

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(21) **202291712** (13) **A1**

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2022.12.30

(51) Int. Cl. **C07K 16/28** (2006.01)
A61P 25/28 (2006.01)
A61K 39/00 (2006.01)

(22) Дата подачи заявки
2020.12.11

(54) СПОСОБЫ ПРИМЕНЕНИЯ АНТИТЕЛ К CD33

(31) **62/947,455**

(32) **2019.12.12**

(33) **US**

(86) **PCT/US2020/064461**

(87) **WO 2021/119400 2021.06.17**

(71) Заявитель:
ЭЛЕКТОР ЭлЭлСи (US)

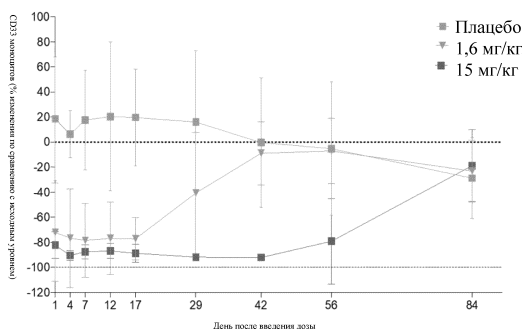
(72) Изобретатель:

**Пол Роберт, Уорд Майкл Ф., Лун Хуа,
Лу Шиао-Пин, Сиддики Омер Ризван,
Розенталь Арнон (US)**

(74) Представитель:

Медведев В.Н. (RU)

(57) Изобретение в целом относится к антителам, например моноклональным, химерным, гуманизированным антителам, фрагментам антител и т.д., которые специфически связывают один или более эпитопов в белке CD33, например CD33 человека или CD33 млекопитающего, и имеют улучшенные и/или усиленные функциональные характеристики. Данное изобретение дополнительно относится к способам лечения и/или задержки прогрессирования заболевания или поражения у индивидуума путем введения таких антител.



A1

202291712

202291712

A1

ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

2420-574643EA/055

СПОСОБЫ ПРИМЕНЕНИЯ АНТИТЕЛ К CD33

ПЕРЕКРЕСТНАЯ ССЫЛКА НА РОДСТВЕННЫЕ ЗАЯВКИ

[01] Данная заявка испрашивает приоритет по предварительной заявке на патент США № 62/947 455, поданной 12 декабря 2019 года, которая полностью включена в данный документ посредством ссылки.

ПОДАЧА ПЕРЕЧНЯ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ В ТЕКСТОВОМ ФАЙЛЕ ASCII

[02] Содержание поданного в текстовом файле ASCII полностью включено в данный документ посредством ссылки: машиночитаемая форма (CRF) перечня последовательностей (имя файла: 735022003340SEQLIST.TXT, дата записи: 9 декабря 2020 года, размер: 180 КБ).

Область техники

[3] Данное изобретение относится к антителам к CD33 и терапевтическому применению таких антител.

Уровень техники

[4] Предшественник поверхностного антигена CD33 миелоидных клеток (CD33), также известный как Siglec-3, является иммуноглобулиноподобным трансмембранным белком 1-го типа, экспрессируемым 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 Ig-подобный C2-тип (иммуноглобулиноподобный) и Ig-подобный V-тип (иммуноглобулиноподобный) внеклеточный домен, а также два ITIM-подобных мотива в своем цитоплазматическом домене. Были идентифицированы три альтернативно сплайсированные формы (изоформы) CD33, включая более высокомолекулярный вариант, получивший название CD33M, и меньшую изоформу CD33m, в которой отсутствует Ig-подобный домен V-типа (лигандсвязывающий участок) и дисульфидная связь, связывающая домены V и C.

[5] В ходе полногеномных ассоциативных исследований (GWAS), проведенных на расширенных когортах (*например*, тысячи индивидуумов), были выявлены однонуклеотидные полиморфизмы (ОНП) rs3865444CC (также называемый rs3826656) и rs3865444AA в CD33 как генетические модуляторы риска позднего начала болезни Альцгеймера (БА). Кроме того, у носителей аллеля 2459419^{TT}, а также у носителей аллеля rs12459419^{CT}, у которых наблюдается снижение экспрессии полноразмерного CD33 более чем на 25%, снижается риск развития болезни Альцгеймера (Malik M. et al. (2015) Human Molecular Genetics, 1-14). Это позволяет предположить, что снижение экспрессии или функциональности CD33 может оказать благоприятное воздействие при болезни

Альцгеймера и раке.

[6] Соответственно, существует потребность в терапевтических антителах к CD33 для лечения заболеваний, нарушений и состояний, связанных с нежелательной активностью CD33.

[7] Новые терапевтические антитела, нацеленные на CD33, являются одним из решений для лечения заболеваний, связанных с активностью CD33, таких как болезнь Альцгеймера. Моноклональные антитела, вводимые системно, как правило, демонстрируют двухфазный фармакокинетический профиль: сначала они распределяются относительно быстро, а затем медленнее выводятся из организма (Ovacik, M and Lin, L, (2018) Clin Transl Sci 11, 540-552). Циркуляция антител, вводимых системно, обычно ограничивается сосудистой системой и интерстициальным пространством (Ovacik, M and Lin, L, (2018) Clin Transl Sci 11, 540-552). Это связано с их размером, полярностью, кинетикой рециркуляции и клиренса, а также обычно относительно длительным периодом полувыведения, который у людей зачастую составляет 11-30 дней (Ovacik, M and Lin, L, (2018) Clin Transl Sci 11, 540-552).

[8] Введение моноклональных антител представляет собой сложную задачу для терапевтического применения. Моноклональные антитела имеют ограниченную биодоступность при пероральном приеме, поэтому их обычно вводят внутривенно, подкожно или внутримышечно (Ovacik, M and Lin, L, (2018) Clin Transl Sci 11, 540-552). Внутривенное введение особенно проблематично у пациентов с нейродегенеративными заболеваниями, такими как болезнь Альцгеймера. Эти заболевания поражают пациентов в течение длительного периода времени и поэтому требуют регулярного лечения на протяжении многих лет. Поскольку внутривенное введение невозможно осуществить в домашних условиях, пациентов необходимо регулярно доставлять в инфузионные центры, что является тяжелым бременем как для пациента, так и для лица, осуществляющего уход. Наконец, потеря памяти, перепады настроения, агрессия и другие поведенческие симптомы этих заболеваний затрудняют соблюдение пациентом режима лечения.

[9] Соответственно, существует дополнительная потребность в определении способов лечения пациентов с помощью соответствующей дозы и частоты введения антител к CD33 для лечения и/или замедления прогрессирования заболевания или поражения, такого как болезнь Альцгеймера, при этом облегчая соблюдение пациентом режима лечения.

[10] Все ссылки, приведенные в данном документе, включая патенты, заявки на патенты и публикации, полностью включены в данный документ посредством ссылки.

Сущность изобретения

[11] В одном аспекте в данном документе представлен способ лечения и/или задержки прогрессирования заболевания или поражения у индивидуума, включающий введение индивидууму антитела к CD33 внутривенно в дозе по меньшей мере около 1,6 мг/кг, при этом антитело вводят приблизительно один раз в двенадцать недель или чаще; и причем антитело включает HVR-H1, включающую аминокислотную

последовательность GYTFTDYNLH (SEQ ID NO: 105), HVR-H2, включающую аминокислотную последовательность FIYPSNRITG (SEQ ID NO: 119), и HVR-H3, включающий аминокислотную последовательность SDVDYFDY (SEQ ID NO: 122); и переменная область легкой цепи, которая включает HVR-L1, включающий аминокислотную последовательность RASQSVSTSTYSYMH (SEQ ID NO: 127), HVR-L2, включающую аминокислотную последовательность YASNLES (SEQ ID NO: 135), и HVR-L3, включающую аминокислотную последовательность QHSWEIPLT (SEQ ID NO: 146). В некоторых вариантах осуществления антитело к CD33 вводят в дозе от около 1,6 мг/кг до около 15 мг/кг. В некоторых вариантах осуществления антитело к CD33 вводят в дозе около 1,6 мг/кг, около 5 мг/кг, около 7,5 мг/кг, около 10 мг/кг или около 15 мг/кг. В некоторых вариантах осуществления антитело к CD33 вводят один раз в две недели, один раз в четыре недели, один раз в пять недель, один раз в шесть недель, один раз в семь недель, один раз в восемь недель, один раз в девять недель, один раз в десять недель, один раз в одиннадцать недель или один раз в двенадцать недель. В некоторых вариантах осуществления антитело к CD33 вводят один раз в две недели в дозе около 1,6 мг/кг. В некоторых вариантах осуществления антитело к CD33 вводят один раз в четыре недели в дозе около 1,6 мг/кг. В некоторых вариантах осуществления антитело к CD33 вводят один раз в четыре недели в дозе около 15 мг/кг. В некоторых вариантах осуществления антитело к CD33 вводят один раз в пять недель в дозе около 15 мг/кг. В некоторых вариантах осуществления антитела к CD33 вводят один раз в шесть недель в дозе около 15 мг/кг. В некоторых вариантах осуществления антитело к CD33 вводят один раз в семь недель в дозе около 15 мг/кг. В некоторых вариантах осуществления антитело к CD33 вводят один раз в восемь недель в дозе около 15 мг/кг.

[12] В некоторых вариантах осуществления, которые могут быть объединены с любым из предшествующих вариантов осуществления, уровень CD33 на поверхности клеток снижается по меньшей мере на около 70% по сравнению с уровнем CD33 на поверхности клеток до введения антитела к CD33. В некоторых вариантах осуществления уровень CD33 на поверхности клеток снижается по меньшей мере на около 80% по сравнению с уровнем CD33 на поверхности клеток до введения антитела к CD33. В некоторых вариантах осуществления уровень CD33 на поверхности клеток снижается по меньшей мере на около 85% по сравнению с уровнем CD33 на поверхности клеток до введения антитела к CD33. В некоторых вариантах осуществления уровень CD33 на поверхности клеток снижается по меньшей мере на около 90% по сравнению с уровнем CD33 на поверхности клеток до введения антитела к CD33. В некоторых вариантах осуществления снижение уровня CD33 на поверхности клеток наблюдается в течение по меньшей мере около 12 дней после введения антитела к CD33. В некоторых вариантах осуществления снижение уровня CD33 на поверхности клеток наблюдается в течение по меньшей мере около 17 дней после введения антитела к CD33. В некоторых вариантах осуществления снижение уровня CD33 на поверхности клеток наблюдается в течение по меньшей мере около 29 дней после введения антитела к CD33. В некоторых вариантах

осуществления снижение уровня CD33 на поверхности клеток наблюдается в течение по меньшей мере около 42 дней после введения антитела к CD33. В некоторых вариантах осуществления снижение уровня CD33 на поверхности клеток наблюдается в течение по меньшей мере около 56 дней после введения антитела к CD33. В некоторых вариантах осуществления снижение уровня CD33 на поверхности клеток включает снижение уровня CD33 на клеточной поверхности моноцитов периферической крови индивидуума.

[13] В некоторых вариантах осуществления, которые могут быть объединены с любым из предшествующих осуществления, антитело включает переменную область тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 59, и переменную область легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 86. В некоторых вариантах осуществления антитело имеет изотип IgG2. В некоторых вариантах осуществления антитело включает тяжелую цепь, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 180 или SEQ ID NO: 201, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 185.

[14] В некоторых вариантах осуществления, которые могут быть объединены с любым из предшествующих вариантов осуществления, конечный период полужизни антитела к CD33 в плазме составляет около 4 дней, около 5 дней, около 6 дней, около 7 дней, около 8 дней, около 9 дней, около 10 дней, около 11 дней или около 12 дней. В некоторых вариантах осуществления конечный период полужизни антитела к CD33 в плазме составляет около 10 дней.

[15] В некоторых вариантах осуществления, которые могут быть объединены с любым из предшествующих вариантов осуществления, заболевание или поражение выбрано из деменции, лобно-височной деменции, болезни Альцгеймера, сосудистой деменции, смешанной деменции, таупатии, инфекции и рака. В некоторых вариантах осуществления заболевание или поражение представляет собой болезнь Альцгеймера.

[16] В некоторых вариантах осуществления, которые могут быть объединены с любым из предшествующих вариантов осуществления, у индивидуума диагностирована болезнь Альцгеймера или имеется клинический диагноз деменции, вероятно связанной с болезнью Альцгеймера. В некоторых вариантах осуществления у индивидуума показатель по Краткой шкале оценки психического статуса (MMSE) составляет от около 16 баллов до около 28 баллов. В некоторых вариантах осуществления общий балл по шкале клинической оценки тяжести деменции (CDR-GS) у индивидуума составляет около 0,5, около 1,0 или около 2,0. В некоторых вариантах осуществления у индивидуума положительный результат ПЭТ-сканирования на выявление амилоида. В некоторых вариантах осуществления индивидуум принимает стабильную дозу ингибитора холинэстеразы и/или проходит терапию мемантином для лечения болезни Альцгеймера. В некоторых вариантах осуществления индивидуум не является носителем двух копий аллеля rs12459419^T.

[17] В некоторых вариантах осуществления, которые могут быть объединены с любым из предшествующих вариантов осуществления, заболевание или поражение

представляет собой болезнь Альцгеймера, и лечение и/или замедление прогрессирования болезни Альцгеймера оценивают с использованием одного или более инструментов клинической оценки, выбранных из Краткой шкалы оценки психического состояния (MMSE), Повторяемой батареи тестов по оценке нейропсихологического состояния (RBANS), Шкалы клинической оценки деменции (CDR), позитронно-эмиссионной томографии (ПЭТ) головного мозга на выявление амилоида, ПЭТ-визуализации транслокаторного белка (TSPO) и любой их комбинации.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ГРАФИЧЕСКИХ МАТЕРИАЛОВ

[18] Файл патента или заявки содержит по меньшей мере один цветной графический материал. Копии этого патента или публикации заявки на патент с цветным графическим материалом(ами) будут предоставлены Ведомством по запросу и после уплаты необходимой пошлины.

[19] **На фиг. 1** показано влияние антитела к CD33 АВ-64.1.2 на уровни CD33 в моноцитах периферической крови с течением времени после однократного внутривенного введения антитела в дозе 1,6 мг/кг или 15 мг/кг.

Подробное описание изобретения

Общие методики

[20] Способы и процедуры, описанные или упомянутые в данном документе, как правило, являются хорошо понятными и обычно используются специалистами в данной области техники с использованием традиционной методологии, такой как, например, широко используемые методологии, описанные 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)); the series *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*, and *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); *The 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

[21] В контексте данного документа термин *«предотвращение»* включает обеспечение профилактики в отношении возникновения или рецидива конкретного заболевания, расстройства или состояния у индивидуума. Индивидуум может быть предрасположен к определенному заболеванию, нарушению или состоянию, быть восприимчивым к нему или иметь риск развития такого заболевания, нарушения или состояния, но у него еще не диагностировано заболевание, нарушение или состояние.

[22] В контексте данного документа индивидуум, *«подверженный риску»* развития конкретного заболевания, нарушения или состояния, может иметь или не иметь выявляемое заболевание или симптомы заболевания, а также у него может проявляться или не проявляться выявляемое заболевание или симптомы заболевания до применения способов лечения, описанных в данном документе. *«Подверженный риску»* означает, что у индивидуума есть один или более факторов риска, которые представляют собой измеримые параметры, которые коррелируют с развитием конкретного заболевания, расстройства или состояния, как известно в данной области техники. Индивидуум, имеющий один или более из этих факторов риска, имеет более высокую вероятность развития конкретного заболевания, расстройства или состояния, чем индивид без одного или более из этих факторов риска.

[23] В контексте данного документа термин *«лечение»* относится к клиническому вмешательству, предназначенному для изменения естественного течения клинической патологии у индивидуума, подвергающегося лечению. Желательные эффекты лечения включают снижение скорости прогрессирования, улучшение или облегчения патологического состояния, а также ремиссию или улучшение прогноза конкретного заболевания, расстройства или состояния. Индивид успешно *«пролечен»*, например, если один или более симптомов, связанных с конкретным заболеванием, расстройством или состоянием, смягчены или устранены.

[24] *«Эффективное количество»* относится к по меньшей мере эффективному количеству в дозировках и в течение периодов времени, необходимых для достижения желаемого терапевтического или профилактического результата. Эффективное количество можно вводить за одно или более введений. Эффективное количество в контексте данного документа может варьировать в зависимости от таких факторов, как болезненное состояние, возраст, пол и масса индивидуума, а также способность лечения вызывать желаемый ответ у индивидуума. Эффективным количеством также является такое количество, при котором любые токсические или вредные эффекты лечения перевешиваются терапевтически полезными эффектами. Для профилактического применения полезные или желаемые результаты включают такие результаты, как устранение или снижение риска, уменьшение степени тяжести или отсрочка начала заболевания, включая биохимические, гистологические и/или поведенческие симптомы заболевания, его осложнения и промежуточные патологические фенотипы во время

развития болезни. Для терапевтического применения полезные или желаемые результаты включают клинические результаты, такие как уменьшение степени выраженности одного или более симптомов, вызванных заболеванием, повышение качества жизни людей, страдающих этим заболеванием, уменьшение дозы других лекарственных средств, необходимых для лечения заболевания, усиление эффекта другого лекарственного средства, такое как нацеливание, замедление прогрессирования заболевания и/или продление выживаемости. Эффективное количество лекарственного средства, соединения или фармацевтической композиции представляет собой количество, достаточное для осуществления профилактического или терапевтического лечения прямо или косвенно. Как понятно в клиническом контексте, эффективное количество лекарственного средства, соединения или фармацевтической композиции может быть достигнуто или не достигнуто в комбинации с другим лекарственным средством, соединением или фармацевтической композицией. Таким образом, «эффективное количество» можно рассматривать в контексте введения одного или более терапевтических агентов, и можно считать, что один агент вводят в эффективном количестве, если в комбинации с одним или более другими агентами может быть получен или достигнут желаемый результат.

[25] В контексте данного документа введение «в комбинации» с другим соединением или композицией включает одновременное введение и/или введение в разное время. Совместное введение также включает введение в виде совместного препарата или введение в виде отдельных композиций, в том числе с разными частотами или интервалами дозирования и с использованием одного и того же пути введения или разных путей введения.

[26] «Индивидуум» в целях лечения, профилактики или снижения риска относится к любому животному, классифицируемому как млекопитающее, включая людей, домашних и сельскохозяйственных животных, а также животных из зоопарка, спортивных или домашних животных, таких как собаки, лошади, кролики, крупный рогатый скот, свиньи, хомяки, песчанки, мыши, хорьки, крысы, кошки и т. д. Предпочтительно индивидуум представляет собой человека.

[27] Термин «иммуноглобулин» (Ig) используется в данном документе взаимозаменяемо с термином «антитело». Термин «антитело» в данном документе используется в самом широком смысле и, в частности, охватывает моноклональные антитела, поликлональные антитела, мультиспецифические антитела (например, биспецифические антитела), образованные по меньшей мере из двух интактных антител, и фрагменты антител при условии, что они проявляют желаемую биологическую активность.

[28] Типичная 4-цепочечная единица антитела представляет собой гетеротетрамерный гликопротеин, состоящий из двух идентичных легких (L) цепей и двух идентичных тяжелых (H) цепей. Спаривание вместе V_H и V_L образует единый антигенсвязывающий сайт. Для получения информации о структуре и свойствах различных классов антител, см., например, Basic and Clinical Immunology, 8th Ed., Daniel P.

Stites, Abba I. Terr and Tristram G. Parslow (eds.), Appleton & Lange, Norwalk, CT, 1994, page 71 and Chapter 6.

[29] L-цепь от любых видов позвоночных могут быть отнесены к одному из двух четко различимых типов, называемых каппа («κ») и лямбда («λ»), на основе аминокислотных последовательностей их константных доменов. В зависимости от аминокислотной последовательности константного домена их тяжелых цепей (CH) иммуноглобулины могут быть определены в разные классы или изотипы. Существует пять классов иммуноглобулинов: IgA, IgD, IgE, IgG и IgM, тяжелые цепи которых обозначены альфа («α»), дельта («δ»), эпсилон («ε»), гамма («γ») и мю («μ»), соответственно. Классы γ и α далее делятся на подклассы (изотипы) на основе относительно незначительных различий в последовательности и функции CH, *например*, у людей экспрессируются следующие подклассы: IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1 и IgA2. Структуры субъединиц и трехмерные конфигурации различных классов иммуноглобулинов хорошо известны и в целом описаны, *например*, в Abbas et al., Cellular and Molecular Immunology, 4th ed. (W.B. Saunders Co., 2000).

[30] «Нативные антитела» обычно представляют собой гетеротетрамерные гликопротеины около 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 количество дисульфидных связей варьирует среди тяжелых цепей различных изотипов иммуноглобулинов. Каждая тяжелая и легкая цепь также имеет регулярно расположенные внутрицепочечные дисульфидные мостики. Каждая тяжелая цепь имеет на одном конце переменный домен (V_H), за которым следует ряд константных доменов. Каждая легкая цепь имеет переменный домен на одном конце (V_L) и константный домен на другом конце; константный домен легкой цепи выровнен с первым константным доменом тяжелой цепи, а переменный домен легкой цепи выровнен с переменным доменом тяжелой цепи. Считается, что конкретные аминокислотные остатки образуют область контакта между переменными доменами легкой цепи и тяжелой цепи.

[31] «Выделенное» антитело, такое как антитело к CD33 по данному изобретению, представляет собой антитело, которое было идентифицировано, отделено и/или выделено из компонента его производственной среды (*например*, естественным или рекомбинантным путем). Предпочтительно выделенный полипептид не связан со всеми другими загрязняющими компонентами из его производственной среды. Загрязняющими компонентами среды выработки, такими как рекомбинантные трансфицированные клетки, являются материалы, которые, как правило, препятствуют исследовательскому, диагностическому или терапевтическому применению антитела и могут включать ферменты, гормоны и другие белковые или небелковые растворенные вещества. В предпочтительных вариантах осуществления полипептид будет очищен (1) до более 95% по массе антитела, как определено, *например*, методом Лоури, и в некоторых вариантах осуществления для более 99% по массе, (2) до степени, достаточной для получения по

меньшей мере 15 остатков N-концевой или внутренней аминокислотной последовательности, используя секвенатор с вращающимся стаканом, или (3) до гомогенности SDS-PAGE в невосстанавливающих или восстанавливающих условиях с использованием красителя Кумасси синего или, предпочтительнее, красителя на основе серебра. Выделенное антитело включает антитело *in situ* в рекомбинантных Т клетках, поскольку по меньшей мере один компонент естественной среды антитела будет отсутствовать. Обычно, однако, выделенный полипептид или антитело будут получены с помощью по меньшей мере одного этапа очистки.

