное в настоящем описании) может быть использовано для детектирования и/или количественного определения, например, микроглии в образце головного мозга, взятом в модели доклинической заболевания (например, не-человеческой модели заболевания). По существу, выделенное антитело согласно настоящему раскрытию (например, анти-CD33 антитело, описанное в настоящем описании) может быть полезным для оценки терапевтического ответа после лечения в модели заболевания или поражения нервной системы, такого как лобно-височная деменция, болезнь Альцгеймера, сосудистая деменция, эпилептические припадки, дистрофия сетчатки, атеросклеротические заболевания сосудов, болезнь Насу-Хакола, или рассеянный склероз, по сравнению с контролем.

[0410] Настоящее раскрытие будет более понятным со ссылками на следующие Примеры. Однако они не должны рассматриваться как ограничивающие объем настоящего раскрытия. Все документы, упоминаемые в раскрытии, настоящим прямо включены в настоящее описание посредством ссылок.

ПРИМЕРЫ

Пример 1: Гуманизация мышинового анти-CD33 антитела, и измерения аффинности таких гуманизированных вариантов

[0411] Целью следующего примера было получение гуманизированных вариантов исходного мышинового антитела CD33, и определение аффинности гуманизированных антител CD33. Исходное мышинное анти-CD33 антитело содержало переменную область тяжелой цепи, содержащую последовательность EVQLQQSGPELVKPGASVKISCKASGYTFTDYNLHWVKLSHGKSLEWIGFIYPSNGITGY NQKFKNKATLTVDNSSSTAYMELRSLTSEDSAVYYCARSTVDYFDYWGGTTTLTVSS (SEQ ID NO: 103), и переменную область легкой цепи, содержащую последовательность DIVLTQSPASLAVSLGQRATMSCRASQSVSTSTYSYMHWYQQKPGQPPKLLIKYASNLE SGVPARFSGSGSGTDFTLNHPVEEЭДТАТYYCQHSWEIPLTFGAGTKLELK (SEQ ID NO: 104). Вышеуказанное мышинное антитело CD33, которое содержит переменную область тяжелой цепи, содержащую последовательность SEQ ID NO:103, и переменную

область легкой цепи, содержащую последовательность SEQ ID NO:104, представляет собой мышиное анти-CD33 антитело 2F5.1, раскрытое в WO 2016/201388.

[0412] Исходное мышиное антитело CD33 (мышиное анти-CD33 антитело 2F5.1) было гуманизировано путем прививки CDR исходного мышиного антитела на каркасы человеческой зародышевой линии, ближайшей к последовательности мышиного антитела. Были также получены антитела с одной или более обратными мутациями каркаса. Всего было получено 88 гуманизированных антител. Химерное антитело, содержащее переменную область тяжелой цепи (SEQ ID NO: 103) и переменную область легкой цепи (SEQ ID NO: 104) исходного мышиного анти-CD33 антитела, также было приготовлено и использовалось для сравнения (as a comparator) (химерное Ab (антитело)). Был также получен вариант химерного Ab – химерное Ab №2, в который была введена мутация в VH-FR3 для удаления предсказанного N-связанного сайта гликозилирования. Химерное Ab №2 содержало переменную область тяжелой цепи EVQLQQSGPELVKPGASVKISCKASGYTFTDYNLHWVKLSHGKSLEWIGFIYPSNGITGY NQKFKNKATLTVDTSSSTAYMELRSLTSEDSAVYYCARSTVDYFDYWGGQTTLTVSS (SEQ ID NO: 167), и переменную область легкой цепи SEQ ID NO: 104.

[0413] Аффинности (K_D) гуманизированных антител к человеческому CD33 измеряли для каждого антитела методом интерферометрии биослоев с помощью анализа ForteBio в соответствии со стандартными методиками (Estep et al. (2013) MAb 5(2): 270–8). Вкратце, генерировали Fab для каждого антитела путем гидролиза папаином, и аффинности мономерных антител к CD33 измеряли следующим образом: человеческий CD33 иммобилизовали на кончике датчика и инкубировали в буфере для анализа, содержащем каждый Fab в концентрации 100 нМ, в течение 180 секунд для измерения скорости ассоциации, после чего кончики датчиков перемещали в буфер для анализа в течение 180 секунд для измерения скорости диссоциации. Анализ проводили при комнатной температуре.

[0414] Большинство из 88 гуманизированных антител продемонстрировали аффинности, не более чем в 3 раза превышающие значение для исходного мышиного антитела (данные не приведены и в Таблице 1). Данные для 8 из этих гуманизированных антител (AB-H2, AB-H9, AB-H14, AB-H15, AB-H63, AB-H64, AB-H65, и AB-H66) приведены в Таблице 1 ниже.

Таблица 1: Моновалентная аффинность гуманизированных антител к CD33

Антитело	Моновалентная аффинность, K_D (M):
Химерное Ab	5,22E-09
AB-H2	3,24E-09
AB-H9	3,50E-09
AB-H14	3,42E-09
AB-H15	5,45E-09
AB-H63	4,07E-09

AB–H64	4,08E–09
AB–H65	8,57E–09
AB–H66	5,54E–09

[0415] Параметры аффинности для 10 из 88 гуманизированных антител (AB–H1, AB–H3, AB–H6, AB–H11, AB–H22, AB–H24, AB–H26, AB–H63, AB–H64, и AB–H71) были измерены в отдельном эксперименте с помощью более чувствительной методики – поверхностного плазмонного резонанса (BIAcore), и в сравнении с Химерным Ab и Химерным Ab №2. Измерения BIAcore проводили следующим образом: человеческий CD33 иммобилизовали на поверхности чипа C1, и Fab впрыскивали на 300 с для контроля ассоциации, с последующим пропуском в течение 900 с потока подвижного буфера для контроля диссоциации. Измерения Fab проводили для 5 концентраций: высокая концентрация, равная 27 нМ, и 3–кратные серийные разбавления. Результаты приведены в **Таблице 2** ниже. 10 гуманизированных антител имели аффинности в диапазоне значений от 1,13 нМ до 6,02 нМ, и превышали значения для химерных Ab до 4 раз.

Таблица 2: Моновалентная аффинность гуманизированных антител к CD33

Антитело	Моновалентный Fab K _D (М)	k _{on} (1/М с)	k _{off} (1/с)	Кратность изменения по сравнению с Химерным Ab
Химерное Ab	1,63E–09	9,95E+05	1,62E–03	–
Химерное Ab №2	2,89E–09	9,91E+05	2,86E–03	0,56
AB–H1	1,58E–09	1,18E+06	1,86E–03	1,03
AB–H3	1,13E–09	1,23E+06	1,40E–03	1,43
AB–H6	1,37E–09	1,10E+06	1,51E–03	1,18
AB–H11	1,33E–09	1,22E+06	1,62E–03	1,22
AB–H22	2,63E–09	6,90E+05	1,82E–03	0,62
AB–H24	6,02E–09	3,79E+05	2,28E–03	0,27
AB–H26	5,86E–09	4,00E+05	2,34E–03	0,28
AB–H63	3,53E–09	7,44E+05	2,63E–03	0,46
AB–H64	2,15E–09	1,03E+06	2,21E–03	0,76
AB–H71	1,88E–09	1,87E+06	3,51E–03	0,87

Пример 2: Снижение экспрессии CD33 клеточной поверхности с использованием гуманизированных антител

[0416] Целью следующего примера было тестирование способности гуманизированных анти–CD33 антител (как описано в Примере 1) снижать уровень CD33 клеточной поверхности на первичных человеческих дендритных клетках.

[0417] Моноциты выделяли из крови здоровых доноров с использованием коктейля

антител для выделения моноцитов RosetteSepTM (Stemcell Technologies). Выделенные моноциты дифференцировали в дендритные клетки с помощью 100 нг/мл GM-CSF (гранулоцитарно–макрофагальный колониестимулирующий фактор) и 100 нг/мл IL-4 (Peprotech). Дендритные клетки высевали в 24–луночные планшеты при 200000 клеток на мл, или в 6–луночные чашки при 500000 клеток в 2 мл RPMI с добавкой 10% Nyclone FBS (сыворотка плода коровы), 2 мМ глутамин, пенициллина/стрептомицина (pen/strep) и заменимых аминокислот. Анти-CD33 антитела, или антитела изотипического контроля, добавляли в лунки и инкубировали в течение 24 часов при 37°C с 5% CO₂. Экспрессию рецептора клеточной поверхности детектировали с помощью анализа FACS в соответствии со стандартными методиками. Вкратце, клетки инкубировали с клоном H1M3-4 анти-CD33-FITC в течение 30 минут на льду в темноте. Клетки промывали дважды в буфере для FACS (PBS+2% FBS, 2 мМ ЭДТА), и проводили проточную цитометрию с помощью BD FACS Canto. Данные анализировали с использованием прикладной программы FlowJo (Ashland, OR), и поверхностную экспрессию CD33 рассчитывали как процент экспрессии рецептора по сравнению с экспрессией в отсутствие антитела.

[0418] Все 88 гуманизированных антител были способны снижать уровень CD33 клеточной поверхности; однако, они продемонстрировали различия в активности, причем многие антитела оказались значительно менее эффективными в снижении CD33 клеточной поверхности, чем исходное антитело. Это было неожиданным, поскольку аффинности антител в 3–4 раза превышали показатели для исходного антитела. Из всех протестированных антител самым активным было АВ-Н64. Сравнение десяти гуманизированных антител (АВ-Н1, АВ-Н3, АВ-Н6, АВ-Н11, АВ-Н22, АВ-Н24, АВ-Н26, АВ-Н63, АВ-Н64, и АВ-Н71) представлено на **Фиг. 1**.

[0419] Полумаксимальные концентрации (EC₅₀) и максимальное снижение экспрессии каждым из этих антител приведены в **Таблице 3** ниже. Несмотря на то, что все антитела имеют схожие аффинности связывания, они продемонстрировали различия в способности снижать уровень CD33 клеточной поверхности, и антитело АВ-Н64 было наиболее активным. Таким образом, другие характеристики кроме аффинности влияют на способность антитела интернализировать его рецептор клеточной поверхности.

Таблица 3: Снижение экспрессии CD33 клеточной поверхности гуманизированными антителами

Антитело	Снижение экспрессии рецептора, (EC ₅₀) (пМ):	Максимальное снижение экспрессии (% оставшегося CD33)
Химерное Ab	86,9	24,1
Химерное Ab 2	118,7	23,2
АВ-Н1	127,3	25,0
АВ-Н3	93,3	21,2
АВ-Н6	168,9	20,6

AB-H11	77,2	23,3
AB-H22	90,1	22,6
AB-H24	72,5	22,2
AB-H26	51,9	21,9
AB-H63	32,0	20,3
AB-H64	29,0	22,4
AB-H71	41,2	25,8

[0420] Хотя гуманизированные антитела продемонстрировали различия в активности снижения уровней CD33 клеточной поверхности по сравнению с исходным мышиным антителом, восемь гуманизированных антител неожиданно проявляли повышенную активность по отношению к антителу сравнения. Данные для этих 8 антител приведены в **Таблице 4** ниже. Из этих антител, AB-H63 и AB-H64 обладали наибольшей активностью снижения экспрессии CD33 клеточной поверхности.

Таблица 4: Снижение экспрессии CD33 клеточной поверхности гуманизированными антителами

Антитело	Снижение экспрессии рецептора, (EC ₅₀) (нМ):
Химерное Ab	74,3
AB-H2	51,7
AB-H9	23,4
AB-H14	42,0
AB-H15	58,6
AB-H63	4,1
AB-H64	13,7
AB-H65	48,1
AB-H66	39,3

[0421] Химерное Ab №2 также было проанализировано на способность снижать CD33 клеточной поверхности. Данные приведены в **Таблице 3** выше. По сравнению с исходным антителом, Химерное Ab, Химерное Ab №2 были неожиданно менее активными в снижении экспрессии CD33. Единственной разницей между этими антителами является наличие N-связанного сайта гликозилирования в VH-FR3 Химерного Ab. В AB-H64, N-связанный сайт гликозилирования также сохраняется в VH-FR3, что позволяет предположить, что гликозилирование Fab в этом антителе может влиять на его активность при интернализации CD33.

Пример 3: Созревание аффинности гуманизированных антител, и характеристика таких антител с созревшей аффинностью

[0422] Целью данного примера было получение и характеристика анти-CD33 антител с созревшей аффинностью.

[0423] Созревание аффинности проводили для трех гуманизированных антител – АВ–Н14, АВ–Н63, и АВ–Н64, методом дрожжевого дисплея. Вкратце, остатки в полинуклеотидах, кодирующих тяжелые или легкие цепи трех гуманизированных антител, мутировали и экспрессировали в дрожжах. Дрожжевые клетки, экспрессирующие мутанты, которые демонстрировали повышенное связывание с растворимым рекомбинантным человеческим белком CD33, были отобраны с помощью нескольких раундов сортировки методом FACS.

[0424] В общей сложности, было выбрано 11 клонов с созревшей аффинностью из линии АВ–Н14, 15 клонов с созревшей аффинностью – из линии АВ–Н63, и 8 клонов – из линии АВ–Н64. Последовательности HVR варибельной области тяжелой цепи антител представлены в **Таблицах 9А–9С** ниже. Последовательности HVR варибельной области легкой цепи антител представлены в **Таблицах 10А–10С** ниже. Каркасные участки тяжелой цепи антител представлены в **Таблицах 11А–11D** ниже. Каркасные участки легкой цепи антител представлены в **Таблицах 12А–12D** ниже. Последовательности варибельной области тяжелой цепи антител представлены в **Таблице 13** ниже. Последовательности варибельной области легкой цепи антител представлены в **Таблице 14** ниже.

[0425] Аффинности АВ–Н64 и его вариантов (**Таблица 5**) к человеческому CD33 были измерены с помощью анализа ForteBio в соответствии со способом, описанным в Примере 1 выше.

Таблица 5А: Измерения аффинности гуманизированного антитела АВ–Н64 и его вариантов к человеческому CD33 с помощью анализа ForteBio

Антитело	Моновалентная аффинность, K_D (М):	Кратность увеличения аффинности по сравнению с исходным Ab (АВ–Н64):
АВ–Н64	2,86E–09	–
АВ–64.1	8,85E–10	3,23
АВ–64.2	7,86E–10	3,64
АВ–64.3	4,38E–10	6,53
АВ–64.4	3,60E–10	7,95
АВ–64.5	3,69E–10	7,76
АВ–64.6	3,36E–10	8,52
АВ–64.7	2,40E–10	11,94
АВ–64.8	2,77E–10	10,32

[0426] Антитела со зрелой аффинностью, полученные из гуманизированного антитела АВ–Н64 (АВ–64.1 – АВ–64.8), демонстрировали повышение аффинности от 3–до 12–кратного, при измерении методом ForteBio, как указано в **Таблице 5А**.

[0427] В отдельном эксперименте, при определении более чувствительным методом ВІАcore, параметры аффинности антител с созревшей аффинностью, полученных

из гуманизированного антитела АВ–Н64, были измерены и подвергнуты сравнению с результатами для химерного Ab, в соответствии со способом, описанным в Примере 1 выше. По сравнению с химерным Ab, антитела с созревшей аффинностью демонстрировали от 15– до 443–кратного повышение аффинности, и по сравнению с АВ–Н64 – продемонстрировали от 20– до 586–кратного повышение аффинности, как указано в Таблице 5В.

Таблица 5В: Измерения аффинности гуманизированного антитела АВ–Н64 и его вариантов к человеческому CD33 методом BIAcore

Антитело	Моновалентный Fab K_D (М)	k_{on} (1/М с)	k_{off} (1/с)	Кратность по сравнению с Химерным Ab	Кратность по сравнению с АВ–Н64
Химерное Ab	1,63E–09	9,95E+05	1,62E–03	–	
АВ–Н64	2,15E–09	1,03E+06	2,21E–03	0,76	–
АВ–64.1	1,05E–10	4,61E+06	4,85E–04	15,45	20,43
АВ–64.2	4,58E–11	3,00E+06	1,37E–04	35,50	46,93
АВ–64.3	5,37E–12	4,98E+06	2,67E–05	302,96	400,57
АВ–64.4	3,67E–12	5,40E+06	1,98E–05	443,10	585,87
АВ–64.5	1,01E–11	6,30E+06	6,33E–05	161,70	213,79
АВ–64.6	6,30E–12	6,26E+06	3,95E–05	258,09	341,24
АВ–64.7	9,97E–12	8,78E+06	8,75E–05	163,17	215,74
АВ–64.8	6,71E–12	7,15E+06	4,80E–05	242,46	320,58
АВ–64.1.2	1,85E–10	2,74E+06	5,07E–04	8,80	11,63
АВ–64.1.8	1,75E–10	3,62E+06	6,34E–04	9,29	12,28

[0428] Антитела со зрелой аффинностью были охарактеризованы на способность снижать уровни CD33 клеточной поверхности. Полумаксимальную эффективную концентрацию (EC_{50}) АВ–Н64 и его вариантов (Таблица 6А) для снижения CD33 на первичных человеческих дендритных клетках измеряют в соответствии со способом, описанным в Примере 2 выше.

Таблица 6А: Снижение экспрессии CD33 клеточной поверхности с помощью АВ–Н64 и его вариантов с созревшей аффинностью

Антитело	Снижение экспрессии рецептора, (EC_{50}) (пМ):
АВ–Н64	36,6
АВ–64.1	18,5
АВ–64.2	31,1
АВ–64.3	25,7
АВ–64.4	23,6

AB-64.5	26,3
AB-64.6	34,0
AB-64.7	30,6
AB-64.8	27,2

[0429] Большинство антител с созревшей аффинностью демонстрировало значительное усиление активности по сравнению с исходными антителами. Неожиданно, наиболее эффективно уровни CD33 снижало AB-64.1, которое не было антителом, имеющим наибольшую аффинность.

[0430] В отдельном эксперименте, два варианта, которые продемонстрировали умеренное 20–50–кратное увеличение аффинности, AB-64.1 и AB-64.2, и два варианта с более значительным увеличением аффинности, от 215– до 340–кратного, AB-64.6 и AB-64.7, сравнивали непосредственно с исходным гуманизированным антителом, AB-H64, и с химерным Ab по их способности снижать уровни CD33 клеточной поверхности, в соответствии со способом, описанным в Примере 2 выше. Данные представлены на **Фиг. 2**, и полумаксимальные эффективные концентрации (EC_{50}) и максимальное снижение CD33 приведены в **Таблице 6В**.

Таблица 6В: Снижение экспрессии CD33 клеточной поверхности гуманизированными антителами

Антитело	Снижение экспрессии рецептора, (EC_{50}) (пМ):	Максимальное снижение экспрессии (% остаточного CD33)
Химерное Ab	86,9	24,1
Химерное Ab 2	118,7	23,2
AB-H64	29,0	22,4
AB-64.1	15,4	27,3
AB-64.2	16,6	26,8
AB-64.6	11,3	30,6
AB-64.7	17,0	31,2
AB-64.1.2	18,9	24,8
AB-64.1.8	28,2	30,1

[0431] Неожиданно, для антител линии H64, антитела CD33 с наивысшей аффинностью не продемонстрировали наибольшей эффективности максимального снижения уровней CD33 клеточной поверхности. Антитела с созревшей аффинностью, AB-64.1 и AB-64.2, имевшие умеренное увеличение аффинности, продемонстрировали наибольшее максимальное снижение CD33. Все антитела с созревшей аффинностью продемонстрировали повышенную активность снижения CD33 клеточной поверхности по сравнению с химерным Ab или гуманизированным антителом, AB-H64. Из всех антител с созревшей аффинностью, AB-64.1 (а также его вариант AB-64.1.2) стабильно

демонстрировало наибольшее повышение активности по сравнению с Химерным Ab и гуманизированным антителом, АВ–Н64.

Пример 4: Оценка аффинности и значений EC_{50} для антител с дополнительными аминокислотными модификациями.

[0432] Целью данного примера было определение того, влияют ли дополнительные аминокислотные модификации, предназначенные для удаления потенциально нежелательных для производства (manufacturing liability) последовательностей, на аффинность антител к CD33, или на их способность снижать уровни CD33 клеточной поверхности.

[0433] Дополнительные аминокислотные модификации были сгенерированы в АВ–64.1, и аффинности полученных антител (АВ–64.1.1 – АВ–64.1.15) измеряли с помощью анализа ForteBio (см. способы по Примеру 1) (**Таблица 7** ниже). Параметры аффинности двух антител, 64.1.2 и 64.1.8, измеряли в отдельном эксперименте с помощью анализа ВІАcore, в котором их непосредственно сравнивали с исходным антителом АВ–64.1. исходным гуманизированным антителом АВ–Н64, и химерным Ab. Данные приведены в **Таблице 5В** выше.

Таблица 7: Измерения аффинности модифицированных вариантов АВ–64.1

Антитело	Моновалентная аффинность, K_D (М):
АВ–64.1	4,99E–10
АВ–64.1.1	4,29E–10
АВ–64.1.2	9,02E–10
АВ–64.1.3	6,47E–10
АВ–64.1.4	6,39E–10
АВ–64.1.5	6,97E–10
АВ–64.1.6	8,36E–10
АВ–64.1.7	3,91E–10
АВ–64.1.8	8,02E–10
АВ–64.1.9	1,06E–09
АВ–64.1.10	1,45E–09
АВ–64.1.11	1,15E–09
АВ–64.1.12	9,22E–10
АВ–64.1.13	1,45E–09
АВ–64.1.14	7,43E–10
АВ–64.1.15	4,12E–10

[0434] Модификация последовательности HVR–H2 с FIYPSNGITG (SEQ ID NO: 115) на FIYPSN**R**ITG (SEQ ID NO: 119), FIYPSN**Q**ITG (SEQ ID NO: 118), или FIYPSN**V**ITG (SEQ ID NO: 120) не оказывала значительного влияния на аффинность,

поскольку измеренные значения K_D для антител, содержащих такие замены, отличались от исходного антитела АВ–64.1 не более чем в 3 раза.

[0435] Модификация последовательности VH FR3 с YAQKFQGRATLTVDNSTSTAYMELSSLRSEDТАVYYCAR (SEQ ID NO: 12) на YAQKFQGRATLTVDNSASTAYMELSSLRSEDТАVYYCAR (SEQ ID NO: 18), YAQKFQGRATLTVDQSTSTAYMELSSLRSEDТАVYYCAR (SEQ ID NO: 17), YAQKFQGRATLTVDTSTSTAYMELSSLRSEDТАVYYCAR (SEQ ID NO: 16), или YAQKFQGRATLTVDNPTSTAYMELSSLRSEDТАVYYCAR (SEQ ID NO: 19), также не оказывала значительного влияния на аффинность, поскольку измеренные значения K_D антител, содержащих такие замены, также отличались от исходного антитела АВ–64.1 не более чем в 3 раза.

[0436] Антитела с дополнительными аминокислотными модификациями также тестировали на их способность снижать уровни CD33 клеточной поверхности. В **Таблице 8** указаны проценты CD33, оставшихся на поверхности первичных человеческих дендритных клеток, после обработки АВ–64.1 и его вариантами в количестве 0,16 мкг/мл в течение 24 часов.