[32] «*Вариабельная область*» или «*вариабельный домен*» антитела, такого как антитело к CD33 по данному изобретению, относится к аминоконцевым доменам тяжелой или легкой цепи антитела. Вариабельные домены тяжелой цепи и легкой цепи можно обозначать как «V_H» и «V_L», соответственно. Эти домены обычно являются наиболее вариабельными частями антитела (по сравнению с другими антителами того же класса) и содержат сайты связывания антигена.

[33] Термин «*вариабельный*» относится к тому факту, что определенные сегменты вариабельных доменов сильно различаются по последовательности среди антител, таких как антитела к CD33 по данному изобретению. V-домен опосредует связывание антигена и определяет специфичность конкретного антитела к его конкретному антигену. Однако вариабельность не распределяется равномерно по всему диапазону вариабельных доменов. Напротив, она сосредоточена в трех сегментах вариабельных доменов как легкой, так и тяжелой цепи, называемых гипервариабельными (HVR) областями. Более консервативные фрагменты вариабельных доменов называются каркасными областями (FR). Каждый из вариабельных доменов нативных тяжелой и легкой цепей состоит из четырех областей FR, в значительной степени принимающих конфигурацию бета-листа, соединенных тремя HVR, которые образуют петли, соединяющие и в некоторых случаях образующие часть структуры бета-листа. HVR в каждой цепи удерживаются вместе в непосредственной близости от областей FR и вместе с HVR из другой цепи способствуют образованию антигенсвязывающего сайта антител (см. Kabat et al., Sequences of Immunological Interest, Fifth Edition, National Institute of Health, Bethesda, MD (1991)). Константные домены не участвуют непосредственно в связывании антитела с антигеном, но проявляют различные эффекторные функции, такие как участие антитела в антителозависимой клеточной токсичности.

[34] В контексте данного документа термин «*моноклональное антитело*» относится к антителу, такому как антитело к CD33 по данному изобретению, полученному из популяции по существу гомогенных антител, *т.е.* отдельные антитела, составляющие популяцию, идентичны, за исключением возможных встречающиеся в природе мутаций и/или посттрансляционных модификаций (*например*, изомеризации, амидирования), которые могут присутствовать в незначительных количествах. Моноклональные антитела являются высокоспецифичными, поскольку направлены против одного или более антигенных сайтов. В некоторых вариантах осуществления моноклональное антитело по

данному изобретению может представлять собой биспецифическое антитело. В отличие от препаратов поликлональных антител, которые обычно включают разные антитела, направленные против разных детерминант (эпитопов), каждое моноклональное антитело направлено против одной детерминанты на одном или более антигенных сайтах. Термин-модификатор «моноклональное» указывает на характер антитела как полученного из по существу гомогенной популяции антител и не должен толковаться как требующий получения антитела каким-либо конкретным способом. Например, моноклональные антитела, которые будут использоваться в соответствии с настоящим изобретением, могут быть получены с помощью различных способов, 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); and Lee et al., *J. Immunol. Methods* 284(1-2):119-132 (2004), гибридомный метод (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 рекомбинантной ДНК (см., например, патент США № 4 816 567), методики представления дрожжей (см., например, WO2009/036379A2; WO2010105256; WO2012009568, и Xu et al., *Protein Eng. Des. Sel.*, 26(10): 663-70 (2013), а также методики получения человеческих или человекоподобных антител у животных, которые имеют части или все локусы или гены иммуноглобулина человека, кодирующие последовательности иммуноглобулина человека (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 №5 545 807; 5 545 806; 5 569 825; 5 625 126; 5 633 425; и 5 661 016; 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).

[35] Термины «полноразмерное антитело», «интактное антитело» или «целое антитело» используются взаимозаменяемо для обозначения антитела, такого как антитело к CD33 по данному изобретению, в его по существу интактной форме, в отличие от фрагмент антитела. В частности полные антитела включают антитела с тяжелой и легкой цепями, включая область Fc. Константные домены могут быть константными доменами нативной последовательности (например, константными доменами нативной последовательности человека) или вариантами их аминокислотной последовательности. В некоторых случаях интактное антитело может выполнять одну или более эффекторных функций.

[36] «Фрагмент антитела» содержит часть интактного антитела, предпочтительно антигенсвязывающую и/или переменную область интактного антитела. Примеры

фрагментов антител включают Fab, Fab', F(ab')₂ и фрагменты Fv; диатела; линейные антитела (см. патент США 5641870, пример 2; Zapata et al., Protein Eng. 8(10):1057-1062 (1995)); молекулы одноцепочечных антител и мультиспецифические антитела, образованные из фрагментов антител.

[37] Расщепление папаином антител, таких как антитела к CD33 по данному изобретению, дает два идентичных антигенсвязывающих фрагмента, называемых фрагментами «Fab», и остаточный фрагмент «Fc», имеющий название, отражающее способность легко кристаллизоваться. Фрагмент Fab состоит из всей L-цепи вместе с доменом вариабельной области H-цепи (V_H) и первого константного домена одной тяжелой цепи (C_{H1}). Каждый фрагмент Fab является моновалентным по отношению к связыванию антигена, *то есть* он имеет единственный антигенсвязывающий сайт. Расщепление антитела пепсином приводит к образованию одного большого фрагмента F(ab')₂, который примерно соответствует двум дисульфидно связанным фрагментам Fab, имеющим разную антигенсвязывающую активность и все еще способным к перекрестному связыванию антигена. Фрагменты Fab' отличаются от фрагментов Fab наличием нескольких дополнительных остатков на карбокси-конце домена C_{H1}, включая один или более цистеинов из шарнирной области антитела. В данном документе Fab'-SH является обозначением для Fab'-фрагмента, в котором цистеиновые остатки константных доменов несут свободную тиольную группу. F(ab')₂-фрагменты антитела первоначально получали в виде пар Fab-фрагментов, которые имеют шарнирные цистеины между ними. Также известны другие химические соединения фрагментов антитела.

[38] Фрагмент Fc содержат карбоксиконцевые части обеих H-цепей, удерживаемые вместе дисульфидами. Эффекторные функции антител определяются последовательностями в области Fc, области, которая также распознается рецепторами Fc (FcR), обнаруженными на определенных типах клеток.

[39] «Fv» представляет собой минимальный фрагмент антитела, который содержит полный сайт распознавания антигена и антигенсвязывающий сайт. Этот фрагмент состоит из димера одного вариабельного домена тяжелой цепи и одного вариабельного домена легкой цепи в плотной нековалентной ассоциации. При фолдинге этих двух доменов наружу выступают шесть гипервариабельных петель (по 3 петли на каждой H- и L-цепи), аминокислотные остатки которых участвуют в связывании антигена и придают антителу специфичность по отношению к связыванию антигена. Однако даже один вариабельный домен (или половина Fv, содержащая только три HVR, специфичных по отношению к антигену) обладает способностью распознавать и связывать антиген, хотя и при более низкой аффинности, чем весь сайт связывания.

[40] «Одноцепочечный Fv», также сокращенно обозначаемый как «sFv» или «scFv», представляет собой фрагменты антител, которые содержат домены антител V_H и V_L, связанные в одну полипептидную цепь. Предпочтительно, полипептид sFv дополнительно содержит полипептидный линкер между доменами V_H и V_L, дающий возможность sFv образовывать требуемую структуру для связывания антигена. Обзор по sFv см. у Pluckthun

in *The Pharmacology of Monoclonal Antibodies*, vol. 113, Rosenberg and Moore eds., Springer-Verlag, New York, pp. 269-315 (1994).

[41] «Функциональные фрагменты» антител, таких как антитела к CD33 по данному изобретению, содержат часть интактного антитела, обычно содержащую антигенсвязывающую или вариабельную область интактного антитела или область Fc антитела, которая сохраняет или модифицирует способность связывания FcR. Примеры фрагментов антител включают линейные антитела, молекулы одноцепочечных антител и мультиспецифические антитела, образованные из фрагментов антител.

[42] Термин «*диатела*» относится к небольшим фрагментам антител, полученным путем конструирования фрагментов sFv (см. предыдущий абзац) с короткими линкерами (около 5-10 остатков) между доменами V_H и V_L, так что достигаются межцепочечное, но не внутрицепочечное спаривание V-доменов, в результате чего получается двухвалентный фрагмент, то есть фрагмент, имеющий два антигенсвязывающих сайта. Биспецифические диателы представляют собой гетеродимеры двух «поперечно сшитых» фрагментов sFv, в которых домены V_H и V_L двух антител присутствуют на разных полипептидных цепях. Более подробно диателы описаны, например, в EP 404 097; WO 93/11161; Hollinger et al., *Proc. Nat'l Acad. Sci. USA* 90:6444-48 (1993).

[43] В контексте данного документа термин «*химерное антитело*» относится к антителу (иммуноглобулину), такому как антитело к CD33 по данному изобретению, т.е. те, в которых часть тяжелой и/или легкой цепи идентична или гомологична соответствующим последовательностям в антителах, происходящих от определенного вида или принадлежащих к конкретному классу или подклассу антител, а остальная часть цепи (цепей) идентична или гомологична соответствующим последовательностям в антителах, происходящих от другого вида или принадлежащих к другому классу или подклассу антител, а также фрагментам таких антител при условии, что они проявляют желаемую биологическую активность (патент США №4 816 567; Morrison et al., *Proc. Nat'l Acad. Sci. USA*, 81:6851-55 (1984)). Представляющие интерес химерные антитела включают антитела PRIMATIZED[®], в которых антигенсвязывающая область антитела происходит из антитела, продуцируемого, например, иммунизацией макака представляющим интерес антигеном. В контексте данного документа термин «гуманизированное антитело» означает подгруппу «химерных антител».

[44] «Гуманизированные» формы нечеловеческих (*например*, мышинных) антител, такие как антитела к CD33 по данному изобретению, представляют собой химерные антитела, которые содержат минимальную последовательность, полученную из нечеловеческого иммуноглобулина. В одном варианте осуществления гуманизированное антитело представляет собой иммуноглобулин человека (реципиентное антитело), в котором остатки HVR реципиента заменены остатками HVR отличного от человека вида (донорское антитело), например, мыши, крысы, кролика или отличного от человека примата, имеющего желаемую специфичность, аффинность и функциональную способность. В некоторых случаях остатки FR иммуноглобулина человека заменены

соответствующими остатками нечеловеческого происхождения. Кроме того, гуманизированные антитела могут содержать остатки, отсутствующие в реципиентном антителе или в донорском антителе. Эти модификации могут быть сделаны для дальнейшего улучшения характеристик антител, таких как аффинность связывания. Как правило, гуманизированное антитело будет содержать по существу все из по меньшей мере одного, а обычно двух переменных доменов, в которых все или практически все гиперпеременные петли соответствуют таковым последовательности иммуноглобулина нечеловеческого происхождения, и все или практически все области FR соответствуют таким областям последовательности человеческого иммуноглобулина, хотя области FR могут содержать одну или более отдельных замен остатков FR, которые улучшают характеристики антитела, такие как аффинность связывания, изомеризация, иммуногенность и т.п. Число этих аминокислотных замен в FR обычно составляет не более 6 в H-цепи, а в L-цепи не более 3. Гуманизированное антитело необязательно будет также содержать по меньшей мере часть константной области иммуноглобулина (Fc), как правило, иммуноглобулина человека. Для получения дополнительной информации, см., например, 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); Hurler and Gross, *Curr. Op. Biotech.* 5:428-433 (1994) и патенты США № 6982321 и 7087409.

[45] «Человеческое антитело» представляет собой антитело, которое обладает аминокислотной последовательностью, соответствующей таковой у антитела, такого как антитело к CD33 по данному изобретению, продуцируемого человеком и/или полученного с использованием любой из методик для получения человеческих антител, как раскрыто в данном документе. Из этого определения человеческого антитела явным образом исключено гуманизированное антитело, содержащее не принадлежащие человеку антигенсвязывающие остатки. Человеческие антитела можно получать, используя различные технологии, известные в данной области техники, включая библиотеки фагового дисплея. Hoogenboom and Winter, *J. Mol. Biol.*, 227:381 (1991); Marks et al., *J. Mol. Biol.*, 222:581 (1991). Также для получения человеческих моноклональных антител доступны 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 можно получать путем введения антигена трансгенному животному, которое было модифицировано так, чтобы вырабатывать такие антитела в ответ на стимуляцию антигеном, но чьи эндогенные локусы были инактивированы, например, иммунизированная ксеномышь, (см., например, патенты США № 6 075 181 и 6 150 584 в отношении технологии XENOMOUSETM). См. также, например, Li et al., *Proc. Nat'l Acad. Sci. USA*, 103:3557-3562 (2006) относительно человеческих антител, полученных с помощью технологии человеческой В-клеточной гибридомы. В качестве альтернативы,

человеческие антитела также могут быть получены с использованием дрожжевых библиотек и способов, раскрытых, например, в WO2009/036379A2; WO2010105256; WO2012009568; и Xu et al., Protein Eng. Des. Sel., 26(10): 663-70 (2013).

[46] Термин «гипервариабельная область», «HVR» или «HV» в контексте данного документа относится к областям вариабельного домена антитела, таким как область антитела к CD33 по данному изобретению, которые являются гипервариабельными в последовательность 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 из шести HVR, и, как полагают, в частности, H3 играет уникальную роль в придании антителам высокой 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, встречающиеся в природе 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) and Sheriff et al., Nature Struct. Biol. 3:733-736 (1996).

[47] Применяют большое число вариантов разграничения HVR, которые включены в данный документ. В некоторых вариантах осуществления HVR, которые являются определяющими комплементарности областями (CDR) по Kabat, основаны на вариабельности последовательностей и являются наиболее часто используемыми (Kabat et al., *выше*). В некоторых вариантах осуществления HVR могут представлять собой CDR по Chothia. Chothia, напротив, относится к расположению структурных петель (Chothia and Lesk J. Mol. Biol. 196:901-917 (1987)). В некоторых вариантах осуществления HVR может представлять собой HVR по AbM. HVR по AbM представляют собой компромиссный вариант между CDR по Kabat и структурными петлями по Chothia, и используются в программном обеспечении для моделирования антител Oxford Molecular's AbM. В некоторых вариантах осуществления HVR может представлять собой «контактные» HVR. «Контактные» HVR основаны на анализе доступных комплексных кристаллических структур. Остатки из каждой из этих HVR приведены ниже.

<u>Петля</u>	<u>Kabat</u>	<u>AbM</u>	<u>Chothia</u>	<u>Контакт</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 Kabat)
H1	H31-H35	H26-H35	H26-H32	H30-H35 (нумерация Chothia)
H2	H50-H65	H50-H58	H53-H55	H47-H58
H3	H95-H102	H95-H102	H96-H101	H93-H101

[48] HVR могут включать «расширенные 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 переменного домена пронумерованы согласно с EU или Kabat et al., *выше*, для каждого из этих определений расширенного HVR.

[49] «Каркасные» или «FR» остатки представляют собой остатки переменного домена, отличные от остатков HVR, как определено в данном документе.

[50] Фраза «*нумерация остатков переменных доменов, как в EU или Kabat*» или «*нумерация аминокислотных положений, как в EU или Kabat*», и их варианты относятся к системе нумерации, используемой для переменных доменов тяжелой цепи или переменных доменов легкой цепи при составлении антител в EU или Kabat et al., *выше*. При использовании этой системы нумерации, фактическая линейная аминокислотная последовательность может содержать меньше или больше аминокислот, что соответствует укорочению или вставкам в FR или HVR переменного домена. Например, переменный домен тяжелой цепи может содержать вставку одной аминокислоты (остаток 52a в соответствии с Kabat) после остатка 52 H2 и вставленные остатки (*например*, остатки 82a, 82b, 82c и т. д. в соответствии с Kabat) после остатка 82 FR тяжелой цепи. Нумерация остатков по EU или Kabat для данного антитела может быть определена путем выравнивания областей гомологии последовательности антитела со «стандартной» пронумерованной по Kabat последовательностью.

[51] Система нумерации по EU или Kabat, как правило, используется для обозначения остатка в переменном 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 нумерации по EU или Kabat» или «индекс EU», как правило, используется для обозначения остатка в константной области тяжелой цепи иммуноглобулина (*например*, индекс EU, представленный в Kabat et al., *выше*). «Индекс EU в соответствии с Kabat» относится к нумерации остатков человеческого антитела IgG1 по EU. Если не указано иное, ссылки на номера остатков в переменном домене антител означают нумерацию остатков согласно системе нумерации по Kabat. Если не указано иное, то в данном документе ссылки на номера остатков в константном домене антител означают нумерацию остатков согласно системе нумерации по EU (*например*, см. публикацию патента США № 2010-280227).

[52] «Акцепторная каркасная область человека», как используется в данном документе, представляет собой каркас, содержащий аминокислотную последовательность каркасной области VL или VH, полученную из каркаса человеческого иммуноглобулина или консенсусного каркаса человека. Акцепторная каркасная область человека, «происходящая из» каркасной области человеческого иммуноглобулина или консенсусной каркасной области человека, может содержать такую же аминокислотную последовательность, или она может содержать ранее существовавшие изменения аминокислотной последовательности. В некоторых вариантах осуществления, число ранее существовавших аминокислотных замен составляет 10 или менее, 9 или менее, 8 или

менее, 7 или менее, 6 или менее, 5 или менее, 4 или менее, 3 или менее, или 2 или менее. Если в VH присутствуют ранее существовавшие аминокислотные изменения, предпочтительно, эти изменения происходят только в трех, двух или одном из положений 71Н, 73Н и 78Н; например, аминокислотные остатки в этих положениях могут быть 71А, 73Т и/или 78А. В одном варианте осуществления акцепторная каркасная область VL человека идентична по последовательности с каркасной областью VL человеческого иммуноглобулина или консенсусной последовательности каркасной области человека.

[53] *Консенсусная каркасная область человека* может представлять собой наиболее часто встречающийся аминокислотный остаток из ряда каркасных последовательностей VL или VH иммуноглобулина человека. Как правило, последовательности VL или VH иммуноглобулина человека выбирают из последовательностей подгруппы вариабельных доменов. Как правило, подгруппа последовательностей является подгруппой, как в 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, подгруппа может быть подгруппой каппа I, каппа II, каппа III или каппа IV, как описано в публикации Kabat et al., *выше*. Кроме того, для VH подгруппа может быть подгруппой I, подгруппой II или подгруппой III, как описано в публикации Kabat et al., *выше*.

[54] «*Аминокислотная модификация*» в определенном положении, например, антитела к CD33 по данному изобретению, относится к замене или делеции указанного остатка или вставке по меньшей мере одного аминокислотного остатка, примыкающего к указанному остатку. Вставка «рядом» с указанным остатком означает вставку в пределах одного-двух его остатков. Вставка может быть N-концевой или C-концевой по отношению к указанному остатку. В контексте данного документа предпочтительной модификацией аминокислоты является замена.

[55] Антитело с «*созревшей аффинностью*», такое как антитело к CD33 по данному изобретению, представляет собой антитело с одним или более изменениями в одном или более его HVR, которые приводят к повышению аффинности антитела к антигену по сравнению с исходным антителом, не имеющим этих изменений. В одном варианте осуществления антитело с созревшей аффинностью имеет наномолярную или даже пикомолярную аффинность к антигену-мишени. Антитела с созревшей аффинностью получают способами, известными в данной области техники. Например, Marks et al., *Bio/Technology* 10:779-783 (1992) описывает созревание аффинности путем перетасовки VH- и VL-доменов. Случайный 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).

[56] В контексте данного документа термин «*специфически распознает*» или «*специфически связывает*» относится к измеряемым и воспроизводимым взаимодействиям, таким как притяжение или связывание между мишенью и антителом, таким как антитело к CD33 по данному изобретению, которое является определяющим

присутствие мишени в присутствии гетерогенной популяции молекул, включая биологические молекулы. Например, антитело, такое как антитело к CD33 по данному изобретению, 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 с большей продолжительностью, чем оно связывается с другими мишенями или другими эпитопами мишени. Понятно также, что после прочтения этого определения, например, антитело (или фрагмент), которое специфически или предпочтительно связывается с первой мишенью, может или не может специфически или предпочтительно связываться со второй мишенью. По существу, *«специфическое связывание»* или *«предпочтительное связывание»* не обязательно требует (хотя оно может включать) исключительного связывания. Антитело, которое специфически связывается с мишенью, может иметь константу ассоциации, равную по меньшей мере около 10^3 M^{-1} или 10^4 M^{-1} , иногда около 10^5 M^{-1} или 10^6 M^{-1} , в других случаях около 10^6 M^{-1} или 10^7 M^{-1} , от около 10^8 M^{-1} до 10^9 M^{-1} , или от около 10^{10} M^{-1} до 10^{11} M^{-1} или выше. Различные форматы иммуноанализа могут быть использованы для выбора антител, специфически иммунореактивных с определенным белком. Например, твердофазный иммуноферментный анализ ИФА обычно используется 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, для описания форматов и условий иммуноанализа, которые можно использовать для определения специфической иммунореактивности.

[57] В контексте данного документа *«взаимодействие»* между белком CD33 и вторым белком включает, без ограничения, белок-белковое взаимодействие, физическое взаимодействие, химическое взаимодействие, связывание, ковалентное связывание и ионное связывание. В контексте данного документа антитело *«ингибирует взаимодействие»* между двумя белками, когда антитело нарушает, уменьшает или полностью устраняет взаимодействие между двумя белками. Антитело по данному изобретению или его фрагмент *«ингибирует взаимодействие»* между двумя белками, когда антитело или его фрагмент связывается с одним из двух белков.

[58] *«Антитело-агонист»* или *«активирующее»* антитело представляет собой антитело, такое как антитело-агонист к CD33 по данному изобретению, которое индуцирует (например, увеличивает) одну или более активностей или функций антигена после связывания антигена антителом.

[59] *«Блокирующее»* антитело, *«антитело-антагонист»* или *«ингибирующее»* антитело представляет собой антитело, такое как антитело к CD33 по данному изобретению, которое ингибирует или снижает (например, уменьшает) связывание антигена с одним или более лигандами после того, как антитело связывает антиген, и/или которое ингибирует или снижает (например, уменьшает) одну или более активностей или функций антигена после того, как антитело связывает антиген. В некоторых вариантах осуществления блокирующие антитела, антитела-антагонисты или ингибирующие

антитела по существу или полностью ингибируют связывание антигена с одним или более лигандами и/или одну или более активностей или функций антигена.

[60] «Эффекторные функции антитела» относятся к видам биологической активности, обусловленным областью Fc (нативной последовательностью области Fc или вариантом аминокислотной последовательности области Fc) антитела, и варьируются в зависимости от изотипа антитела.

[61] Термин «область Fc» в данном документе используется для определения С-концевой области тяжелой цепи иммуноглобулина, включая области Fc с нативной последовательностью и варианты области Fc. Хотя границы области Fc тяжелой цепи иммуноглобулинов могут варьироваться, область Fc тяжелой цепи человеческого IgG обычно определяют как участок от аминокислотного остатка в положении Cys226 или от Pro230 до его карбоксильного конца. С-концевой лизин (остаток 447 в соответствии с системой нумерации по EU или Kabat) области Fc может быть удален, например, в ходе получения или очистки антитела, или путем рекомбинантного конструирования нуклеиновой кислоты, кодирующей тяжелую цепь антитела. Соответственно, композиция интактных антител может содержать популяции антител, в которых удалены все остатки K447, популяции антител, в которых не удалены остатки K447, и популяции антител, содержащие смесь из антител с остатком K447 и без него. Подходящие области Fc с нативной последовательностью для применения в антителах по настоящему описанию включают человеческий IgG1, IgG2, IgG3 и IgG4.

[62] «Область Fc с нативной последовательностью» содержит аминокислотную последовательность, идентичную аминокислотной последовательности области Fc, встречающейся в природе. Области Fc человека нативной последовательности включают область Fc IgG1 нативной последовательности человека (аллотипы не-A и A); область Fc IgG2 нативной последовательности человека; область Fc IgG3 нативной последовательности человека; и область Fc IgG4 нативной последовательности человека, а также их варианты природного происхождения.

[63] «Вариантная область Fc» содержит аминокислотную последовательность, которая отличается от последовательности области Fc с нативной последовательностью на основании по меньшей мере одной модификации аминокислоты, предпочтительно одной или более аминокислотных замен. Предпочтительно вариантная область Fc имеет по меньшей мере одну аминокислотную замену по сравнению с областью Fc с нативной последовательностью или с областью Fc исходного полипептида, например, от около одной до около десяти аминокислотных замен, и предпочтительно от около одной до около пяти аминокислотных замен в области Fc с нативной последовательностью или в области Fc исходного полипептида. В данном документе вариант области Fc предпочтительно будут иметь по меньшей мере около 80% гомологии с нативной последовательности области Fc и/или с областью Fc исходного полипептида, и наиболее предпочтительно по меньшей мере около 90% гомологии с ними, наиболее предпочтительно, по меньшей мере около 95% гомологии с ними.

[64] Термины «Fc-рецептор» или «FcR» описывают рецептор, который связывается с областью Fc антитела. Предпочтительный FcR представляет собой FcR нативной последовательности человека. Более того, предпочтительным FcR является тот, который связывает антитело IgG (гамма-рецептор) и включает рецепторы подклассов FcγRI, FcγRII и FcγRIII, включая аллельные варианты и альтернативно сплайсированные формы этих рецепторов, рецепторы FcγRII включают FcγRIIA («активирующий рецептор») и FcγRIIB («ингибирующий рецептор»), которые имеют сходные аминокислотные последовательности, отличающиеся преимущественно их цитоплазматическими доменами. Активирующий рецептор FcγRIIA содержит иммунорецепторный мотив активации на основе тирозина («ITAM») в своем цитоплазматическом домене. Ингибирующий рецептор FcγRIIB содержит иммунорецепторный мотив ингибирования на основе тирозина («ITIM») в своем цитоплазматическом домене (см., например, M. Daëron, *Annu. Rev. Immunol.* 15:203-234 (1997)). FcR рассмотрены в Ravetch and Kinet, *Annu. Rev. Immunol.* 9:457-92 (1991); Capel et al., *Immunomethods* 4:25-34 (1994); and de Haas et al., *J. Lab. Clin. Med.* 126: 330-41 (1995). Другие FcR, включая те, которые будут идентифицированы в будущем, включены в термин «FcR» в данном документе. FcR также могут увеличивать период полужизни антител в сыворотке.

[65] Связывание с FcRn *in vivo* и время полужизни в сыворотке полипептидов, связывающих с высокой аффинностью человеческий FcRn, можно проанализировать, например, у трансгенных мышей, или в трансфицированных человеческих линиях клеток, экспрессирующих FcRn человека, или у приматов, которым вводят полипептиды с вариантной областью Fc. В WO 2004/42072 (Presta) описаны варианты антител с улучшенным или ослабленным связыванием с FcR. См. также, например, Shields et al., *J. Biol. Chem.* 9(2):6591-6604 (2001).

[66] В контексте данного документа «процент (%) идентичности аминокислотной последовательности» и «гомология» в отношении последовательности пептида, полипептида или антитела означает процент аминокислотных остатков в кандидатной последовательности, которые идентичны аминокислотным остаткам в конкретной последовательности пептида или полипептида, после выравнивания последовательностей и введения гэпов, если необходимо, для достижения максимального процента идентичности последовательности, и без учета консервативных замен как части идентичности последовательности. Выравнивание в целях определения процента идентичности аминокислотной последовательности может быть выполнено различными способами, известными специалисту в данной области техники, например, с помощью общедоступного программного обеспечения, такого как BLAST, BLAST-2, ALIGN или MEGALIGN™ (DNASTAR). Специалисты в данной области техники могут определить нужные параметры для измерения выравнивания, включая любые алгоритмы, известные в данной области техники. В необходимые для достижения максимального выравнивания по всей длине сравниваемых последовательностей.

[67] «Выделенная» молекула нуклеиновой кислоты, кодирующая антитело, такое

как антитело к CD33 по данному изобретению, представляет собой молекулу нуклеиновой кислоты, которая идентифицируется и отделяется от по меньшей мере одной загрязняющей молекулы нуклеиновой кислоты, с которой она обычно связана в среде, в которой она была произведена. Предпочтительно, выделенная нуклеиновая кислота не имеет связей со всеми компонентами, связанными с производственной средой. Выделенные молекулы нуклеиновой кислоты, кодирующие полипептиды и антитела, по настоящему описанию находятся в форме, отличной от той формы или условий, в которых они встречаются в природе. Поэтому выделенные молекулы нуклеиновой кислоты отличаются от нуклеиновой кислоты, кодирующей полипептиды и антитела по настоящему описанию, присутствующие в природе в клетках.

[68] Термин «вектор» в контексте данного документа предназначен для обозначения молекулы нуклеиновой кислоты, способной переносить другую нуклеиновую кислоту, с которой она связана. Один тип вектора представляет собой «плазмиду», которая относится к двухцепочечной кольцевой ДНК, в которую 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. Определенные векторы способны к независимой репликации в клетке-хозяине, в которую они введены (например, бактериальные векторы, имеющие бактериальную природу репликации и эписомные векторы млекопитающего). Другие векторы (например, неэписомальные векторы млекопитающих) могут быть интегрированы в геном клетки-хозяина после внесения в клетку-хозяина и, таким образом, реплицируются вместе с геномом хозяина. Кроме того, определенные векторы могут управлять экспрессией генов, с которыми они функционально связаны. Такие векторы называются в данном документе «рекомбинантными экспрессионными векторами» или просто «экспрессионными векторами». В целом, векторы, используемые в технологиях рекомбинантных ДНК, часто имеют форму плазмид. В данном описании «плазида» и «вектор» могут использоваться взаимозаменяемо, поскольку плазида является наиболее часто используемой формой вектора.

[69] Взаимозаменяемо употребляемые в данном документе термины «полинуклеотид» или «нуклеиновая кислота» относятся к полимерам нуклеотидов любой длины и включают ДНК и РНК. Нуклеотиды могут представлять собой дезоксирибонуклеотиды, рибонуклеотиды, модифицированные нуклеотиды или основания и/или их аналоги, или любой субстрат, который может быть включен в полимер посредством ДНК- или РНК-полимеразы, или с помощью синтетической реакции. Полинуклеотид может содержать модифицированные нуклеотиды, такие как метилированные нуклеотиды и их аналоги. Если присутствует, модификация нуклеотидной структуры может быть внесена до или после сборки полимера. Последовательность нуклеотидов может прерываться ненуклеотидными компонентами. Полинуклеотид может содержать модификацию(-и), произведенные после синтеза, такие

как конъюгация с меткой. Другие типы модификаций включают, например, «кэпы», замену одного или более встречающихся в природе нуклеотидов аналогом, межнуклеотидные модификации, такие как, например, модификации 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, *ply*-L-лизин и т. д.), с интеркаляторами (например, акридином, псораленом и т. д.), с хелаторами (например, металлы, радиоактивные металлы, бор, окислительные металлы и т. д.), с алкиляторами, с модифицированными связями (например, альфа-аномерные нуклеиновые кислоты и т. д.), а также немодифицированные формы полинуклеотида(ов). Кроме того, любые гидроксильные группы, обычно присутствующие в сахарах, могут быть заменены, например, фосфонатными группами, фосфатными группами, защищены стандартными защитными группами или активированы для получения 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 органической кэппирующей группы, содержащей от 1 до 20 атомов углерода. Другие гидроксилы также могут быть преобразованы в стандартные защитные группы. Полинуклеотиды могут также содержать аналогичные формы сахаров рибозы или дезоксирибозы, которые, как правило, известны в данной области техники, включая, например, 2'-О-метил-, 2'-О-аллил-, 2'-фтор- или 2'-азидо-рибозу, карбоциклические аналоги сахаров, α -аномерные сахара, эпимерные сахара, такие как арабиноза, ксилозы или ликсозы, пираноз, фураноз, седогептулозы, ациклические аналоги и основные аналоги нуклеозидов, такие как метилрибозид. Одна или более фосфодиефирных связей могут быть заменены альтернативными связывающими группами. Эти альтернативные линкерные группы включают, но не ограничиваются ими, варианты осуществления, в которых фосфат заменен на $P(O)S$ («тиоат»), $P(S)S$ («дитиоат»), $(O)NR_2$ («амидат»), $P(O)R$, $P(O)OR'$, CO или CH_2 («формацеталь»), в которых каждый R или R' независимо представляет собой H или замещенный или незамещенный алкил (1-20 C), необязательно содержащий простую эфирную связь ($-O-$), арил, алкенил, циклоалкил, циклоалкенил или аралдил. Не все связи в полинуклеотиде должны быть идентичными. Предыдущее описание применимо ко всем полинуклеотидам, упомянутым в данном документе, включая РНК и ДНК.

[70] «Клетка-хозяин» включает отдельную клетку или клеточную культуру, которая может быть или была реципиентом вектора(ов) для включения полинуклеотидных вставок. Клетки-хозяева включают потомство одной клетки-хозяина, и потомство необязательно может быть полностью идентичным (по морфологии или по комплементарности геномной ДНК) исходной родительской клетке из-за естественной, случайной или преднамеренной мутации. Клетка-хозяин включает клетки, трансфицированные *in vivo* полинуклеотидом(ами) по данному изобретению.

[71] В контексте данного документа «носители» включают фармацевтически приемлемые носители, наполнители или стабилизаторы, которые являются нетоксичными для клетки или млекопитающего, которое подвергается их воздействию, в применяемых дозировках и концентрациях. Часто физиологически приемлемым носителем является водный pH-буференный раствор. Примеры физиологически приемлемых носителей включают буферы, такие как фосфатный, цитратный, и другие органические кислоты; антиоксиданты, включая аскорбиновую кислоту; низкомолекулярные (менее чем около 10 аминокислотных 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; сахарные спирты, такие как маннит или сорбит; солеобразующие противоионы, такие как натрий; и/или неионные поверхностно-активные вещества, такие как TWEEN™, полиэтиленгликоль (ПЭГ) и PLURONICS™.

[72] Термин «около» в контексте данного документа относится к обычному диапазону погрешностей для соответствующего значения и хорошо известный специалисту в данной области техники. Ссылка на «около» в отношении значения или параметра в данном документе включает (и описывает) варианты осуществления, которые направлены на это значение или параметр *per se*.

[73] Использование в данном описании и в прилагаемой формуле изобретения форм единственного числа включает ссылку на множественное число, если в контексте явно не указано иное. Например, ссылка на «антитело» означает от одного до многих антител, таких как молярные количества, и включает их эквиваленты, известные специалистам в данной области техники, и так далее.

[74] Понятно, что аспект и варианты осуществления данного изобретения, описанные в данном документе, включают в себя аспекты и варианты «содержащий», «состоящий из» и «состоящий по существу из».

Обзор

[75] Настоящее изобретение относится к способам лечения и/или замедления прогрессирования заболевания или поражения, например, болезни Альцгеймера, у индивидуума путем введения индивидууму антитела к CD33. Как описано ниже, способы по данному изобретению удовлетворяют потребность в лечении пациентов с помощью правильной дозы и частоты введения антитела к CD33, а также введения этой дозы способами, облегчающими соблюдение пациентом режима лечения.

[76] Антитело к CD33 по данному изобретению характеризуется относительно коротким конечным периодом полужизни в сыворотке от около 4 дней до около 10 дней (см., например, **Пример 1**). Короткий конечный период полужизни антитела к CD33 по сравнению с другими терапевтическими антителами (Ovacik, M and Lin, L, (2018) Clin Transl Sci 11, 540-552) позволяет предположить, что антитело не может быть полезным в

терапевтических целях. Однако неожиданно однократное внутривенное введение антитела к CD33 привело к снижению уровня CD33 на клеточной поверхности по меньшей мере на 70%, которое сохранялось в течение по меньшей мере от 17 до 56 дней (см., например, **Пример 2**).

[77] Таким образом, несмотря на относительно короткий конечный период полужизни антитела к CD33 по данному изобретению, способы, представленные в настоящем документе, позволяют относительно редко вводить антитело к CD33, что особенно благоприятно для пациентов с нейродегенеративными заболеваниями, такими как болезнь Альцгеймера.

[78] Соответственно, в некоторых вариантах осуществления настоящее изобретение дополнительно относится к способам лечения и/или замедления прогрессирования заболевания или поражения, например, болезни Альцгеймера, у индивидуума путем введения антитела к CD33 индивидууму в дозе от около 1,6 мг/кг и до около 15 мг/кг один раз в двенадцать недель или чаще (см., например, **Пример 3**).

[79] Все ссылки, приведенные в данном документе, включая патенты, заявки на патенты и публикации, полностью включены в данный документ посредством ссылки.

Применение в терапевтических целях

[80] Как раскрыто в данном документе, антитела к CD33 по данному изобретению можно использовать для предотвращения, снижения риска или лечения деменции, лобно-височной деменции, болезни Альцгеймера, сосудистой деменции, смешанной деменции, болезни Крейтцфельда - Якоба, нормотензивной гидроцефалии, бокового амиотрофического склероза, болезни Хантингтона, таупатии, болезни Насу - Хакола, инсульта, острой травмы, хронической травмы, волчанки, острого и хронического колита, ревматоидного артрита, заживления ран, болезни Крона, воспалительного заболевания кишечника, язвенного колита, ожирения, малярии, эссенциального тремора, волчанки центральной нервной системы, болезни Бехчета, болезни Паркинсона, деменции с тельцами Леви, множественной системной атрофии, синдрома Шая - Дрейджера, прогрессирующего надъядерного паралича, кортикобазальной ганглиозной дегенерации, острого рассеянного энцефаломиелита, гранулематозного нарушения, саркоидоза, возрастных заболеваний, судорожных приступов, травм спинного мозга, черепно-мозговых травм, возрастной макулярной дегенерации, глаукомы, пигментного ретинита, дегенерации сетчатки, инфекции дыхательных путей, сепсиса, глазных инфекций, системных инфекций, волчанки, артрита, рассеянного склероза, низкой плотности костей, остеопороза, остеогенеза, связанного с остеопорозом заболевания, костной болезни Педжета, и рака, включая рак мочевого пузыря, рак головного мозга, рак молочной железы, рак толстой кишки, рак прямой кишки, рак эндометрия, рак почки, почечноклеточный рак, рак почечной лоханки, лейкоз, рак легкого, меланому, неходжкинскую лимфому, рак поджелудочной железы, рак предстательной железы, рак яичников, фибросаркому, острый лимфобластный лейкоз (ОЛЛ), острый миелоидный лейкоз (ОМЛ), хронический лимфоцитарный лейкоз (ХЛЛ), хронический миелоидный

лейкоз (ХМЛ), множественную миелому, истинную полицитемию, эссенциальный тромбоцитоз, первичный или идиопатический миелофиброз, первичный или идиопатический миелосклероз, миелоидные опухоли, опухоли, экспрессирующие CD33, рак щитовидной железы; инфекций, герпеса ЦНС, паразитарных инфекций, инфекции, вызванной *Trypanosoma*, инфекции, вызванной *Trypanosoma cruzi*, инфекции, вызванной *Pseudomonas aeruginosa*, инфекции, вызванной *Leishmania donovani*, инфекции, вызванной *Streptococcus* группы В, инфекции, вызванной *Campylobacter jejuni*, инфекции, вызванной *Neisseria meningitidis*, ВИЧ-инфекции I типа и/или инфекции, вызванной *Haemophilus influenzae*. В некоторых вариантах осуществления антитела к CD33 представляют собой антитела-агонисты. В некоторых вариантах осуществления антитела представляют собой инертные антитела. В некоторых вариантах осуществления антитела представляют собой антитела-антагонисты.

[81] В некоторых вариантах осуществления в данном изобретении предложены способы предотвращения, снижения риска или лечения деменции, лобно-височной деменции, болезни Альцгеймера, сосудистой деменции, смешанной деменции, болезни Крейтцфельда - Якоба, нормотензивной гидроцефалии, бокового амиотрофического склероза, болезни Хантингтона, таупатии, болезни Насу - Хакола, инсульта, острой травмы, хронической травмы, волчанки, острого и хронического колита, ревматоидного артрита, заживления ран, болезни Крона, воспалительного заболевания кишечника, язвенного колита, ожирения, малярии, эссенциального тремора, волчанки центральной нервной системы, болезни Бехчета, болезни Паркинсона, деменции с тельцами Леви, множественной системной атрофии, синдрома Шая - Дрейджера, прогрессирующего надъядерного паралича, кортикобазальной ганглиозной дегенерации, острого рассеянного энцефаломиелита, гранулематозного нарушения, саркоидоза, возрастных заболеваний, судорожных приступов, травм спинного мозга, черепно-мозговых травм, возрастной макулярной дегенерации, глаукомы, пигментного ретинита, дегенерации сетчатки, инфекции дыхательных путей, сепсиса, глазных инфекций, системных инфекций, волчанки, артрита, рассеянного склероза, низкой плотности костей, остеопороза, остеогенеза, связанного с остеопорозом заболевания, костной болезни Педжета, рака, включая рак мочевого пузыря, рак головного мозга, рак молочной железы, рак толстой кишки, рак прямой кишки, рак эндометрия, рак почки, почечноклеточный рак, рак почечной лоханки, лейкоз, рак легкого, меланому, неходжкинскую лимфому, рак поджелудочной железы, рак предстательной железы, рак яичников, фибросаркому, острый лимфобластный лейкоз (ОЛЛ), острый миелоидный лейкоз (ОМЛ), хронический лимфоцитарный лейкоз (ХЛЛ), хронический миелоидный лейкоз (ХМЛ), множественную миелому, истинную полицитемию, эссенциальный тромбоцитоз, первичный или идиопатический миелофиброз, первичный или идиопатический миелосклероз, миелоидные опухоли, опухоли, экспрессирующие CD33, рак щитовидной железы; инфекций, герпеса ЦНС, паразитарных инфекций, инфекции, вызванной *Trypanosoma*, инфекции, вызванной *Trypanosoma cruzi*, инфекции, вызванной *Pseudomonas aeruginosa*,

инфекции, вызванной *Leishmania donovani*, инфекции, вызванной *Streptococcus* группы В, инфекции, вызванной *Campylobacter jejuni*, инфекции, вызванной *Neisseria meningitidis*, ВИЧ-инфекции I типа и/или инфекции, вызванной *Haemophilus influenzae*, путем введения нуждающемуся в этом индивидууму терапевтически эффективного количества антитела по данному изобретению, которое снижает клеточный уровень CD33, ингибирует взаимодействие между CD33 и одним или более лигандами CD33, или обоими.