Таблица 8: Снижение экспрессии CD33 клеточной поверхности с помощью АВ–64.1 и его вариантов

Антитело	Снижение экспрессии рецептора (% оставшегося при 0,16 мкг/мл антитела)
АВ–64.1	37,2
АВ–64.1.1	37,0
АВ–64.1.2	32,4
АВ–64.1.3	38,5
АВ–64.1.4	38,0
АВ–64.1.5	37,3
АВ–64.1.6	37,0
АВ–64.1.7	35,9
АВ–64.1.8	32,7
АВ–64.1.9	37,4
АВ–64.1.10	39,8
АВ–64.1.11	38,6
АВ–64.1.12	38,5
АВ–64.1.13	35,9
АВ–64.1.14	38,4
АВ–64.1.15	38,9

[0437] Модификация последовательности HVR–H2 с FIYPSNGITG (SEQ ID NO: 115) на FIYPSNRITG (SEQ ID NO: 119), FIYPSNQITG (SEQ ID NO: 118), или

FIYPSNVITG (SEQ ID NO: 120) не оказывала значительного влияния на способность антител снижать CD33 клеточной поверхности, поскольку процент CD33, оставшегося на поверхности клетки после инкубации с антителами, содержащими такие модификации, отличался от исходного антитела AB-64.1 не более чем на 5%.

[0438] Модификация последовательности VH FR3 с YAQKFQGRATLTVDNSTSTAYMELSSLRSED~~T~~AVYYCAR (SEQ ID NO: 12) на YAQKFQGRATLTVDNSASTAYMELSSLRSED~~T~~AVYYCAR (SEQ ID NO: 18), YAQKFQGRATLTVDQSTSTAYMELSSLRSED~~T~~AVYYCAR (SEQ ID NO: 17), YAQKFQGRATLTVDTSTSTAYMELSSLRSED~~T~~AVYYCAR (SEQ ID NO: 16), или YAQKFQGRATLTVDNPTSTAYMELSSLRSED~~T~~AVYYCAR (SEQ ID NO: 19), также не оказывала значительного влияния на способность антител снижать CD33 клеточной поверхности, поскольку процент CD33, оставшегося на поверхности клетки после инкубации с антителами, содержащими такие модификации, отличался от исходного антитела AB-64.1 не более чем на 5%.

[0439] В отдельном эксперименте, оценивали способность двух из вариантов, AB-64.1.2 и AB-64.1.8, снижать CD33, и сравнивали ее с исходным антителом AB-64.1, гуманизированным исходным антителом AB-H64, и химерным Ab. В **Таблице 6В** выше приведены полумаксимальная эффективная концентрация (EC₅₀) и максимальное снижение CD33 на поверхности первичных человеческих дендритных клеток после 24 часов воздействия антитела.

[0440] Модификация последовательности HVR-H2 с FIYPSNGITG (SEQ ID NO: 115) на FIYPSNRITG (SEQ ID NO: 119) или FIYPSNQITG (SEQ ID NO: 118) не оказывала значительного влияния на способность антител снижать CD33 клеточной поверхности, поскольку EC₅₀ антител, содержащих такие модификации, не более чем в 2 раза отличалась от исходного антитела AB-64.1, и максимальное снижение CD33 на поверхности клетки после инкубации с антителами, содержащими такие модификации, отличалось от исходного антитела AB-64.1 не более чем на 5%.

[0441] Модификация последовательности VH FR3 с YAQKFQGRATLTVDNSTSTAYMELSSLRSED~~T~~AVYYCAR (SEQ ID NO: 12) на YAQKFQGRATLTVDNSASTAYMELSSLRSED~~T~~AVYYCAR (SEQ ID NO: 18) также не оказывала значительного влияния на способность антител снижать CD33 клеточной поверхности, поскольку EC₅₀ антител, содержащих такие модификации, не более чем в 2 раза отличалась от исходного антитела AB-64.1, и максимальное снижение CD33 на поверхности клетки после инкубации с антителами, содержащими такие модификации, отличалось от исходного антитела AB-64.1 не более чем на 5%.

[0442] AB-64.1.2 продемонстрировало как повышенную активность, так и повышенное максимальное снижение клеточной поверхности по сравнению с AB-64.1.8. В AB-64.1.2 сохраняется потенциальный N-связанный сайт гликозилирования в VH-FR3, в то время как в AB-64.1.8 он был удален, что позволяет предположить, что гликозилирование Fab может влиять на способность этого антитела снижать CD33

клеточной поверхности. По сравнению с исходной линией антител, АВ-64.1.2 обладает схожей активностью снижения CD33 клеточной поверхности по сравнению с его исходным антителом АВ-64.1, демонстрирует 1,5-кратное увеличение активности по сравнению с исходным гуманизированным антителом АВ-Н64, и демонстрирует 4,6-кратное увеличение активности по сравнению с химерным Ab.

Таблица 9А: Последовательности H1 HVR тяжелой цепи анти-CD33 антител по EU или Кабату

Антитело (антитела)	HVR H1	SEQ ID NO:
АВ-Н14; АВ-Н63; АВ-63.6; АВ-63.7; АВ-63.13; АВ-63.14; АВ-Н64; АВ-64.1; АВ-64.2; АВ-64.3; АВ-64.4; АВ-64.1.1; АВ-64.1.2; АВ-64.1.3; АВ-64.1.4; АВ-64.1.5; АВ-64.1.6; АВ-64.1.7; АВ-64.1.8; АВ-64.1.9; АВ-64.1.10; АВ-64.1.11; АВ-64.1.12; АВ-64.1.13; АВ-64.1.14; и АВ-64.1.15	GYTFTDYNLH	105
АВ-14.1	GATFTDYNFH	106
АВ-14.2	GATFTDYNH	107
АВ-14.3; АВ-14.4; АВ-14.5; АВ-14.6; АВ-14.7; АВ-14.8; АВ-14.9; АВ-14.10; АВ-14.11; АВ-63.4; АВ-63.15; АВ-63.16; АВ-63.17; АВ-64.5; АВ-64.6; АВ-64.7; и АВ-64.8	GYTFTDYNH	108
АВ-63.5	GYTFTDYNH	109
АВ-63.8	GVTFTDYNH	110
АВ-63.9	GYAFTDYNLH	111
АВ-63.10	GYTETDYNLH	112
АВ-63.11 и АВ-63.12	GYTFTDYNFH	113
АВ-63.18	GYHTDYNLH	114
Формула I	$GX_1X_2X_3TDYNX_4H$ X_1 представляет собой Y, A, или V X_2 представляет собой T или A X_3 представляет собой F,	152

	Е или Н X ₄ представляет собой L, F, Y или N	
--	---	--

Таблица 9В: Последовательности H2 HVR тяжелой цепи анти-CD33 антител по EU или Кабату

Антитело (антитела)	HVR H2	SEQ ID NO:
AB-H14; AB-14.1; AB-14.2; AB-14.3; AB-14.4; AB-14.5; AB-14.6; AB-14.7; AB-14.8; AB-14.9; AB-14.10; AB-14.11; AB-H63; AB-63.4; AB-63.5; AB-63.6; AB-63.7; AB-63.8; AB-63.9; AB-63.10; AB-63.12; AB-63.14; AB-63.15; AB- 63.16; AB-63.17; AB-63.18; AB-H64; AB- 64.1; AB-64.2; AB-64.3; AB-64.4; AB- 64.5; AB-64.6; AB-64.7; AB-64.8; AB- 64.1.4; AB-64.1.5; AB-64.1.6; и AB-64.1.7	FIYPSNGITG	115
AB-63.11	FIYPANGITG	116
AB-63.13	FIYPSNGIRG	117
AB-64.1.1; AB-64.1.8; и AB-64.1.9	FIYPSNQITG	118
AB-64.1.2; AB-64.1.10; AB- 64.1.11; и AB-64.1.12	FIYPSNRITG	119
AB-64.1.3; AB-64.1.13; AB- 64.1.14; и AB-64.1.15	FIYPSNVITG	120
Формула II	FIYPX ₁ NX ₂ IX ₃ G X ₁ представляет собой S или A X ₂ представляет собой G, Q, R или V X ₃ представляет собой T или R	153

Таблица 9С: Последовательности H3 HVR тяжелой цепи анти-CD33 антител по EU или Кабату

Антитело (антитела)	HVR H3	SEQ ID NO:
AB-H14; AB-14.4; AB-H63; AB-63.4; AB-63.6; AB-63.7; AB-63.8; AB-H64; и	STVDYFDY	121

AB-64.2		
AB-14.1; AB-14.3; AB-14.5; AB-14.6; AB-14.7; AB-14.8; AB-14.9; AB-14.10; AB-63.5; AB-63.9; AB-63.10; AB-63.11; AB-63.13; AB-63.14; AB-63.16; AB- 63.17; AB-63.18; AB-64.1; AB-64.4; AB- 64.5; AB-64.6; AB-64.7; AB-64.8; AB- 64.1.1; AB-64.1.2; AB-64.1.3; AB-64.1.4; AB-64.1.5; AB-64.1.6; AB-64.1.7; AB- 64.1.8; AB-64.1.9; AB-64.1.10; AB- 64.1.11; AB-64.1.12; AB-64.1.13; AB- 64.1.14; и AB-64.1.15	SDVDYFDY	122
AB-14.2 и AB-64.3	SFVDYFDY	123
AB-14.11	SSVDYFDY	124
AB-63.12	STVDYFDD	125
AB-63.15	SDVDYFDL	126
Формула III	$SX_1VDYFDX_2$ X_1 представляет собой T, D, F, или S X_2 представляет собой Y, D или L	154

Таблица 10А: Последовательности L1 HVR легкой цепи анти-CD33 антител по EU или Кабату

Антитело (антитела)	HVR L1	SEQ ID NO:
AB-H14; AB-14.1; AB-H63; AB-63.4; AB-63.5; AB-63.13; AB-63.18; AB-H64; AB-64.1; AB-64.1.1; AB-64.1.2; AB- 64.1.3; AB-64.1.4; AB-64.1.5; AB-64.1.6; AB-64.1.7; AB-64.1.8; AB-64.1.9; AB- 64.1.10; AB-64.1.11; AB-64.1.12; AB- 64.1.13; AB-64.1.14; и AB-64.1.15	RASQSVSTSTYSYMH	127
AB-14.6; AB-14.7; AB-14.8; AB-14.9; AB-64.5; и AB-64.7	RASQSVGTSTYSYMH	128
AB-14.10	RASQSVSASTYSYMH	129
AB-14.2, AB-14.3; AB-14.4; AB-14.5;	RASQDVSTSTYSYMH	130

AB-14.11; AB-63.6; AB-63.7; AB-63.8; AB-63.9; AB-63.10; AB-63.11; AB-63.12; AB-63.15; AB-64.3; AB-64.4; AB-64.6; и AB-64.8		
AB-63.14	KASQDVSTSTYSYMH	131
AB-63.16	RASQSVHTSTYSYMH	132
AB-63.17	RGSQSVSTSTYSYMH	133
AB-64.2	RVSQDVSTSTYSYMH	134
Формула IV	$X_1X_2SQX_3VX_4X_5STYSY$ MH X_1 представляет собой R или K X_2 представляет собой A, G, или V X_3 представляет собой S или D X_4 представляет собой S, G, или H X_5 представляет собой T или A	155

Таблица 10B: Последовательности L2 HVR легкой цепи анти-CD33 антител по EU или Кабату

Антитело (антитела)	HVR L2	SEQ ID NO:
AB-H14; AB-14.1; AB-14.2; AB-14.5; AB-14.7; AB-14.10; AB-H63; AB-63.4; AB-63.5; AB-63.6; AB-63.8; AB-63.10; AB-63.11; AB-63.13; AB-63.14; AB-63.16; AB-H64; AB-64.1; AB-64.2; AB-64.5; AB-64.8; AB-64.1.1; AB-64.1.2; AB-64.1.3; AB-64.1.4; AB-64.1.5; AB-64.1.6; AB-64.1.7; AB-64.1.8; AB-64.1.9; AB-64.1.10; AB-64.1.11; AB-64.1.12; AB-64.1.13; AB-64.1.14; и AB-64.1.15	YASNLES	135
AB-14.3; AB-14.4; и AB-14.11	YVSNLES	136
AB-14.6	YASALES	137

AB-14.8	YASNLGS	138
AB-14.9	YAVNLES	139
AB-63.7	YAFNLES	140
AB-63.9; AB-64.3; и AB-64.4	YASYLES	141
AB-63.12 и AB-63.15	YASNVES	142
AB-63.17 и AB-63.18	YESNLES	143
AB-64.6	YASFLES	144
AB-64.7	YASNLNS	145
Формула V	$YX_1X_2X_3X_4X_5S$ X_1 представляет собой A, V или E X_2 представляет собой S, V или F X_3 представляет собой N, A, Y или F X_4 представляет собой L или V X_5 представляет собой E, G, или N	156

Таблица 10С: Последовательности L3 HVR легкой цепи анти-CD33 антител по EU или Кабату

Антитело (антитела)	HVR L3	SEQ ID NO:
AB-H14; AB-14.1; AB-14.2; AB-14.3; AB-14.4; AB-14.5; AB-14.6; AB-14.7; AB-14.8; AB-14.9; AB-14.10; AB-14.11; AB-H63; AB-63.4; AB-63.5; AB-63.6, AB-63.8; AB-63.11; AB-63.14; AB-63.15; AB-63.16; AB-63.17; AB-63.18; AB-H64; AB-64.1; AB-64.2; AB-64.5; AB-64.6; AB-64.8; AB-64.1.1; AB-64.1.2; AB- 64.1.3; AB-64.1.4; AB-64.1.5; AB-64.1.6; AB-64.1.7; AB-64.1.8; AB-64.1.9; AB- 64.1.10; AB-64.1.11; AB-64.1.12; AB- 64.1.13; AB-64.1.14; и AB-64.1.15	QHSWEIPLT	146
AB-63.7	QHSWEIPLE	147

AB-63.9; AB-64.3; и AB-64.4	EHSWEIPLT	148
AB-63.10	QHSWELPLT	149
AB-63.12	QHSWAIPLT	150
AB-63.13 и AB-64.7	QHSEEIPLT	151
Формула VI	$X_1HSX_2X_3X_4PLX_5$ X_1 представляет собой Q или E X_2 представляет собой W или E X_3 представляет собой E или A X_4 представляет собой I или L X_5 представляет собой T или E	157

Таблица 11А: Последовательности каркасного участка 1 тяжелой цепи анти-CD33 антител по EU или Кабату

Антитело (антитела)	VH FR1	SEQ ID NO:
AB-H14; AB-14.1; AB-14.2; AB-14.3; AB-14.4; AB-14.5; AB-14.6; AB-14.7; AB-14.8; AB-14.9; AB-14.10; AB-14.11; AB-H63; AB-63.4; AB-63.5; AB-63.6; AB-63.7; AB-63.9; AB-63.10; AB-63.11; AB-63.12; AB-63.13; AB-63.15; AB-63.16; и AB-63.17	QVQLVQSGAEVKKPGASVK VSCAS	2
AB-63.8; AB-63.14; и AB-63.18	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKV SCKAS	3
AB-H64; AB-64.1; AB-64.2; AB-64.3; AB-64.4; AB-64.5; AB-64.6; AB-64.7; AB-64.8; AB-64.1.1; AB-64.1.2; AB-64.1.3; AB-64.1.4; AB-64.1.5; AB-64.1.6; AB-64.1.7; AB-64.1.8; AB-64.1.9; AB-64.1.10; AB-64.1.11; AB-64.1.12; AB-64.1.13; AB-64.1.14; и AB-64.1.15	QVQLVQSGAEVKKPGASVKI SCKAS	4

Формула VII	QVQLVQSGAEVKKPGX ₁ SVK X ₂ SCKAS X ₁ представляет собой A или S X ₂ представляет собой V или I	158
-------------	---	-----

Таблица 11В: Последовательности каркасного участка 2 тяжелой цепи анти-CD33 антител по EU или Кабату

Антитело (антитела)	VH FR2	SEQ ID NO:
AB-H14; AB-14.1; AB-14.2; AB-14.3; AB-14.4; AB-14.5; AB-14.6; AB-14.7; AB-14.8; AB-14.9; AB-14.10; AB-14.11; AB-H63; AB-63.4; AB-63.5; AB-63.6; AB-63.7; AB-63.8; AB-63.9; AB-63.10; AB-63.11; AB-63.12; AB-63.13; AB-63.14; AB-63.15; AB-63.16; AB-63.17; AB-63.18; AB-H64; AB-64.1; AB-64.2; AB-64.3; AB-64.4; AB-64.5; AB-64.6; AB-64.7; AB-64.8; AB-64.1.1; AB-64.1.2; AB-64.1.3; AB-64.1.4; AB-64.1.5; AB-64.1.6; AB-64.1.7; AB-64.1.8; AB-64.1.9; AB-64.1.10; AB-64.1.11; AB-64.1.12; AB-64.1.13; AB-64.1.14; и AB-64.1.15	WVRQAPGQGLE WIG	5

Таблица 11С: Последовательности каркасного участка 3 тяжелой цепи анти-CD33 антител по EU или Кабату

Антитело (антитела)	VH FR3	SEQ ID NO:
AB-H14; AB-14.4; AB-14.5; AB-14.6; AB-14.7; AB-14.8; AB-14.9; AB-14.10; AB-14.11; AB-H63; AB-63.4; AB-63.5;	YAQKFQGRVTMTVDTSTSTVYMELSSLRSEDТАVY YCAR	6

AB-63.6; AB-63.7; AB-63.9; AB-63.10; AB-63.13; AB-63.14; AB-63.15; AB-63.16; AB-63.17; и AB-63.18		
AB-14.1	YAQDFQGRVTMTVDTSTSTVYMELSSLRSEDТАVY YCAR	7
AB-14.2 и AB-63.8	YAQKFQDRVTMTVDTSTSTVYMELSSLRSEDТАVY YCAR	8
AB-14.3	SAQKFQGRVTMTVDTSTSTVYMELSSLRSEDТАVY YCAR	9
AB-63.11	YAQKDQGRVTMTVDTSTSTVYMELSSLRSEDТАVY YCAR	10
AB-63.12	YAQKFTGRVTMTVDTSTSTVYMELSSLRSEDТАVY YCAR	11
AB-H64; AB-64.1; AB-64.2; AB-64.4; AB-64.6; AB-64.7; AB-64.1.1; AB-64.1.2; и AB-64.1.3	YAQKFQGRATLTVDNSTSTAYMELSSLRSEDТАVYY CAR	12
AB-64.3	YAEKFEGRATLTVDNSTSTAYMELSSLRSEDТАVYY CAR	13
AB-64.5	YAQKFFGRATLTVDNSTSTAYMELSSLRSEDТАVYY CAR	14
AB-64.8	YAQKFQHRATLTVDNSTSTAYMELSSLRSEDТАVYY	15

	CAR	
AB-64.1.4; AB-64.1.10; и AB-64.1.13	YAQKFQGRATLTVDTSTSTAYMELSSLRSEDVAVYY CAR	16
AB-64.1.5; AB-64.1.11; и AB-64.1.14	YAQKFQGRATLTVDQSTSTAYMELSSLRSEDVAVYY CAR	17
AB-64.1.6; AB-64.1.8; AB-64.1.12; и AB-64.1.15	YAQKFQGRATLTVDNSASTAYMELSSLRSEDVAVY YCAR	18
AB-64.1.7 и AB-64.1.9	YAQKFQGRATLTVDNPTSTAYMELSSLRSEDVAVYY CAR	19
Формула VIII	$X_1AX_2X_3X_4X_5X_6RX_7TX_8TVDX_9X_{10}X_{11}STX_{12}YMELSSL$ RSEDVAVYYCAR X_1 представляет собой Y или S X_2 представляет собой Q или E X_3 представляет собой K или D X_4 представляет собой F или D X_5 представляет собой Q, F, E или T X_6 представляет собой G, D или H X_7 представляет собой V или A X_8 представляет собой M или L X_9 представляет собой T, N или Q X_{10} представляет собой S или P X_{11} представляет собой T или A X_{12} представляет собой V или A	159

Таблица 11D: Последовательности каркасного участка 4 тяжелой цепи анти-CD33 антител по EU или Кабату

Антитело (антитела)	VH FR4	SEQ ID NO:
AB-H14; AB-14.1; AB-14.2; AB-14.3; AB-14.4; AB-14.5; AB-14.6; AB-14.7; AB-14.8; AB-14.9; AB-14.10; AB-14.11; AB-H63; AB-63.4; AB-63.5; AB-63.6; AB-63.7; AB-63.8; AB-63.9; AB-63.10; AB-63.11; AB-63.12; AB-63.13; AB-63.14; AB-	WGQGTLVTVSS	20

63.15; AB-63.16; AB-63.17; и AB-63.18		
AB-H64; AB-64.1; AB-64.2; AB-64.3; AB-64.4; AB-64.5; AB-64.6; AB-64.7; AB-64.8; AB-64.1.1; AB-64.1.2; AB-64.1.3; AB-64.1.4; AB-64.1.5; AB- 64.1.6; AB-64.1.7; AB-64.1.8; AB-64.1.9; AB- 64.1.10; AB-64.1.11; AB-64.1.12; AB-64.1.13; AB- 64.1.14; и AB-64.1.15	WGQGTLLTVSS	21
Формула IX	WGQGT X_1 TVS S X_1 представляет собой V или L	160

Таблица 12А: Последовательности каркасного участка 1 легкой цепи анти-CD33 антител по EU или Кабату

Антитело (антитела)	VL FR1	SEQ ID NO:
AB-H14; AB-14.1; AB-14.2; AB-14.3; AB-14.4; AB-14.5; AB-14.6; AB-14.7; AB-14.10; и AB-14.11	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITTC	22
AB-14.8	DIQMTQSPSSLPASVGDRVITTC	23
AB-14.9	GIQMTQSPSSLSASVGDRVITTC	24
AB-H63; AB-63.4; AB-63.5; AB-63.6; AB-63.7; AB-63.8; AB-63.9; AB-63.10; AB- 63.11; AB-63.12; AB-63.13; AB-63.14; AB-63.15; AB- 63.16; AB-63.17; AB-63.18; AB-H64; AB-64.1; AB-64.2; AB-64.3; AB-64.4; AB-64.5; AB-64.6; AB-64.7; AB-64.8; AB-64.1.1; AB-64.1.2; AB- 64.1.3; AB-64.1.4; AB-64.1.5; AB-64.1.6; AB-64.1.7; AB- 64.1.8; AB-64.1.9; AB- 64.1.10; AB-64.1.11; AB- 64.1.12; AB-64.1.13; AB-	DIVLTQSPDSLAVSLGERATINC	25

64.1.14; и AB-64.1.15		
AB-63.14	DIVLTQSPDSLAVSLGERATIDC	26
Формула X	$X_1IX_2X_3TQSPX_4SLX_5X_6SX_7GX_8RX_9T$ $IX_{10}C$ X_1 представляет собой D или G X_2 представляет собой Q или V X_3 представляет собой M или L X_4 представляет собой S или D X_5 представляет собой S, P или A X_6 представляет собой A или V X_7 представляет собой V или L X_8 представляет собой D или E X_9 представляет собой V или A X_{10} представляет собой T, N или D	161

Таблица 12В: Последовательности каркасного участка 2 легкой цепи анти-CD33 антител по EU или Кабату