[82] В некоторых вариантах осуществления в данном изобретении представлены способы предотвращения, снижения риска или лечения рака путем введения нуждающемуся в этом индивидууму терапевтически эффективного количества антитела по данному изобретению, которое снижает клеточные уровни CD33, ингибирует взаимодействие между CD33 и одним или более лигандами CD33, или обоими. В некоторых вариантах осуществления антитело ингибирует одну или более активностей CD33, выбранных из следующего: (a) стимулирование пролиферации, созревания, миграции, дифференцировки и/или функциональности одного или более из иммуносупрессорных дендритных клеток, иммуносупрессорных макрофагов, иммуносупрессорных нейтрофилов, неонкогенных супрессорных клеток миелоидного происхождения, опухолеассоциированных макрофагов, неонкогенных CD14⁺ миелоидных клеток и регуляторных Т-клеток; (b) усиление инфильтрации одного или более из иммуносупрессорных дендритных клеток, иммуносупрессорных макрофагов, иммуносупрессорных нейтрофилов, неонкогенных супрессорных клеток миелоидного происхождения, опухолеассоциированных макрофагов и регуляторных Т-клеток в опухолях; (c) увеличение количества опухолевых миелоидных/гранулоцитарных иммуносупрессивных клеток и/или неонкогенных CD14⁺ миелоидных клеток в опухоли, в периферической крови или другом лимфоидном органе; (d) снижение активации опухолеспецифических Т-лимфоцитов с потенциалом уничтожения опухоли; (e) уменьшение инфильтрации опухолеспецифических Т-лимфоцитов с потенциалом уничтожения опухоли; (f) увеличение объема опухоли; (g) увеличение скорости роста опухоли; (h) увеличение метастазирования; (i) увеличение частоты рецидивов опухоли; (j) увеличение экспрессии одного или более лигандов PD-1; (k) снижение эффективности одного или более иммунотерапевтических средств, которые модулируют противоопухолевые Т-клеточные ответы, необязательно при этом одно или более иммунотерапевтических средств представляют собой иммунотерапевтические средства, 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 одну или более противораковых вакцин; и (l) снижение эффективности одного или более химиотерапевтических агентов, необязательно при этом один или более химиотерапевтических агентов представляет собой гемцитабин, капецитабин,

антрациклины, доксорубин (Adriamycin[®]), эпирубин (Ellence[®]), таксаны, паклитаксел (Taxol[®]), доцетаксел (Taxotere[®]), 5-фторурацил (5-ФУ), циклофосфамид (Cytoxan[®]), карбоплатин (Paraplatin[®]), оксалиплатин (Elotaxin[®]), лейковорин, темозолмид (Temodar[®]) и любые их комбинации. В некоторых вариантах осуществления антитело проявляет одну или более активностей, выбранных из следующего: (a) увеличение количества инфильтрирующих опухоли CD3⁺ Т-клеток; (b) снижение клеточного уровня CD33 в неонкогенных CD14⁺ миелоидных клетках, необязательно при этом неонкогенные CD14⁺ миелоидные клетки представляют собой инфильтрирующие опухоль клетки, или необязательно при этом неонкогенные CD14⁺ миелоидные клетки присутствуют в крови; (c) уменьшение количества неонкогенных CD14⁺ миелоидных клеток, необязательно при этом неонкогенные CD14⁺ миелоидные клетки представляют собой инфильтрирующие опухоль клетки, или необязательно при этом неонкогенные CD14⁺ миелоидные клетки присутствуют в крови; (d) снижение уровней PD-L1 в одной или более клетках, необязательно при этом одна или более клеток не представляют собой неонкогенные супрессорные клетки миелоидного происхождения (MDSC); (e) снижение скорости роста солидных опухолей; (f) уменьшение объема опухоли; (g) повышение эффективности одного или более ингибиторов PD-1; (h) повышение эффективности одного или более терапевтических средств-ингибиторов контрольных точек и/или иммуномодулирующих терапевтических средств, необязательно при этом одно или более терапевтических средств-ингибиторов контрольных точек и/или иммуномодулирующих терапевтических средств нацелены на один или более из CTL4, аденозинового пути, PD-L1, PD L2, OX40, TIM3, LAG3 или любой их комбинации; (i) повышение эффективности одного или более химиотерапевтических агентов, необязательно при этом один или более из химиотерапевтических агентов представляет собой гемцитабин, капецитабин, антрациклины, доксорубин (Adriamycin[®]), эпирубин (Ellence[®]), таксаны, паклитаксел (Taxol[®]), доцетаксел (Taxotere[®]), 5-фторурацил (5-ФУ), циклофосфамид (Cytoxan[®]), карбоплатин (Paraplatin[®]), оксалиплатин (Elotaxin[®]), лейковорин, темозолмид (Temodar[®]) и любую их комбинацию; и (j) уничтожение экспрессирующих CD33 иммуносупрессорных миелоидных клеток и/или экспрессирующих CD14 клеток в солидных опухолях и связанных кровеносных сосудах при конъюгировании с химическим или радиоактивным токсином.

[83] Как раскрыто в данном документе, антитела к CD33 по данному изобретению также могут быть использованы для индукции и/или стимулирования выживания, созревания, функциональности, миграции или пролиферации одной или более иммунных клеток (*например*, клеток врожденного иммунитета или клеток адаптивного иммунитета). В некоторых вариантах осуществления в данном изобретении представлены методы индуцирования или стимулирования выживания, созревания, функциональности, миграции или пролиферации одной или более иммунных клеток у нуждающегося в этом индивидуума путем введения нуждающемуся в этом индивидууму терапевтически эффективного количества антитела по данному изобретению, которое снижает клеточный

уровень CD33, ингибирует взаимодействие между CD33 и одним или более лигандами CD33, или обоими. В некоторых вариантах осуществления одна или более иммунных клеток выбраны из дендритных клеток, макрофагов, микроглиальных клеток, нейтрофилов, Т-клеток, Т-хелперных клеток, цитотоксических Т-клеток и любой их комбинации.

[84] В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой антитело-агонист к CD33. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой временное антитело-агонист к CD33 по настоящему описанию, которое сначала действует как агонист, а затем действует как долгосрочное антитело-антагонист. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой инертное антитело к CD33. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой антитело-антагонист к CD33. В некоторых вариантах осуществления антитело к CD33 снижает клеточный (*например*, на поверхности клетки, внутриклеточный или общий) уровень CD33. В некоторых вариантах осуществления антитело к CD33 индуцирует деградацию CD33. В некоторых вариантах осуществления антитело к CD33 индуцирует расщепление CD33. В некоторых вариантах осуществления антитело к CD33 индуцирует интернализацию CD33. В некоторых вариантах осуществления антитело к CD33 индуцирует шеддинг CD33. В некоторых вариантах осуществления антитело к CD33 индуцирует подавление экспрессии CD33. В некоторых вариантах осуществления антитело к CD33 ингибирует взаимодействие (*например*, связывание) между CD33 и одним или более лигандами CD33. В некоторых вариантах осуществления антитело к CD33 временно активирует, а затем индуцирует деградацию CD33. В некоторых вариантах осуществления антитело к CD33 временно активирует, а затем индуцирует расщепление CD33. В некоторых вариантах осуществления антитело к CD33 временно активирует, а затем индуцирует интернализацию CD33. В некоторых вариантах осуществления антитело к CD33 временно активирует, а затем индуцирует шеддинг CD33. В некоторых вариантах осуществления антитело к CD33 временно активирует, а затем индуцирует подавление экспрессии CD33. В некоторых вариантах осуществления антитело к CD33 временно активирует, а затем индуцирует пониженную экспрессию CD33. В определенных вариантах осуществления индивидум имеет вариантный аллель CD33, имеющий однонуклеотидные полиморфизмы (ОНП) rs3865444 CC или AC. В определенных вариантах осуществления индивидум имеет вариантный аллель CD33, имеющий однонуклеотидные полиморфизмы (ОНП) 2459419 CC или CT.

[85] В контексте данного документа, антитела к CD33 по данному изобретению могут дополнительно применяться для снижения активности, функциональности или выживаемости регуляторных Т-клеток, встроенных в опухоль иммуносупрессорных дендритных клеток, встроенных в опухоль иммуносупрессорных макрофагов, клеток-супрессоров миелоидного происхождения, ассоциированных с опухолью макрофагов, ассоциированных с опухолью нейтрофилов, ассоциированных с опухолью макрофагов, клеток острого миелоидного лейкоза (ОМЛ), клеток хронического лимфоцитарного

лейкоза (ХЛЛ) и/или клеток хронического миелоидного лейкоза (ХМЛ). В некоторых вариантах осуществления в данном изобретении предложены способы снижения активности, функциональности или выживаемости регуляторных Т-клеток, иммуносупрессорных дендритных клеток, встроенных в опухоль, иммуносупрессорных макрофагов, встроенных в опухоль, супрессорных клеток миелоидного происхождения, опухолеассоциированных макрофагов, клеток острого миелоидного лейкоза (ОМЛ), клеток хронического лимфоцитарного лейкоза (ХЛЛ), или клеток хронического миелоидного лейкоза (ХМЛ) у нуждающегося в этом индивидуума, включающий введение индивидууму терапевтически эффективного количества антитела, которое связывается или взаимодействует с CD33. В некоторых вариантах осуществления антитело выбрано из антитела-антагониста, инертного антитела и антитела-агониста. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой выделенное антитело к CD33 или конъюгат антитела к CD33 по данному изобретению. В некоторых вариантах осуществления конъюгат антитела к CD33 содержит антитело к CD33, конъюгированное с детектируемым маркером, токсином или терапевтическим средством.

[86] Как раскрыто в данном документе, антитела к CD33 по данному изобретению могут быть использованы для снижения клеточных уровней CD33, ингибирования взаимодействия между CD33 и одним или более лигандами CD33, или обоими на одной или более клетках *in vitro* или *in vivo*. В некоторых вариантах осуществления в данном изобретении предложены способы снижения клеточных уровней CD33, ингибирования взаимодействия между CD33 и одним или более лигандами CD33, или обоими на одной или более клетках у нуждающегося в этом индивидуума, путем введения индивидууму терапевтически эффективного количества антитела к CD33 по данному изобретению. В некоторых вариантах осуществления антитело к CD33 снижает клеточные уровни CD33 *in vivo*.

[87] Как раскрыто в данном документе, антитела к CD33 по данному изобретению могут быть использованы для снижения клеточных уровней CD33 на одной или более клетках, включая, без ограничения, дендритные клетки, дендритные клетки, полученные из костного мозга, моноциты, моноциты периферической крови, гранулоциты, микроглиальные клетки, Т-клетки, макрофаги и/или клеточные линии. В некоторых вариантах осуществления в данном изобретении предложены способы снижения клеточных уровней CD33 на одной или более клетках у нуждающегося в этом индивидуума, путем введения индивидууму терапевтически эффективного количества антитела к CD33 по данному изобретению. В некоторых вариантах осуществления одна или более клеток выбраны из дендритных клеток, дендритных клеток, полученных из костного мозга, моноцитов, моноцитов периферической крови, гранулоцитов, микроглиальных клеток, Т-клеток и макрофагов, а также любой их комбинации. В некоторых вариантах осуществления антитело к CD33 снижает клеточные уровни CD33 *in vivo*. Клеточные уровни CD33 могут относиться, без ограничения, к уровням CD33 на клеточной поверхности, внутриклеточным уровням CD33 и общим уровням CD33. В

некоторых вариантах осуществления снижение клеточных уровней CD33 включает снижение уровней CD33 на клеточной поверхности. В контексте данного документа уровни CD33 на клеточной поверхности могут быть измерены с помощью любого клеточного анализа *in vitro* или подходящей модели *in vivo*, описанной в данном документе или известной в данной области техники. В некоторых вариантах осуществления изобретения снижение клеточных уровней CD33 включает снижение внутриклеточных уровней CD33. В контексте данного документа внутриклеточные уровни CD33 могут быть измерены с помощью любого клеточного анализа *in vitro* или подходящей модели *in vivo*, описанной в данном документе или известной в данной области техники. В некоторых вариантах осуществления изобретения снижение клеточных уровней CD33 включает снижение общих уровней CD33. В контексте данного документа общие уровни CD33 могут быть измерены с помощью любого клеточного анализа *in vitro* или подходящей модели *in vivo*, описанной в данном документе или известной в данной области техники. В некоторых вариантах осуществления антитела к CD33 вызывают деградацию CD33, расщепление CD33, интернализацию CD33, шеддинг CD33 и/или подавление экспрессии CD33. В некоторых вариантах осуществления клеточные уровни CD33 измеряются на первичных клетках (*например*, дендритных клетках, дендритных клетках костного мозга, моноцитах, моноцитах периферической крови, гранулоцитах, микроглиальных клетках, Т-клетках и макрофагах) или на клеточных линиях с использованием клеточного анализа *in vitro*.

[88] Другие аспекты настоящего раскрытия относятся к способу отбора нуждающегося в этом субъекта для лечения антителом к CD33, причем способ включает: а. получение образца (*например*, образца крови) от субъекта; б. обнаружение аллелей CD33, присутствующих у субъекта; и с. отбор субъекта для лечения антителом, которое связывается или взаимодействует с CD33, если субъект имеет один или более аллелей CD33, причем один или более аллелей CD33 выбраны из группы, состоящей из rs3865444^{AC} и rs3865444^{CC}. Другие аспекты данного изобретения относятся к способу оценки ответа у нуждающегося в этом субъекта на антитело, который связывается или взаимодействует с CD33, причем способ включает: а. измерение уровней экспрессии CD45⁺ и CD14⁺ на неканцерогенных миелоидных клетках в образце крови, полученном от субъекта, перед введением субъекту антитела к CD33; б. введение субъекту терапевтически эффективного количества антитела; и с. измерение уровней экспрессии CD45⁺ и CD14⁺ на неканцерогенных миелоидных клетках в образце крови, полученном от субъекта после введения антитела к CD33, причем снижение уровней CD45⁺ CD14⁺ на неканцерогенных миелоидных клетках после введения антитела к CD33 указывает на то, что субъект отвечает на агент. Для получения образца, такого как образец крови, могут быть использованы любые подходящие методы. Кроме того, следует отметить, что может быть использован любой известный способ выявления вариантов и/или аллелей CD33, *например*, анализ ОНП. В некоторых вариантах осуществления способ оценки ответа дополнительно включает введение одного или более дополнительных терапевтически

эффективных количеств антитела. В некоторых вариантах осуществления изобретения субъектом является человек.

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

[90] В некоторых вариантах осуществления индивидуум не является носителем двух копий минорного аллеля rs12459419^T.

[91] В некоторых вариантах осуществления у индивидуума имеется клинический диагноз вероятной деменции, связанной с болезнью Альцгеймера, основанный на критериях Ассоциации по борьбе с болезнью Альцгеймера Национального института по проблемам старения. В некоторых вариантах осуществления у индивидуума показатель по Краткой шкале оценки психического статуса (MMSE) составляет 16-28 баллов, включительно. В некоторых вариантах осуществления общий балл по шкале клинической оценки тяжести деменции (CDR-GS) у индивидуума составляет 0,5, 1,0 или 2,0. В некоторых вариантах осуществления у индивидуума положительный результат ПЭТ-сканирования на выявление амилоида по качественному показателю. В некоторых вариантах осуществления индивидуум принимает ингибитор холинэстеразы и/или мемантин для лечения болезни Альцгеймера в стабильной дозе в течение по меньшей мере 4 недель до введения антитела к CD33. В контексте данного документа «стабильная доза» означает дозу, которая существенно не изменилась за указанный период времени и изменение которой не ожидается и не предполагается.

[92] В некоторых вариантах осуществления способы по данному изобретению могут дополнительно включать совместное введение антител к CD33 или биспецифических антител к CD33 с антителами, которые связываются с рецепторами распознавания паттернов, антителами, которые связываются с Toll-подобными рецепторами, антителами, которые связываются с рецепторами ассоциированного с повреждением молекулярного паттерна (DAMP), и/или антителами, которые связываются с цитокинами или антителами к интерлейкинам).

[93] В некоторых вариантах осуществления способы по данному изобретению могут дополнительно включать введение индивидууму по меньшей мере одного антитела, которое специфически связывается с молекулой ингибирующей контрольной точки, и/или одной или более стандартных или исследуемых противораковых терапий. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одно антитело, которое специфически связывается с молекулой ингибирующей контрольной точки, вводят в комбинации с антителом к CD33. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одно антитело, которое специфически связывается с молекулой ингибирующей контрольной точки, выбрано из антитела к PD-L1, антитела к CTLA4, антитела к PD-L2, антитела к PD-1, антитела к B7-H3, антитела к B7-H4 и антитела к HVEM, антитела к аттенуатору В- и Т-лимфоцитов (BTLA), антитела к рецептору подавления цитотоксичности (KIR),

антитела к GAL9, антитела к TIM3, антитела к A2AR, антитела к LAG-3, антитела к фосфатидилсерину, антитела к CD27, антитела к TNF α , антитела к Siglec-5, антитела к Siglec-7, антитела к Siglec-9, антитела к Siglec-11, антитела-антагониста к TREM1, антитела-антагониста к TREM2 и любой их комбинации. В некоторых вариантах осуществления одна или более стандартных или исследуемых противоопухолевых терапий выбраны из лучевой терапии, цитотоксической химиотерапии, таргетной терапии, терапии иматинибом, терапии трастузумабом, терапии этанерцептом, терапии на основе адоптивного переноса клеток (АПК), терапии на основе переноса Т-клеток с химерным антигенным рецептором (CAR-T), вакцинации и терапии цитокинами.

[94] В некоторых вариантах осуществления способы по данному изобретению 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 антителом к CD33. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одно антитело, которое специфически связывается с ингибирующим цитокином, выбрано из антитела к CCL2, антитела к CSF-1, антитела к IL-2 и любой их комбинации.

[95] В некоторых вариантах осуществления способы по данному изобретению могут дополнительно включать введение индивидууму, по меньшей мере, одного антитела-агониста, которое специфически связывается со стимулирующим белком контрольной точки. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одно антитело-агонист, которое специфически связывается с белком стимулирующей контрольной точки, вводят в комбинации с антителом к CD33. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одно антитело-агонист, специфически связывающееся с белком стимулирующей контрольной точки, выбрано из антитела-агониста к CD40, антитела-агониста к OX40, антитела-агониста к ICOS, антитела-агониста к CD28, антитела-агониста к TREM1, антитела-агониста к TREM2, антитела-агониста к CD137/4-1BB, антитела-агониста к CD27, антитела-агониста к глюкокортикоид-индуцированному TNFR-связанному белку GITR и любой их комбинации.

[96] В некоторых вариантах осуществления способы по данному изобретению 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 антителом к CD33. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере один стимулирующий цитокин выбран из IFN- α 4, IFN- β , IL-1 β , TNF- α , IL-6, IL-8, CRP, члены 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.

[97] В некоторых вариантах осуществления субъект или индивидуум является млекопитающим. Млекопитающие включают, без ограничения, домашних животных (например, коров, овец, кошек, собак и лошадей), приматов (например, людей и приматов,

не являющихся людьми, таких как обезьяны), кроликов и грызунов (например, мышей и крыс). В некоторых вариантах осуществления субъект или индивидуум представляет собой человека.

Деменция

[98] Деменция представляет собой неспецифический синдром (то есть набор признаков и симптомов), который проявляется как серьезная потеря общих когнитивных способностей у ранее здорового человека, сверх того, что можно было бы ожидать от нормального старения. Деменция может быть статической в результате уникального повреждения всего головного мозга. В качестве альтернативы, деменция может прогрессировать, приводя к долгосрочному снижению из-за повреждения или заболевания организма. Хотя деменция гораздо чаще встречается в гериатрической популяции, она также может возникнуть в возрасте до 65 лет. Когнитивные области, затронутые деменцией, включают, помимо прочего, память, концентрацию внимания, речь и решение задач. Как правило, симптомы должны присутствовать не менее шести месяцев, прежде чем у человека будет диагностирована деменция.

[99] Типичные формы деменции включают, без ограничения, лобно-височную деменцию, болезнь Альцгеймера, сосудистую деменцию, семантическую деменцию и деменцию с тельцами Леви.

[100] В некоторых вариантах осуществления введение антитела к CD33 по данному изобретению, может предотвратить, снизить риск возникновения и/или лечить деменцию. В некоторых вариантах осуществления антитело к CD33 может модулировать одну или более активностей CD33 у индивидуума, страдающего деменцией.

Лобно-височная деменция

[101] Лобно-височная деменция (ЛВД) представляет собой состояние, возникающее в результате прогрессирующего разрушения лобной доли головного мозга. Со временем дегенерация может перейти на височную долю. На втором месте после болезни Альцгеймера (БА) по распространенности, ЛВД приходится 20% случаев пресенильной деменции. Клинические признаки ЛВД включают дефицит памяти, поведенческие аномалии, изменения личности и нарушения речи (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)).

[102] Значительная часть случаев ЛВД наследуется по аутосомно-доминантному типу, но даже в одной семье симптомы могут охватывать спектр от ЛВД с поведенческими нарушениями до первичной прогрессирующей афазии и кортико-базальной ганглионарной дегенерации. ЛВД, как и большинство нейродегенеративных заболеваний, может характеризоваться патологическим присутствием специфических белковых агрегатов в пораженном мозге. Исторически первые описания ЛВД признали наличие внутринейрональных скоплений гиперфосфорилированного белка тау в нейрофибриллярных клубках или тельцах Пика. Роль ассоциированного с

микротрубочками белка тау была подтверждена идентификацией мутаций в гене, кодирующем белок тау, у членов нескольких семей (Hutton, M., et al., *Nature* 393:702-705 (1998)). Однако в большинстве образцов головного мозга с ЛВД не наблюдается накопления гиперфосфорилированного белка тау, но проявляется иммунореактивность к убиквитину (Ub) и ДНК-связывающему белку TAR (TDP43) (Neumann, M., et al., *Arch. Neurol.* 64:1388-1394 (2007)). Было показано, что в большинстве случаев ЛВД с включениями Ub (FTD-U) присутствуют мутации в гене програнулина.

[103] В некоторых вариантах осуществления введение антитела к CD33 по данному изобретению, может предотвратить, снизить риск возникновения и/или лечить ЛВД. В некоторых вариантах осуществления введение антитела к CD33 может модулировать одну или более активностей CD33 у индивидуума с ЛВД.

Болезнь Альцгеймера

[104] Болезнь Альцгеймера (БА) представляет собой наиболее распространенную форму деменции. От этой болезни, которая прогрессирует и в конечном итоге приводит к смерти, не существует лекарства. Чаще всего БА диагностируют у людей старше 65 лет. Однако менее распространенная форма болезни Альцгеймера с ранним началом может проявиться гораздо раньше.

[105] Общие симптомы болезни Альцгеймера включают поведенческие симптомы, такие как трудности с запоминанием недавних событий; когнитивные симптомы, спутанность сознания, раздражительность и агрессия, перепады настроения, проблемы с речью и потеря долговременной памяти. По мере развития болезни функции организма теряются, что в конечном итоге приводит к смерти. Болезнь Альцгеймера развивается в течение неизвестного и переменного количества времени, прежде чем станет полностью очевидной, и может прогрессировать без диагностики в течение многих лет.

[106] В некоторых вариантах осуществления введение антитела к CD33 по данному изобретению может предотвратить, снизить риск возникновения и/или лечить болезнь Альцгеймера. В некоторых вариантах осуществления введение антитела к CD33 может модулировать одну или более активностей CD33 у индивидуума, страдающего болезнью Альцгеймера.

[107] В некоторых вариантах осуществления лечение и/или замедление прогрессирования болезни Альцгеймера у индивидуума, которому вводят антитело к CD33 в соответствии с представленными в данном документе способами, оценивают согласно любому методу, известному в данной области техники. В некоторых вариантах осуществления лечение и/или замедление прогрессирования болезни Альцгеймера у индивидуума, которому вводят антитело к CD33 в соответствии с представленными в данном документе способами, оценивают с помощью оценки по шкале оценки клинической деменции (CDR) по сумме ячеек (CDR-SB), Краткой шкале оценки психического статуса (MMSE), оценки по шкале Повторяемой батареи тестов по оценке нейропсихологического состояния (RBANS), позитронно-эмиссионной томографии (ПЭТ) головного мозга на выявление амилоида или ПЭТ-визуализации транслокаторного белка

(TSPO) и любой их комбинации. В некоторых вариантах осуществления введение антитела к CD33 в соответствии с представленными в данном документе способами приводит к улучшению по меньшей мере на около 10%, по меньшей мере на около 20%, по меньшей мере на около 30%, по меньшей мере на около 40%, по меньшей мере на около 50%, по меньшей мере на около 60%, по меньшей мере на около 70%, по меньшей мере на около 80%, по меньшей мере на около 90%, по меньшей мере на около 95%, по меньшей мере на около 99%, или на около 100% в сумме баллов по шкале оценки клинической деменции (CDR) по сумме ячеек (CDR-SB), Краткой шкале оценки психического статуса (MMSE), оценки по шкале Повторяемой батареи тестов по оценке нейропсихологического состояния (RBANS), позитронно-эмиссионной томографии (ПЭТ) головного мозга на выявление амилоида или ПЭТ-визуализации транслокаторного белка (TSPO) и любой их комбинации.

Болезнь Паркинсона

[108] Болезнь Паркинсона, которую можно назвать идиопатическим или первичным паркинсонизмом, гипокинетическим ригидным синдромом (ГРС) или возбужденным параличом, представляет собой нейродегенеративное заболевание мозга, которое влияет на контроль двигательной системы. Прогрессирующая гибель клеток мозга, продуцирующих дофамин, приводит к основным симптомам болезни Паркинсона. Чаще всего болезнь Паркинсона диагностируют у людей старше 50 лет. У большинства людей болезнь Паркинсона является идиопатической (без известной причины). Однако генетические факторы также играют роль в заболевании.

[109] Симптомы болезни Паркинсона включают, помимо прочего, тремор кистей, рук, ног, челюсти и лица, ригидность мышц конечностей и туловища, замедленность движений (брадикинезию), нестабильность осанки, затруднения при ходьбе, психоневрологические проблемы, изменения речи или поведения, депрессию, беспокойство, боль, психоз, деменцию, галлюцинации и проблемы со сном.

[110] В некоторых вариантах осуществления введение антитела к CD33 по данному изобретению может предотвратить, снизить риск возникновения и/или лечить болезнь Паркинсона. В некоторых вариантах осуществления введение антитела к CD33 может модулировать одну или более активностей CD33 у индивидуума, страдающего болезнью Паркинсона.

Боковой амиотрофический склероз (БАС)

[111] В контексте данного документа термины боковой амиотрофический склероз (БАС) или заболевание двигательных нейронов или болезнь Лу Герига используются взаимозаменяемо и относятся к изнурительному заболеванию различной этиологии, характеризующемуся быстро прогрессирующей слабостью, мышечной атрофией и фасцикуляциями, мышечной спастичностью, затруднением речи (дизартрией), затрудненным глотанием (дисфагией) и затрудненным дыханием (одышкой).

[112] Было показано, что програнулин играет роль в БАС (Schymick, JC et al., (2007) J Neurol Neurosurg Psychiatry.;78:754-6), и защищает от повреждений, вызванных

белками, вызывающими БАС, такими как TDP-43 (Laird, AS et al., (2010). PLoS ONE 5: e13368). Также было продемонстрировано, что про-NGF индуцирует опосредованную p75 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).

[113] В некоторых вариантах осуществления введение антитела к CD33 по данному изобретению, может предотвратить, снизить риск возникновения и/или лечить БАС. В некоторых вариантах осуществления введение антитела к CD33 может модулировать одну или более активностей CD33 у индивидуума, страдающего боковым амиотрофическим склерозом.

болезнь Хантингтона

[114] Болезнь Хантингтона (БХ) представляет собой наследственное нейродегенеративное заболевание, вызванное аутомно-доминантной мутацией в гене гентингина (HTT). Увеличение количества триплетного повтора цитоксин-аденин-гуанин (CAG) в гене гентингина приводит к продукции мутантной формы белка гентингина (Htt), кодируемого этим геном. Этот мутантный белок гентингин (mHtt) токсичен и способствует гибели нейронов. Симптомы болезни Хантингтона чаще всего проявляются в возрасте от 35 до 44 лет, хотя могут появиться в любом возрасте.

[115] Симптомы болезни Хантингтона включают, помимо прочего, проблемы с контролем движений, судорожные, случайные движения (хорею), аномальные движения глаз, нарушение равновесия, судороги, затрудненное жевание, затруднение глотания, когнитивные проблемы, измененную речь, дефицит памяти, трудности мышления, бессонницу, утомляемость, слабоумие, изменения личности, депрессию, тревожность и компульсивное поведение.

[116] В некоторых вариантах осуществления введение антитела к CD33 по данному изобретению может предотвратить, снизить риск возникновения и/или лечить болезнь Хантингтона (HD). В некоторых вариантах осуществления введение антитела к CD33 может модулировать одну или более активностей CD33 у индивидуума, страдающего болезнью Хантингтона.

Таупатия

[117] Таупатические заболевания или таупатии представляют собой класс нейродегенеративных заболеваний, вызванных агрегацией белка тау, связанного с микротрубочками, в головном мозге. Болезнь Альцгеймера (БА) является наиболее известным заболеванием таупатии и включает накопление тау-белка в нейронах в форме нерастворимых нейрофибриллярных клубков (НФК). К другим таупатическим заболеваниям и расстройствам относятся прогрессирующий надъядерный паралич, пугилистическая деменция (хромовая травматическая энцефалопатия), лобно-височная деменция и паркинсонизм, связанный с хромосомой 17, болезнь Литико-Бодига (комплекс болезни Паркинсона и деменции Гуама), деменция с преобладанием клубочков, ганглиоглиома и ганглиоцитомы, менингиоангиоматоз, подострый склерозирующий

панэнцефалит, свинцовая энцефалопатия, туберозный склероз, болезнь Халлервордена - Шпатца, липофусциноз, болезнь Пика, кортикобазальная дегенерация, заболевание, характеризующееся появлением аргирофильных зерен (AGD), болезнь Хантингтона и лобно-височная долевая дегенерация.

[118] В некоторых вариантах осуществления введение антитела к CD33 по данному изобретению может предотвратить, снизить риск возникновения и/или лечить таупатию. В некоторых вариантах осуществления введение антитела к CD33 может модулировать одну или более активностей CD33 у индивидуума, страдающего таупатией.

Рассеянный склероз

[119] Рассеянный склероз (РС) также называют диссеминированным склерозом или диссеминированным энцефаломиелитом. РС представляет собой воспалительное заболевание, при котором повреждаются жировые миелиновые оболочки вокруг аксонов головного и спинного мозга, что приводит к демиелинизации и рубцеванию, а также к широкому спектру признаков и симптомов. РС влияет на способность нервных клеток головного и спинного мозга эффективно взаимодействовать друг с другом. Нервные клетки общаются, посылая электрические сигналы, называемые потенциалами действия, по длинным волокнам, называемым аксонами, которые содержатся в изолирующем веществе, называемом миелин. При РС собственная иммунная система организма атакует и повреждает миелин. Когда миелин теряется, аксоны больше не могут эффективно проводить сигналы. Начало РС обычно возникает у молодых людей и чаще встречается у женщин (см., например, [http://en\(dot\)wikipedia\(dot\)org/wiki/Multiple_sclerosis](http://en(dot)wikipedia(dot)org/wiki/Multiple_sclerosis) - cite_note-pmid18970977-1

[120] Симптомы РС включают, без ограничения, изменения ощущений, такие как потеря чувствительности или пощипывание; покалывание или онемение, такое как гипестезия и парестезия; мышечная слабость; клонус; мышечные спазмы; затруднение в движении; трудности с координацией и равновесием, например атаксия; проблемы с речью, например дизартрия, или проблемы с глотанием, например дисфагия; проблемы со зрением, такие как нистагм, неврит зрительного нерва, включая фосфены, и диплопия; усталость; острая или хроническая боль; и проблемы с мочевым пузырем и кишечником; когнитивные нарушения разной степени; эмоциональные симптомы депрессии или нестабильного настроения; феномен Утхоффа, который представляет собой обострение существующих симптомов из-за воздействия более высоких, чем обычно, температур окружающей среды; и признак Лермитта, который представляет собой электрическое ощущение, которое проходит по спине при сгибании шеи.

[121] В некоторых вариантах осуществления введение антитела к CD33 по данному изобретению может предотвратить, снизить риск возникновения и/или лечить рассеянный склероз. В некоторых вариантах осуществления введение антитела к CD33 может модулировать одну или более активностей CD33 у индивидуума с рассеянным склерозом.

Рак

[122] В дополнительных аспектах данного изобретения предложены способы

предотвращения, снижения риска или лечения рака путем введения нуждающемуся в этом индивиду терапевтически эффективного количества выделенного антитела к CD33 по данному изобретению. В этих способах можно использовать любое из выделенных антител по данному изобретению. В некоторых вариантах осуществления выделенное антитело представляет собой антитело-агонист по данному изобретению. В других вариантах осуществления выделенное антитело представляет собой антитело-антагонист по данному изобретению. В других вариантах осуществления выделенное антитело представляет собой инертное антитело по данному изобретению. В других вариантах осуществления выделенное антитело представляет собой конъюгат антитела по данному изобретению.

[123] Как раскрыто в данном документе, известно, что микроокружение опухоли содержит гетерогенный иммунный инфильтрат, который содержит Т-лимфоциты, макрофаги и клетки миелоидного/гранулоцитарного происхождения. Присутствие и активность регуляторных Т-клеток, иммуносупрессорных миелоидных клеток, встроенных в опухоль, и/или M2-макрофагов в опухолях связаны с плохим прогнозом. Напротив, наличие и активность цитотоксических Т-лимфоцитов благоприятны для лечения рака. Ожидается, что методы лечения, которые прямо или косвенно усиливают активность цитотоксических Т-клеток и снижают количество и активность различных иммуносупрессорных клеток, обеспечат значительный терапевтический эффект. Основополагающее доклиническое исследование показало синергизм между лекарственными средствами, нацеленными на иммуносупрессорные клетки (например, блокирующие антитела CSF1/CSF1R) и антителами, блокирующими иммунные контрольные точки, которые активируют цитотоксические Т-клетки, что указывает на то, что манипулирование обоими типами клеток демонстрирует эффективность на моделях опухолей, в которых индивидуальные методы лечения малоэффективны (Zhu Y; Cancer Res. 2014 Sep 15; 74(18):5057-69). Следовательно, в некоторых вариантах осуществления блокирование CD33, который экспрессируется на миелоидных клетках, подмножестве Т-клеток и связанных с опухолью иммунных клеток, может стимулировать полезный противоопухолевый иммунный ответ, приводя к терапевтическому противоопухолевому иммунному ответу.

[124] В некоторых вариантах осуществления способы предотвращения, снижения риска или лечения индивидуума, страдающего раком, дополнительно включают введение индивидууму по меньшей мере одного антитела, которое специфически связывается с молекулой ингибирующей контрольной точки. Примеры антител, которые специфически связываются с молекулой ингибирующей контрольной точки, включают, без ограничения, антитело к PD-L1, антитело к CTLA4, антитело к PD-L2, антитело к PD-1, антитело к B7-H3, антитело к B7-H4, антитело к HVEM, антитело к BTLA, антитело к GAL9, антитело к TIM3, антитело к A2AR, антитело к LAG-3, антитело к фосфатидилсерину и любую их комбинацию. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одно антитело, которое специфически связывается с молекулой ингибирующей контрольной точки,

вводят в комбинации с антителом-антагонистом к CD33 по данному изобретению.

[125] В некоторых вариантах осуществления рак, который необходимо предотвратить или лечить способами по данному изобретению, включает, без ограничения, плоскоклеточный рак (например, плоскоклеточный эпителиальный рак), рак легкого, включая мелкоклеточный рак легкого, немелкоклеточный рак легкого, аденокарциному легкого и плоскоклеточный рак легкого, рак брюшины, гепатоцеллюлярный рак, рак желудка, включая рак желудочно-кишечного тракта и рак стромы желудочно-кишечного тракта, рак поджелудочной железы, глиобластома, рак шейки матки, рак яичников, рак печени, рак мочевого пузыря, рак мочевыводящих путей, гепатому, рак молочной железы, рак толстой кишки, рак прямой кишки, колоректальный рак, рак эндометрия или матки, рак слюнной железы, рак почки или почек, рак предстательной железы, рак вульвы, рак щитовидной железы, карциному печени, анальную карциному, карцинома полового члена, меланому, меланому поверхностного распространения, меланому злокачественного лентиго, акральную лентигинозную меланому, узловые меланомы, множественную миелому и В-клеточную лимфому; хронический лимфолейкоз (ХЛЛ); острый лимфобластный лейкоз (ОЛЛ); волосатоклеточный лейкоз; хронический миелобластный лейкоз; и посттрансплантационное лимфопролиферативное расстройство (PTLD), а также аномальную пролиферацию сосудов, связанную с факоматозами, отеками (например, связанными с опухолями головного мозга), синдромом Мейгса, раком мозга, а также раком головы и шеи и связанными с ним метастазами. В некоторых вариантах осуществления злокачественное новообразование представляет собой колоректальный рак. В некоторых вариантах осуществления рак выбирают из немелкоклеточного рака легкого, глиобластомы, нейробластомы, почечно-клеточной карциномы, рака мочевого пузыря, рака яичников, меланомы, карциномы молочной железы, рака желудка и гепатоцеллюлярной карциномы. В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой тройную отрицательную карциному 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 представлять собой метастатическую опухоль во втором месте, происходящую от любого из вышеуказанных типов рака.

[126] В некоторых вариантах осуществления антитела к CD33 по данному изобретению могут быть применены для предотвращения, снижения риска или лечения рака, включая, без ограничения, рак мочевого пузыря, рак молочной железы, рак толстой и прямой кишки, рак эндометрия, рак почки, почечноклеточный рак, рак почечной лоханки, лейкоз, рак легкого, меланому, неходжкинскую лимфому, рак поджелудочной железы, рак предстательной железы, рак яичников, фибросаркому и рак щитовидной железы.

[127] В некоторых вариантах осуществления в данном изобретении предложены способы предотвращения, снижения риска или лечения индивидуума, страдающего раком,

путем введения индивидууму терапевтически эффективного количества антитела к CD33 по данному изобретению.

[128] В некоторых вариантах осуществления способ дополнительно включает введение индивидууму по меньшей мере одного антитела, которое специфически связывается с ингибиторной молекулой иммунной контрольной точки, и/или другой стандартной или исследуемой противораковой терапии. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одно антитело, которое специфически связывается с молекулой ингибирующей контрольной точки, вводят в комбинации с антителом к CD33 по данному изобретению. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одно антитело, которое специфически связывается с молекулой ингибирующей контрольной точки, выбрано из антитела к PD-L1, антитела к CTLA4, антитела к PD-L2, антитела к PD-1, антитела к B7-H3, антитела к B7-H4 и антитела к HVEM, антитела к В- и Т-лимфоцитарному аттенюатору (BTLA), антитела к рецептору подавления цитотоксичности (KIR), антитела к GAL9, антитела к TIM3, антитела к A2AR, антитела к LAG-3, антитела к фосфатидилсерину, антитела к CD27 и любой их комбинации. В некоторых вариантах осуществления стандартная или исследуемая противораковая терапия представляет собой одну или более терапий, выбранных из лучевой терапии, цитотоксической химиотерапии, таргетной терапии, иматиниба (Gleevec®), трастузумаба (Герцептин®), переноса адоптивных клеток (АСТ), переноса Т-клеток с химерным антигенным рецептором (CAR-T), вакцинация и цитокиновая терапия.

[129] 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 антителом к CD33 по настоящему описанию. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одно антитело, которое специфически связывается с ингибирующим цитокином, выбрано из антитела к CCL2, антитела к CSF-1, антитела к IL-2 и любой их комбинации.

[130] В некоторых вариантах осуществления способ дополнительно включает введение индивидууму по меньшей мере одного антитела-агониста, которое специфически связывается со стимулирующим белком иммунной контрольной точки. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одно антитело-агонист, которое специфически связывается с белком стимулирующей контрольной точки, вводят в комбинации с антителом к CD33 по настоящему описанию. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одно антитело-агонист, которое специфически связывается с белком стимулирующей контрольной точки, выбрано из антитела-агониста к CD40, агонистического антитела к OX40, антитела-агониста к ICOS, антитела-агониста к CD28, антитела-агониста к CD137/4-1BB, антитела-агониста к CD27, антитела-агониста к глюкокортикоид-индуцированному TNFR-связанному белку GITR и любой их комбинации.

[131] 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 антителом к CD33 по настоящему описанию. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере один стимулирующий цитокин выбран из TNF- α , IL-6, IL-8, CRP, членов 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.

Диагностическое применение

[132] Выделенные антитела по данному изобретению (*например*, антитело к CD33, описанное в данном документе) также имеют диагностическую значимость. Таким образом, в данном документе предложены способы применения антител по данному изобретению или их функциональных фрагментов для диагностических целей, таких как обнаружение белка CD33 у индивидуума или в образцах тканей, полученных от индивидуума.

[133] В некоторых вариантах осуществления индивидуум представляет собой человека. В некоторых вариантах осуществления индивидуум представляет собой пациента-человека, страдающего или подверженного риску развития заболевания, нарушения или поражения по данному изобретению. В некоторых вариантах осуществления диагностические способы включают обнаружение белка CD33 в биологическом образце, таком как образец биопсии, ткани или клетки. Антитело к CD33, описанное в данном документе, приводят в контакт с биологическим образцом и обнаруживают антиген-связанное антитело. Например, образец биопсии может быть окрашен антителом к CD33, описанным в данном документе, для обнаружения и/или количественной оценки клеток, связанных с заболеванием. Способ обнаружения может включать количественную оценку антиген-связанного антитела. Обнаружение антител в биологических образцах может происходить любым методом, известным в данной области техники, включая иммунофлуоресцентную микроскопию, иммуноцитохимию, иммуногистохимию, ИФА, анализ FACS, иммунопреципитацию или микропозитронно-эмиссионную томографию. В определенных вариантах осуществления антитело мечено радиоактивным изотопом, например, ^{18}F , а затем обнаружено с использованием анализа микропозитронной эмиссионной томографии. Связывание антител также может быть количественно определено у пациента с помощью неинвазивных методов, таких как позитронно-эмиссионная томография (ПЭТ), рентгеновская компьютерная томография, однофотонная эмиссионная компьютерная томография (ОФЭКТ), компьютерная томография (КТ) и компьютерная аксиальная томография (КАТ).

[134] В других вариантах осуществления выделенное антитело по данному изобретению (*например*, антитело к CD33, описанное в данном документе) можно применять для обнаружения и/или количественной оценки, например, микроглии в образце мозга, взятом из модели доклинического заболевания (*например*, модели заболевания не у человека). Таким образом, выделенное антитело по данному

изобретению (*например*, антитело к CD33, описанное в данном документе) может быть полезно для оценки терапевтического ответа после лечения на модели заболевания или поражения нервной системы, такого как лобно-височная деменция, болезнь Альцгеймера, сосудистая деменция, судороги, дистрофия сетчатки, атеросклеротические сосудистые заболевания, болезнь Насу - Хакола или рассеянный склероз, по сравнению с контролем.

Антитела к CD33

[135] Определенные аспекты настоящего изобретения основаны, по меньшей мере частично, на идентификации антител к CD33, которые демонстрируют одну или более улучшенных и/или усиленных функциональных характеристик (*например*, по сравнению с антителом к CD33, имеющим вариабельную область тяжелой цепи, содержащую последовательность SEQ ID NO: 103, и вариабельную область легкой цепи, содержащую последовательность SEQ ID NO: 104), включая улучшенную/усиленную способность снижать уровни CD33 на поверхности клеток, что приводит к снижению, нейтрализации, предупреждению или ограничению одной или более активностей CD33, включая, без ограничения, снижение роста моноцитов, макрофагов, Т-клеток, дендритных клеток и/или микроглии; снижение пролиферации Т-клеток, вызванной дендритными клетками, дендритными клетками костного мозга, моноцитами, микроглией, микроглией M1, активированной микроглией M1, микроглией M2, макрофагами, макрофагами M1, активированными макрофагами M1 и/или макрофагами M2; снижение выживаемости нейтрофилов, дендритных клеток, дендритных клеток костного мозга, макрофагов, макрофагов M1, активированных макрофагов M1, макрофагов M2, моноцитов, остеокластов, Т-клеток, Т-хелперов, цитотоксических Т-клеток, гранулоцитов, микроглии, микроглии M1, активированной микроглии M1 и/или микроглии M2; снижение пролиферации нейтрофилов, дендритных клеток, дендритных клеток костного мозга, макрофагов, макрофагов M1, активированных макрофагов M1, макрофагов M2, моноцитов, остеокластов, Т-клеток, Т-хелперов, цитотоксических Т-клеток, гранулоцитов, микроглии, активированной микроглии M1, микроглии M1 и/или микроглии M2; подавление миграции нейтрофилов, дендритных клеток, дендритных клеток костного мозга, макрофагов, макрофагов M1, активированных макрофагов M1, макрофагов M2, моноцитов, остеокластов, Т-клеток, Т-хелперов, цитотоксических Т-клеток, гранулоцитов, микроглии, микроглии M1, активированной микроглии M1 и/или микроглии M2; снижение одной или более функций нейтрофилов, дендритных клеток, дендритных клеток костного мозга, макрофагов, макрофагов M1, активированных макрофагов M1, макрофагов M2, моноцитов, остеокластов, Т-клеток, Т-хелперов, цитотоксических Т-клеток, гранулоцитов, микроглии, микроглии M1, активированной микроглии M1 и/или микроглии M2; снижение 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 положительного иммунного ответа на различные типы злокачественного новообразования, выбранные из рака мочевого пузыря, рака головного мозга, рака

молочной железы, рака толстой кишки, рака прямой кишки, рака эндометрия, рака почки, почечно-клеточного рака, рака лоханки, лейкоза, рака легкого, меланомы, неходжкинской лимфома, острого миелоидного лейкоза, рака поджелудочной железы, рака предстательной железы, рака яичников, фибросаркомы и рака щитовидной железы; ингибирование положительного иммунного ответа на различные типы неврологических нарушений, выбранных из деменции, лобно-височной деменции, болезни Альцгеймера, сосудистой деменции, смешанной деменции, болезни Крейтцфельда - Якоба, нормотензивной гидроцефалии, бокового амиотрофического склероза, болезни Хантингтона, таупатии, болезни Насу - Хакола, инсульта, острой травмы, хронической травмы, эссенциального тремора, болезни Бехчета, болезни Паркинсона, деменции с тельцами Леви, множественной системной атрофии, синдрома Шай - Дрейджера, прогрессирующего надъядерного паралича, кортикальной дегенерации базальных ганглиев, острого диссеминированного энцефаломиелита, гранулематозного заболевания, саркоидоза, болезни старения, судорог, травмы спинного мозга, черепно-мозговых травм, 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 костного мозга, моноцитах, микроглии, Т-клетках, нейтрофилах и/или макрофагах; ингибирование уничтожения опухолевых клеток одним или более из микроглии, макрофагов, дендритных клеток, дендритных клеток костного мозга, нейтрофилов, Т-клеток, Т-хелперов или цитотоксических Т-клеток; ингибирование активности против пролиферации опухолевых клеток одним или более из микроглии, макрофагов, дендритных клеток, дендритных клеток костного мозга, нейтрофилов, Т-клеток, Т-хелперов или цитотоксических Т-клеток; ингибирование активности против метастазирования опухолевыми клетками одного или более из микроглии, макрофагов, дендритных клеток, дендритных клеток костного мозга, нейтрофилов, Т-клеток, Т-хелперов или цитотоксических Т-клеток; модулированную экспрессию одного или более воспалительных рецепторов, таких как CD86, экспрессируемых на одном или более из микроглии, макрофагов, дендритных клеток, дендритных клеток костного мозга, нейтрофилов, Т-клеток, Т-хелперов или цитотоксических Т-клеток; усиление инфильтрации одного или более из иммуносупрессорных дендритных клеток, иммуносупрессорных макрофагов, миелоидных супрессорных клеток, связанных с опухолью макрофагов, иммуносупрессорных нейтрофилов и регуляторных Т-клеток в опухоли; увеличение количества опухолестимулирующих миелоидных/гранулоцитарных иммуносупрессивных клеток в опухоли, периферической крови или другом лимфоидном органе; усиление опухолестимулирующей активности миелоидных супрессорных клеток; снижение активации опухолеспецифических Т-лимфоцитов с потенциалом уничтожения опухоли; уменьшение инфильтрации опухолеспецифических Т-лимфоцитов с потенциалом уничтожения опухолей; увеличение скорости роста опухоли; увеличение частоты рецидивов опухоли; снижение эффективности одного или более иммунотерапевтических

средств, которые модулируют противоопухолевые Т-клеточные ответы, необязательно, при которых одно или более иммунотерапевтических средств представляют собой иммунотерапевтические средства, нацеленную 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, рецептора CSF-1, и любой их комбинации, или одного или более химиотерапевтического агента и/или противораковых вакцин.