Антитело (антитела)	VL FR2	SEQ ID NO:
AB-H14; AB-14.1; AB-14.2; AB-14.3; AB-14.4; AB-14.6; AB-14.7; AB-14.8; AB-14.9; AB-14.10; и AB-14.11	WYQQKPGKAPKLLIK	27
AB-H63; AB-63.4; AB-63.5; AB-63.6; AB-63.7; AB-63.8; AB-63.9; AB-63.10; AB-63.11; AB-63.12; AB-63.13; AB-63.14; AB-63.15; AB-63.16; AB-63.17; AB-63.18; AB-H64; AB-64.1; AB-64.2; AB-64.3; AB-64.4; AB-64.5; AB-64.6; AB-64.7; AB-64.8; AB-64.1.1; AB-64.1.2; AB-64.1.3; AB-64.1.4; AB-64.1.5; AB-64.1.6; AB-64.1.7; AB-64.1.8; AB-64.1.9; AB-64.1.10; AB-64.1.11; AB-64.1.12; AB-64.1.13; AB-64.1.14; и AB-64.1.15	WYQQKPGQPPKLLIK	28
AB-14.5	WYQRKPGKAPKLLIK	168
Формула XI	$WYQQKPGX_1X_2PKLLIK$ X_1 представляет собой K или Q	162

	X ₂ представляет собой A или P	
Формула XIV	WYQX ₁ KPGX ₂ X ₃ PKLLIK X ₁ представляет собой Q или R X ₂ представляет собой K или Q X ₃ представляет собой A или P	169

Таблица 12С: Последовательности каркасного участка 3 легкой цепи анти-CD33 антител по EU или Кабату

Антитело (антитела)	VL FR3	SEQ ID NO:
AB-H14; AB-14.1; AB-14.2; AB-14.3; AB-14.4; AB-14.5; AB-14.6; AB-14.7; AB-14.8; AB-14.9; и AB-14.11	GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATY YC	29
AB-14.10	GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDLATY YC	30
AB-H63; AB-63.4; AB-63.5; AB-63.6; AB-63.7; AB-63.8; AB-63.9; AB-63.10; AB-63.11; AB-63.12; AB-63.13; AB-63.14; AB-63.15; AB-63.16; AB-63.17; AB-63.18; AB-H64; AB-64.1; AB-64.2; AB-64.3; AB-64.4; AB-64.5; AB-64.6; AB-64.7; AB-64.8; AB-64.1.1; AB-64.1.2; AB-64.1.3; AB-64.1.4; AB-64.1.5; AB-64.1.6; AB-64.1.7; AB-64.1.8; AB-	GVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAV YYC	31

64.1.9; AB-64.1.10; AB-64.1.11; AB-64.1.12; AB-64.1.13; AB-64.1.14; и AB-64.1.15		
Формула XII	GVPX ₁ RFSGSGSGTDFTLTISSLQX ₂ EDX ₃ A X ₄ YYC X ₁ представляет собой S или D X ₂ представляет собой P или A X ₃ представляет собой F, L или V X ₄ представляет собой T или V	163

Таблица 12D: Последовательности каркасного участка 4 легкой цепи анти-CD33 антител EU или Кабату

Антитело (антитела)	VL FR4	SEQ ID NO:
AB-H14; AB-14.1; AB-14.2; AB-14.3; AB-14.4; AB-14.5; AB-14.6; AB-14.7; AB-14.8; AB-14.9; AB-14.10; AB-14.11; AB-H63; AB-63.4; AB-63.5; AB-63.6; AB-63.7; AB-63.8; AB-63.9; AB-63.10; AB-63.11; AB-63.12; AB-63.13; AB-63.14; AB-63.16; AB-63.17; AB-63.18; AB-H64; AB-64.1; AB-64.2; AB-64.3; AB-64.4; AB-64.5; AB-64.6; AB-64.7; AB-64.8; AB-64.1.1; AB-64.1.2; AB-64.1.3; AB-64.1.4; AB-64.1.5; AB-64.1.6; AB-64.1.7; AB-64.1.8; AB-64.1.9; AB-64.1.10; AB-64.1.11; AB-64.1.12; AB-64.1.13; AB-64.1.14; и AB-64.1.15	FGQGTKLEIK	32
AB-63.15	FGQGTKLEIE	33
Формула XIII	FGQGTKLEIX ₁ X ₁ представляет собой K или E	164

Таблица 13: Последовательности варибельной области тяжелой цепи анти-CD33 антител по EU или Кабату

Антитело (антитела)	HCVR	SEQ ID NO:
AB-14.1	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGATFTDYNFH WVRQAPGQGLEWIGFIYPSNGITGYAQDFQGRVTMT VDTSTSTVYMESSLRSEDVAVYYCARSDVDYFDYW GQGTLVTVSS	34
AB-14.2	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGATFTDYNH WVRQAPGQGLEWIGFIYPSNGITGYAQKFQDRVTMT VDTSTSTVYMESSLRSEDVAVYYCARSFVDYFDYW GQGTLVTVSS	35
AB-14.3	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDYNH WVRQAPGQGLEWIGFIYPSNGITGSAQKFQGRVTMT VDTSTSTVYMESSLRSEDVAVYYCARSDVDYFDYW GQGTLVTVSS	36
AB-14.4	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDYNH WVRQAPGQGLEWIGFIYPSNGITGYAQKFQGRVTMT VDTSTSTVYMESSLRSEDVAVYYCADSTVDYFDYW GQGTLVTVSS	37
AB-14.5; AB-14.6; AB-14.7; AB-14.8; AB-14.9; AB-14.10, AB-63.16; и AB-63.17	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDYNH WVRQAPGQGLEWIGFIYPSNGITGYAQKFQGRVTMT VDTSTSTVYMESSLRSEDVAVYYCARSDVDYFDYW GQGTLVTVSS	38
AB-14.11	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDYNH WVRQAPGQGLEWIGFIYPSNGITGYAQKFQGRVTMT VDTSTSTVYMESSLRSEDVAVYYCARSSVDYFDYW GQGTLVTVSS	39
AB-63.4	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDYNH WVRQAPGQGLEWIGFIYPSNGITGYAQKFQGRVTMT VDTSTSTVYMESSLRSEDVAVYYCARSTVDYFDYW GQGTLVTVSS	40

AB-63.5	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDYNNH WVRQAPGQGLEWIGFIYPSNGITGYAQKFQGRVTMT VDTSTSTVYMELSSLRSEDVAVYYCARSDVDYFDYW GQGTLVTVSS	41
AB-H14; AB-H63; AB-63.6; AB-63.7; и AB-H2	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDYNLH WVRQAPGQGLEWIGFIYPSNGITGYAQKFQGRVTMT VDTSTSTVYMELSSLRSEDVAVYYCARSTVDYFDYW GQGTLVTVSS	42
AB-63.8	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGVTFDYNH WVRQAPGQGLEWIGFIYPSNGITGYAQKFQDRVTMT VDTSTSTVYMELSSLRSEDVAVYYCARSTVDYFDYW GQGTLVTVSS	43
AB-63.9	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYAFTDYNLH WVRQAPGQGLEWIGFIYPSNGITGYAQKFQGRVTMT VDTSTSTVYMELSSLRSEDVAVYYCARSDVDYFDYW GQGTLVTVSS	44
AB-63.10	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTETDYNLH WVRQAPGQGLEWIGFIYPSNGITGYAQKFQGRVTMT VDTSTSTVYMELSSLRSEDVAVYYCARSDVDYFDYW GQGTLVTVSS	45
AB-63.11	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDYNFH WVRQAPGQGLEWIGFIYPANGITGYAQKDQGRVTMT VDTSTSTVYMELSSLRSEDVAVYYCARSDVDYFDYW GQGTLVTVSS	46
AB-63.12	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDYNFH WVRQAPGQGLEWIGFIYPSNGITGYAQKFTGRVTMT VDTSTSTVYMELSSLRSEDVAVYYCARSTVDYFDDW GQGTLVTVSS	47
AB-63.13	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDYNLH WVRQAPGQGLEWIGFIYPSNGIRGYAQKFQGRVTMT VDTSTSTVYMELSSLRSEDVAVYYCARSDVDYFDYW GQGTLVTVSS	48
AB-63.14	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFTDYNLHW	49

		VRQAPGQGLEWIGFIYPSNGITGYAQKFQGRVTMTVD TSTSTVYMESSLRSEDТАVYYCARSDVDYFDYWGG GTLTVSS	
AB-63.15		QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCASGYTFTDYNHY WVRQAPGQGLEWIGFIYPSNGITGYAQKFQGRVTMT VDTSTSTVYMESSLRSEDТАVYYCARSDVDYFDLW GGTTLTVSS	50
AB-63.18		QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCASGYTHTDYNLH WVRQAPGQGLEWIGFIYPSNGITGYAQKFQGRVTMT VDTSTSTVYMESSLRSEDТАVYYCARSDVDYFDYW GGTTLTVSS	51
AB-64.1; AB-64.4		QVQLVQSGAEVKKPGASVKISCKASGYTFTDYNLHW VRQAPGQGLEWIGFIYPSNGITGYAQKFQGRATLTVD NSTSTAYMESSLRSEDТАVYYCARSDVDYFDYWGG GTLLTVSS	52
AB-H64 и AB-64.2		QVQLVQSGAEVKKPGASVKISCKASGYTFTDYNLHW VRQAPGQGLEWIGFIYPSNGITGYAQKFQGRATLTVD NSTSTAYMESSLRSEDТАVYYCARSTVDYFDYWGG GTLLTVSS	53
AB-64.3		QVQLVQSGAEVKKPGASVKISCKASGYTFTDYNLHW VRQAPGQGLEWIGFIYPSNGITGYAEKFEGRATLTVD NSTSTAYMESSLRSEDТАVYYCARSFVDYFDYWGG GTLLTVSS	54
AB-64.5		QVQLVQSGAEVKKPGASVKISCKASGYTFTDYNHYHW VRQAPGQGLEWIGFIYPSNGITGYAQKFFGRATLTVD NSTSTAYMESSLRSEDТАVYYCARSDVDYFDYWGG GTLLTVSS	55
AB-64.6 и AB-64.7		QVQLVQSGAEVKKPGASVKISCKASGYTFTDYNHYHW VRQAPGQGLEWIGFIYPSNGITGYAQKFQGRATLTVD NSTSTAYMESSLRSEDТАVYYCARSDVDYFDYWGG GTLLTVSS	56
AB-64.8		QVQLVQSGAEVKKPGASVKISCKASGYTFTDYNHYHW VRQAPGQGLEWIGFIYPSNGITGYAQKFQHRATLTVD NSTSTAYMESSLRSEDТАVYYCARSDVDYFDYWGG	57

	GTLLTVSS	
AB-64.1.1	QVQLVQSGAEVKKPGASVKISCKASGYTFTDYNLHW VRQAPGQGLEWIGFIYPSNQITGYAQKFQGRATLTVD NSTSTAYMELSSLRSEDТАVYYCARSDVDYFDYWGG GTLLTVSS	58
AB-64.1.2	QVQLVQSGAEVKKPGASVKISCKASGYTFTDYNLHW VRQAPGQGLEWIGFIYPSNRITGYAQKFQGRATLTVD NSTSTAYMELSSLRSEDТАVYYCARSDVDYFDYWGG GTLLTVSS	59
AB-64.1.3	QVQLVQSGAEVKKPGASVKISCKASGYTFTDYNLHW VRQAPGQGLEWIGFIYPSNVITGYAQKFQGRATLTVD NSTSTAYMELSSLRSEDТАVYYCARSDVDYFDYWGG GTLLTVSS	60
AB-64.1.4	QVQLVQSGAEVKKPGASVKISCKASGYTFTDYNLHW VRQAPGQGLEWIGFIYPSNGITGYAQKFQGRATLTVD TSTSTAYMELSSLRSEDТАVYYCARSDVDYFDYWGG GTLLTVSS	61
AB-64.1.5	QVQLVQSGAEVKKPGASVKISCKASGYTFTDYNLHW VRQAPGQGLEWIGFIYPSNGITGYAQKFQGRATLTVD QSTSTAYMELSSLRSEDТАVYYCARSDVDYFDYWGG GTLLTVSS	62
AB-64.1.6	QVQLVQSGAEVKKPGASVKISCKASGYTFTDYNLHW VRQAPGQGLEWIGFIYPSNGITGYAQKFQGRATLTVD NSASTAYMELSSLRSEDТАVYYCARSDVDYFDYWGG GTLLTVSS	63
AB-64.1.7	QVQLVQSGAEVKKPGASVKISCKASGYTFTDYNLHW VRQAPGQGLEWIGFIYPSNGITGYAQKFQGRATLTVD NPTSTAYMELSSLRSEDТАVYYCARSDVDYFDYWGG GTLLTVSS	64
AB-64.1.8	QVQLVQSGAEVKKPGASVKISCKASGYTFTDYNLHW VRQAPGQGLEWIGFIYPSNQITGYAQKFQGRATLTVD NSASTAYMELSSLRSEDТАVYYCARSDVDYFDYWGG GTLLTVSS	65
AB-64.1.9	QVQLVQSGAEVKKPGASVKISCKASGYTFTDYNLHW	66

		VRQAPGQGLEWIGFIYPSNQITGYAQKFQGRATLTVD NPTSTAYMELSSLRSEDТАVYYCARSDVDYFDYWGQ GTLLTVSS	
AB-64.1.10		QVQLVQSGAEVKKPGASVKISCKASGYTFTDYNLHW VRQAPGQGLEWIGFIYPSNRITGYAQKFQGRATLTVD TSTSTAYMELSSLRSEDТАVYYCARSDVDYFDYWGQ GTLLTVSS	67
AB-64.1.11		QVQLVQSGAEVKKPGASVKISCKASGYTFTDYNLHW VRQAPGQGLEWIGFIYPSNRITGYAQKFQGRATLTVD QSTSTAYMELSSLRSEDТАVYYCARSDVDYFDYWGQ GTLLTVSS	68
AB-64.1.12		QVQLVQSGAEVKKPGASVKISCKASGYTFTDYNLHW VRQAPGQGLEWIGFIYPSNRITGYAQKFQGRATLTVD NSASTAYMELSSLRSEDТАVYYCARSDVDYFDYWGQ GTLLTVSS	69
AB-64.1.13		QVQLVQSGAEVKKPGASVKISCKASGYTFTDYNLHW VRQAPGQGLEWIGFIYPSNVITGYAQKFQGRATLTVD TSTSTAYMELSSLRSEDТАVYYCARSDVDYFDYWGQ GTLLTVSS	70
AB-64.1.14		QVQLVQSGAEVKKPGASVKISCKASGYTFTDYNLHW VRQAPGQGLEWIGFIYPSNVITGYAQKFQGRATLTVD QSTSTAYMELSSLRSEDТАVYYCARSDVDYFDYWGQ GTLLTVSS	71
AB-64.1.15		QVQLVQSGAEVKKPGASVKISCKASGYTFTDYNLHW VRQAPGQGLEWIGFIYPSNVITGYAQKFQGRATLTVD NSASTAYMELSSLRSEDТАVYYCARSDVDYFDYWGQ GTLLTVSS	72
AB-H9 и AB-H71		QVQLVQSGAELKKPGASVKVSCASGYTFTDYNLH WVRQAPGQRLEWIGFIYPSNGITGYSQKFQGKATLTV DTSASTAYMELSSLRSEDТАVYYCARSTVDYFDYWG QGTTVTVSS	73
AB-H3 и AB-H15		QVQLVQSGAEVKKPGASVKISCKASGYTFTDYNLHW VRQAPGQGLEWIGFIYPSNGITGYAQKFQGRATLTVD TSTSTAYMELSSLRSEDТАVYYCARSTVDYFDYWGQ	74

	GTLLTVSS	
AB-H65	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDYNLH WVRQAPGQGLEWMGFIYPSNGITGYAQKFQGRVTM TRDTSTSTVYMELSSLRSEDТАVYYCARSTVDYFDY WGQGTTVTVSS	75
AB-H66	QVQLVQSGAEVKKPGASVKISCKASGYTFTDYNLHW VRQAPGQGLEWIGFIYPSNGITGYAQKFQGRATLTVD TSTSTAYMELSSLRSEDТАVYYCARSTVDYFDYWGG GTTVTVSS	76
AB-H1	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDYNLH WVRQAPGQGLEWMGFIYPSNGITGYAQKFQGRVTM TRDTSTSTVYMELSSLRSEDТАVYYCARSTVDYFDY WGQGTЛVTVSS	170
AB-H6	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDYNLH WVRQAPGQGLEWMGFIYPSNGITGYAQKFQGRVTM TVDTSTSTAYMELSSLRSEDТАVYYCARSTVDYFDY WGQGTTVTVSS	171
AB-H11	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDYNLH WVRQAPGQSLEWIGFIYPSNGITGYSQKFQGKATLTV DTSASTAYMELSSLRSEDТАVYYCARSTVDYFDYWGG QGTTVTVSS	172
AB-H22	QVQLVQSGAEVKKPGASVKISCKASGYTFTDYNLHW VRQAPGQRLEWIGFIYPSNGITGYNQKFKNKATLTVD TSASTAYMELSSLRSEDТАVYYCARSTVDYFDYWGG GTTVTVSS	173
AB-H24	QVQLVQSGAEVKKPGASVKISCKASGYTFTDYNLHW VRQAPGQRLEWIGFIYPSNGITGYSQKFQGKATLTVD TSASTAYMELSSLRSEDТАVYYCARSTVDYFDYWGG GTTVTVSS	174
AB-H26	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDYNLH WVRQAPGQRLEWIGFIYPSNGITGYSQKFQGRATLTV DTSASTAYMELSSLRSEDТАVYYCARSTVDYFDYWGG QGTTVTVSS	175

Таблица 14: Последовательности вариабельной области легкой цепи анти-CD33 антител по EU или Кабату

Антитело (антитела)	LCVR	SEQ ID NO:
AB-H14; AB-14.1; AB-H15; AB-22; AB-24; и AB-26	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITTCRASQSVSTSTYSYMH WYQQKPGKAPKLLIKYASNLESGVPSRFSGSGSGTDF TLTISSLQPEDFATYYCQHSWEIPLTFGQGTKLEIK	77
AB-14.2	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITTCRASQDVSTSTYSYMH HWYQQKPGKAPKLLIKYASNLESGVPSRFSGSGSGTD FTLTISLQPEDFATYYCQHSWEIPLTFGQGTKLEIK	78
AB-14.3; AB-14.4; и AB-14.11	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITTCRASQDVSTSTYSYMH HWYQQKPGKAPKLLIKYVSNLESGVPSRFSGSGSGTD FTLTISLQPEDFATYYCQHSWEIPLTFGQGTKLEIK	79
AB-14.5	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITTCRASQDVSTSTYSYMH HWYQRKPGKAPKLLIKYASNLESGVPSRFSGSGSGTD FTLTISLQPEDFATYYCQHSWEIPLTFGQGTKLEIK	80
AB-14.6	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITTCRASQSVGTSTYSYMH HWYQQKPGKAPKLLIKYASALESGVPSRFSGSGSGTD FTLTISLQPEDFATYYCQHSWEIPLTFGQGTKLEIK	81
AB-14.7	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITTCRASQSVGTSTYSYMH HWYQQKPGKAPKLLIKYASNLESGVPSRFSGSGSGTD FTLTISLQPEDFATYYCQHSWEIPLTFGQGTKLEIK	82
AB-14.8	DIQMTQSPSSLPASVGDRVITTCRASQSVGTSTYSYMH HWYQQKPGKAPKLLIKYASNLGSGVPSRFSGSGSGTD FTLTISLQPEDFATYYCQHSWEIPLTFGQGTKLEIK	83
AB-14.9	GIQMTQSPSSLSASVGDRVITTCRASQSVGTSTYSYMH HWYQQKPGKAPKLLIKYAVNLESGVPSRFSGSGSGTD FTLTISLQPEDFATYYCQHSWEIPLTFGQGTKLEIK	84
AB-14.10	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITTCRASQSVSASTYSYMH WYQQKPGKAPKLLIKYASNLESGVPSRFSGSGSGTDF TLTISSLQPEDLATYYCQHSWEIPLTFGQGTKLEIK	85
AB-H63; AB-63.4; AB-	DIVLTQSPDSLAVSLGERATINCRASQSVSTSTYSYMH WYQQKPGQPPLIKYASNLESGVPDRFSGSGSGTDF	86

63.5; AB– H64; AB–64.1 AB–64.1.1; AB–64.1.2; AB–64.1.3; AB–64.1.4; AB–64.1.5; AB–64.1.6; AB–64.1.7; AB–64.1.8; AB–64.1.9; AB–64.1.10; AB–64.1.11; AB–64.1.12; AB–64.1.13 AB–64.1.14; AB–64.1.15; AB–H65, AB– H66; и AB–71	TLTISSLQAEDVAVYYCQHSWEIPLTFGQGGTKLEIK	
AB–63.6; AB– 63.8; AB– 63.11; и AB– 64.8	DIVLTQSPDSLAVSLGERATINCRASQDVSTSTYSYMH WYQQKPGQPPKLLIKYASNLESGVPDRFSGSGSGTDF TLTISSLQAEDVAVYYCQHSWEIPLTFGQGGTKLEIK	87
AB–63.7	DIVLTQSPDSLAVSLGERATINCRASQDVSTSTYSYMH WYQQKPGQPPKLLIKYAFNLESGVPDRFSGSGSGTDF TLTISSLQAEDVAVYYCQHSWEIPLEFGQGGTKLEIK	88
AB–63.9; AB– 64.3; и AB– 64.4	DIVLTQSPDSLAVSLGERATINCRASQDVSTSTYSYMH WYQQKPGQPPKLLIKYASYLESGVPDRFSGSGSGTDF TLTISSLQAEDVAVYYCEHSWEIPLTFGQGGTKLEIK	89
AB–63.10	DIVLTQSPDSLAVSLGERATINCRASQDVSTSTYSYMH WYQQKPGQPPKLLIKYASNLESGVPDRFSGSGSGTDF TLTISSLQAEDVAVYYCQHSWELPLTFGQGGTKLEIK	90
AB–63.12	DIVLTQSPDSLAVSLGERATINCRASQDVSTSTYSYMH WYQQKPGQPPKLLIKYASNVESESGVPDRFSGSGSGTDF TLTISSLQAEDVAVYYCQHSWAIPPLTFGQGGTKLEIK	91

AB-63.13	DIVLTQSPDSLAVSLGERATINCRASQSVSTSTYSYMH WYQQKPGQPPKLLIKYASNLESGVPDRFSGSGSGTDF TLTISSLQAEDVAVYYCQHSEEIPLTFGQGTKLEIK	92
AB-63.14	DIVLTQSPDSLAVSLGERATIDCKASQDVSTSTYSYMH HWYQQKPGQPPKLLIKYASNLESGVPDRFSGSGSGTDF FTLTISSLQAEDVAVYYCQHSWEIPLTFGQGTKLEIK	93
AB-63.15	DIVLTQSPDSLAVSLGERATINCRASQDVSTSTYSYMH WYQQKPGQPPKLLIKYASNLESGVPDRFSGSGSGTDF TLTISSLQAEDVAVYYCQHSWEIPLTFGQGTKLEIE	94
AB-63.16	DIVLTQSPDSLAVSLGERATINCRASQSVHTSTYSYMH WYQQKPGQPPKLLIKYASNLESGVPDRFSGSGSGTDF TLTISSLQAEDVAVYYCQHSWEIPLTFGQGTKLEIK	95
AB-63.17	DIVLTQSPDSLAVSLGERATINCRGSQSVSTSTYSYMH WYQQKPGQPPKLLIKYESNLESGVPDRFSGSGSGTDF TLTISSLQAEDVAVYYCQHSWEIPLTFGQGTKLEIK	96
AB-63.18	DIVLTQSPDSLAVSLGERATINCRASQSVSTSTYSYMH WYQQKPGQPPKLLIKYESNLESGVPDRFSGSGSGTDF TLTISSLQAEDVAVYYCQHSWEIPLTFGQGTKLEIK	97
AB-64.2	DIVLTQSPDSLAVSLGERATINCRVSQDVSTSTYSYMH WYQQKPGQPPKLLIKYASNLESGVPDRFSGSGSGTDF TLTISSLQAEDVAVYYCQHSWEIPLTFGQGTKLEIK	98
AB-64.5	DIVLTQSPDSLAVSLGERATINCRASQSVGTSTYSYMH WYQQKPGQPPKLLIKYASNLESGVPDRFSGSGSGTDF TLTISSLQAEDVAVYYCQHSWEIPLTFGQGTKLEIK	99
AB-64.6	DIVLTQSPDSLAVSLGERATINCRASQDVSTSTYSYMH WYQQKPGQPPKLLIKYASFLESGVPDRFSGSGSGTDF TLTISSLQAEDVAVYYCQHSWEIPLTFGQGTKLEIK	100
AB-64.7	DIVLTQSPDSLAVSLGERATINCRASQSVGTSTYSYMH WYQQKPGQPPKLLIKYASNLNSGVPDRFSGSGSGTDF TLTISSLQAEDVAVYYCQHSEEIPLTFGQGTKLEIK	101
AB-H1; AB-H2; AB-H3;	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSVSTSTYSYMH WYQQKPGKAPKLLIYYASNLESGVPSRFSGSGSGTDF	102

AB-H6; AB-H9; и AB-H11	TLTISSLQPEDFATYYCQHSWEIPLTFGQGTKLEIK	
------------------------	--------------------------------------	--

Пример 5: Созревание аффинности AB-H14 и AB-H63.