[136] В некоторых вариантах осуществления изобретения лечение злокачественного новообразования антителами к CD33, как описано в данном документе, может: (i) увеличить количество инфильтрирующих опухоль CD3⁺ Т-клеток; (ii) снизить клеточные уровни CD33 в неонкогенных CD14⁺ миелоидных клетках, необязательно при этом неонкогенные CD14⁺ миелоидные клетки представляют собой инфильтрирующие опухоль клетки, или необязательно при этом неонкогенные CD14⁺ миелоидные клетки присутствуют в крови; (iii) уменьшить количество неонкогенных CD14⁺ миелоидных клеток, необязательно при этом неонкогенные CD14⁺ миелоидные клетки представляют собой инфильтрирующие опухоль клетки, или необязательно при этом неонкогенные CD14⁺ миелоидные клетки присутствуют в крови; (iv) снизить уровни PD-L1, PD-L2, B7-H7, B7-H3, CD200R, CD163 и/или CD206 в одной или более клетках, необязательно при этом одна или более клеток представляют собой неонкогенные супрессорные клетки миелоидного происхождения (MDSC); (v) снизить скорости роста солидных опухолей; (vi) уменьшить объем опухоли; (vii) повысить эффективность одного или более ингибиторов PD-1; (viii) повысить эффективность одного или более терапевтических средств-ингибиторов контрольных точек и/или иммуномодулирующих терапевтических средств, необязательно при этом одно или более терапевтических средств-ингибиторов контрольных точек и/или иммуномодулирующих терапевтических средств нацелены на один или более из CTL4, аденозинового пути, PD-L1, PD-L2, OX40, TIM3, LAG3 или любой их комбинации; (ix) повысить эффективность одного или более химиотерапевтических агентов, необязательно при этом один или более химиотерапевтических агентов представляют собой гемцитабин, капецитабин, антрациклины, доксорубин (Adriamycin[®]), эпирубин (Ellence[®]), таксаны, паклитаксел (Taxol[®]), доцетаксел (Taxotere[®]), 5-фторурацил (5-ФУ), циклофосфамид (Cytoxan[®]), карбоплатин (Paraplatin[®]) и любые их комбинации; (x) увеличить пролиферацию Т-клеток в присутствии неонкогенных супрессорных клеток миелоидного происхождения (MDSC); (xi) ингибирование дифференцировки, выживаемости и/или одной или более функций неонкогенных миелоидных супрессорных клеток (MDSC); и (xii) уничтожить CD33-экспрессирующие иммуносупрессорные неонкогенные миелоидные клетки и/или неонкогенные CD14-экспрессирующие клетки в солидных опухолях и связанных кровеносных сосудах при конъюгировании с химическим или радиоактивным токсином.

[137] В некоторых вариантах осуществления миелоидные клетки по данному

изобретению включают, без ограничения, CD45+CD14+ миелоидные клетки, CD14+ миелоидные клетки и супрессорные клетки миелоидного происхождения (MDSC). В некоторых вариантах осуществления миелоидные клетки по данному изобретению представляют собой неонкогенные миелоидные клетки. Иммуносупрессорные клетки иногда также называют супрессорными клетками миелоидного происхождения (КСМП). У людей MDSC можно определить по 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}, and (21) CD11b+ CD15+ (см. также Solito S et al. Annals of the NY Academy of Sciences, 2014). У мышей MDSC можно определить по экспрессии поверхностных маркеров CD45+, CD11b+, Gr1+ и/или IL4R α +. Дополнительными примерами иммуносупрессивных моноцитарных клонов являются CD45+, CD11b+, Gr1^{low} и CD45+, CD11c+.

[138] Некоторые аспекты настоящего изобретения относятся к антителам к CD33, имеющим одну или более усиленных и/или улучшенных функциональных характеристик. В некоторых вариантах осуществления антитела к CD33 по данному изобретению имеют одну или более усиленных и/или улучшенных функциональных характеристик по сравнению с контрольным антителом (*например*, контрольным антителом к CD33, содержащим вариabельную область тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 34 и вариabельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 77; контрольным антителом к CD33, содержащим вариabельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 40 и вариabельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 86; и контрольным антителом к CD33, содержащим вариabельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 52 и вариabельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 86; и/или контрольным антителом к CD33, содержащим вариabельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 103 и вариabельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 104). В некоторых вариантах осуществления антитела к CD33 по данному изобретению имеют аффинность к CD33 (*например*, CD33 человека), которая выше, чем у контрольного антитела к CD33 (*например*, контрольного антитела к CD33, содержащего вариabельную область тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 34 и вариabельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 77; контрольного антитела к CD33, содержащего вариabельную область тяжелой цепи,

содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 40 и переменную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 86; и контрольного антитела к CD33, 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 антитела к CD33, 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 антитела к CD33 по данному изобретению связываются с клетками человека, такими как дендритные клетки человека, с полумаксимальной эффективной концентрацией (EC_{50}), которая ниже, чем у контрольного антитела (*например*, контрольного антитела к CD33, содержащего переменную область тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 34 и переменную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 77; контрольного антитела к CD33, 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 антитела к CD33, 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 антитела к CD33, 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 антитела к CD33 по данному изобретению снижают клеточные уровни (*например*, уровни на клеточной поверхности) CD33 с полумаксимальной эффективной концентрацией (EC_{50}), которая ниже, чем у контрольного антитела (*например*, контрольного антитела к CD33, содержащего переменную область тяжелой цепи, содержащую последовательность SEQ ID NO: 103, и переменную область легкой цепи, содержащую последовательность SEQ ID NO: 104).

[139] Клеточные уровни CD33 могут относиться, без ограничения, к уровням CD33 на клеточной поверхности, внутриклеточным уровням CD33 и общим уровням CD33. В некоторых вариантах осуществления снижение клеточных уровней CD33 включает снижение уровней CD33 на клеточной поверхности. В некоторых вариантах осуществления антитела к CD33 по данному изобретению, которые снижают клеточные уровни CD33 (*например*, уровни CD33 на клеточной поверхности), имеют одну или более из следующих характеристик: (1) ингибирует или снижает одну или более активностей CD33; (2) способность ингибировать или уменьшать связывание CD33 с одним или более его лигандами; (3) способность снижать экспрессию CD33 в клетках, экспрессирующих CD33; (4) способность взаимодействовать, связывать или распознавать белок CD33; (5) способность специфически взаимодействовать с белком CD33 или связываться с ним; и

(6) способность лечить, облегчать или предотвращать любой аспект заболевания или расстройства, описанного или предполагаемого в данном документе.

[140] Антитела к CD33 по данному изобретению могут иметь наномолярную или даже пикомолярную аффинность к целевому антигену (*например*, CD33 человека). В определенных вариантах осуществления константа диссоциации (K_D) антитела составляет от около 0,001 до около 100 нМ. В определенных вариантах осуществления K_D антитела составляет от около 0,01 до около 10 нМ. В определенных вариантах осуществления K_D антитела составляет от около 0,202 до около 8,57 нМ. В некоторых вариантах осуществления K_D антитела менее около или равна 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 около 5,22 нМ. В некоторых вариантах осуществления K_D антитела более около или равна около 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. То есть, K_D антитела может быть любой из диапазона аффинностей, имеющего верхний предел около 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 около 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 меньше верхнего предела. В некоторых вариантах осуществления K_D антитела составляет около 10 нМ, около 9 нМ, около 8 нМ, около 7 нМ, около 6 нМ, около 5 нМ, около 4 нМ, около 3 нМ, около 2 нМ, около 1 нМ, около 900 пМ, около 800 пМ, около 700 пМ, около 600 пМ, около 500 пМ, около 400 пМ, около 300 пМ, около 200 пМ, или около 100 пМ. В данной области техники известны различные способы измерения аффинности антител, включая, например, применение поверхностного плазмонного резонанса или биослойной интерферометрии (см., например, Пример 1 ниже). В некоторых вариантах осуществления K_D для CD33 определяют при температуре приблизительно 25°C. В некоторых вариантах осуществления K_D для 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.

[141] В некоторых вариантах осуществления изобретения антитела к CD33 по данному изобретению имеют более низкую константу диссоциации (K_D) для CD33, чем контрольное антитело к CD33 (*например*, контрольное антитело к CD33, 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 антитело к CD33, 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 антитело к CD33, 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 антитело к CD33, 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 изобретения антитела к CD33 по данному изобретению имеют K_D для мишени (*например*, CD33 человека), которая по меньшей мере на около 5%, по меньшей мере на около 10%, по меньшей мере на около 15%, по меньшей мере на около 20%, по меньшей мере на около 25%, по меньшей мере на около 30%, по меньшей мере на около 35%, по меньшей мере на около 40%, по меньшей мере на около 45%, по меньшей мере на около 50%, по меньшей мере на около 55%, по меньшей мере на около 60%, по меньшей мере на около 65%, по меньшей мере на около 70%, по меньшей мере на около 75%, по меньшей мере на около 80%, по меньшей мере на около 85%, по меньшей мере на около 90%, по меньшей мере на около 95% или по меньшей мере на около 99% ниже, чем K_D контрольного антитела к CD33 для мишени (*например*, контрольного антитела к CD33, содержащего переменную область тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 34 и переменную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 77; контрольного антитела к CD33, 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 антитела к CD33, 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 антитела к CD33, 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 антитела к CD33 по данному изобретению имеют K_D для мишени (*например*, CD33 человека), которая по меньшей мере в около 1 раз, по меньшей мере в около 1,1 раза, по меньшей мере в около 1,5 раза, по меньшей мере в около 2 раза, по меньшей мере в около 3 раза, по меньшей мере в около 4

раза, по меньшей мере в около 5 раз, по меньшей мере в около 6 раз, по меньшей мере в около 7 раз, по меньшей мере в около 8 раз, по меньшей мере в около 9 раз, по меньшей мере в около 10 раз, по меньшей мере в около 12,5 раз, по меньшей мере в около 15 раз, по меньшей мере в около 17,5 раз, по меньшей мере в около 20 раз, по меньшей мере в около 22,5 раз, по меньшей мере в около 25 раз, по меньшей мере в около 27,5 раз, по меньшей мере в около 30 раз, по меньшей мере в около 50 раз или по меньшей мере в около 100 раз ниже, чем K_D контрольного антитела к CD33 для мишени (*например*, контрольного антитела к CD33, содержащего вариабельную область тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 34 и вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 77; контрольного антитела к CD33, 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 антитела к CD33, 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 антитела к CD33, 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 антитела к CD33 по настоящему описанию имеют K_D для CD33 человека, которая в по меньшей мере в 9 раз выше, чем у антитела к CD33, 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 антитела к CD33 по настоящему описанию имеют K_D для CD33 человека, которая в по меньшей мере в 3 раза выше, чем у антитела к CD33, 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 антитела к CD33 по настоящему описанию имеют K_D для CD33 человека, которая в по меньшей мере в 3 раза выше, чем у антитела к CD33, 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 аффинность измеряют при помощи 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, как описано в примере 1 ниже.

[142] Антитела к CD33 по данному изобретению могут снижать клеточные уровни (*например*, уровни на клеточной поверхности) CD33 с полумаксимальной эффективной

концентрацией (EC_{50}) (например, при измерении *in vitro* с использованием первичных дендритных клеток человека) в пикомолярном диапазоне. В определенных вариантах осуществления EC_{50} антитела составляет от около 0,1 до около 500 пМ. В определенных вариантах осуществления EC_{50} антитела составляет от около 1 до около 250 пМ. В определенных вариантах осуществления EC_{50} антитела составляет от около 4,1 до около 151,1 пМ. В некоторых вариантах осуществления EC_{50} антитела менее около или равно около 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 около 74,3 пМ. В некоторых вариантах осуществления EC_{50} антитела составляет более около или равна около 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. То есть EC_{50} антитела может быть любым из диапазона, имеющего верхний предел около 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 около 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, причем нижний предел меньше верхнего предела. В некоторых вариантах осуществления EC_{50} антитела составляет любое из значений около 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. В данной области техники известны различные способы измерения значений EC_{50} антитела, включая, например, проточную цитометрию (см., например, Пример 2 ниже). В некоторых вариантах осуществления EC_{50} измеряют *in vitro* с использованием первичных дендритных клеток человека. В некоторых вариантах осуществления EC_{50} измеряют *in vitro* с использованием первичных моноцитов человека. В некоторых вариантах осуществления EC_{50} измеряют *in vitro* с использованием первичных макрофагов человека. В некоторых вариантах осуществления EC_{50} измеряют *in vitro* с использованием культивируемых клеток, трансфицированных CD33 человека. 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 антител, содержащих константные области, демонстрирующие усиленное связывание с рецептором Fc. В некоторых вариантах осуществления EC_{50} определяют с использованием антител, содержащих константные области, демонстрирующие пониженное связывание с

рецептором Fc.

[143] В некоторых вариантах осуществления антитела к CD33 по данному изобретению снижают клеточные уровни (*например*, уровни на клеточной поверхности) CD33 с более низкой EC_{50} (*например*, измеренной *in vitro* с использованием первичных дендритных клеток человека), чем контрольное антитело к CD33 (*например*, контрольное антитело к CD33, 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 антитело к CD33, 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 антитело к CD33, 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 антитело к CD33, 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 изобретения антитела к CD33 по данному изобретению снижают клеточные уровни (*например*, уровень CD33 на поверхности клеток) с EC_{50} , которая по меньшей мере на около 5%, по меньшей мере на около 10%, по меньшей мере на около 15%, по меньшей мере на около 20%, по меньшей мере на около 25%, по меньшей мере на около 30%, по меньшей мере на около 35%, по меньшей мере на около 40%, по меньшей мере на около 45%, по меньшей мере на около 50%, по меньшей мере на около 55%, по меньшей мере на около 60%, по меньшей мере на около 65%, по меньшей мере на около 70%, по меньшей мере на около 75%, по меньшей мере на около 80%, по меньшей мере на около 85%, по меньшей мере на около 90%, по меньшей мере на около 95% или по меньшей мере на около 99% ниже, чем EC_{50} контрольного антитела к CD33 (*например*, контрольного антитела к CD33, содержащего переменную область тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 34 и переменную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 77; контрольного антитела к CD33, 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 антитела к CD33, 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 антитела к CD33, 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 антитела к CD33 по данному

изобретению снижают клеточные уровни (*например*, уровни на поверхности клеток) CD33 с EC_{50} , которая по меньшей мере в около 1 раз, по меньшей мере в около 1,1 раза, по меньшей мере в около 1,5 раза, по меньшей мере в около 2 раза, по меньшей мере в около 3 раза, по меньшей мере в около 4 раза, по меньшей мере в около 5 раз, по меньшей мере в около 6 раз, по меньшей мере в около 7 раз, по меньшей мере в около 8 раз, по меньшей мере в около 9 раз, по меньшей мере в около 10 раз, по меньшей мере в около 12,5 раза, по меньшей мере в около 15 раз, по меньшей мере в около 17,5 раза, по меньшей мере в около 20 раз, по меньшей мере в около 22,5 раза, по меньшей мере в около 25 раз, по меньшей мере в около 27,5 раза, по меньшей мере в около 30 раз, по меньшей мере в около 50 раз или по меньшей мере в около 100 раз ниже, чем EC_{50} контрольного антитела к CD33 (*например*, контрольного антитела к CD33, содержащего вариабельную область тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 34 и вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 77; контрольного антитела к CD33, 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 антитела к CD33, 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 антитела к CD33, 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 антитела к CD33 по настоящему описанию имеют EC_{50} , которая в по меньшей мере в 1,6 раза ниже, чем у антитела к CD33, 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 антитела к CD33 по настоящему описанию имеют EC_{50} , которая в по меньшей мере в 1,05 раза ниже, чем у антитела к CD33, 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 антитела к CD33 по настоящему описанию имеют EC_{50} , которая в по меньшей мере в 1,07 раза ниже, чем у антитела к CD33, 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 антитела к CD33 по настоящему описанию имеют EC_{50} , которая в по меньшей мере в 1,2 раза ниже, чем у антитела к CD33, имеющего 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 EC₅₀ измеряют *in vitro* с использованием первичных дендритных клеток человека. В некоторых вариантах осуществления EC₅₀ измеряют *in vitro* с использованием первичных моноцитов человека. В некоторых вариантах осуществления EC₅₀ измеряют *in vitro* с использованием первичных макрофагов человека. В некоторых вариантах осуществления EC₅₀ измеряют *in vitro* с использованием культивируемых клеток, трансфицированных CD33 человека. В некоторых вариантах осуществления EC₅₀ измеряют при помощи проточной цитометрии. В некоторых вариантах осуществления EC₅₀ измеряют при температуре приблизительно 25°C. В некоторых вариантах осуществления EC₅₀ измеряют при температуре приблизительно 35°C. В некоторых вариантах осуществления EC₅₀ измеряют при температуре приблизительно 37°C. В некоторых вариантах осуществления EC₅₀ определяют с использованием антител, содержащих константные области, демонстрирующие усиленное связывание с рецептором Fc. В некоторых вариантах осуществления EC₅₀ определяют с использованием антител, содержащих константные области, демонстрирующие пониженное связывание с рецептором Fc. В некоторых вариантах осуществления EC₅₀ измеряют с использованием экспериментального подхода, как описано в примере 2 ниже. Для измерения ингибирования взаимодействия (например, связывания) между CD33 и одним или более лигандами CD33 можно использовать любые клеточные анализы *in vitro* или подходящую модель *in vivo*, описанную в *данном документе* или известную в данной области техники. В некоторых вариантах осуществления антитела к CD33 по данному изобретению ингибируют или уменьшают взаимодействие (например, связывание) между CD33 и одним или более лигандами CD33 по меньшей мере 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 более при насыщающих концентрациях антитела с использованием любого анализа *in vitro* или анализа клеточной культуры, описанного в данном документе или известного в данной области техники.