[0443] Аффинности AB-H14 и его вариантов с созревшей аффинностью (**Таблица 15**) и AB-H63 и его вариантов с созревшей аффинностью (**Таблица 16**) к человеческому CD33 были измерены с помощью анализа Fortebio в соответствии со способом, описанным в Примере 1 выше.

Таблица 15: Измерения аффинности гуманизированного антитела AB-H14 и его вариантов к человеческому CD33

Антитело	Моновалентная аффинность, K_D (M):	Кратность увеличения аффинности по сравнению с исходным антителом (AB-H14):	k_{on} (1/M c)	k_{off} (1/c)
AB-H14	2,91E-09	–	3,97E+05	1,15E-03
AB-14.1	2,99E-10	9,73	6,70E+05	2,00E-04
AB-14.2	2,02E-10	14,39	9,91E+05	2,00E-04
AB-14.3	2,36E-10	12,31	8,47E+05	2,00E-04
AB-14.4	2,24E-10	13,00	8,95E+05	2,00E-04
AB-14.5	2,12E-10	13,73	9,45E+05	2,00E-04
AB-14.6	2,95E-10	9,83	8,94E+05	2,64E-04
AB-14.7	2,46E-10	11,81	8,13E+05	2,00E-04
AB-14.8	2,14E-10	13,57	9,35E+05	2,00E-04
AB-14.9	2,17E-10	13,37	9,21E+05	2,00E-04
AB-14.10	2,21E-10	13,15	9,06E+05	2,00E-04
AB-14.11	2,05E-10	14,14	9,74E+05	2,00E-04

Таблица 16: Измерения аффинности гуманизированного антитела AB-H63 и его вариантов к человеческому CD33

Антитело	Моновалентная аффинность, K_D (M):	Кратность увеличения аффинности по сравнению с исходным антителом (AB-H63):	k_{on} (1/M c)	k_{off} (1/c)
AB-H63	2,72E-09	–	6,15E+05	1,68E-03
AB-63.4	7,18E-10	3,79	6,02E+05	1,12E-03
AB-63.5	6,19E-10	4,40	7,76E+05	1,55E-03
AB-63.6	3,04E-10	8,96	6,79E+05	1,76E-03
AB-63.7	9,17E-10	2,97	8,09E+05	5,81E-04
AB-63.8	2,19E-10	12,43	8,47E+05	5,24E-04
AB-63.9	2,71E-10	10,05	6,58E+05	2,00E-04

AB-63.10	4,66E-10	5,84	5,96E+05	5,46E-04
AB-63.11	3,84E-10	7,09	9,13E+05	2,00E-04
AB-63.12	2,77E-10	9,84	7,38E+05	2,00E-04
AB-63.13	2,25E-10	12,08	7,21E+05	3,36E-04
AB-63.14	2,44E-10	11,15	8,39E+05	3,22E-04
AB-63.15	2,25E-10	12,09	7,23E+05	2,00E-04
AB-63.16	2,10E-10	12,97	1,02E+06	2,30E-04
AB-63.17	2,95E-10	9,23	8,19E+05	2,00E-04
AB-63.18	6,13E-10	4,44	9,03E+05	2,04E-04

[0444] Антитела со зрелой аффинностью, полученные из гуманизированных антител АВ-Н14 и АВ-Н63, продемонстрировали 10–14–кратное и 3–13–кратное увеличение аффинности, соответственно.

[0445] Антитела со зрелой аффинностью были охарактеризованы по их способности снижать уровни CD33 клеточной поверхности на первичных дендритных клетках в соответствии со способом, описанным в Примере 2 выше.

[0446] Полумаксимальные эффективные концентрация (EC_{50}) и максимальное снижение экспрессии CD33 с помощью АВ-Н14 и его вариантов и АВ-Н63 и его вариантов представлены в **Таблице 17** и **Таблице 18**, соответственно. Большинство антител с созревшей аффинностью демонстрировало значительное увеличение активности по сравнению с исходными антителами. Однако, неожиданно, как наблюдалось для антител линии Н64, антитела CD33 с наивысшей аффинностью не обязательно имели наибольшую эффективность максимального снижения уровней CD33 клеточной поверхности.

Таблица 17: Снижение экспрессии CD33 клеточной поверхности с помощью АВ-Н14 и его вариантов с созревшей аффинностью

Антитело	Снижение экспрессии рецептора, (EC_{50}) (пМ):	Максимальное снижение экспрессии (% остаточного CD33)
AB-Н14	151,1	15,01
AB-14.1	92,7	18,58
AB-14.2	55,0	23,77
AB-14.3	43,0	25,36
AB-14.4	58,2	27,62
AB-14.5	34,2	26,43
AB-14.6	32,4	24,04
AB-14.7	35,1	23,37
AB-14.8	23,4	21,16

AB-14.9	39,9	26,12
AB-14.10	49,4	20,91
AB-14.11	47,0	27,47

Таблица 18: Снижение экспрессии CD33 клеточной поверхности с помощью AB-H63 и его вариантов с созревшей аффинностью

Антитело	Снижение экспрессии рецептора, (EC₅₀) (пМ):	Максимальное снижение экспрессии (% остаточного CD33)
AB-H63	72,6	16,08
AB-63.4	69,1	17,64
AB-63.5	40,1	16,48
AB-63.6	46,3	17,07
AB-63.7	41,6	18,43
AB-63.8	16,7	22,00
AB-63.9	40,7	20,15
AB-63.10	41,8	21,23
AB-63.11	44,0	23,02
AB-63.12	35,0	27,49
AB-63.13	44,8	25,53
AB-63.14	51,9	25,33
AB-63.15	47,6	27,54
AB-63.16	29,3	23,36
AB-63.17	52,2	27,20
AB-63.18	62,9	26,75

Пример 6: Характеризация способности антител CD33 конкурировать с лигандом CD33 за связывание с CD33

[0447] Целью данного примера было тестирование способности антител CD33 распознавать лигандсвязывающий сайт CD33 и конкурировать со связыванием лиганда на рецепторах CD33.

[0448] Антитело AB-64.1 со зрелой аффинностью и два из его вариантов, AB-64.1.2 и AB-64.1.8, оценивали по их способности конкурировать с лигандом CD33 за связывание с CD33 с использованием анализа твердофазной адгезии эритроцитов (RBC), в соответствии со стандартными протоколами (Kelm, et al. Current Biology, 1994). Эритроциты сильно "декорированы" гликопротеинами, содержащими сиаловые кислоты; поэтому способность антитела блокировать связывание эритроцитов (RBC) с иммобилизованным CD33 использовали для определения интерференции лиганда. Вкратце, 96-луночные планшеты Immunolon покрывали 5 мкг/мл CD33-Fc в течение

ночи, затем промывали фосфатно–солевым буфером (PBS) и блокировали в течение одного часа буфером для связывания (PBS, содержащий 0,25% бычьего сывороточного альбумина (BSA) и 1 мМ CaCl_2). Добавляли антитела CD33 и инкубировали в течение одного часа при комнатной температуре при плавном покачивании. После удаления несвязанного антитела, эритроциты добавляли в каждую лунку в количестве $3,0 \times 10^6$ клеток/мл и инкубировали при комнатной температуре в течение одного часа. несвязанные эритроциты затем осторожно удаляли путем промывки три раза фосфатно–солевым буфером, после чего добавляли в каждую лунку воду для индуцирования гипотонического лизиса связанных эритроцитов. Планшет переносили в условия -80°C на 10 минут, а затем -37°C на 15 минут. Количественное определение связанных эритроцитов проводили путем измерения пероксидазной активности с добавлением ТМВ, с последующим добавлением 2N серной кислоты для остановки реакции. Сигнал детектировали при 450 нм. Данные рассчитывали как процент связывания эритроцитов с иммобилизованным на планшете CD33–Fc в отсутствие антитела. Результаты представлены на **Фиг. 3**.

Пример 7: Характеризация влияния Fc–участка на интернализацию антитела CD33

[0449] Целью данного примера была оценка влияния Fc на способность антитела CD33 снижать уровни CD33 клеточной поверхности на первичных миелоидных клетках *in vitro* и *in vivo*.

[0450] Fc–участок антитела может взаимодействовать с Fcγ–рецепторами, экспрессируемыми на поверхности клеток, и миелоидные клетки, которые эндогенно экспрессируют CD33, также экспрессируют множество Fcγ–рецепторов. Таким образом, тестировали эффект разных изотипов человеческого IgG на взаимодействия между Fc антитела и рецепторами Fcγ клеточной поверхности, способность антител к кластеризации, и воздействие на способность антитела интернализировать рецептор.

[0451] Были получены антитела, содержащие вариабельную область AB–64.1 и разные варианты человеческого IgG. Протестированные Fc включали IgG1, который связывает все Fcγ–рецепторы; IgG1 SELF, который содержит мутации S267E и L328F и демонстрирует повышенное связывание с CD32B и вариантом R131 CD32A; IgG2, который демонстрирует значительное связывание только с CD32A; IgG1 LALAPS, который содержит мутации L234A, L235A и P331S; и IgG1 N297A. Последние два Fc–варианта проявляют незначительное или отсутствие связывания с любыми Fcγ–рецепторами. Все пять антител оценивали на их способность снижать уровень CD33 клеточной поверхности на первичных человеческих дендритных клетках, в соответствии со способом, описанным в Примере 1. Данные представлены на **Фиг. 4**, и в **Таблице 19** приведены полумаксимальные эффективные концентрации (EC_{50}) и максимальное снижение экспрессии антителами CD33.

Таблица 19: Снижение экспрессии CD33 клеточной поверхности Fc–вариантами AB–64.1

Антитело	Снижение экспрессии	Максимальное снижение
----------	---------------------	-----------------------

	рецептора, (пМ, EC ₅₀)	экспрессии (% остаточного CD33)
AB-64.1 huIgG1	36,2	17,5
AB-64.1 huIgG1 SELF	31,9	10,9
AB-64.1 huIgG2	35,6	15,1
AB-64.1 huIgG1 N297A	29,3	41,3
AB-64.1 huIgG1 LALAPS	57,1	39,4

[0452] Все протестированные Fc-варианты снижали уровни CD33 с разницей величин значений EC₅₀ до двухкратной. Кроме того, человеческий IgG1, человеческий IgG2, и человеческий IgG1 SELF продемонстрировали схожие величины максимального снижения CD33. Неожиданно, два Fc, которые не связываются с Fcγ-рецепторами, продемонстрировали существенно уменьшенное максимальное снижение экспрессии рецептора, что позволяет предположить, что какое-то взаимодействие с Fcγ-рецептором необходимо для максимального снижения уровней CD33 клеточной поверхности на первичных человеческих дендритных клетках.

[0453] Fc-варианты AB-64.1 также оценивали на их способность снижать уровни CD33 на миелоидных клетках *in vivo*. В одной серии экспериментов использовали гуманизированных мышей NSG (нетучные диабетические, с тяжелым комбинированным иммунодефицитом-гамма) (hu-NSG). Этих мышей, с трансплантированными человеческими CD34⁺ гемопоэтическими стволовыми клетками, покупали у фирмы Jackson Laboratory, и использовали через 16 недель после трансплантации. Мышам вводили разовой интраперитонеальной инъекцией AB-64.1 huIgG1, AB-64.1 huIgG2, AB-64.1 huIgG1 LALAPS, или контрольное антитело в количестве 10 мг/кг в День 0, и образцы крови брали в День 1 (через 24 часов после введения дозы), День 6, День 14, и День 21, и обрабатывали для проведения анализа FACS.

[0454] Вкратце, образцы крови сначала инкубировали в течение 5 минут в буфере АСК (хлорид аммония-калия) для лизиса красных кровяных клеток и затем промывали большим количеством холодного буфера для FACS (PBS, 2% FBS, 2 mM ЭДТА). Эту процедуру повторяли дважды. Клетки затем инкубировали в холодном буфере для FACS в присутствии анти-человеческого CD45-APC-Cy7, анти-мышинного CD45-FITC, анти-человеческого CD3-PE-Cy7, анти-человеческого CD14-Pacific Blue, анти-человеческого CD11b-PerCP-Cy5.5, анти-CD33-PE, анти-Siglec-7-APC, и красителя для определения жизнеспособности (ThermoFisher, № по кат. L34957) в течение 30 минут на льду в присутствии Fc-блокирующего раствора, и затем промывали дважды холодным буфером для FACS. Клетки фиксировали 4% параформальдегидом в PBS. Окрашенные клетки анализировали с помощью цитометра BD FACS Fortessa (Becton Dickinson, San Jose, CA) и данные анализировали с помощью прикладной программы FlowJo (Ashland OR). Определяли уровень экспрессии CD33 на популяции huCD45⁺ huCD14⁺ клеток, и уровни CD33 нормировали по образцам от мышей, получавших контрольное антитело.

[0455] У мышей hu-NSG, получивших разовую дозу АВ-64.1 huIgG1, АВ-64.1 huIgG2, или АВ-64.1 huIgG1 LALAPS, уровни CD33 на циркулирующих миелоидных клетках значительно снижались в течение 24 часов во всех группах, как показано на **Фиг. 5**. Уровни CD33 статистически не различались между группами АВ-64.1 huIgG1, АВ-64.1 huIgG2, или АВ-64.1 huIgG1 LALAPS, и снижение CD33 сохранялось в течение по меньшей мере 2 недель. К Дню 21, уровни CD33 во всех группах возвращались к контрольным уровням.

[0456] В отдельной серии экспериментов, способность Fc-вариантов АВ-64.1 снижать уровни CD33 на иммунных клетках *in vivo* оценивали у иммунокомпетентных C57BL/6 мышей, трансгенных по человеческому CD33. Эти мыши экспрессировали человеческий CD33 на миелоидных клетках с уровнями, близкими к наблюдаемым на иммунных клетках человека. Мышам вводили разовую интраперитонеальную инъекцию АВ-64.1 huIgG1, АВ-64.1 huIgG2, АВ-64.1 huIgG1 LALAPS, или контрольного антитела в количестве 10 мг/кг в День 0, и образцы крови брали в День 1 (через 24 часа после введения дозы), День 3, и День 6, и обрабатывали для проведения анализа FACS. Мышей умертвляли в ДЕНЬ 21, и кровь и селезенка обрабатывали для проведения анализа FACS.

[0457] Вкратце, образцы крови сначала инкубировали в течение 5 минут в буфере АСК для лизиса эритроцитов и затем промывали большим количеством холодного буфера для FACS (PBS, 2% FBS, 2 mM ЭДТА). Эту процедуру повторяли дважды. Образцы селезенки продавливали через сита для получения клеточной суспензии и затем эритроциты лизировали буфером АСК для лизиса, с последующей промывкой большим количеством холодного буфера для FACS. Клетки затем инкубировали в холодном буфере для FACS в присутствии анти-мышинного CD3-Pacific Blue, анти-мышинного NK1,1-APC-Cy7, анти-мышинного CD11b-PerCP-Cy5.5, анти-мышинного Gr1-PE-Cy7, анти-CD33-PE, анти-Siglec-7-APC, и красителя для определения жизнеспособности (ThermoFisher, № по кат. L34957) в течение 30 минут на льду в присутствии Fc-блокирующего раствора, и затем промывали дважды холодным буфером для FACS. Клетки фиксировали 4% параформальдегида в PBS. Окрашенные клетки анализировали с помощью цитометра BD FACS Fortessa (Becton Dickinson, San Jose, CA) и данные анализировали в прикладной программе FlowJo (Ashland OR). Определяли уровень экспрессии CD33 на популяции мышинных CD11b⁺ мышинных Gr1⁺ клеток, и уровни CD33 нормировали по образцам от мышей, получивших контрольное антитело.

[0458] У трансгенных мышей с человеческим CD33, получивших разовую дозу АВ-64.1 huIgG1, АВ-64.1 huIgG2, или АВ-64.1 huIgG1 LALAPS, уровни CD33 на циркулирующих миелоидных клетках значительно снижались в течение 24 часов, как показано на **Фиг. 6А**. Степень снижения была близкой для групп, получавших антитела CD33. К Дню 6, уровни CD33 на циркулирующих миелоидных клетках возвращались к контрольным уровням во всех группах. В отличие от этого, в День 21, хотя уровни CD33 на циркулирующих клетках крови находились на контрольных уровнях, уровни рецепторов CD33 на миелоидных клетках селезенки были существенно сниженными по

сравнению с мышами, получавшими контроль, как показано на **Фиг. 6В**. Таким образом, восстановление экспрессии CD33 на иммунных клетках, резидентных в ткани, по-видимому, происходит медленнее, чем на циркулирующих клетках, что позволяет предположить более медленный круговорот CD33 на резидентных клетках ткани.

[0459] Хотя Fc-варианты с незначительным или отсутствием связывания Fcγ-рецепторов имели более низкую способность снижать уровни CD33 на первичных человеческих дендритных клетках *in vitro*, *in vivo*, как у гуманизированных мышей, экспрессирующих как человеческие, так и мышинные Fcγ-рецепторы, так и у трансгенных по человеческому CD33 иммунокомпетентных мышей, экспрессирующих только мышинные Fcγ-рецепторы, huIgG1 LALAPS снижает уровни CD33 в степени, близкой к изотипам, компетентным по связыванию Fcγ-рецепторов.

Пример 8: ADCC-активность антитела CD33, содержащего разные Fc-варианты

[0460] Целью данного примера была оценка способности Fc-вариантов AB-64.1 антитела индуцировать ADCC (антитело-зависимую клеточную цитотоксичность) на экспрессирующих CD33 клетках. Было показано, что ADCC сильно зависит от взаимодействия между Fc-участком антитела и Fcγ-рецепторами, экспрессируемыми на эффекторных клетках.

[0461] Четыре разных человеческих Fc-варианта AB-64.1 антитела оценивали на ADCC: IgG1 дикого типа, IgG2, IgG1 SELF, и IgG1 LALAPS. ADCC тестировали с использованием двух разных клеточных линий-мишеней – клеток HL60 и клеток U937. Оба вида клеток HL60 и U937 экспрессируют CD33, причем клетки U937 экспрессируют CD33 с более высокими уровнями, чем клетки HL60 (данные не приведены). Анализ ADCC проводили с использованием репортерного биоанализа ADCC Reporter Bioassay (Promega), в соответствии с инструкциями производителя, с использованием трех разных соотношений эффектор:мишень – 6:1, 10:1, и 25:1. Вкратце, клетки-мишени сначала опсонизировали антителами в концентрации 10 мкг/мл, после чего добавляли эффекторные клетки и инкубировали в течение 6 часов при 37°C с 5% CO₂. ADCC-активность определяли количественно путем добавления реагента для люциферазного анализа, и планшеты считывали на люцинометре (Biotek). Анализ включал в качестве положительного контроля антитело CD33, клон 280-31-01(mut), раскрытое в WO2012/045752, которое, как было продемонстрировано, обладает высокой ADCC-активностью. Результаты анализа ADCC представлены на **Фиг. 7**.

[0462] Как на клетках HL60, так и на клетках U937, и при всех трех соотношениях эффектор:мишень, антитело положительного контроля индуцирует ADCC. Из Fc-вариантов антитела AB-64.1, только Fc человеческого IgG1 дикого типа индуцирует статистически сколько-нибудь значимое увеличение ADCC, но только у клеточной линии U937, имеющей более высокую экспрессию, только при более высоких соотношениях эффектор:мишень (E:T), и индуцируемые уровни ADCC превышают фоновые значения не более чем в 2 раза. Таким образом, AB-64.1 индуцирует незначительную ADCC или не индуцирует ее.

Пример 9: CDC–активность антитела CD33 с разными Fc–вариантами

[0463] Целью данного примера была оценка потенциала Fc–вариантов AB–64.1 антитела индуцировать CDC (комплемент–зависимую цитотоксичность) на экспрессирующих CD33 клетках. CDC инициируется мишенью, опсонизированной антителом, которое эффективно связывает и активирует комплемент посредством своего Fc–участка. Таким образом, способность антитела индуцировать CDC зависит от его изотипа: человеческий IgG1 и IgG1 SELF, как правило, являются компетентными по индуцированию CDC, тогда как IgG2 и IgG1 LALAPS, как правило, слабее индуцируют CDC.

[0464] Пять разных Fc–вариантов антитела AB–64.1 оценивали на потенциал индуцирования CDC: человеческий IgG1 дикого типа, человеческий IgG2, человеческий IgG1 SELF, человеческий IgG1 LALAPS, и человеческий IgG1 N297A. Потенциал CDC тестировали путем измерения активации комплемента, отложения C3b, на экспрессирующей CD33 клеточной линии U937. Вкратце, клетки U937 инкубировали с 10 мкг/мл CD33 или контрольного антитела в течение 30 минут на льду. Добавляли пул комплемента человеческой сыворотки (Innovative Research) в конечной концентрации 20% и клетки инкубировали в течение 2 часов при 37 °C. Клетки промывали один раз холодным буфером для FACS (PBS, 2% FBS, 2 mM ЭДТА) и затем инкубировали с анти–C3b–APC и красителем для определения жизнеспособности (ThermoFisher, № по кат. L34957) в течение 30 минут на льду в присутствии Fc–блокирующего раствора. Клетки промывали дважды холодным буфером для FACS и затем фиксировали 4% параформальдегида в PBS. Окрашенные клетки анализировали цитометром BD FACS Fortessa (Becton Dickinson, San Jose, CA) и данные анализировали в прикладной программе FlowJo (Ashland OR). Уровень отложения C3b определяли по MFI (средняя интенсивность флуоресценции) C3b на клетках U937 и отложение нормировали по образцам клеток, обработанных контрольным антителом. Результаты представлены на **Фиг. 8**.

[0465] Неожиданно, из протестированных вариантов AB–64.1, только изотип IgG1 N297A индуцировал значимо повышенную активацию комплемента по сравнению с обработанными контролем образцами. Изотипы IgG1 или IgG1 SELF не индуцировали CDC активность выше фоновых уровней. Таким образом, AB–64.1 незначительно индуцирует или не индуцирует CDC.

Пример 10: Снижение уровней экспрессии CD33 на микроглии головного мозга с помощью интернализирующего CD33 антитела

[0466] Целью данного Примера было тестирование способности антитела CD33 снижать уровни CD33 на микроглии в головном мозге.

[0467] Генерировали антитело AB–64.1.2 на человеческом IgG2 Fc (AB–64.1.2–huG2) и оценивали его способность снижать экспрессию CD33 на микроглии головного мозга и на циркулирующих клетках у мышей, трансгенных по человеческому CD33, описанных в Примере 7. Эти мыши также являются трансгенными по человеческому Siglec–7. В День 0, мышам вводили разовую дозу AB–64.1.2–huG2 (2 мг/кг, 10 мг/кг, или

40 мг/кг) или контрольное антитело (40 мг/кг), и в День 1, День 3, День 6, День 10, День 14, День 20, и День 28, мышей умерщвляли и кровь и головной мозг собирали для анализа методом проточной цитометрии.

[0468] Головной мозг помещали в HBSS (сбалансированный солевой раствор Хенкса) и механически диссоциировали с помощью гомогенизатора Даунса, после чего добавляли Percoll (GE Healthcare) до 30%. Суспензию наносили поверх слоя 70% Percoll и центрифугировали при 550g в течение 30 минут. Обогащенную микроглию собирали с поверхности раздела двух фаз, затем промывали HBSS и окрашивали анти-мышинным CD11b Pacific Blue (BioLegend), анти-мышинным CD45 PE-Cy7 (eBioscience), анти-человеческим CD33 PE (eBioscience), анти-человеческим Siglec-7 APC (BioLegend), и красителем для определения жизнеспособности в присутствии Fc-блокатора, затем анализировали методом проточной цитометрии. Микроглию гейтировали как клетки CD45^{int}CD11b⁺. Кровь собирали в гепаринизированные пробирки в момент умерщвления и центрифугировали при 2000g в течение 10 минут при 4 °C. Клеточный осадок ресуспендировали в PBS с 3 mM ЭДТА с помощью вихревого смесителя, после чего эритроциты лизировали 1 мл буфера АСК в течение 10 минут на льду, с последующим центрифугированием при 500g в течение 10 минут. Клетки окрашивали анти-мышинным CD11b Pacific Blue, анти-мышинным Gr1 PE-Cy7 (BioLegend), анти-мышинным Ly6G APC (BioLegend), анти-мышинным Ly6C AF488 (BioLegend), анти-человеческим CD33 PE, анти-человеческим Siglec-7 APC, и красителем для определения жизнеспособности в присутствии Fc-блокатора, и анализировали методом проточной цитометрии. Нейтрофилы гейтировали как клетки CD11b^{high}Ly6G⁺, и моноциты гейтировали как клетки Ly6C^{high}Ly6G⁻CD33⁺. Результаты приведены на **Фиг. 9**.

[0469] Введение разовой дозы АВ-64.1.2-huG2 в концентрации 2 мг/кг, 10 мг/кг, или 40 мг/кг, приводило к значительному снижению CD33 на микроглии в течение 24 часов после введения дозы (День 1). Наиболее значительные эффекты наблюдали при 10 мг/кг и 40 мг/кг, для которых уровни CD33 на микроглии были почти недетектируемыми в День 1 (**Фиг. 9А**). В дозовой группе 40 мг/кг, сильное снижение экспрессии CD33 сохранялось до Дня 28, тогда как в группе 10 мг/кг, уровни рецептора оставались низкими до Дня 14, а затем возвращались к контрольным уровням к Дню 28. Доза 2 мг/кг приводила к снижению экспрессии CD33, но эффект был более слабым и более преходящим, чем при более высоких дозах. Антитело не влияло на уровень человеческого Siglec-7 на микроглии при любом уровне доз (**Фиг. 9В**). Для циркулирующих нейтрофилов, введение АВ-64.1.2-huG2 в дозах 2 мг/кг, 10 мг/кг, или 40 мг/кг, приводило к снижению экспрессии CD33 приблизительно на 50% через день после введения дозы (**Фиг. 9С**). Для циркулирующих моноцитов, уровни CD33 почти полностью исчезали в День 1 во всех трех группах доз (**Фиг. 9D**). Таким образом, на циркулирующих нейтрофилах и моноцитах, максимальное снижение экспрессии наблюдали при самой низкой из тестируемых доз – 2 мг/кг. На обоих типах клеток, уровни рецептора CD33 оставались низкими до Дня 28 в группе 40 мг/кг, уровни CD33

возвращались к контрольным уровням к Дню 28 в группе 10 мг/кг, и снижение экспрессии CD33 было более преходящим в группе 2 мг/кг. Таким образом, продолжительность снижения экспрессии CD33 на моноцитах и нейтрофилах продемонстрировала эффект дозовой зависимости и была схожей с наблюдаемой на микроглии.

[0470] Эти результаты демонстрируют, что AB-64.1.2-huG2 сильно снижает экспрессию CD33 как на микроглии в головном мозге, так и на циркулирующих CD33-экспрессирующих клетках. То, что максимальное снижение экспрессии CD33 на микроглии наблюдали при дозе 10 мг/кг, было неожиданным, поскольку только приблизительно 0,1% циркулирующих антител пересекает гематоэнцефалический барьер (Pudloski, et al. PNAS 1994). Эти результаты указывают на эффективность снижения экспрессии CD33 этим антителом. Продолжительность снижения экспрессии CD33 этим антителом также была неожиданной, поскольку после разовой дозы 10 мг/кг или 40 мг/кг, уровни CD33 на микроглии, моноцитах и нейтрофилах не восстанавливались на протяжении по меньшей мере 14 или 28 дней, соответственно. В отличие от этого, у тех же мышей, получавших исходное антитело AB-64.1 в дозе 10 мг/кг, снижение экспрессии CD33 на циркулирующих клетках CD33⁺ сохранялось на протяжении менее 6 дней после введения дозы (Фиг. 6А). Таким образом, дополнительные аминокислотные модификации, не воздействующие на аффинность, могли повлиять на продолжительность снижения экспрессии CD33 антителом *in vivo*.

ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ

Все полипептидные последовательности приведены в направлении от N-конца к C-концу, если не указано иное.

Вариабельная область тяжелой цепи исходного мышинового антитела:
EVQLQQSGPELVKPGASVKISCKASGYTFTDYNLHWVKLSHGKSLEWIGFIYPSNGITGY
NQKFKNKATLTVDNSSSTAYMELRSLTSEDSAVYYCARSTVDYFDYWGQGTTTLTVSS
(SEQ ID NO: 103)

Вариабельная область легкой цепи исходного мышинового антитела:
DIVLTQSPASLAVSLGQRATMSCRASQSVSTSTYSYMHYQQKPGQPPKLLIKY
ASNLESGVPARFSGSGSGTDFTLNIHPVEEEDTATYYCQHSWEIPLTFGAGTKLELK
(SEQ ID NO: 104)

Рецепторный мотив:

D/Ex0-2YxxL/IX6-8YxxL/I (SEQ ID NO: 165)

CH1 и шарнирная область IGg2:

ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPA
VLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTKVERKCCVECPPCP (SEQ
ID NO: 166)

Полноразмерная последовательность антитела AB-64.1 huIgG1:

Тяжелая цепь:

QVQLVQSGAEVKKPGASVKISCKASGYTFTDYNLHWVRQAPGQGLEWIGFIYPS
NGITGYAQKFQGRATLTVDNSTSTAYMELSSLRSEDVAVYYCARSDVDYFDYWGQGT

LTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPA
VLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAP
ELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP
REEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVY
TLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSK
LTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 176)

QVQLVQSGAEVKKPGASVKISCKASGYTFTDYNLHWVRQAPGQGLEWIGFIYPS
NGITGYAQKFQGRATLTVDNSTSTAYMELSSLRSEDVAVYYCARSDVDYFDYWGQGT
LTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPA
VLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAP
ELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP
REEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVY
TLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSK
LTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG (SEQ ID NO: 197)

Легкая цепь:

DIVLTQSPDSLAVSLGERATINCRASQSVSTSTYSYMHYQQKPGQPPKLLIKYA
SNLESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQHSWEIPLTFGQGTKLEIKRTVA
APSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKD
STYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 185)

Полноразмерная последовательность антитела AB-64.1.2 huIgG1

Тяжелая цепь:

QVQLVQSGAEVKKPGASVKISCKASGYTFTDYNLHWVRQAPGQGLEWIGFIYPS
NRITGYAQKFQGRATLTVDNSTSTAYMELSSLRSEDVAVYYCARSDVDYFDYWGQGT
LTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPA
VLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAP
ELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP
REEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVY
TLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSK
LTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 177)

QVQLVQSGAEVKKPGASVKISCKASGYTFTDYNLHWVRQAPGQGLEWIGFIYPS
NRITGYAQKFQGRATLTVDNSTSTAYMELSSLRSEDVAVYYCARSDVDYFDYWGQGT
LTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPA
VLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAP
ELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP
REEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVY
TLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSK
LTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG (SEQ ID NO: 198)

Легкая цепь:

DIVLTQSPDSLAVSLGERATINCRASQSVSTSTYSYMHYQQKPGQPPKLLIKYA
SNLESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQHSWEIPLTFGQGTKLEIKRTVA

APSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKD
STYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 185)

Полноразмерная последовательность антитела AB-64.1.8 huIgG1

Тяжелая цепь:

QVQLVQSGAEVKKPGASVKISCKASGYTFTDYNLHWVRQAPGQGLEWIGFIYPS
NQITGYAQKFQGRATLTVDNSASTAYMELSSLRSEDVAVYYCARSDVDYFDYWGQGT
LLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFP
AVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPA
PELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTK
PREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQV
YTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYS
KLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 178)

QVQLVQSGAEVKKPGASVKISCKASGYTFTDYNLHWVRQAPGQGLEWIGFIYPS
NQITGYAQKFQGRATLTVDNSASTAYMELSSLRSEDVAVYYCARSDVDYFDYWGQGT
LLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFP
AVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPA
PELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTK
PREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQV
YTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYS
KLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG (SEQ ID NO: 199)

Легкая цепь:

DIVLTQSPDSLAVSLGERATINCRASQSVSTSTYSYMHWYQQKPGQPPKLLIKYA
SNLESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQHSWEIPLTFGQGTKLEIKRTVA
APSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKD
STYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 185)

Полноразмерная последовательность антитела AB-64.1 huIgG2

Тяжелая цепь:

QVQLVQSGAEVKKPGASVKISCKASGYTFTDYNLHWVRQAPGQGLEWIGFIYPS
NGITGYAQKFQGRATLTVDNSTSTAYMELSSLRSEDVAVYYCARSDVDYFDYWGQGT
LTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPA
VLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVRKCCVECPPCPAPPV
AGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREE
QFNSTFRVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPP
SREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPMLDSDGSFFLYSKLTV
DKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 179)

QVQLVQSGAEVKKPGASVKISCKASGYTFTDYNLHWVRQAPGQGLEWIGFIYPS
NGITGYAQKFQGRATLTVDNSTSTAYMELSSLRSEDVAVYYCARSDVDYFDYWGQGT
LTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPA
VLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVRKCCVECPPCPAPPV
AGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREE

QFNSTFRVVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPP
SREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPMLDSDGSFFLYSKLTV
DKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG (SEQ ID NO: 200)

Легкая цепь:

DIVLTQSPDLSAVSLGERATINCRASQSVSTSTYSYMHYQQKPGQPPKLLIKYA
SNLESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQHSWEIPLTFGQGTKLEIKRTVA
APSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKD
STYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 185)

Полноразмерная последовательность антитела AB-64.1.2 huIgG2

Тяжелая цепь:

QVQLVQSGAEVKKPGASVKISCKASGYTFTDYNLHWVRQAPGQGLEWIGFIYPS
NRITGYAQKFQGRATLTVDNSTSTAYMELSSLRSEDVAVYYCARSDVDYFDYWGQGT
LTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPA
VLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTKVERKCCVECPPCPAPPV
AGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREE
QFNSTFRVVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPP
SREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPMLDSDGSFFLYSKLTV
DKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 180)

QVQLVQSGAEVKKPGASVKISCKASGYTFTDYNLHWVRQAPGQGLEWIGFIYPS
NRITGYAQKFQGRATLTVDNSTSTAYMELSSLRSEDVAVYYCARSDVDYFDYWGQGT
LTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPA
VLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTKVERKCCVECPPCPAPPV
AGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREE
QFNSTFRVVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPP
SREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPMLDSDGSFFLYSKLTV
DKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG (SEQ ID NO: 201)

Легкая цепь:

DIVLTQSPDLSAVSLGERATINCRASQSVSTSTYSYMHYQQKPGQPPKLLIKYA
SNLESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQHSWEIPLTFGQGTKLEIKRTVA
APSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKD
STYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 185)

Полноразмерная последовательность антитела AB-64.1.8 huIgG2

Тяжелая цепь:

QVQLVQSGAEVKKPGASVKISCKASGYTFTDYNLHWVRQAPGQGLEWIGFIYPS
NQITGYAQKFQGRATLTVDNSASTAYMELSSLRSEDVAVYYCARSDVDYFDYWGQGT
LLTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFP
AVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTKVERKCCVECPPCPAPP
VAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPR
EEQFNSTFRVVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTL
PPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPMLDSDGSFFLYSKL

TVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 181)

QVQLVQSGAEVKKPGASVKISCKASGYTFTDYNLHWVRQAPGQGLEWIGFIYPS
 NQITGYAQKFQGRATLTVDNSASTAYMELSSLRSEDVAVYYCARSDVDYFDYWGQGT
 LLTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFP
 AVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTKVERKCCVECPPCPAPP
 VAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPR
 EEQFNSTFRVVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTL
 PPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPMLDSDGSFFLYSKL
 TVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG (SEQ ID NO: 202)

Легкая цепь:

DIVLTQSPDSLAVSLGERATINCRASQSVSTSTYSYMHYQQKPGQPPKLLIKYA
 SNLESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQHSWEIPLTFGQGTKLEIKRTVA
 APSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKD
 STYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 185)

Полноразмерная последовательность антитела AB-64.1 huIgG1 LALAPS

Тяжелая цепь:

QVQLVQSGAEVKKPGASVKISCKASGYTFTDYNLHWVRQAPGQGLEWIGFIYPS
 NGITGYAQKFQGRATLTVDNSTSTAYMELSSLRSEDVAVYYCARSDVDYFDYWGQGT
 LTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPA
 VLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAP
 EAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTK
 PREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPASIEKTISKAKGQPREPQV
 YTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYS
 KLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 182)

QVQLVQSGAEVKKPGASVKISCKASGYTFTDYNLHWVRQAPGQGLEWIGFIYPS
 NGITGYAQKFQGRATLTVDNSTSTAYMELSSLRSEDVAVYYCARSDVDYFDYWGQGT
 LTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPA
 VLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAP
 EAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTK
 PREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPASIEKTISKAKGQPREPQV
 YTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYS
 KLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG (SEQ ID NO: 203)

Легкая цепь:

DIVLTQSPDSLAVSLGERATINCRASQSVSTSTYSYMHYQQKPGQPPKLLIKYA
 SNLESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQHSWEIPLTFGQGTKLEIKRTVA
 APSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKD
 STYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 185)

Полноразмерная последовательность антитела AB-64.1.2 huIgG1 LALAPS

Тяжелая цепь:

QVQLVQSGAEVKKPGASVKISCKASGYTFTDYNLHWVRQAPGQGLEWIGFIYPS

NRITGYAQKFQGRATLTVDNSTSTAYMELSSLRSED TAVYYCARSDVDYFDYWGQGT
 LTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPA
 VLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAP
 EAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTK
 PREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPASIEKTISKAKGQPREPQV
 YTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYS
 KLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 183)

QVQLVQSGAEVKKPGASVKISCKASGYTFTDYNLHWVRQAPGQGLEWIGFIYPS
 NRITGYAQKFQGRATLTVDNSTSTAYMELSSLRSED TAVYYCARSDVDYFDYWGQGT
 LTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPA
 VLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAP
 EAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTK
 PREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPASIEKTISKAKGQPREPQV
 YTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYS
 KLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG (SEQ ID NO: 204)

Легкая цепь:

DIVLTQSPDSLAVSLGERATINCRASQSVSTSTYSYMHYQQKPGQPPKLLIKYA
 SNLESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQHSWEIPLTFGQGTKLEIKRTVA
 APSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKD
 STYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 185)

Полноразмерная последовательность антитела AB-64.1.8 huIgG1 LALAPS

Тяжелая цепь:

QVQLVQSGAEVKKPGASVKISCKASGYTFTDYNLHWVRQAPGQGLEWIGFIYPS
 NQITGYAQKFQGRATLTVDNSASTAYMELSSLRSED TAVYYCARSDVDYFDYWGQGT
 LLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFP
 AVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPA
 PEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKT
 KPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPASIEKTISKAKGQPREPQ
 VYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLY
 SKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 184)

QVQLVQSGAEVKKPGASVKISCKASGYTFTDYNLHWVRQAPGQGLEWIGFIYPS
 NQITGYAQKFQGRATLTVDNSASTAYMELSSLRSED TAVYYCARSDVDYFDYWGQGT
 LLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFP
 AVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPA
 PEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKT
 KPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPASIEKTISKAKGQPREPQ
 VYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLY
 SKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG (SEQ ID NO: 205)

Легкая цепь:

DIVLTQSPDSLAVSLGERATINCRASQSVSTSTYSYMHYQQKPGQPPKLLIKYA

SNLESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISLQAEDVAVYYCQHSWEIPLTFGQGTKLEIKRTVA
APSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKD
STYLSSTLTLSKADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 185)

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Антитело, которое связывается с белком CD33, при этом антитело содержит переменную область тяжелой цепи и переменную область легкой цепи, причем переменная область тяжелой цепи содержит:

HVR–H1, содержащий последовательность в соответствии с Формулой I: $GX_1X_2X_3TDYNX_4H$ (SEQ ID NO: 152), где X_1 представляет собой Y, A, или V, X_2 представляет собой T или A, X_3 представляет собой F, E или H, и X_4 представляет собой L, F, Y или N;

HVR–H2, содержащий последовательность в соответствии с Формулой II: $FIYPX_1NX_2IX_3G$ (SEQ ID NO: 153), где X_1 представляет собой S или A, X_2 представляет собой G, Q, R или V, и X_3 представляет собой T или R; и

HVR–H3, содержащий последовательность в соответствии с Формулой III: $SX_1VDYFDX_2$ (SEQ ID NO: 154), где X_1 представляет собой T, D, F, или S, и X_2 представляет собой Y, D или L; и

при этом указанное антитело не является антителом, содержащим переменную область тяжелой цепи, содержащую HVR–H1, содержащий последовательность $GYTFTDYNLH$ (SEQ ID NO: 105), HVR–H2, содержащий последовательность $FIYPSNGITG$ (SEQ ID NO: 115), и HVR–H3, содержащий последовательность $STVDYFDY$ (SEQ ID NO: 121).

2. Антитело, которое связывается с белком CD33, при этом антитело содержит переменную область тяжелой цепи и переменную область легкой цепи, причем переменная область легкой цепи содержит:

HVR–L1, содержащий последовательность в соответствии с Формулой IV: $X_1X_2SQX_3VX_4X_5STYSYMH$ (SEQ ID NO: 155), где X_1 представляет собой R или K, X_2 представляет собой A, G, или V, X_3 представляет собой S или D, X_4 представляет собой S, G, или H, и X_5 представляет собой T или A;

HVR–L2, содержащий последовательность в соответствии с Формулой V: $YX_1X_2X_3X_4X_5S$ (SEQ ID NO: 156), где X_1 представляет собой A, V или E, X_2 представляет собой S, V или F, X_3 представляет собой N, A, Y или F, X_4 представляет собой L или V, и X_5 представляет собой E, G, или N; и

HVR–L3, содержащий последовательность в соответствии с Формулой VI: $X_1HSX_2X_3X_4PLX_5$ (SEQ ID NO: 157), где X_1 представляет собой Q или E, X_2 представляет собой W или E, X_3 представляет собой E или A, X_4 представляет собой I или L, и X_5 представляет собой T или E; и

при этом указанное антитело не является антителом, содержащим переменную область легкой цепи, содержащую HVR–L1, содержащий последовательность $RASQSVSTYSYMH$ (SEQ ID NO: 127), HVR–L2, содержащий последовательность $YASNLES$ (SEQ ID NO: 135), и HVR–L3, содержащий последовательность $QHSWEIPLT$ (SEQ ID NO: 146).

3. Антитело, которое связывается с белком CD33, при этом антитело содержит переменную область тяжелой цепи и переменную область легкой цепи, причем переменная область тяжелой цепи содержит:

HVR–H1, содержащий последовательность в соответствии с Формулой I: $GX_1X_2X_3TDYNX_4H$ (SEQ ID NO: 152), где X_1 представляет собой Y, A, или V, X_2 представляет собой T или A, X_3 представляет собой F, E или H, и X_4 представляет собой L, F, Y или N;

HVR–H2, содержащий последовательность в соответствии с Формулой II: $FIYPX_1NX_2IX_3G$ (SEQ ID NO: 153), где X_1 представляет собой S или A, X_2 представляет собой G, Q, R или V, и X_3 представляет собой T или R; и

HVR–H3, содержащий последовательность в соответствии с Формулой III: $SX_1VDYFDX_2$ (SEQ ID NO: 154), где X_1 представляет собой T, D, F, или S, и X_2 представляет собой Y, D или L; и

переменная область легкой цепи содержит:

HVR–L1, содержащий последовательность в соответствии с Формулой IV: $X_1X_2SQX_3VX_4X_5STYSYMH$ (SEQ ID NO: 155), где X_1 представляет собой R или K, X_2 представляет собой A, G, или V, X_3 представляет собой S или D, X_4 представляет собой S, G, или H, и X_5 представляет собой T или A;

HVR–L2, содержащий последовательность в соответствии с Формулой V: $YX_1X_2X_3X_4X_5S$ (SEQ ID NO: 156), где X_1 представляет собой A, V или E, X_2 представляет собой S, V или F, X_3 представляет собой N, A, Y или F, X_4 представляет собой L или V, и X_5 представляет собой E, G, или N; и

HVR–L3, содержащий последовательность в соответствии с Формулой VI: $X_1HSX_2X_3X_4PLX_5$ (SEQ ID NO: 157), где X_1 представляет собой Q или E, X_2 представляет собой W или E, X_3 представляет собой E или A, X_4 представляет собой I или L, и X_5 представляет собой T или E; и

при этом указанное антитело не является антителом, содержащим переменную область тяжелой цепи, содержащую HVR–H1, содержащий последовательность $GYTFTDYNLH$ (SEQ ID NO: 105), HVR–H2, содержащий последовательность $FIYPSNGITG$ (SEQ ID NO: 115), и HVR–H3, содержащий последовательность $STVDYFDY$ (SEQ ID NO: 121), и переменную область легкой цепи, содержащую HVR–L1, содержащий последовательность $RASQSVSTSTYSYMH$ (SEQ ID NO: 127), HVR–L2, содержащий последовательность $YASNLES$ (SEQ ID NO: 135), и HVR–L3, содержащий последовательность $QHSWEIPLT$ (SEQ ID NO: 146).