[144] В некоторых вариантах осуществления антитела к CD33 по данному изобретению ингибируют кластеризацию CD33 на клеточной поверхности. В некоторых вариантах осуществления антитела к CD33 по данному изобретению ингибируют одну или более активностей белка CD33, включая, без ограничения, противодействие одному или более из следующего: фосфорилирование Tyr-340 и Tyr-358 тирозинкиназой семейства Src, такой как LCK и FYN; рекрутирование и связывание тирозинспецифических протеинфосфатаз SHP1 и SHP2; рекрутирование и связывание с PLC-гамма 1, который действует как фактор обмена гуаниновых нуклеотидов для Dynamin-1; рекрутирование и связывание с белком, содержащим SH2-домен (*например*, Crkl); рекрутирование и связывание тирозинкиназы селезенки Syk; рекрутирование и связывание с SH3-SH2-SH3 рецептором фактора роста белка 2 (Grb2); рекрутирование и связывание нескольких SH2-содержащих белков; фосфорилирование Ser-307 и Ser-342 протеинкиназой C; модулированную экспрессию одного или более противовоспалительных цитокинов, IL-4, IL-10, IL-13, IL-35, IL-16, TNF-бета, IL-1Ra, Г-КСФ и растворимых рецепторов для TNF, IFN-бета 1a, IFN-бета 1b или IL-6 в моноцитах, макрофагах, Т-клетках, дендритных клетках, нейтрофилах и/или микроглии; снижение мобилизации внутриклеточного кальция; модулированную экспрессию одного или более провоспалительных цитокинов IFN- α 4, IFN- β , IL-1 β , TNF- α , IL-6, IL-8, СРБ, членов семейства IL-20, LIF, IFN-гамма, OSM, CNTF, ГМ-КСФ, IL-11, IL-12, IL-17, IL-18, IL-23, CXCL10, IL-33, СРБ, IL-33, MCP-1 и MIP-1-бета в моноцитах, макрофагах, Т-клетках, дендритных клетках, нейтрофилах и/или микроглии; модулированную экспрессию одного или более 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 киназы, регулируемой внеклеточными сигналами (ERK); снижение фосфорилирования тирозина на множестве клеточных белков; модулированную экспрессию C-C хемокинового рецептора 7 (CCR7); ингибирование хемотаксиса микроглиальных клеток в отношении клеток, экспрессирующих CCL19 и CCL21; активацию фосфоинозитид-3-киназы; уменьшение роста моноцитов, макрофагов, Т-клеток, дендритных клеток и/или микроглии; снижение пролиферации Т-клеток, индуцированной дендритными клетками, дендритными клетками костного мозга, моноцитами, микроглией, микроглией M1, активированной микроглией M1, микроглией M2, макрофагами, макрофагами M1, активированными макрофагами M1 и/или макрофагами M2; ингибирование образования остеокластов, снижение скорости остеокластогенеза или то и другое; снижение выживаемости нейтрофилов, дендритных

клеток, дендритных клеток костного мозга, макрофагов, макрофагов M1, активированных макрофагов M1, макрофагов M2, моноцитов, остеокластов, Т-клеток, Т-хелперов, цитотоксических Т-клеток, гранулоцитов, микроглии, микроглии M1, активированной микроглии M1 и/или микроглии M2; уменьшение пролиферации нейтрофилов, дендритных клеток, дендритных клеток костного мозга, макрофагов, макрофагов M1, активированных макрофагов M1, макрофагов M2, моноцитов, остеокластов, Т-клеток, Т-хелперов, цитотоксических Т-клеток, гранулоцитов, микроглии, активированной микроглии M1, микроглии M1 и/или микроглии M2; ингибирование миграции нейтрофилов, дендритных клеток, дендритных клеток костного мозга, макрофагов, макрофагов M1, активированных макрофагов M1, макрофагов M2, моноцитов, остеокластов, Т-клеток, Т-хелперов, цитотоксических Т-клеток, гранулоцитов, микроглии, микроглии M1, активированной микроглии M1 и/или микроглии M2; снижение одной или более функций нейтрофилов, дендритных клеток, дендритных клеток костного мозга, макрофагов, макрофагов M1, активированных макрофагов M1, макрофагов M2, моноцитов, остеокластов, Т-клеток, Т-хелперов, цитотоксических Т-клеток, гранулоцитов, микроглии, микроглии M1, активированной микроглии M1 и/или микроглии M2; ингибирование созревания нейтрофилов, дендритных клеток, дендритных клеток костного мозга, макрофагов, макрофагов M1, активированных макрофагов M1, макрофагов M2, моноцитов, остеокластов, Т-клеток, Т-хелперов, цитотоксических Т-клеток, гранулоцитов, микроглии, микроглии M1, активированной микроглии M1 и/или микроглии M2; увеличение 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; снижение 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 рецептора, содержащего ITAM; фосфорилирование сигнальных молекул, которые опосредуют передачу сигналов ITAM; снижение активации паттерн-распознающих рецепторов; снижение активации Toll-подобных рецепторов; снижение активации связанного с повреждением клиренса клеточного и белкового дебриса; взаимодействие между CD33 и одним или более его лигандами; взаимодействие между CD33 и корецептором, таким как CD64; уменьшение одного или более типов клиренса, выбранного из апоптотического клиренса нейронов, клиренса дисфункционального синапса, клиренса фрагментов нервной ткани, клиренса ткани, отличной от нервной, клиренса бактерий или других инородных тел, клиренса вызывающих заболевание белков и клиренса опухолевых клеток; ингибирование фагоцитоза одного или более апоптотических нейронов, фрагментов нервной ткани, фрагментов ткани, отличной от нервной, бактерий, других инородных тел, вызывающих заболевание белков, вызывающих заболевание пептидов, вызывающих заболевание нуклеиновых кислот, вызывающих заболевание липидов или опухолевых клеток; ингибирование клиренса вызывающей заболевание нуклеиновой кислоты, такой

как вызывающая заболевание нуклеиновая кислота, которая представляет собой антисмысловую РНК с экспансией GGCCCC-повтора (G2C4); активацию клиренса вызывающего заболевание белка, выбранного из бета-амилоида, бета-амилоидных бляшек, белка-предшественника амилоида или его фрагментов, тау-белка, IAPP, альфа-синуклеина, TDP-43, белка FUS, C9orf72 (открытой рамки считывания 72 хромосомы 9), белка с9RAN, прионного белка, PrPSc, гентингтина, кальцитонина, супероксиддисмутазы, атаксина, атаксина 1, атаксина 2, атаксина 3, атаксина 7, атаксина 8, атаксина 10, телец Леви, предсердного натрийуретического фактора, островкового амилоидного полипептида, инсулина, аполипептида AI, сывороточного амилоида A, медины, пролактина, транстиретина, лизоцима, бета 2 микроглобулина, гельзолина, кератоэпителина, цистатина, легкой цепи иммуноглобулина AL, белка S-IBM, продуктов ассоциированной с повторами не-ATG-трансляции (RAN), 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 положительного иммунного ответа на различные типы рака, выбранные из рака мочевого пузыря, рака головного мозга, рака молочной железы, рака толстой кишки, рака прямой кишки, рака эндометрия, рака почки, почечно-клеточного рака, рака лоханки, лейкоза, рака легкого, меланомы, неходжкинской лимфомы, острого миелоидного лейкоза, рака поджелудочной железы, рака предстательной железы, рака яичников, фибросаркомы и рака щитовидной железы; ингибирование положительного иммунного ответа на различные типы неврологических расстройств, выбранных из деменции, лобно-височной деменции, болезни Альцгеймера, сосудистой деменции, смешанной деменции, болезни Крейтцфельда - Якоба, нормотензивной гидроцефалии, бокового амиотрофического склероза, болезни Хантингтона, таупатии, болезни Насу - Хакола, инсульта, острой травмы, хронической травмы, эссенциального тремора, болезни Бехчета, болезни Паркинсона, деменции с тельцами Леви, множественной системной атрофии, синдрома Шай - Дрейджера, прогрессирующего надъядерного паралича, кортикальной дегенерации базальных ганглиев, острого диссеминированного энцефаломиелита, гранулематозного заболевания, саркоидоза, болезни старения, судорог, травмы спинного мозга, черепно-мозговых травм, возрастной макулярной дегенерации, глаукомы, пигментного ретинита, дегенерации сетчатки и рассеянного склероза; ингибирование положительного иммунного ответа на различные типы воспалительных и инфекционных заболеваний, выбранных из волчанки, острого и хронического колита, заживления ран, болезни Крона, воспалительного заболевания кишечника, язвенного колита, ожирения, малярии, инфекции дыхательных путей, сепсиса, инфекции глаз, системной инфекции, волчанки, артрита, низкой плотности костей, остеопороза, остеогенеза, связанного с остеопорозом заболевания и костной болезни Педжета; связывание с лигандом CD33 на опухолевых клетках; связывание с лигандом CD33 на дендритных клетках, дендритных клетках костного мозга, моноцитах, микроглии, Т-клетках, нейтрофилах и/или

макрофагах; ингибирование уничтожения опухолевых клеток одним или более из микроглии, макрофагов, дендритных клеток, дендритных клеток костного мозга, нейтрофилов, Т-клеток, Т-хелперов или цитотоксических Т-клеток; ингибирование активности против пролиферации опухолевых клеток одного или более из микроглии, макрофагов, дендритных клеток, дендритных клеток костного мозга, нейтрофилов, Т-клеток, Т-хелперов или цитотоксических Т-клеток; ингибирование активности против метастазирования опухолевыми клетками одного или более из микроглии, макрофагов, дендритных клеток, дендритных клеток костного мозга, нейтрофилов, Т-клеток, Т-хелперов или цитотоксических Т-клеток; стимулирование иммуносупрессорных дендритных клеток, иммуносупрессорных макрофагов, миелоидных супрессорных клеток, опухоль-ассоциированных макрофагов или регуляторных Т-клеток; ингибирование одного или более рецепторов, содержащих мотив ITAM, таких как TREM1, TREM2, FcγR, DAP10 и DAP12; ингибирование одного или более рецепторов, содержащих мотив D/Ex0-2YxxL/IX6-8YxxL/I (SEQ ID NO: 165); ингибирование передачи сигналов одним или более паттерн-распознающими рецепторами (PRR), такими как рецепторы, которые идентифицируют молекулярные паттерны, связанные с патогенами (PAMP), рецепторы, которые идентифицируют молекулярные паттерны, связанные с повреждениями (DAMP); ингибирование передачи сигналов одним или более Toll-подобными рецепторами; ингибирование сигнального пути JAK-STAT; ингибирование ядерного фактора, усилителя каппа-легкой цепи активированных В-клеток (NFκB); ингибирование мобилизации PLCγ/PKC/кальция; ингибирование передачи сигналов PI3K/Akt, Ras/MAPK; снижение экспрессии одного или более воспалительных рецепторов, таких как CD86, экспрессированных на одном или более из клеток микроглии, макрофагов, дендритных клеток, дендритных клеток, полученных из костного мозга, нейтрофилов, Т-клеток, Т-хелперных клеток или цитотоксических Т-клеток; повышение экспрессии одного или более CD33-зависимых генов; нормализацию нарушенной экспрессии CD33-зависимых генов; снижение экспрессии одного или более ITAM-зависимых генов, таких как факторы транскрипции NFAT.

[145] В некоторых вариантах осуществления антитела к CD33 по данному изобретению проявляют одну или более активностей белка CD33, включая, без ограничения, увеличение количества инфильтрирующих опухоль CD3⁺ Т-клеток; снижение клеточных уровней CD33 в CD14⁺ миелоидных клетках, таких как инфильтрирующие опухоль CD14⁺ миелоидные клетки и CD14⁺ миелоидные клетки, присутствующие в крови; уменьшение количества CD14⁺ миелоидных клеток, таких как инфильтрирующие опухоль 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 более клетках, таких как клетки-супрессоры миелоидного происхождения (MDSC); снижение скорости роста солидных опухолей; уменьшение объема опухоли; повышение эффективности одного или более ингибиторов PD-1; повышение эффективности одного или более терапевтических средств-ингибиторов

контрольных точек и/или иммуномодулирующих терапевтических средств, таких как терапевтические средства-ингибиторы контрольных точек и/или иммуномодулирующие терапевтические средства, нацеленные на один или более из CTL4, аденозиновый путь, PD-L1, PD-L2, OX40, TIM3, LAG3 или любую их комбинацию; повышение эффективности одного или более химиотерапевтических агентов, необязательно при этом один или более химиотерапевтических агентов представляют собой гемцитабин, капецитабин, антрациклины, доксорубин (Adriamycin[®]), эпирубицин (Ellence[®]), таксаны, паклитаксел (Taxol[®]), доцетаксел (Taxotere[®]), 5-эпирубицин (5-ФУ), циклофосфамид (Cytoxan[®]), карбоплатин (Paraplatin[®]), оксалиплатин (Elotaxin[®]), лейковорин, темазоламид (Temodar[®]), и любую их комбинацию; усиление пролиферации Т-клеток в присутствии миелоидных супрессорных клеток (MDSC); ингибирование дифференцировки, выживаемости и/или одной или более функций супрессорных клеток миелоидного происхождения (MDSC); и уничтожение CD33-экспрессирующих иммуносупрессорных неонкогенных миелоидных клеток и/или неонкогенных CD14-экспрессирующих клеток в солидных опухолях и связанных кровеносных сосудах при конъюгировании с химическим или радиоактивным токсином.

[146] В некоторых вариантах осуществления антитела к CD33 ингибируют взаимодействие (например, связывание) между белком CD33 по данному изобретению и одним или более лигандами CD33, включая, без ограничения, лиганды CD33, экспрессируемые на красных кровяных тельцах, 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 дендритных клетках, 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-белков, лиганды CD33 на вызывающих заболевание белках, лиганды CD33 на вызывающих заболевание пептидах, лиганды CD33, экспрессируемые на макрофагах, лиганды CD33, экспрессируемые на естественных клетках-киллерах, лиганды CD33, экспрессируемые на Т-клетках, лиганды CD33, экспрессируемые на Т-хелперах, лиганды CD33, экспрессируемые на цитотоксических Т-клетках, лиганды CD33, экспрессируемые на В-клетках, лиганды CD33, экспрессируемые на погруженных в опухоль иммуносупрессорных дендритных клетках, лиганды CD33, экспрессируемые на погруженных в опухоль иммуносупрессорных макрофагах, лиганды CD33, экспрессируемые на супрессорных клетках миелоидного происхождения, лиганды CD33, экспрессируемые на регуляторных Т-клетках, секретируемые муцины, сиаловую кислоту, гликолипиды, содержащие сиаловую кислоту, гликопротеины, содержащие сиаловые кислоты, гликолипиды, содержащие альфа-2,6-связанные сиаловые кислоты, гликопротеины, содержащие альфа-2,6-связанные сиаловые кислоты, гликолипиды, содержащие альфа-2,3-связанные

сиаловые кислоты, гликопротеины, содержащие альфа-2,3-связанные сиаловые кислоты, гликопротеин альфа-1-кислоты (AGP), белок CD24 и ганглиозиды.

[147] В некоторых вариантах осуществления антитела к CD33 по данному изобретению связываются с белком CD33 по данному изобретению, экспрессируемым на поверхности клетки, и голые антитела ингибируют взаимодействие (например, связывание) между белком CD33 и одним или более лигандами CD33. В некоторых вариантах осуществления антитела к CD33 по данному изобретению, которые связываются с белком CD33 по данному изобретению, ингибируют взаимодействие (например, связывание) между белком CD33 и одним или более лигандами CD33 за счет снижения эффективных уровней CD33, который доступен для взаимодействия с этими белками или на поверхности клетки, или внутри клетки. В некоторых вариантах осуществления антитела к CD33 по данному изобретению, которые связываются с белком CD33 по данному изобретению, ингибируют взаимодействие (например, связывание) между белком CD33 и одним или более лигандами CD33, индуцируя деградацию CD33.

[148] В контексте данного документа уровни CD33 могут относиться к уровням экспрессии гена, CD33; уровням экспрессии одного или более транскриптов, кодирующих CD33; уровням экспрессии белка CD33; и/или к количеству белка CD33, присутствующего в клетках и/или на поверхности клетки. Для определения уровней CD33 можно использовать любые известные в данной области методы измерения уровней экспрессии, транскрипции, трансляции и/или содержания или локализации белка.

[149] Кроме того, антитела к CD33 по данному изобретению можно использовать для предотвращения, снижения риска или лечения деменции, лобно-височной деменции, болезни Альцгеймера, сосудистой деменции, смешанной деменции, болезни Крейтцфельда - Якоба, нормотензивной гидроцефалии, бокового амиотрофического склероза, болезни Хантингтона, таупатии, болезни Насу - Хакола, инсульта, острой травмы, хронической травмы, волчанки, острого и хронического колита, ревматоидного артрита, заживления ран, болезни Крона, воспалительного заболевания кишечника, язвенного колита, ожирения, малярии, эссенциального тремора, волчанки центральной нервной системы, болезни Бехчета, болезни Паркинсона, деменции с тельцами Леви, множественной системной атрофии, синдрома Шая - Дрейджера, прогрессирующего надъядерного паралича, кортикобазальной ганглиозной дегенерации, острого рассеянного энцефаломиелита, гранулематозного нарушения, саркоидоза, возрастных заболеваний, судорожных приступов, травм спинного мозга, черепно-мозговых травм, возрастной макулярной дегенерации, глаукомы, пигментного ретинита, дегенерации сетчатки, инфекции дыхательных путей, сепсиса, глазных инфекций, системных инфекций, волчанки, артрита, рассеянного склероза, низкой плотности костей, остеопороза, остеогенеза, связанного с остеопорозом заболевания, костной болезни Педжета, рака, включая рак мочевого пузыря, рак головного мозга, рак молочной железы, рак толстой кишки, рак прямой кишки, рак эндометрия, рак почки, почечноклеточный рак, рак почечной лоханки, лейкоз, рак легкого, меланому, неходжкинскую лимфому, рак

поджелудочной железы, рак предстательной железы, рак яичников, фибросаркому, острый лимфобластный лейкоз (ОЛЛ), острый миелоидный лейкоз (ОМЛ), хронический лимфоцитарный лейкоз (ХЛЛ), хронический миелоидный лейкоз (ХМЛ), множественную миелому, истинную полицитемию, эссенциальный тромбоцитоз, первичный или идиопатический миелофиброз, первичный или идиопатический миелосклероз, миелоидные опухоли, опухоли, экспрессирующие CD33, рак щитовидной железы; инфекций, герпеса ЦНС, паразитарных инфекций, инфекции, вызванной *Trypanosoma*, инфекции, вызванной *Trypanosoma cruzi*, инфекции, вызванной *Pseudomonas aeruginosa*, инфекции, вызванной *Leishmania donovani*, инфекции, вызванной *Streptococcus* группы B, инфекции, вызванной *Campylobacter jejuni*, инфекции, вызванной *Neisseria meningitidis*, ВИЧ-инфекции I типа и/или инфекции, вызванной *Haemophilus influenzae*. В некоторых вариантах осуществления антитела к CD33 по данному изобретению можно использовать для индукции или стимулирования выживаемости, созревания, функциональности, миграции или пролиферации одной или более иммунных клеток у индивидуума, нуждающегося в этом; или для снижения активности, функциональности или выживаемости регуляторных Т-клеток, погруженных в опухоль иммуносупрессорных дендритных клеток, погруженных в опухоль 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) у нуждающегося в этом индивидуума. В некоторых вариантах осуществления антитела к CD33 по данному изобретению представляют собой моноклональные антитела.

[150] В некоторых вариантах осуществления выделенное антитело к CD33 по данному изобретению снижает клеточные уровни CD33 (например, уровни на клеточной поверхности, внутриклеточные уровни и/или общие уровни). В некоторых вариантах осуществления выделенное антитело к CD33 по данному изобретению индуцирует снижение количества CD33. В некоторых вариантах осуществления выделенное антитело к CD33 по данному изобретению индуцирует расщепление CD33. В некоторых вариантах осуществления выделенное антитело к CD33 по данному изобретению индуцирует интернализацию CD33. В некоторых вариантах осуществления выделенное антитело к CD33 по данному изобретению индуцирует шеддинг CD33. В некоторых вариантах осуществления выделенное антитело к CD33 по данному изобретению индуцирует деградацию CD33. В некоторых вариантах осуществления выделенное антитело к CD33 по данному изобретению индуцирует десенсибилизацию CD33. В некоторых вариантах осуществления выделенное антитело к CD33 по данному изобретению действует как миметик лиганда для временной активации CD33. В некоторых вариантах осуществления выделенное антитело к CD33 по данному изобретению действует как миметик лиганда и временно активирует CD33 перед тем, как индуцировать снижение клеточных уровней CD33 и/или ингибирование взаимодействия (например, связывания) между CD33 и одним или более лигандами CD33. В некоторых вариантах осуществления выделенное антитело

к CD33 по данному изобретению действует как миметик лиганда и временно активирует CD33 перед индукцией деградации CD33. В некоторых вариантах осуществления выделенное антитело к CD33 по данному изобретению действует как миметик лиганда и временно активирует CD33 перед тем, как индуцировать расщепление CD33. В некоторых вариантах осуществления выделенное антитело к CD33 по данному изобретению действует как миметик лиганда и временно активирует CD33 перед индукцией интернализации CD33. В некоторых вариантах осуществления выделенное антитело к CD33 по данному изобретению действует как миметик лиганда и временно активирует CD33 перед индукцией шеддинга CD33. В некоторых вариантах осуществления выделенное антитело к CD33 по данному изобретению действует как миметик лиганда и временно активирует CD33 перед индукцией подавление экспрессии CD33. В некоторых вариантах осуществления выделенное антитело к CD33 по данному изобретению действует как миметик лиганда и временно активирует CD33 перед индукцией десенсибилизации CD33.

[151] В некоторых вариантах осуществления выделенное антитело к CD33 по данному изобретению представляет собой антитело человека, гуманизированное антитело, биспецифическое антитело, моноклональное антитело, поливалентное антитело или химерное антитело. Иллюстративные описания таких антител можно найти по всему данному изобретению.

[152] В некоторых вариантах осуществления антитела к CD33 по данному изобретению связываются с CD33 человека или его гомологом, включая, без ограничения, белок CD33 млекопитающего. В некоторых вариантах осуществления антитела к CD33 по данному изобретению специфически связываются с CD33 человека. В некоторых вариантах осуществления антитела к CD33 по данному изобретению связываются с CD33 человека и не обладают перекрестной реактивностью с ортологами или гомологами CD33 других видов.

[153] В некоторых вариантах осуществления антитела к CD33 по данному изобретению связываются с белком CD33 по данному изобретению, экспрессируемым на поверхности клетки, и модулируют (например, индуцируют или ингибируют) одну или более активностей CD33 по данному изобретению после связывания с экспрессируемым на поверхности белком CD33. В некоторых вариантах осуществления антитела к CD33 по данному изобретению представляют собой инертные антитела.

Области связывания антител к CD33

[154] В некоторых вариантах осуществления антитела к CD33 по данному изобретению могут связывать конформационный эпитоп. В некоторых вариантах осуществления антитела к CD33 по данному изобретению могут связывать прерывистый эпитоп CD33. В некоторых вариантах осуществления прерывистый эпитоп CD33 содержит два или более пептидов, три или более пептидов, четыре или более пептидов, пять или более пептидов, шесть или более пептидов, семь или более пептидов, восемь или более пептидов, девять или более пептидов или 10 или более пептидов. В некоторых

вариантах осуществления антитела к CD33 по данному изобретению могут связывать эпитоп CD33, содержащий один или более пептидов. Как раскрыто в данном документе, эпитопы CD33 могут включать один или более пептидов, содержащих пять или более, шесть или более, семь или более, восемь или более, девять или более, 10 или более, 11 или более, 12 или более, 13 или более, 14 или более, 15 или более, 16 или более, 17 или более, 18 или более, 19 или более или 20 или более аминокислотных остатков аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 1, или пять или более, шесть или более, семь или более, восемь или более, девять или более, 10 или более, 11 или более, 12 или более, 13 или более, 14 или более, 15 или более, 16 или более, 17 или более, 18 или более, 19 или более или 20 или более аминокислотных остатков на белке CD33 млекопитающих, соответствующих аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 1.

[155] В некоторых вариантах осуществления антитела к CD33 по данному изобретению связываются с эпитопом CD33 человека, который является таким же или перекрывается с эпитопом CD33, который связывается антителом к CD33, 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 антитела к CD33 по данному изобретению связывают по существу тот же эпитоп CD33, который связывается с антителом к CD33, содержащим переменную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 103, и переменную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 104.

[156] В некоторых вариантах осуществления антитела к CD33 по данному изобретению конкурентно ингибируют связывание антитела к CD33, 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 антитела к CD33 по данному изобретению конкурируют с антителом к CD33, содержащим переменную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 103, и переменную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 104, за связывание с CD33.