4. Антитело, которое связывается с белком CD33, при этом антитело содержит переменную область тяжелой цепи и переменную область легкой цепи, причем переменная область тяжелой цепи содержит HVR–H1, HVR–H2 и HVR–H3 антитела AB–14.1, AB–14.2, AB–14.3, AB–14.4, AB–14.5, AB–14.6, AB–14.7, AB–14.8, AB–14.9, AB–14.10, AB–14.11, AB–63.4, AB–63.5, AB–63.8, AB–63.9, AB–63.10, AB–63.11, AB–63.12, AB–63.13, AB–63.14, AB–63.15, AB–63.16, AB–63.17, AB–63.18, AB–64.1, AB–64.3,

AB-64.4, AB-64.5, AB-64.6, AB-64.7, AB-64.8, AB-64.1.1, AB-64.1.2, AB-64.1.3, AB-64.1.4, AB-64.1.5, AB-64.1.6, AB-64.1.7, AB-64.1.8, AB-64.1.9, AB-64.1.10, AB-64.1.11, AB-64.1.12, AB-64.1.13, AB-64.1.14, или AB-64.1.15 (как указано в Таблицах 9А–9С).

5. Антитело, которое связывается с белком CD33, при этом антитело содержит переменную область тяжелой цепи и переменную область легкой цепи, причем переменная область легкой цепи содержит HVR-L1, HVR-L2 и HVR-L3 антитела AB-14.3, AB-14.4, AB-14.6, AB-14.7, AB-14.8, AB-14.9, AB-14.10, AB-14.11, AB-63.6, AB-63.7, AB-63.8, AB-63.9, AB-63.10, AB-63.11, AB-63.12, AB-63.14, AB-63.15, AB-63.16, AB-63.17, AB-63.18, AB-64.2, AB-64.3, AB-64.4, AB-64.5, AB-64.6, AB-64.7, или AB-64.8 (как указано в Таблицах 10А–10С).

6. Антитело, которое связывается с белком CD33, при этом антитело содержит переменную область тяжелой цепи и переменную область легкой цепи, причем переменная область тяжелой цепи содержит HVR-H1, HVR-H2 и HVR-H3 антитела AB-14.1, AB-14.2, AB-14.3, AB-14.4, AB-14.5, AB-14.6, AB-14.7, AB-14.8, AB-14.9, AB-14.10, AB-14.11, AB-63.4, AB-63.5, AB-63.8, AB-63.9, AB-63.10, AB-63.11, AB-63.12, AB-63.13, AB-63.14, AB-63.15, AB-63.16, AB-63.17, AB-63.18, AB-64.1, AB-64.3, AB-64.4, AB-64.5, AB-64.6, AB-64.7, AB-64.8, AB-64.1.1, AB-64.1.2, AB-64.1.3, AB-64.1.4, AB-64.1.5, AB-64.1.6, AB-64.1.7, AB-64.1.8, AB-64.1.9, AB-64.1.10, AB-64.1.11, AB-64.1.12, AB-64.1.13, AB-64.1.14, или AB-64.1.15 (как указано в Таблицах 9А–9С); и переменная область легкой цепи содержит HVR-L1, HVR-L2 и HVR-L3 антитела AB-14.3, AB-14.4, AB-14.6, AB-14.7, AB-14.8, AB-14.9, AB-14.10, AB-14.11, AB-63.6, AB-63.7, AB-63.8, AB-63.9, AB-63.10, AB-63.11, AB-63.12, AB-63.14, AB-63.15, AB-63.16, AB-63.17, AB-63.18, AB-64.2, AB-64.3, AB-64.4, AB-64.5, AB-64.6, AB-64.7, или AB-64.8 (как указано в Таблицах 10А–10С).

7. Антитело, которое связывается с белком CD33, при этом антитело содержит переменную область тяжелой цепи, содержащую HVR-H1, HVR-H2 и HVR-H3, и переменную область легкой цепи, содержащую HVR-L1, HVR-L2 и HVR-L3, причем указанное антитело содержит HVR-H1, HVR-H2, HVR-H3, HVR-L1, HVR-L2 и HVR-L3 антитела AB-14.1, AB-14.2, AB-14.3, AB-14.4, AB-14.5, AB-14.6, AB-14.7, AB-14.8, AB-14.9, AB-14.10, AB-14.11, AB-63.4, AB-63.5, AB-63.6, AB-63.7, AB-63.8, AB-63.9, AB-63.10, AB-63.11, AB-63.12, AB-63.13, AB-63.14, AB-63.15, AB-63.16, AB-63.17, AB-63.18, AB-64.1, AB-64.2, AB-64.3, AB-64.4, AB-64.5, AB-64.6, AB-64.7, AB-64.8, AB-64.1.1, AB-64.1.2, AB-64.1.3, AB-64.1.4, AB-64.1.5, AB-64.1.6, AB-64.1.7, AB-64.1.8, AB-64.1.9, AB-64.1.10, AB-64.1.11, AB-64.1.12, AB-64.1.13, AB-64.1.14, или AB-64.1.15 (как указано в Таблицах 9А–9С и 10А–10С).

8. Антитело по любому из пп. 1–7, в котором переменная область тяжелой цепи содержит один, два, три или четыре каркасных участка, выбранных из VH FR1, VH FR2, VH FR3 и VH FR4, при этом:

VH FR1 содержит последовательность в соответствии с Формулой VII: QVQLVQSGAEVKKPGX₁SVKX₂SCKAS (SEQ ID NO: 158), где X₁ представляет собой А

или S, и X₂ представляет собой V или I;

VH FR2 содержит последовательность SEQ ID NO: 5;

VH FR3 содержит последовательность в соответствии с Формулой VIII: X₁AX₂X₃X₄X₅X₆RX₇TX₈TVDX₉X₁₀X₁₁STX₁₂YMELSSLRSED TAVYYCAR (SEQ ID NO: 159), где X₁ представляет собой Y или S, X₂ представляет собой Q или E, X₃ представляет собой K или D, X₄ представляет собой F или D, X₅ представляет собой Q, F, E или T, X₆ представляет собой G, D или H, X₇ представляет собой V или A, X₈ представляет собой M или L, X₉ представляет собой T, N или Q, X₁₀ представляет собой S или P, X₁₁ представляет собой T или A, и X₁₂ представляет собой V или A; и

VH FR4 содержит последовательность в соответствии с Формулой IX: WGQGT LX₁TVSS (SEQ ID NO: 160), где X₁ представляет собой V или L; и/или

легкая цепь содержит один, два, три или четыре каркасных участка, выбранных из VL FR1, VL FR2, VL FR3 и VL FR4, при этом:

VL FR1 содержит последовательность в соответствии с Формулой X: X₁IX₂X₃TQSPX₄SLX₅X₆SX₇GX₈RX₉TIX₁₀C (SEQ ID NO: 161), где X₁ представляет собой D или G, X₂ представляет собой Q или V, X₃ представляет собой M или L, X₄ представляет собой S или D, X₅ представляет собой S, P или A, X₆ представляет собой A или V, X₇ представляет собой V или L, X₈ представляет собой D или E, X₉ представляет собой V или A, и X₁₀ представляет собой T, N или D;

VL FR2 содержит последовательность в соответствии с Формулой XI: WYQQKPGX₁X₂PKLLIK (SEQ ID NO: 162), где X₁ представляет собой K или Q, и X₂ представляет собой A или P;

VL FR3 содержит последовательность в соответствии с Формулой XII: GVPX₁RFSGSGSGTDFTLTISLQX₂EDX₃AX₄YYC (SEQ ID NO: 163), где X₁ представляет собой S или D, X₂ представляет собой P или A, X₃ представляет собой F, L или V, и X₄ представляет собой T или V; и

VL FR4 содержит последовательность в соответствии с Формулой XIII: FGQGTKLEIX₁ (SEQ ID NO: 164), где X₁ представляет собой K или E.

9. Антитело по любому из пп. 1–8, в котором вариабельная область тяжелой цепи содержит один, два, три или четыре каркасных участка, выбранных из VH FR1, VH FR2, VH FR3 и VH FR4, при этом:

VH FR1 содержит последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 2–4;

VH FR2 содержит последовательность SEQ ID NO: 5;

VH FR3 содержит последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 6–19; и

VH FR4 содержит последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 20–21; и/или

легкая цепь содержит один, два, три или четыре каркасных участка, выбранных из VL FR1, VL FR2, VL FR3 и VL FR4, при этом:

VL FR1 содержит последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 22–26;

VL FR2 содержит последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 27–28;

VL FR3 содержит последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 29–31; и

VL FR4 содержит последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 32–33.

10. Антитело по любому из пп. 1–9, причем антитело содержит переменную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 34–72; и/или переменную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 77–101.

11. Антитело по п.10, причем антитело содержит переменную область тяжелой цепи антитела АВ–14.1, АВ–14.2, АВ–14.3, АВ–14.4, АВ–14.5, АВ–14.6, АВ–14.7, АВ–14.8, АВ–14.9, АВ–14.10, АВ–14.11, АВ–63.4, АВ–63.5, АВ–63.6, АВ–63.7, АВ–63.8, АВ–63.9, АВ–63.10, АВ–63.11, АВ–63.12, АВ–63.13, АВ–63.14, АВ–63.15, АВ–63.16, АВ–63.17, АВ–63.18, АВ–64.1, АВ–64.2, АВ–64.3, АВ–64.4, АВ–64.5, АВ–64.6, АВ–64.7, АВ–64.8, АВ–64.1.1, АВ–64.1.2, АВ–64.1.3, АВ–64.1.4, АВ–64.1.5, АВ–64.1.6, АВ–64.1.7, АВ–64.1.8, АВ–64.1.9, АВ–64.1.10, АВ–64.1.11, АВ–64.1.12, АВ–64.1.13, АВ–64.1.14, или АВ–64.1.15 (как указано в Таблице 13); и/или антитело содержит переменную область легкой цепи антитела АВ–14.1, АВ–14.2, АВ–14.3, АВ–14.4, АВ–14.5, АВ–14.6, АВ–14.7, АВ–14.8, АВ–14.9, АВ–14.10, АВ–14.11, АВ–63.4, АВ–63.5, АВ–63.6, АВ–63.7, АВ–63.8, АВ–63.9, АВ–63.10, АВ–63.11, АВ–63.12, АВ–63.13, АВ–63.14, АВ–63.15, АВ–63.16, АВ–63.17, АВ–63.18, АВ–64.1, АВ–64.2, АВ–64.3, АВ–64.4, АВ–64.5, АВ–64.6, АВ–64.7, АВ–64.8, АВ–64.1.1, АВ–64.1.2, АВ–64.1.3, АВ–64.1.4, АВ–64.1.5, АВ–64.1.6, АВ–64.1.7, АВ–64.1.8, АВ–64.1.9, АВ–64.1.10, АВ–64.1.11, АВ–64.1.12, АВ–64.1.13, АВ–64.1.14, или АВ–64.1.15 (как указано в Таблице 14).

12. Антитело по любому из пп. 1–11, в котором:

HVR–H1 содержит аминокислотную последовательность GYTFTDYNLH (SEQ ID NO: 105), HVR–H2 содержит аминокислотную последовательность FIYPSNRITG (SEQ ID NO: 119), HVR–H3 содержит аминокислотную последовательность SDVDYFDY (SEQ ID NO: 122), HVR–L1 содержит аминокислотную последовательность RASQSVSTSTYSYMH (SEQ ID NO: 127), HVR–L2 содержит аминокислотную последовательность YASNLES (SEQ ID NO: 135), и HVR–L3 содержит аминокислотную последовательность QHSWEIPLT (SEQ ID NO: 146); или

HVR–H1 содержит аминокислотную последовательность GYTFTDYNLH (SEQ ID NO: 105), HVR–H2 содержит аминокислотную последовательность FIYPSNQITG (SEQ ID NO: 118), HVR–H3 содержит аминокислотную последовательность SDVDYFDY (SEQ ID NO: 122), HVR–L1 содержит аминокислотную последовательность RASQSVSTSTYSYMH

(SEQ ID NO: 127), HVR–L2 содержит аминокислотную последовательность YASNLES (SEQ ID NO: 135), и HVR–L3 содержит аминокислотную последовательность QHSWEIPLT (SEQ ID NO: 146).

13. Антитело, которое связывается с белком CD33, при этом антитело содержит переменную область тяжелой цепи и переменную область легкой цепи, причем:

переменная область тяжелой цепи содержит HVR–H1, содержащий аминокислотную последовательность GYTFTDYNLH (SEQ ID NO: 105), HVR–H2, содержащий аминокислотную последовательность FIYPSNRITG (SEQ ID NO: 119), и HVR–H3, содержащий аминокислотную последовательность SDVDYFDY (SEQ ID NO: 122), и переменная область легкой цепи содержит HVR–L1, содержащий аминокислотную последовательность RASQSVSTSTYSYMH (SEQ ID NO: 127), HVR–L2, содержащий аминокислотную последовательность YASNLES (SEQ ID NO: 135), и HVR–L3, содержащий аминокислотную последовательность QHSWEIPLT (SEQ ID NO: 146); или

тяжелая цепь содержит HVR–H1, содержащий аминокислотную последовательность GYTFTDYNLH (SEQ ID NO: 105), HVR–H2, содержащий аминокислотную последовательность FIYPSNQITG (SEQ ID NO: 118), и HVR–H3, содержащий аминокислотную последовательность SDVDYFDY (SEQ ID NO: 122), и переменная область легкой цепи содержит HVR–L1, содержащий аминокислотную последовательность RASQSVSTSTYSYMH (SEQ ID NO: 127), HVR–L2, содержащий аминокислотную последовательность YASNLES (SEQ ID NO: 135), и HVR–L3, содержащий аминокислотную последовательность QHSWEIPLT (SEQ ID NO: 146).

14. Антитело, которое связывается с белком CD33, причем антитело содержит переменную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 34–72; и/или переменную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 77–101.

15. Антитело по п.14, причем антитело содержит переменную область тяжелой цепи антитела АВ–14.1, АВ–14.2, АВ–14.3, АВ–14.4, АВ–14.5, АВ–14.6, АВ–14.7, АВ–14.8, АВ–14.9, АВ–14.10, АВ–14.11, АВ–63.4, АВ–63.5, АВ–63.6, АВ–63.7, АВ–63.8, АВ–63.9, АВ–63.10, АВ–63.11, АВ–63.12, АВ–63.13, АВ–63.14, АВ–63.15, АВ–63.16, АВ–63.17, АВ–63.18, АВ–64.1, АВ–64.2, АВ–64.3, АВ–64.4, АВ–64.5, АВ–64.6, АВ–64.7, АВ–64.8, АВ–64.1.1, АВ–64.1.2, АВ–64.1.3, АВ–64.1.4, АВ–64.1.5, АВ–64.1.6, АВ–64.1.7, АВ–64.1.8, АВ–64.1.9, АВ–64.1.10, АВ–64.1.11, АВ–64.1.12, АВ–64.1.13, АВ–64.1.14, или АВ–64.1.15 (как указано в Таблице 13); и/или антитело содержит переменную область легкой цепи антитела АВ–14.1, АВ–14.2, АВ–14.3, АВ–14.4, АВ–14.5, АВ–14.6, АВ–14.7, АВ–14.8, АВ–14.9, АВ–14.10, АВ–14.11, АВ–63.4, АВ–63.5, АВ–63.6, АВ–63.7, АВ–63.8, АВ–63.9, АВ–63.10, АВ–63.11, АВ–63.12, АВ–63.13, АВ–63.14, АВ–63.15, АВ–63.16, АВ–63.17, АВ–63.18, АВ–64.1, АВ–64.2, АВ–64.3, АВ–64.4, АВ–64.5, АВ–64.6, АВ–64.7, АВ–64.8, АВ–64.1.1, АВ–64.1.2, АВ–64.1.3, АВ–64.1.4, АВ–64.1.5, АВ–64.1.6, АВ–64.1.7, АВ–

64.1.8, АВ–64.1.9, АВ–64.1.10, АВ–64.1.11, АВ–64.1.12, АВ–64.1.13, АВ–64.1.14, или АВ–64.1.15 (как указано в Таблице 14).

16. Антитело по п.14 или п.15, в котором:

вариабельная область тяжелой цепи содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 59, и/или вариабельная область легкой цепи содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 86; или

вариабельная область тяжелой цепи содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 65, и/или вариабельная область легкой цепи содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 86.

17. Антитело, которое связывается с белком CD33, причем антитело содержит вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 34, 40, 42, 52, 53, и 73–76; и/или вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 77, 86, и 102.

18. Антитело по п.17, причем антитело содержит вариабельную область тяжелой цепи АВ–Н2, АВ–Н9, АВ–Н14, АВ–Н15, АВ–Н63, АВ–Н64, АВ–Н65, или АВ–Н66 (как указано в Таблице 13); и/или антитело содержит вариабельную область легкой цепи антитела АВ–Н2, АВ–Н9, АВ–Н14, АВ–Н15, АВ–Н63, АВ–Н64, АВ–Н65, или АВ–Н66 (как указано в Таблице 14).

19. Антитело, которое связывается с белком CD33, при этом антитело содержит вариабельную область тяжелой цепи и вариабельную область легкой цепи, причем вариабельная область тяжелой цепи содержит:

HVR–Н1, содержащий последовательность в соответствии с Формулой I: $GX_1X_2X_3TDYNX_4H$ (SEQ ID NO: 186), где X_1 представляет собой Y или V, X_2 представляет собой T или A, X_3 представляет собой F, E или H, и X_4 представляет собой L, F, Y или N;

HVR–Н2, содержащий последовательность в соответствии с Формулой II: $FIYPX_1NX_2IX_3G$ (SEQ ID NO: 153), где X_1 представляет собой S или A, X_2 представляет собой G, Q, R или V, и X_3 представляет собой T или R; и

HVR–Н3, содержащий последовательность в соответствии с Формулой III: $SX_1VDYFDX_2$ (SEQ ID NO: 187), где X_1 представляет собой T, D или F, и X_2 представляет собой Y, D или L; и

вариабельная область легкой цепи содержит:

HVR–L1, содержащий последовательность в соответствии с Формулой IV: $X_1X_2SQX_3VX_4X_5STYSYMH$ (SEQ ID NO: 188), где X_1 представляет собой R или K, X_2 представляет собой A, G, или V, X_3 представляет собой S или D, X_4 представляет собой S, G, или H, и X_5 представляет собой T;

HVR–L2, содержащий последовательность в соответствии с Формулой V: $YX_1X_2X_3X_4X_5S$ (SEQ ID NO: 189), где X_1 представляет собой A или E, X_2 представляет собой S или F, X_3 представляет собой N, Y или F, X_4 представляет собой L или V, и X_5 представляет собой E или N; и

HVR–L3, содержащий последовательность в соответствии с Формулой VI: $X_1HSX_2X_3X_4PLX_5$ (SEQ ID NO: 157), где X_1 представляет собой Q или E, X_2 представляет собой W или E, X_3 представляет собой E или A, X_4 представляет собой I или L, и X_5 представляет собой T или E.

20. Антитело, которое связывается с белком CD33, при этом антитело содержит переменную область тяжелой цепи и переменную область легкой цепи, причем переменная область тяжелой цепи содержит:

HVR–H1, содержащий аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 105 и 108–114;

HVR–H2, содержащий аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 115–120; и

HVR–H3, содержащий аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 121–123 и 125–126; и

переменная область легкой цепи содержит:

HVR–L1, содержащий аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 127–128 и 130–134;

HVR–L2, содержащий аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 135 и 140–145; и

HVR–L3, содержащий аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 146–151.

21. Антитело по п.19 или п.20, в котором переменная область тяжелой цепи содержит один, два, три или четыре каркасных участка, выбранных из VH FR1, VH FR2, VH FR3 и VH FR4, при этом:

VH FR1 содержит последовательность в соответствии с Формулой VII: $QVQLVQSGAEVKKPGX_1SVKX_2SCKAS$ (SEQ ID NO: 158), где X_1 представляет собой A или S, и X_2 представляет собой V или I;

VH FR2 содержит последовательность SEQ ID NO: 5;

VH FR3 содержит последовательность в соответствии с Формулой VIII: $X_1AX_2X_3X_4X_5X_6RX_7TX_8TVDX_9X_{10}X_{11}STX_{12}YMELSSLRSED TAVYYCAR$ (SEQ ID NO: 159), где X_1 представляет собой Y или S, X_2 представляет собой Q или E, X_3 представляет собой K или D, X_4 представляет собой F или D, X_5 представляет собой Q, F, E или T, X_6 представляет собой G, D или H, X_7 представляет собой V или A, X_8 представляет собой M или L, X_9 представляет собой T, N или Q, X_{10} представляет собой S или P, X_{11} представляет собой T или A, и X_{12} представляет собой V или A; и

VH FR4 содержит последовательность в соответствии с Формулой IX: $WGQGT LX_1TVSS$ (SEQ ID NO: 160), где X_1 представляет собой V или L; и/или

легкая цепь содержит один, два, три или четыре каркасных участка, выбранных из VL FR1, VL FR2, VL FR3 и VL FR4, при этом:

VL FR1 содержит последовательность в соответствии с Формулой X: $X_1IX_2X_3TQSPX_4SLX_5X_6SX_7GX_8RX_9TIX_{10}C$ (SEQ ID NO: 161), где X_1 представляет собой D

или G, X₂ представляет собой Q или V, X₃ представляет собой M или L, X₄ представляет собой S или D, X₅ представляет собой S, P или A, X₆ представляет собой A или V, X₇ представляет собой V или L, X₈ представляет собой D или E, X₉ представляет собой V или A, и X₁₀ представляет собой T, N или D;

VL FR2 содержит последовательность в соответствии с Формулой XI: WYQQKPGX₁X₂PKLLIK (SEQ ID NO: 162), где X₁ представляет собой K или Q, и X₂ представляет собой A или P;

VL FR3 содержит последовательность в соответствии с Формулой XII: GVPX₁RFSGSGSGTDFTLTISSLQX₂EDX₃AX₄YYC (SEQ ID NO: 163), где X₁ представляет собой S или D, X₂ представляет собой P или A, X₃ представляет собой F, L или V, и X₄ представляет собой T или V; и

VL FR4 содержит последовательность в соответствии с Формулой XIII: FGQGTKLEIX₁ (SEQ ID NO: 164), где X₁ представляет собой K или E.

22. Антитело по любому из пп. 19–21, в котором вариабельная область тяжелой цепи содержит один, два, три или четыре каркасных участка, выбранных из VH FR1, VH FR2, VH FR3 и VH FR4, при этом:

VH FR1 содержит последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 2–4;

VH FR2 содержит последовательность SEQ ID NO: 5;

VH FR3 содержит последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 6–19; и

VH FR4 содержит последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 20–21; и/или

легкая цепь содержит один, два, три или четыре каркасных участка, выбранных из VL FR1, VL FR2, VL FR3 и VL FR4, при этом:

VL FR1 содержит последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 22–26;

VL FR2 содержит последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 27–28;

VL FR3 содержит последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 29–31; и

VL FR4 содержит последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 32–33.

23. Антитело по любому из пп. 19–22, в котором вариабельная область тяжелой цепи содержит VH FR3, содержащий последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 12–15.

24. Антитело, которое связывается с белком CD33, при этом антитело содержит вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 38 и 40–72; и/или вариабельную область

легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 86–101.

25. Антитело, которое связывается с белком CD33, при этом антитело содержит переменную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 58, и переменную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 86, переменную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 59, и переменную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 86, переменную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 65, и переменную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 86, переменную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 66, и переменную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 86, переменную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 67, и переменную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 86, переменную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 68, и переменную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 86, или переменную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 69, и переменную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 86.

26. Антитело по любому из пп. 1–25, причем антитело принадлежит к классу IgG, классу IgM, или классу IgA.

27. Антитело по п.26, причем антитело принадлежит к классу IgG и имеет изотип IgG1, IgG2, IgG3 или IgG4.

28. Антитело по п.27, причем антитело имеет изотип IgG4, и при этом указанное антитело содержит аминокислотную замену S228P в положении остатка 228, аминокислотную замену F234A в положении остатка 234, и аминокислотную замену L235A в положении остатка 235, при этом нумерация положения остатков соответствует системе нумерации EU.

29. Антитело по п.27, причем антитело содержит одну или более аминокислотных замен на Fc-участке в положении остатка, выбранном из группы, состоящей из: C127S, L234A, L234F, L235A, L235E, S267E, K322A, L328F, A330S, P331S, E345R, E430G, S440Y, и любой их комбинации, при этом нумерация остатков соответствует системе нумерации EU или Кабата.

30. Антитело по п.29, в котором:

Fc-участок содержит аминокислотную замену в положении E430G, при этом нумерация положения остатков соответствует системе нумерации EU;

Fc-участок содержит аминокислотные замены в положениях L243A, L235A, и P331A, при этом нумерация положения остатков соответствует системе нумерации EU;

Fc-участок содержит аминокислотные замены в положениях L243A, L235A,

P331A, и E430G, при этом нумерация положения остатков соответствует системе нумерации EU;

Fc-участок содержит аминокислотные замены в положениях K322A и E430G, при этом нумерация положения остатков соответствует системе нумерации EU;

Fc-участок содержит аминокислотные замены в положениях P331S и E430G, при этом нумерация положения остатков соответствует системе нумерации EU;

Fc-участок содержит аминокислотные замены в положениях A330S, P331S, и E430G, при этом нумерация положения остатков соответствует системе нумерации EU;

Fc-участок содержит аминокислотные замены в положениях K322A, A330S и P331S, при этом нумерация положения остатков соответствует системе нумерации EU;

Fc-участок содержит аминокислотные замены в положениях K322A, P331S, и E430G, при этом нумерация положения остатков соответствует системе нумерации EU;

Fc-участок содержит аминокислотную замену в положении E430G, при этом нумерация положения остатков соответствует системе нумерации EU;

Fc-участок содержит аминокислотные замены в положениях A330S, P331S, и E430G, при этом нумерация положения остатков соответствует системе нумерации EU;

Fc-участок содержит аминокислотные замены в положениях S267E и L328F, при этом нумерация положения остатков соответствует системе нумерации EU;

Fc-участок содержит аминокислотную замену в положении C127S, при этом нумерация положения остатков соответствует системе нумерации EU;

Fc-участок содержит аминокислотные замены в положениях E345R, E430G и S440Y, при этом нумерация положения остатков соответствует системе нумерации EU; или

Fc-участок содержит аминокислотные замены в положениях L243A, L235A и P331S, при этом нумерация положения остатков соответствует системе нумерации EU.

31. Антитело по любому из пп. 1–30, причем белок CD33 представляет собой белок млекопитающего или человеческий белок.

32. Антитело по любому из пп. 1–31, причем белок CD33 представляет собой белок дикого типа.

33. Антитело по любому из пп. 1–31, причем белок CD33 представляет собой природный вариант.

34. Антитело по любому из пп. 1–33, причем белок CD33 экспрессируется на одной или нескольких клетках, выбранных из группы, состоящей из человеческих дендритных клеток, человеческих макрофагов, человеческих моноцитов, человеческих остеокластов, человеческих нейтрофилов, человеческих Т-клеток, человеческих Т-хелперных клеток, человеческих цитотоксических Т-клеток, человеческих гранулоцитов, и человеческой микроглии.

35. Антитело по любому из пп. 1–34, причем антитело специфически связывается с человеческим белком CD33.

36. Антитело по любому из пп. 1–35, причем антитело представляет собой фрагмент антитела, который связывается с эпитопом, содержащим аминокислотные остатки на белке CD33 человека или CD33 млекопитающих.

37. Антитело по любому из пп. 1–35, причем антитело представляет собой фрагмент антитела, который связывается с одним или несколькими человеческими белками, выбранными из группы, состоящей из человеческого CD33, природного варианта человеческого CD33, и патологического варианта человеческого CD33.

38. Антитело по п.36 или п. 37, причем фрагмент антитела сшит со вторым фрагментом антитела, который связывается с одним или несколькими человеческими белками, выбранными из группы, состоящей из человеческого CD33, природного варианта человеческого CD33, и варианта заболевания человеческого CD33.

39. Антитело по любому из пп. 36–38, причем фрагмент представляет собой Fab–, Fab'–, Fab'–SH–, F(ab')2–, Fv– или scFv–фрагмент.

40. Антитело по любому из пп. 1–39, причем антитело представляет собой гуманизированное антитело, биспецифическое антитело, моноклональное антитело, поливалентное антитело, конъюгированное антитело или химерное антитело.

41. Антитело по любому из пп. 1–40, причем антитело представляет собой моноклональное антитело.

42. Антитело по любому из пп. 1–40, причем антитело представляет собой биспецифическое антитело, распознающее первый антиген и второй антиген.

43. Антитело по п.42, причем первый антиген представляет собой CD33 и второй антиген представляет собой:

антиген, облегчающий транспорт через гематоэнцефалический барьер;

антиген, облегчающий транспорт через гематоэнцефалический барьер, выбранный из группы, состоящей из рецептора трансферрина (TR), рецептора инсулина (HIR), рецептора инсулиноподобного фактора роста (IGFR), белков 1 и 2, родственных рецептору липопротеина низкой плотности (LPR–1 и 2), рецептора дифтерийного токсина, CRM197, однодоменного антитела ламы, TMEM 30(A), домена белковой трансдукции, TAT, Syn–B, пенетратина, полиаргининового пептида, пептида angioper, и ANG1005;

патогенный агент, выбранный из группы, состоящей из патогенных пептидов или белков и патогенных нуклеиновых кислот, при этом патогенные пептиды или белки выбирают из группы, состоящей из бета–амилоида, олигомерного бета–амилоида, бета–амилоидных бляшек, белка–предшественника амилоида или его фрагментов, тау (Tau)–белка, IAPP, альфа–синуклеина, TDP–43, белка FUS, C9orf72 (открытая рамка считывания 72 хромосомы 9), белка c9RAN, прионного белка, PrPSc, хантингтина, кальцитонина, супероксиддисмутаза, атаксина, атаксина 1, атаксина 2, атаксина 3, атаксина 7, атаксина 8, атаксина 10, телец Леви, предсердного натриуретического фактора, островкового амилоидного полипептида, инсулина, аполипопротеина AI, сывороточного амилоида A, медины, пролактина, транстиретины, лизоцима, бета–2–микроглобулина, гелсолина, кератоэпителина, цистатина, иммуноглобулина легкой цепи AL, белка S–IBM, связанных

с не-ATG повторами (RAN) продуктов трансляции, пептидов с дипептидными повторами (DPR), пептидов с повторами глицин-аланин (GA), пептидов с повторами глицин-пролин (GP), пептидов с повторами глицин-аргинин (GR), пептидов с повторами пролин-аланин (PA), убиквитина, и пептидов с повторами пролин-аргинин (PR), и патогенные нуклеиновые кислоты представляют собой антисмысловую РНК с экспансией повторов GGCCCC (G2C4);

лиганды и/или белки, экспрессируемые на иммунных клетках, при этом лиганды и/или белки выбирают из группы, состоящей из CD40, OX40, ICOS, CD28, CD137/4-1BB, CD27, GITR, PD-L1, CTLA4, PD-L2, PD-1, B7-H3, B7-H4, HVEM, LIGHT, BTLA, CD38, TIGIT, VISTA, KIR, GAL9, TIM1, TIM3, TIM4, A2AR, LAG3, DR5, CD39, CD70, CD73, TREM1, TREM2, Siglec-5, Siglec-7, Siglec-9, Siglec-11, SirpA, CD47, рецептора CSF1, и фосфатидилсерина; и

белок, липид, полисахарид, или гликолипид, экспрессируемый на одной или нескольких опухолевых клетках.

44. Антитело по любому из пп. 1-43, причем антитело используют в комбинации с одним или более антителами, которые специфически связывают патогенный агент, выбранный из группы, состоящей из патогенных пептидов, патогенных белков, бета-амилоида, олигомерного бета-амилоида, бета-амилоидных бляшек, белка-предшественника амилоида или его фрагментов, тау (Tau)-белка, IAPP, альфа-синуклеина, TDP-43, белка FUS, C9orf72 (открытая рамка считывания 72 хромосомы 9), прионного белка, PrPSc, хантингтина, кальцитонина, супероксиддисмутазы, атаксина, атаксина 1, атаксина 2, атаксина 3, атаксина 7, атаксина 8, атаксина 10, телец Леви, предсердного натриуретического фактора, островкового амилоидного полипептида, инсулина, аполипопротеина AI, сывороточного амилоида A, медины, пролактина, транстиретина, лизоцима, бета-2-микроглобулина, гелсолина, кератоэпителина, цистатина, иммуноглобулина легкой цепи AL, белка S-IBM, связанных с не-ATG повторами (RAN) продуктов трансляции, пептидов с дипептидными повторами (DPR), пептидов с повторами глицин-аланин (GA), пептидов с повторами глицин-пролин (GP), пептидов с повторами глицин-аргинин (GR), пептидов с повторами пролин-аланин (PA), убиквитина, и пептидов с повторами пролин-аргинин (PR), и любой их комбинации; или с одним или несколькими антителами, которые связывают иммуномодулирующий белок, выбранный из группы, состоящей из: CD40, OX40, ICOS, CD28, CD137/4-1BB, CD27, GITR, PD-L1, CTLA4, PD-L2, PD-1, B7-H3, B7-H4, HVEM, LIGHT, BTLA, CD38, TIGIT, VISTA, KIR, GAL9, TIM1, TIM3, TIM4, A2AR3, DR5, CD39, CD70, CD73, LAG3, TREM1, TREM2, Siglec-5, Siglec-7, Siglec-9, Siglec-11, SirpA, CD47, рецептора CSF1, фосфатидилсерина, патогенных нуклеиновых кислот, антисмысловой РНК с экспансией повторов GGCCCC (G2C4), и любой их комбинации.

45. Антитело по любому из пп. 1-44, причем антитело имеет константу диссоциации (K_D) с человеческим CD33, которая по меньшей мере в 4 раза ниже значения для анти-CD33 антитела, содержащего вариабельную область тяжелой цепи, содержащую

аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 34, и вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 77; по меньшей мере в 2 раза (“1-fold”) ниже значения для анти-CD33 антитела, содержащего вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 40, и вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 86; или по меньшей мере в 2 раза (“1-fold”) ниже значения для анти-CD33 антитела, содержащего вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 52, и вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 86, при этом K_D определяют методом поверхностного плазмонного резонанса.

46. Антитело по любому из пп. 1–44, причем антитело имеет константу диссоциации (K_D) с человеческим CD33, которая имеет значение в диапазоне от приблизительно 2 нМ до приблизительно 200 пМ, или менее приблизительно 200 пМ, при этом K_D определяют методом интерферометрии биослоев.

47. Антитело по любому из пп. 1–46, причем указанное антитело снижает уровни CD33 клеточной поверхности.

48. Антитело по п.47, причем CD33 экспрессируется на поверхности человеческих дендритных клеток.

49. Антитело по п.47 или п. 48, причем антитело снижает уровни CD33 клеточной поверхности *in vitro*.

50. Антитело по любому из пп. 47–49, причем антитело снижает уровни CD33 клеточной поверхности *in vitro* с полумаксимальной эффективной концентрацией (EC_{50}), составляющей менее 150 пМ, при измерении методом проточной цитометрии.

51. Антитело по любому из пп. 47–50, причем антитело снижает уровни CD33 клеточной поверхности *in vitro* со значением EC_{50} , которое по меньшей мере на 50% ниже, чем у анти-CD33 антитела, содержащего вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 34, и вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 77; по меньшей мере на 10% ниже, чем у анти-CD33 антитела, содержащего вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 40, и вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 86; по меньшей мере на 10% ниже, чем у анти-CD33 антитела, содержащего вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 52, и вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 86; или по меньшей мере в 10 раз ниже, чем у анти-CD33 антитела, содержащего вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 103, и вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 104, при измерении методом проточной цитометрии.

52. Антитело по любому из пп. 1–51, причем антитело конкурирует за связывание с CD33 с одним или более антителами, выбранными из группы, состоящей из АВ–14.1, АВ–14.2, АВ–14.3, АВ–14.4, АВ–14.5, АВ–14.6, АВ–14.7, АВ–14.8, АВ–14.9, АВ–14.10, АВ–14.11, АВ–63.4, АВ–63.5, АВ–63.6, АВ–63.7, АВ–63.8, АВ–63.9, АВ–63.10, АВ–63.11, АВ–63.12, АВ–63.13, АВ–63.14, АВ–63.15, АВ–63.16, АВ–63.17, АВ–63.18, АВ–64.1, АВ–64.2, АВ–64.3, АВ–64.4, АВ–64.5, АВ–64.6, АВ–64.7, АВ–64.8, АВ–64.1.1, АВ–64.1.2, АВ–64.1.3, АВ–64.1.4, АВ–64.1.5, АВ–64.1.6, АВ–64.1.7, АВ–64.1.8, АВ–64.1.9, АВ–64.1.10, АВ–64.1.11, АВ–64.1.12, АВ–64.1.13, АВ–64.1.14, АВ–64.1.15, АВ–Н2, АВ–Н9, АВ–Н14, АВ–Н15, АВ–Н63, АВ–Н64, АВ–Н65, АВ–Н66, и любой их комбинации.

53. Антитело по любому из пп. 1–51, причем антитело связывает по существу тот же эпитоп CD33, что и антитело, выбранное из группы, состоящей из АВ–14.1, АВ–14.2, АВ–14.3, АВ–14.4, АВ–14.5, АВ–14.6, АВ–14.7, АВ–14.8, АВ–14.9, АВ–14.10, АВ–14.11, АВ–63.4, АВ–63.5, АВ–63.6, АВ–63.7, АВ–63.8, АВ–63.9, АВ–63.10, АВ–63.11, АВ–63.12, АВ–63.13, АВ–63.14, АВ–63.15, АВ–63.16, АВ–63.17, АВ–63.18, АВ–64.1, АВ–64.2, АВ–64.3, АВ–64.4, АВ–64.5, АВ–64.6, АВ–64.7, АВ–64.8, АВ–64.1.1, АВ–64.1.2, АВ–64.1.3, АВ–64.1.4, АВ–64.1.5, АВ–64.1.6, АВ–64.1.7, АВ–64.1.8, АВ–64.1.9, АВ–64.1.10, АВ–64.1.11, АВ–64.1.12, АВ–64.1.13, АВ–64.1.14, АВ–64.1.15, АВ–Н2, АВ–Н9, АВ–Н14, АВ–Н15, АВ–Н63, АВ–Н64, АВ–Н65, и АВ–Н66.

54. Антитело, которое связывается с белком CD33, при этом антитело содержит

(а) тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 176, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 185;

(b) тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 197, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 185;

(с) тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 177, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 185;

(d) тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 198, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 185;

(е) тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 178, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 185;

(f) тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 199, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 185;

(g) тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 179, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 185;

(h) тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 200, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 185;

(i) тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 180, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 185;

(j) тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 201, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 185;

(k) тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:

181, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 185;

(l) тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 202, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 185;

(m) тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 182, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 185;

(n) тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 203, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 185;

(o) тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 183, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 185;

(p) тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 204, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 185;

(q) тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 184, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 185; или

(r) тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 205, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 185.

55. Выделенная нуклеиновая кислота, содержащая последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующую антитело по любому из пп. 1–54.

56. Вектор, содержащий нуклеиновую кислоту по п.55.

57. Выделенная клетка–хозяин, содержащая вектор по п.56.

58. Способ продуцирования антитела, которое связывается с CD33, включающий культивирование клеток по п.57 таким образом, чтобы при этом продуцировалось антитело.

59. Способ по п.58, дополнительно включающий выделение антитела, продуцируемого клеткой.

60. Выделенное антитело, которое связывается с CD33, продуцируемое способом по п.58 или п. 59.

61. Фармацевтическая композиция, содержащая антитело по любому из пп. 1–54 и фармацевтически приемлемый носитель.

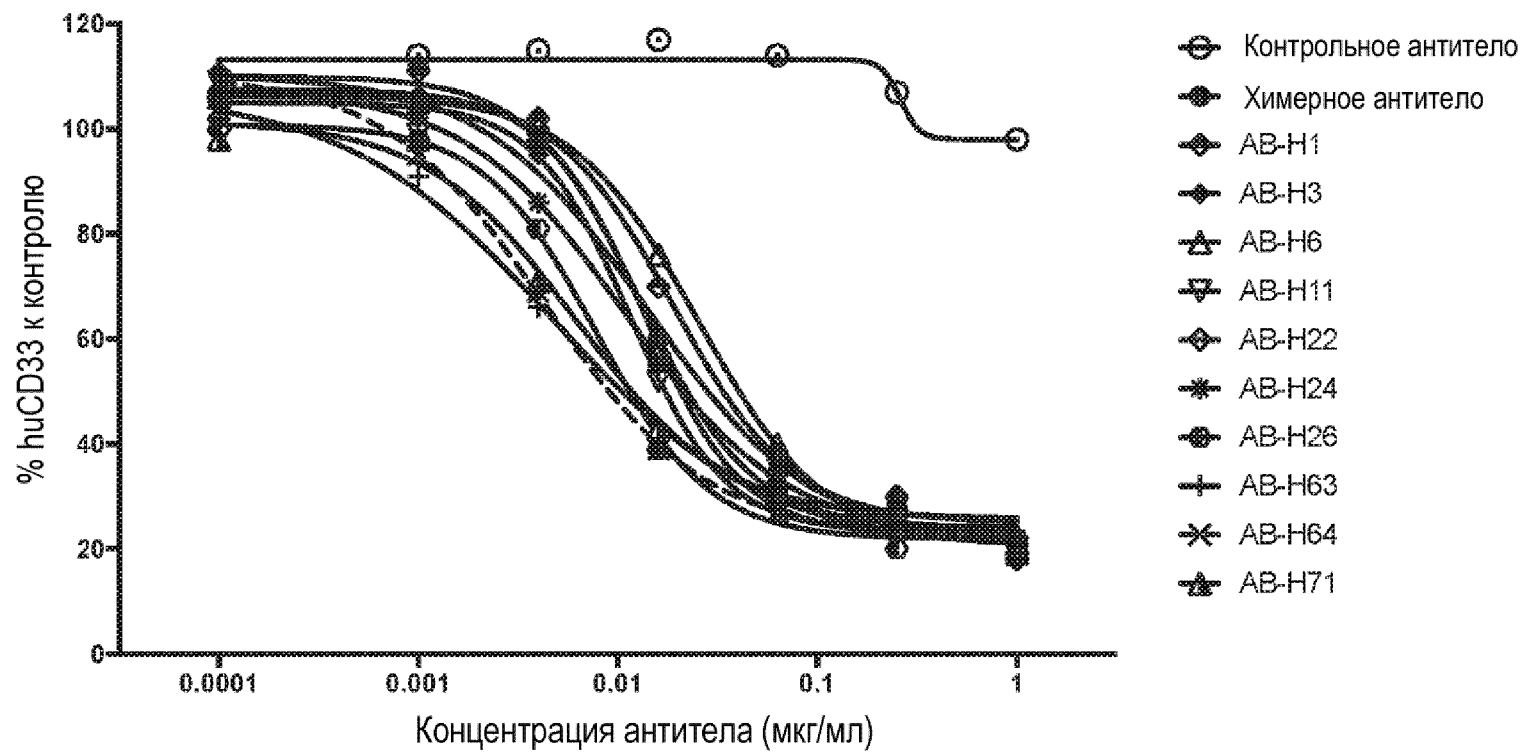
62. Способ профилактики, снижения риска или лечения заболевания, расстройства или поражения, выбранных из группы, состоящей из деменции, лобно–височной деменции, болезни Альцгеймера, сосудистой деменции, смешанной деменции, таупатии, инфекций и рака, включающий введение пациенту терапевтически эффективного количества антитела по любому из пп. 1–54.

63. Способ по п.62, в котором заболевание, расстройство или поражение представляют собой рак.

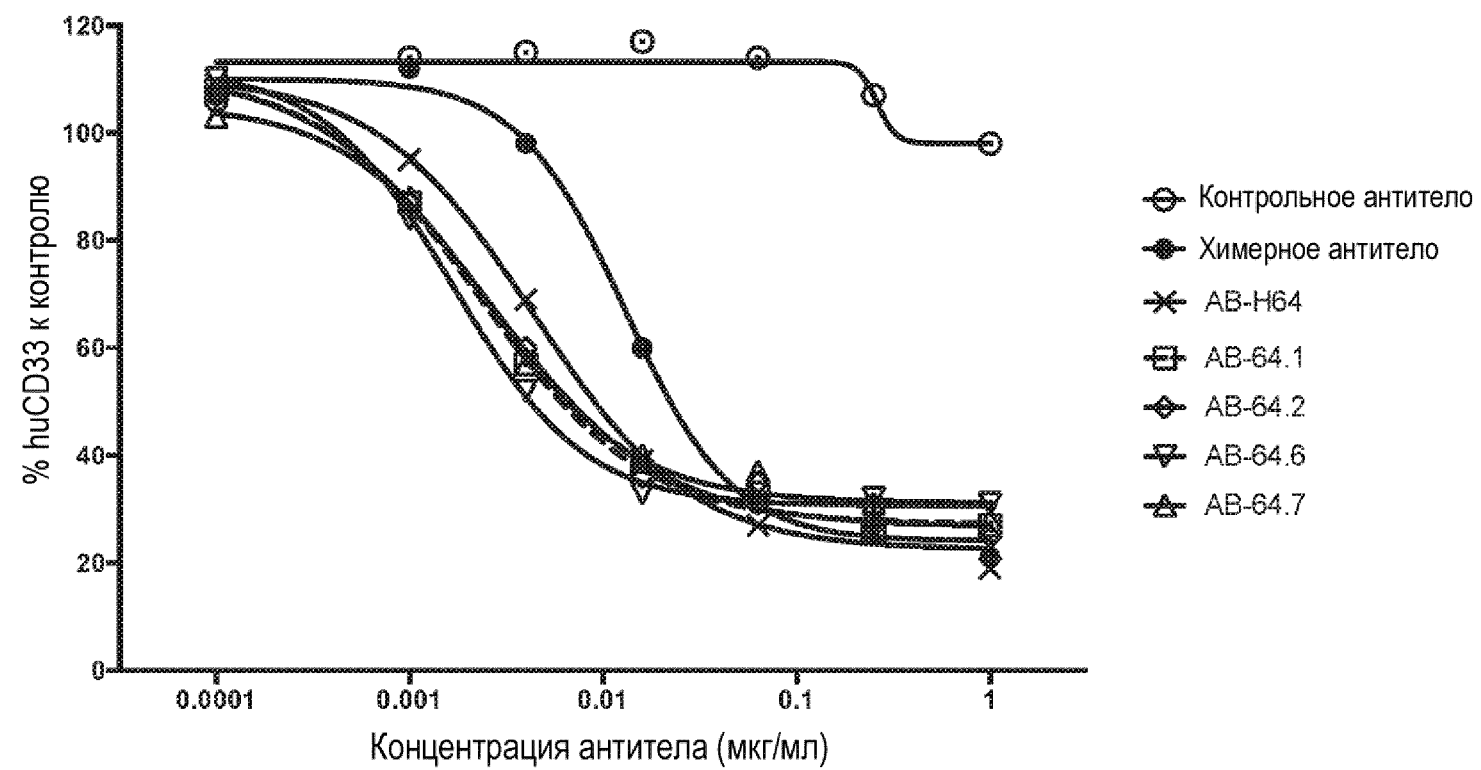
64. Способ по п.62 или п. 63, в котором рак выбирают из группы, состоящей из рака мочевого пузыря, рака головного мозга, рака молочной железы, рака толстой кишки, рака прямой кишки, эндометриального рака, рака почки, почечноклеточного рака, рака почечной лоханки, лейкоза, рака легкого, меланомы, неходжкинской лимфомы, рака

поджелудочной железы, рака предстательной железы, рака яичника, фибросаркомы, острого лимфобластного лейкоза (ОЛЛ), острого миелолейкоза (ОМЛ), хронического лимфоцитарного лейкоза (ХЛЛ), хронического миелоидного лейкоза (ХМЛ), и множественной миеломы

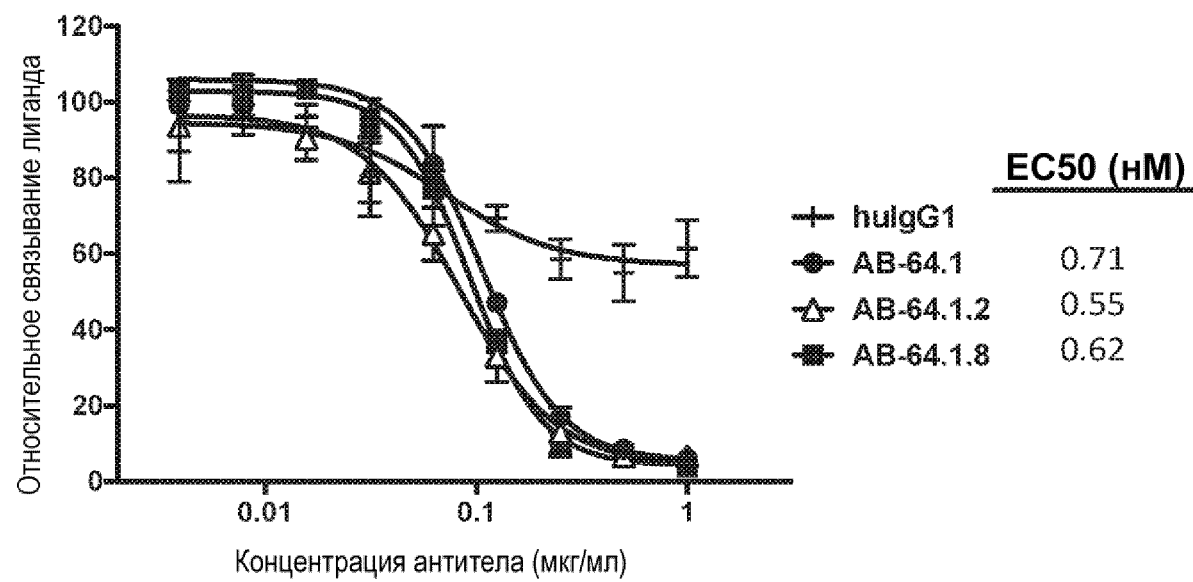
По доверенности



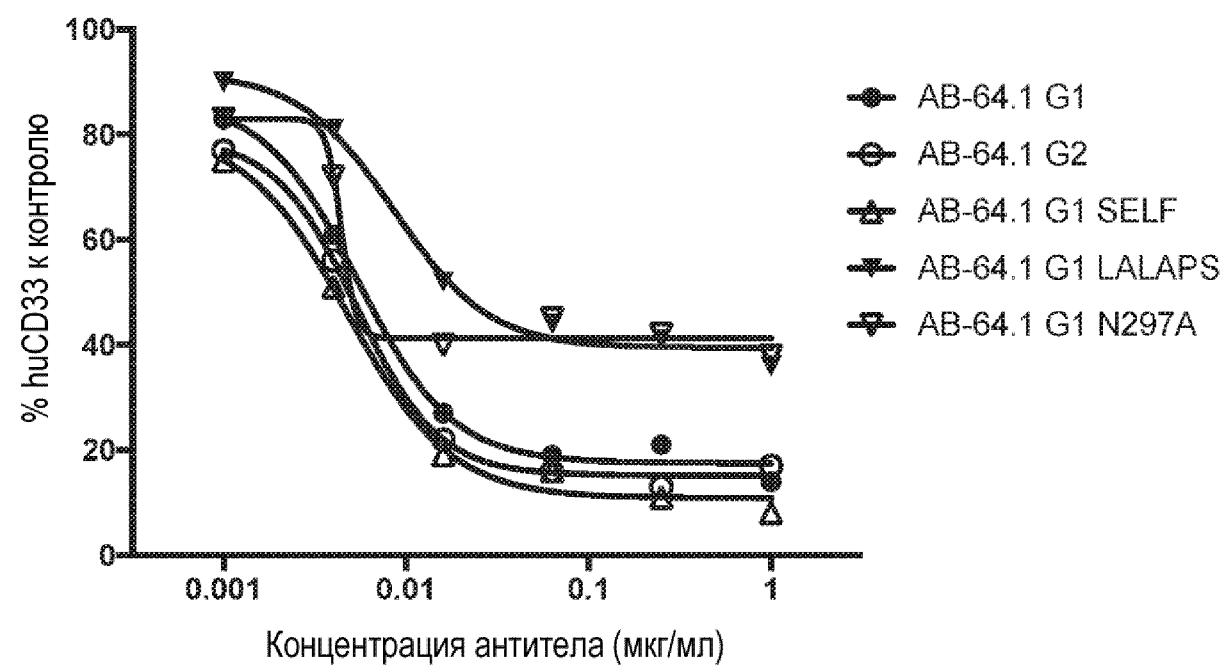
Фиг. 1



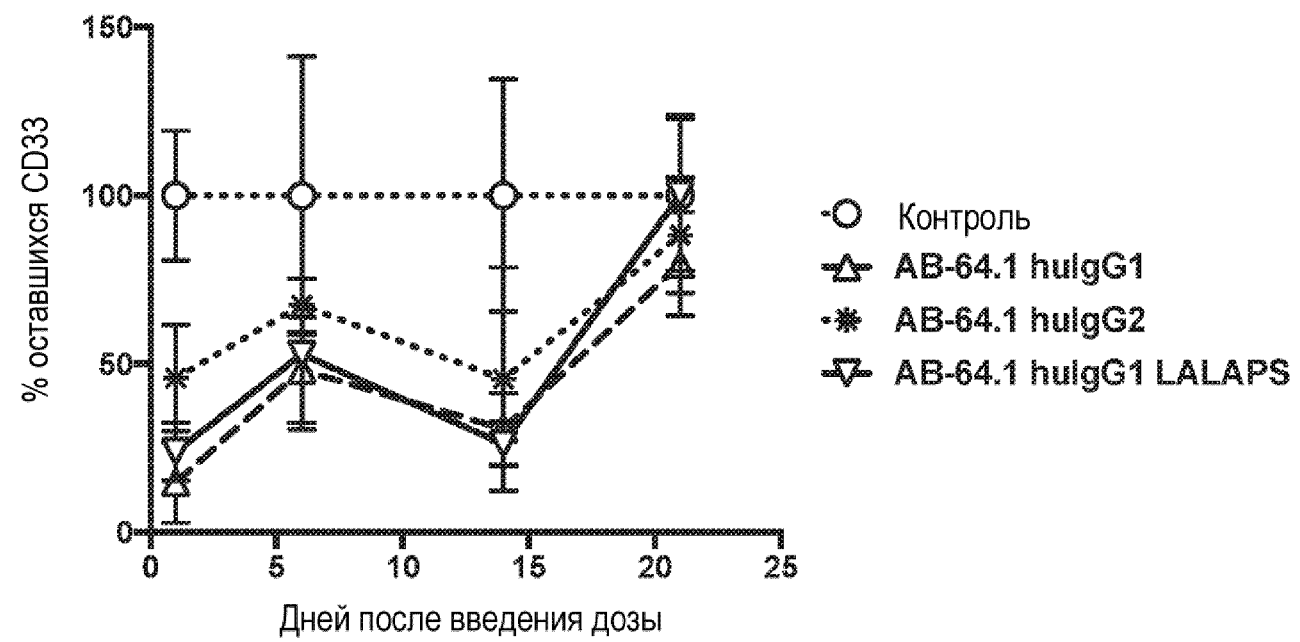
Фиг. 2



Фиг. 3

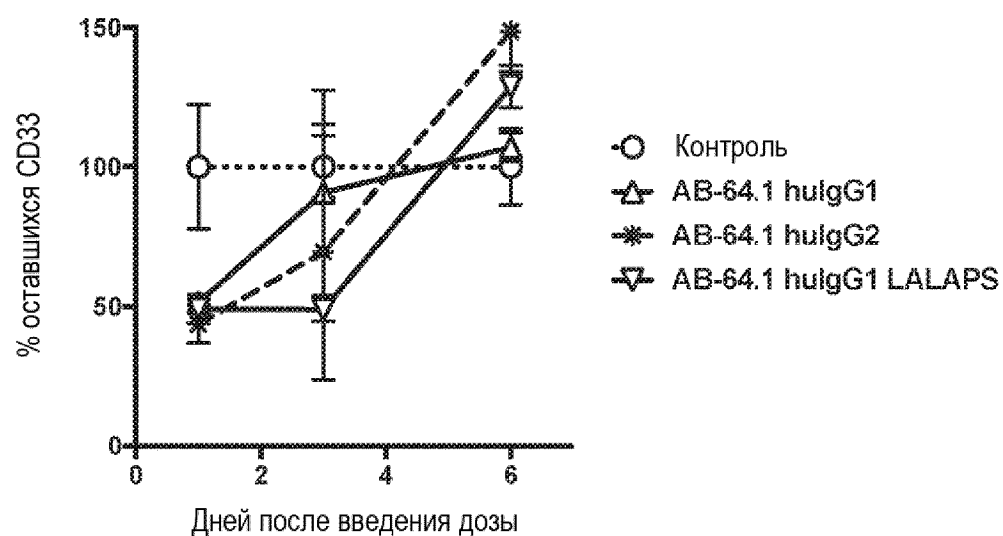


Фиг. 4

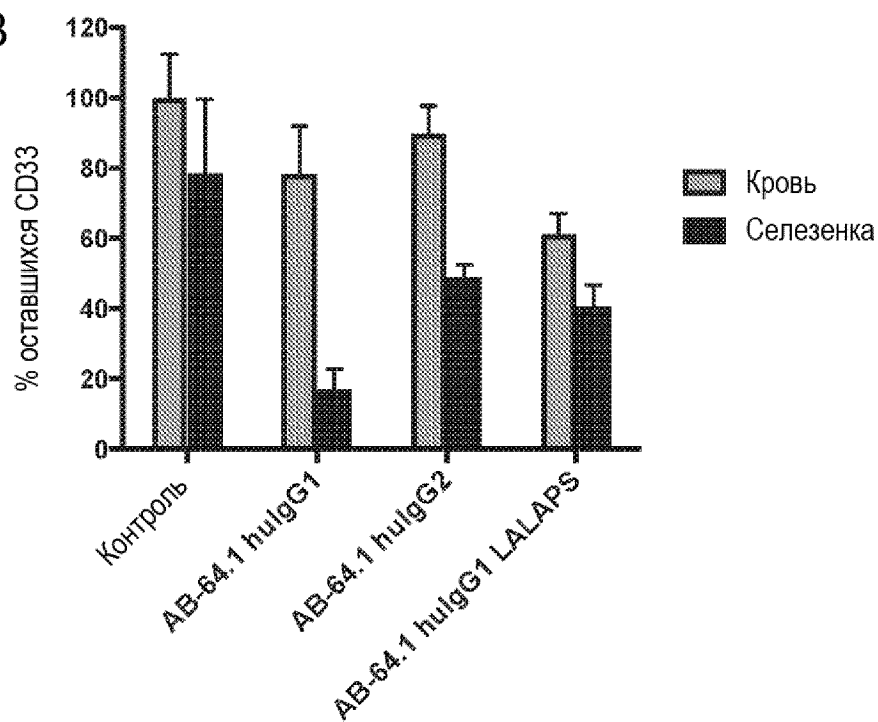


Фиг. 5

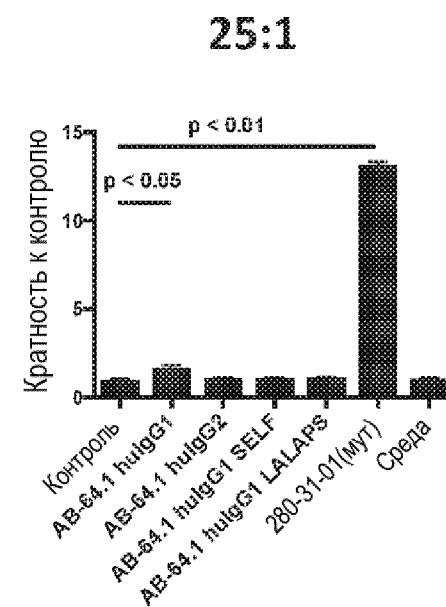
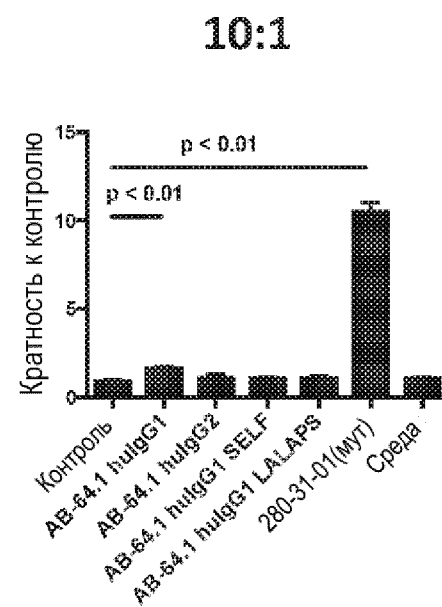
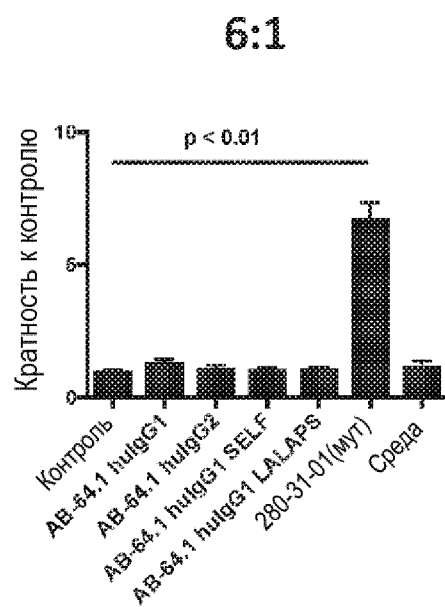
Фиг. 6А



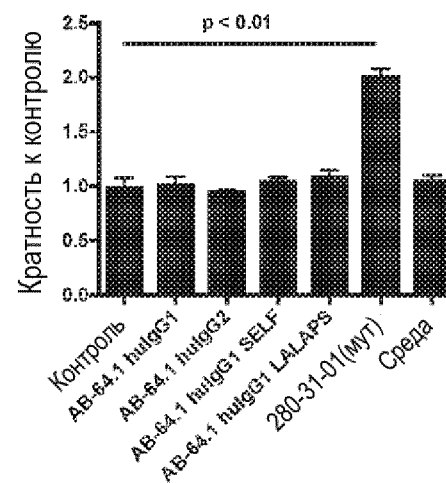
Фиг. 6В



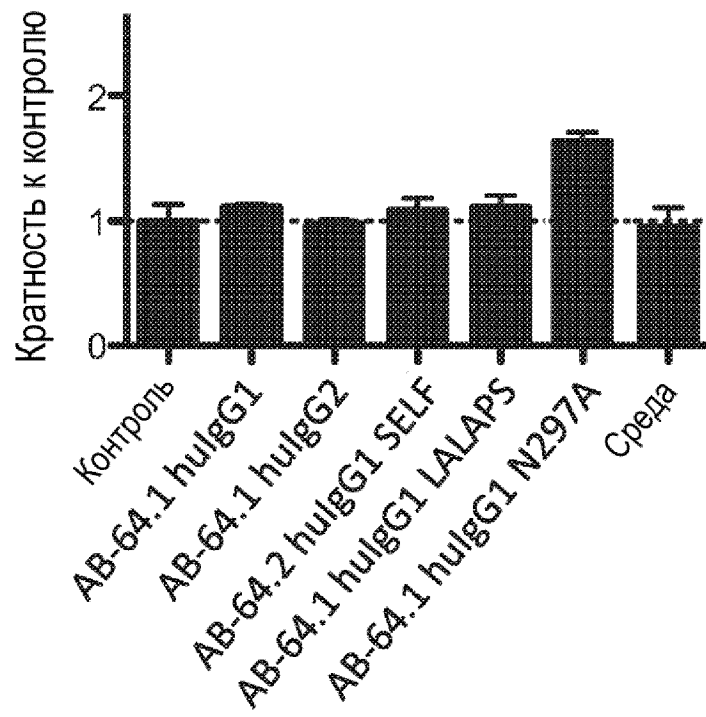
U937



HL-60

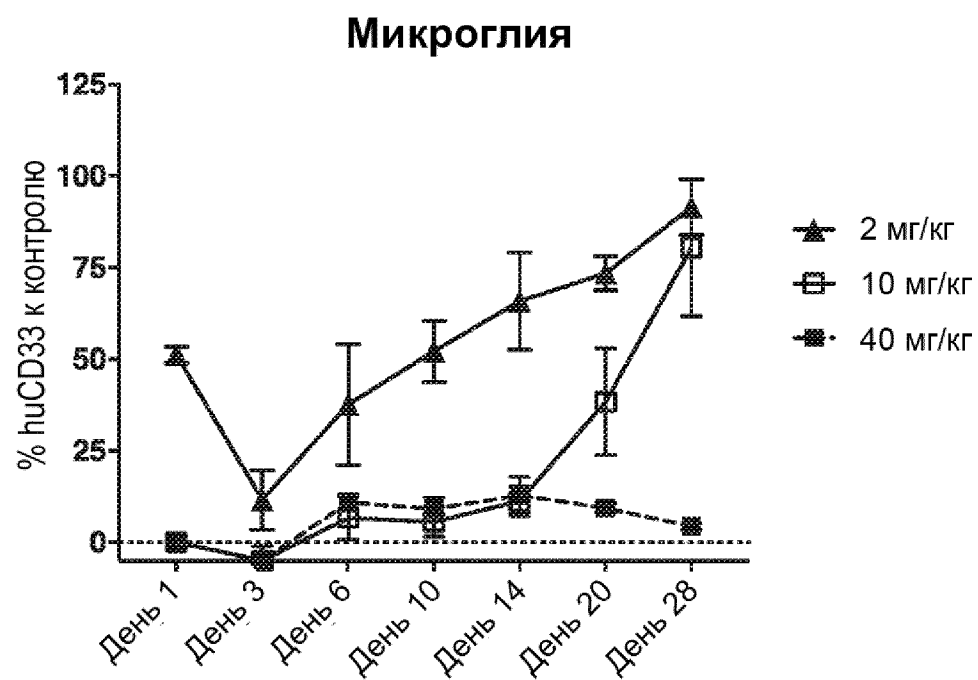


Фиг. 7

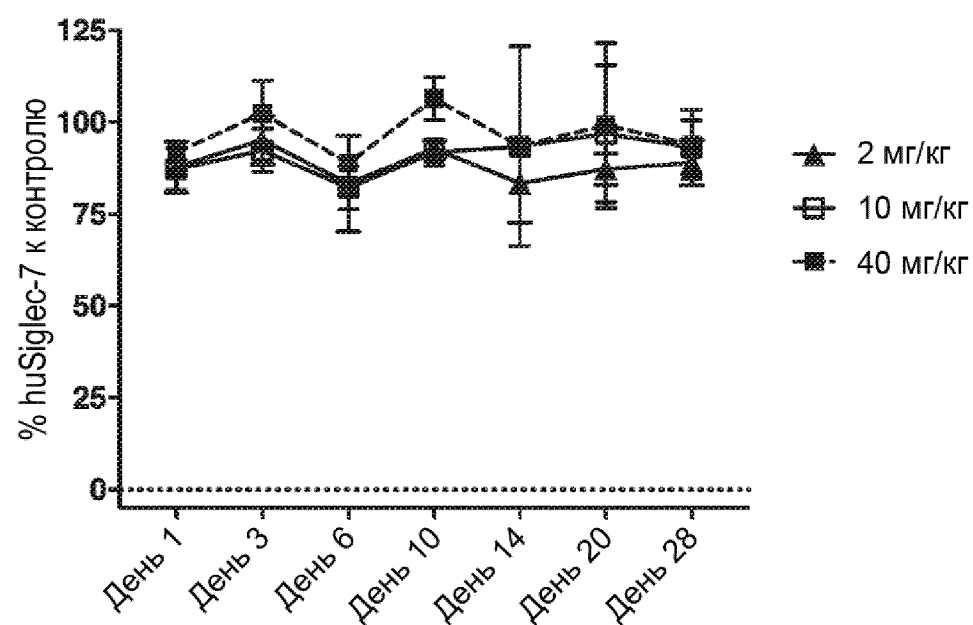


Фиг. 8

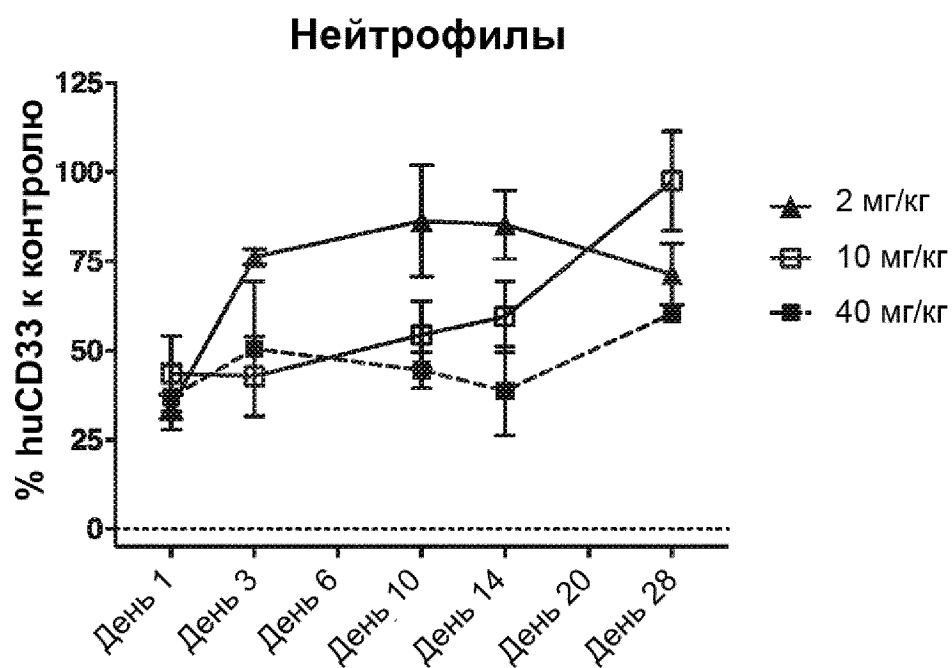
Фиг. 9А



Фиг. 9В



Фиг. 9С



Фиг. 9D