[157] В некоторых вариантах осуществления антитела к CD33 по данному изобретению конкурентно ингибируют связывание по меньшей мере одного антитела, выбранного из любого из антител, приведенных в **таблицах 1A-1C, 2A-3C, 3, 4, 5A-5D и 6A-6D**. В некоторых вариантах осуществления антитела к CD33 по данному изобретению конкурентно ингибируют связывание по меньшей мере одного антитела, выбранного 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 изобретения антитело к CD33 по данному изобретению конкурирует с одним или более 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, когда антитело к CD33 снижает связывание одного или более 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 величину от около 50% до 100%, по сравнению со связыванием с CD33 в отсутствие антитела к CD33. В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело к CD33 по данному изобретению конкурирует с одним или более 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, когда антитело к CD33 снижает связывание одного или более 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 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% или 100% по сравнению со связыванием с CD33 в отсутствие антитела к CD33. В

некоторых вариантах осуществления изобретения антитело к CD33 по данному изобретению, которое снижает связывание одного или более 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 антитело к CD33 полностью блокирует связывание одного или более 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 антитело к CD33 и одно или более 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 количестве, соответствующем 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, соотношению 0,0050:1, соотношению 0,0025:1, соотношению 0,001, 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 антитела к CD33 к одному или более антителам, 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,

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 антитело к CD33 присутствует в избытке в количестве, которое в около 1,5 до 100 раз или более чем в 100 раз больше по сравнению с количеством одного или более 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. В некоторых вариантах осуществления антитело к CD33 присутствует в количестве, которое в около 2 раза, 3 раза, 4 раза, 5 раз, 6 раз, 7 раз, 8 раз, 9 раз, 10 раз, 15 раз, 20 раз, 25 раз, 30 раз, 35 раз, 40 раз, 45 раз, 50 раз, 55 раз, 60 раз, 65 раз, 70 раз, 75 раз, 80 раз, 85 раз, 90 раз, 95 раз, или 100 раз больше по сравнению с количеством одного или более 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.

[158] В некоторых вариантах осуществления антитела к CD33 по данному изобретению связываются с эпитопом CD33 человека, который является таким же или перекрывается с эпитопом CD33, связанным по меньшей мере одним антителом, выбранным из любого из антител, приведенных в **таблицах 1A-1C, 2A-3C, 3, 4, 5A-5D и 6A-6D**. В некоторых вариантах осуществления антитела к CD33 по данному изобретению связываются с эпитопом CD33 человека, который является таким же или перекрывается с эпитопом CD33, связанным по меньшей мере одним антителом, выбранным 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.

[159] В некоторых вариантах осуществления антитела к CD33 по данному изобретению связывают по существу тот же эпитоп CD33, связанный по меньшей мере с одним антителом, выбранным из любого из антител, приведенных в **таблицах 1A-1C, 2A-3C, 3, 4, 5A-5D и 6A-6D**. В некоторых вариантах осуществления антитела к CD33 по данному изобретению связывают по существу тот же эпитоп CD33, связанный по меньшей мере с 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 иллюстративных способов картирования эпитопа, с которым связывается антитело, представлено в Morris (1996) "Epitope Mapping Protocols," in *Methods in Molecular Biology* vol. 66 (Humana Press, Totowa, NJ).

[160] В некоторых вариантах осуществления антитело к CD33 по данному изобретению конкурирует с одним или более 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.

[161] Любой подходящий конкурентный анализ или анализ связывания CD33, известный в данной области техники, такой как анализ ВІАсоге, анализы методом ИФА или проточная цитометрия, можно использовать для определения того, конкурирует ли антитело к CD33 с одним или более 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 иллюстративном конкурентном анализе иммобилизованный CD33 или клетки, экспрессирующие CD33 на клеточной поверхности, инкубируют в растворе, содержащем первое меченое антитело, которое связывается с CD33 (например, человека или отличного от человека примата), и второе немеченое антитело, которое исследуют в отношении его способности 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, допускающих связывание первого антитела с CD33, избыток несвязавшегося 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 на то, 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 антитела к CD33

[162] В некоторых вариантах осуществления антитела к CD33 по данному изобретению содержат вариабельную область тяжелой цепи, содержащую одну или более (*например*, одну или более, две или более или все три) HVR, выбранные из HVR-H1, HVR-H2 и HVR-H3 (как показано в таблицах 1A-1C). В некоторых вариантах осуществления вариабельная область тяжелой цепи содержит HVR-H1, HVR-H2 и HVR-H3 (как показано в таблицах 1A-1C). В некоторых вариантах осуществления антитело не является антителом, содержащим вариабельную область тяжелой цепи, включающую HVR-H1, содержащую последовательность GYTFTDYNLH (SEQ ID NO: 105), HVR-H2, содержащую последовательность FIYPSNGITG (SEQ ID NO: 115), и HVR-H3, содержащую последовательность STVDYFDY (SEQ ID NO: 121).

[163] 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.

[164] 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, а антитело не является антителом, содержащим вариабельную область тяжелой цепи, включающую HVR-H1, содержащую

последовательность GYTFTDYNLH (SEQ ID NO: 105), HVR-H2, содержащую последовательность FIYPSNGITG (SEQ ID NO: 115), и HVR-H3, содержащую последовательность STVDYFDY (SEQ ID NO: 121). В некоторых вариантах осуществления вариабельная область тяжелой цепи содержит HVR-H1, содержащую последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 105-114, и HVR-H2, содержащую последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 115-120, и HVR-H3, содержащую последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 121-126, а антитело не является антителом, содержащим вариабельную область тяжелой цепи, включающую HVR-H1, содержащую последовательность GYTFTDYNLH (SEQ ID NO: 105), HVR-H2, содержащую последовательность FIYPSNGITG (SEQ ID NO: 115), и HVR-H3, содержащую последовательность STVDYFDY (SEQ ID NO: 121).

[165] В некоторых вариантах осуществления вариабельная 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, а также любой их комбинации (как показано в таблицах 1A-1C).

[166] В некоторых вариантах осуществления антитела к CD33 по данному изобретению содержат вариабельную область тяжелой цепи, при этом вариабельная область тяжелой цепи включает одну или более из следующих: (a) HVR-H1, содержащую аминокислотную последовательность, 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 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, 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-H2, содержащую аминокислотную последовательность, 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 HVR-H2 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, 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, содержащую аминокислотную последовательность, 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 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, а антитело не является антителом, содержащим вариабельную область тяжелой цепи, включающую HVR-H1, содержащую последовательность GYTFTDYNLH (SEQ ID NO: 105), HVR-H2, содержащую последовательность FIYPSNGITG (SEQ ID NO: 115), и HVR-H3, содержащую последовательность STVDYFDY (SEQ ID NO: 121).

[167] В некоторых вариантах осуществления антитела к CD33 по данному изобретению содержат HVR-H1, содержащую аминокислотную последовательность GYTFTDYNLH (SEQ ID NO: 105), HVR-H2, содержащую аминокислотную последовательность FIYPSNRITG (SEQ ID NO: 119), и HVR-H3, содержащую аминокислотную последовательность SDVDYFDY (SEQ ID NO: 122). В некоторых вариантах осуществления антитела к CD33 по данному изобретению содержат HVR-H1, содержащую аминокислотную последовательность GYTFTDYNLH (SEQ ID NO: 105), HVR-H2, содержащую аминокислотную последовательность FIYPSNQITG (SEQ ID NO: 118), и HVR-H3, содержащую аминокислотную последовательность SDVDYFDY (SEQ ID NO: 122).

[168] В некоторых вариантах осуществления антитела к CD33 по данному изобретению содержат вариабельную область легкой цепи, содержащую одну или более (*например*, одну или более, две или более или все три) HVR, выбранные из HVR-L1, HVR-L2 и HVR-L3 (как показано в таблицах 2A-2C). В некоторых вариантах осуществления вариабельная область легкой цепи содержит HVR-L1, HVR-L2 и HVR-L3 (как показано в таблицах 2A-2C). В некоторых вариантах осуществления антитело не является антителом, содержащим вариабельную область легкой цепи, включающую HVR-L1, содержащую последовательность RASQSVSTSTYSYMH (SEQ ID NO: 127), HVR-L2, содержащую последовательность YASNLES (SEQ ID NO: 135), и HVR-L3, содержащую

последовательность QHSWEIPLT (SEQ ID NO: 146).

[169] 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.

[170] 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, а антитело не является антителом, содержащим вариабельную область легкой цепи, включающую HVR-L1, содержащую последовательность RASQSVSTSTYSYMH (SEQ ID NO: 127), HVR-L2, содержащую последовательность YASNLES (SEQ ID NO: 135), и HVR-L3, содержащую последовательность QHSWEIPLT (SEQ ID NO: 146). В некоторых вариантах осуществления вариабельная область легкой цепи содержит HVR-L1, содержащую последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 127-134, и HVR-L2, содержащую последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 135-145, и HVR-L3, содержащую последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 146-151, а антитело не является антителом, содержащим вариабельную область легкой цепи, включающую HVR-L1, содержащую последовательность RASQSVSTSTYSYMH (SEQ ID NO: 127), HVR-L2, содержащую последовательность YASNLES (SEQ ID NO: 135), и HVR-L3, содержащую последовательность QHSWEIPLT (SEQ ID NO: 146).

[171] 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, а также любой их комбинации (как показано в таблицах 2A-2C).

[172] В некоторых вариантах осуществления антитела к CD33 по данному изобретению содержат вариабельную область легкой цепи, при этом вариабельная область

легкой цепи включает одну или более из следующих: (a) HVR-L1, содержащую аминокислотную последовательность, 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 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; (b) HVR-L2, содержащую аминокислотную последовательность, 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 HVR-L2 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-L3, содержащую аминокислотную последовательность, 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 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, антитело не является антителом, содержащим вариабельную область легкой цепи, включающую HVR-L1, содержащую последовательность RASQSVSTSTYSYMH (SEQ ID NO: 127), HVR-L2, содержащую последовательность YASNLES (SEQ ID NO: 135), и HVR-L3, содержащую последовательность QHSWEIPLT (SEQ ID NO: 146).

[173] В некоторых вариантах осуществления антитела к CD33 по данному изобретению содержат HVR-L1, содержащую аминокислотную последовательность RASQSVSTSTYSYMH (SEQ ID NO: 127), HVR-L2, содержащую аминокислотную последовательность YASNLES (SEQ ID NO: 135), и HVR-L3, содержащую аминокислотную последовательность QHSWEIPLT (SEQ ID NO: 146). В некоторых вариантах осуществления антитела к CD33 по данному изобретению содержат HVR-L1, содержащую аминокислотную последовательность RASQSVSTSTYSYMH (SEQ ID NO: 127), HVR-L2, содержащую аминокислотную последовательность YASNLES (SEQ ID NO: 135), и HVR-L3, содержащую аминокислотную последовательность QHSWEIPLT (SEQ ID NO: 146).

[174] В некоторых вариантах осуществления антитела к CD33 по данному изобретению включают переменную область тяжелой цепи, содержащую одну или более (*например*, одну или более, две или более или все три) HVR, выбранные из HVR-H1, HVR-H2 и HVR-H3 (как показано в таблицах 1A-1C), и переменную область легкой цепи, содержащую одну или более (*например*, одну или более, две или более или все три) HVR, выбранные из HVR-L1, HVR-L2 и HVR-L3 (как показано в таблицах 2A-2C). В некоторых вариантах осуществления переменная область тяжелой цепи содержит HVR-H1, HVR-H2 и HVR-H3 (как показано в таблицах 1A-1C), и переменная область легкой цепи содержит HVR-L1, HVR-L2 и HVR-L3 (как показано в таблицах 2A-2C). В некоторых вариантах осуществления антитело не является антителом, содержащим переменную область тяжелой цепи, включающую HVR-H1, содержащую последовательность GYTFTDYNLH (SEQ ID NO: 105), HVR-H2, содержащую последовательность FIYPSNGITG (SEQ ID NO: 115), и HVR-H3, содержащую последовательность STVDYFDY (SEQ ID NO: 121), и переменную область легкой цепи, включающую HVR-L1, содержащую последовательность RASQSVSTSTYSYMH (SEQ ID NO: 127), HVR-L2, содержащую последовательность YASNLES (SEQ ID NO: 135), и HVR-L3, содержащую последовательность QHSWEIPLT (SEQ ID NO: 146).

[175] 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, а переменная 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, а антитело не является антителом, содержащим переменную область тяжелой цепи, включающую HVR-H1, содержащую последовательность GYTFTDYNLH (SEQ ID NO: 105), HVR-H2, содержащую последовательность FIYPSNGITG (SEQ ID NO: 115), и HVR-H3, содержащую последовательность STVDYFDY (SEQ ID NO: 121), и переменную область легкой цепи, включающую HVR-L1, содержащую последовательность RASQSVSTSTYSYMH (SEQ ID NO: 127), HVR-L2, включающий последовательность YASNLES (SEQ ID NO: 135), и HVR-L3, содержащую последовательность QHSWEIPLT (SEQ ID NO: 146). В некоторых вариантах осуществления переменная область тяжелой цепи включает HVR-H1,

содержащую последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 105-114, и HVR-H2, содержащую последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 115-120, и HVR-H3, содержащую последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 121-126, и вариабельная область легкой цепи включает HVR-L1, содержащую последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 127-134, и HVR-L2, содержащую последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 135-145, и HVR-L3, содержащую последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 146-151, а антитело не является антителом, содержащим вариабельную область тяжелой цепи, включающую HVR-H1, содержащую последовательность GYTFTDYNLH (SEQ ID NO: 105), HVR-H2, содержащую последовательность FIYPSNGITG (SEQ ID NO: 115), и HVR-H3, содержащую последовательность STVDYFDY (SEQ ID NO: 121), и вариабельную область легкой цепи, включающую HVR-L1, содержащую последовательность RASQSVSTSTYSYMH (SEQ ID NO: 127), HVR-L2, содержащую последовательность YASNLES (SEQ ID NO: 135), и HVR-L3, содержащую последовательность QHSWEIPLT (SEQ ID NO: 146).

[176] В некоторых вариантах осуществления антитела к CD33 по данному изобретению включают вариабельную область тяжелой цепи, включающую 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 любые их комбинации (как показано в таблицах 1A-1C); и вариабельную область легкой цепи, включающую 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 любые их комбинации (как показано в таблицах 2A-2C). В некоторых вариантах осуществления антитела к CD33 по данному изобретению включают вариабельную область тяжелой цепи, включающую HVR-H1, HVR-H2 и HVR-H3, и вариабельную область легкой цепи, включающую HVR-L1, HVR-L2 и HVR-L3, причем антитело включает 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 показано в таблицах 1A-1C и 2A-2C).

[177] В некоторых вариантах осуществления антитела к CD33 по данному изобретению содержат вариабельную область тяжелой цепи и вариабельную область

легкой цепи, при этом вариабельная область тяжелой цепи содержит одну или более следующих: (a) HVR-H1, содержащую аминокислотную последовательность, 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 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, содержащую аминокислотную последовательность, 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 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, содержащую аминокислотную последовательность, 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 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, а антитело не является антителом, содержащим вариабельную область тяжелой цепи, включающую HVR-H1, содержащую последовательность GYTFTDYNLH (SEQ ID NO: 105), HVR-H2, содержащую последовательность FIYPSNGITG (SEQ ID NO: 115), и HVR-H3, содержащую последовательность STVDYFDY (SEQ ID NO: 121); и причем вариабельная

область легкой цепи содержит одну или более следующих: (a) HVR-L1, содержащую аминокислотную последовательность, 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 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, содержащую аминокислотную последовательность, 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 HVR-L2 антитела B-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, содержащую аминокислотную последовательность, 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 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, а антитело не является антителом, содержащим вариабельную область легкой цепи, включающую HVR-L1, содержащую последовательность RASQSVSTSTYSYMH (SEQ ID NO: 127), HVR-L2, содержащую последовательность YASNLES (SEQ ID NO: 135), и HVR-L3, содержащую последовательность QHSWEIPLT (SEQ ID NO: 146).

[178] В некоторых вариантах осуществления антитела к CD33 по данному изобретению включают HVR-H1, содержащую аминокислотную последовательность GYTFTDYNLH (SEQ ID NO: 105), HVR-H2, содержащую аминокислотную последовательность FIYPSNRITG (SEQ ID NO: 119), HVR-H3, содержащую аминокислотную последовательность SDVDYFDY (SEQ ID NO: 122), HVR-L1, содержащую аминокислотную последовательность RASQSVSTSTYSYMH (SEQ ID NO: 127), HVR-L2, содержащую аминокислотную последовательность YASNLES (SEQ ID NO: 135), и HVR-L3, содержащую аминокислотную последовательность QHSWEIPLT (SEQ ID NO: 146). В некоторых вариантах осуществления антитела к CD33 по данному изобретению включают HVR-H1, содержащую аминокислотную последовательность GYTFTDYNLH (SEQ ID NO: 105), HVR-H2, содержащую аминокислотную последовательность FIYPSNQITG (SEQ ID NO: 118), HVR-H3, содержащую аминокислотную последовательность SDVDYFDY (SEQ ID NO: 122), HVR-L1, содержащую аминокислотную последовательность RASQSVSTSTYSYMH (SEQ ID NO: 127), HVR-L2, содержащую аминокислотную последовательность YASNLES (SEQ ID NO: 135), и HVR-L3, содержащую аминокислотную последовательность QHSWEIPLT (SEQ ID NO: 146).

[179] В некоторых вариантах осуществления антитела к CD33 по данному изобретению 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 антитела к CD33 по данному изобретению 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, 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 показано в таблице 3). В некоторых вариантах осуществления антитела к CD33 по данному изобретению содержат вариабельную область тяжелой цепи, включающую HVR-H1, содержащую аминокислотную последовательность GYTFTDYNLH (SEQ ID NO: 105), HVR-H2, содержащую аминокислотную последовательность FIYPSNRITG (SEQ ID NO: 119), и HVR-H3, содержащую аминокислотную последовательность SDVDYFDY (SEQ ID NO: 122). В некоторых вариантах осуществления антитела к CD33 по данному изобретению содержат вариабельную область тяжелой цепи, включающую HVR-H1, содержащую аминокислотную последовательность GYTFTDYNLH (SEQ ID NO: 105), HVR-H2, содержащую аминокислотную последовательность FIYPSNQITG (SEQ ID NO: 118), и

HVR-H3, содержащую аминокислотную последовательность SDVDYFDY (SEQ ID NO: 122).

[180] В некоторых вариантах осуществления антитела к CD33 по данному изобретению содержат переменную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 77-101. В некоторых вариантах осуществления переменная область легкой цепи содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 86. В некоторых вариантах осуществления антитела к CD33 по данному изобретению содержат 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 показано в таблице 4). В некоторых вариантах осуществления антитела к CD33 по данному изобретению содержат переменную область легкой цепи, включающую HVR-L1, содержащую аминокислотную последовательность RASQSVSTSTYSYMH (SEQ ID NO: 127), HVR-L2, содержащую аминокислотную последовательность YASNLES (SEQ ID NO: 135), и HVR-L3, содержащую аминокислотную последовательность QHSWEIPLT (SEQ ID NO: 146). В некоторых вариантах осуществления антитела к CD33 по данному изобретению содержат переменную область легкой цепи, включающую HVR-L1, содержащую аминокислотную последовательность RASQSVSTSTYSYMH (SEQ ID NO: 127), HVR-L2, содержащую аминокислотную последовательность YASNLES (SEQ ID NO: 135), и HVR-L3, содержащую аминокислотную последовательность QHSWEIPLT (SEQ ID NO: 146).

[181] В некоторых вариантах осуществления антитела к CD33 по данному изобретению содержат переменную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 34-72 и переменную 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, а 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, а переменная область легкой цепи содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 86. В некоторых вариантах осуществления антитела к CD33 по данному изобретению содержат 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, 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 показано в таблице 3) и вариабельную 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 показано в таблице 4). В некоторых вариантах осуществления изобретения антитела к CD33 по данному изобретению содержат вариабельную область тяжелой цепи, включающую HVR-H1, содержащую аминокислотную последовательность GYTFTDYNLH (SEQ ID NO: 105), HVR-H2, содержащую аминокислотную последовательность FIYPSNRITG (SEQ ID NO: 119), HVR-H3, содержащую аминокислотную последовательность SDVDYFDY (SEQ ID NO: 122), и вариабельную область легкой цепи, включающую HVR-L1, содержащую аминокислотную последовательность RASQSVSTSTYSYMH (SEQ ID NO: 127), HVR-L2, содержащую аминокислотную последовательность YASNLES (SEQ ID NO: 135), и HVR-L3, содержащую аминокислотную последовательность QHSWEIPLT (SEQ ID NO: 146). В некоторых вариантах осуществления антитела к CD33 по данному изобретению содержат вариабельную область тяжелой цепи, включающую HVR-H1, содержащую аминокислотную последовательность GYTFTDYNLH (SEQ ID NO: 105), HVR-H2, содержащую аминокислотную последовательность FIYPSNQITG (SEQ ID NO: 118), HVR-H3, содержащую аминокислотную последовательность SDVDYFDY (SEQ ID NO: 122), и вариабельную область легкой цепи, включающую HVR-L1, содержащую аминокислотную последовательность RASQSVSTSTYSYMH (SEQ ID NO: 127), HVR-L2, содержащую аминокислотную последовательность YASNLES (SEQ ID NO: 135), и HVR-L3, содержащую аминокислотную последовательность QHSWEIPLT (SEQ ID NO: 146).

[182] В некоторых вариантах осуществления антитела к CD33 по данному изобретению 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 антитела тяжелой цепи из АВ-Н2, АВ-Н9, АВ-Н14, АВ-Н15, АВ-Н63, АВ-Н64, АВ-Н65 или АВ-Н66 (как показано в таблице 3). В некоторых вариантах осуществления антитела к CD33 по данному изобретению 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 показано в таблице 4). В некоторых вариантах осуществления антитела к CD33 по данному изобретению 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 антитела АВ-Н2, АВ-Н9, АВ-Н14, АВ-Н15, АВ-Н63, АВ-Н64, АВ-Н65 или АВ-Н66 (как показано в таблице 3) и вариабельную область легкой цепи антитела АВ-Н2, АВ-Н9, АВ-Н14, АВ-Н15, АВ-Н63, АВ-Н64, АВ-Н65 или АВ-Н66 (как показано в таблице 4).

[183] Любое из антител по данному изобретению может быть продуцировано линией клеток. В некоторых вариантах осуществления линия клеток может быть линией клеток млекопитающего. В определенных вариантах осуществления линия клеток может быть линией клеток гибридомы. В других вариантах осуществления линия клеток может быть линией клеток дрожжей. Любая линия клеток, известная в данной области техники, подходящая для продукции антител, может быть использована для получения антитела по данному изобретению. Иллюстративные линии клеток для продукции антител описаны в данном изобретении.

[184] В некоторых вариантах осуществления антитело к CD33 представляет собой моноклональное антитело к CD33, 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.

[185] В некоторых вариантах осуществления антитела к CD33 по данному изобретению содержат вариабельный домен легкой цепи и вариабельный домен тяжелой цепи, причем вариабельный домен тяжелой цепи содержит аминокислотную последовательность, 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 тяжелой цепи антитела АВ-64.1 или аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 52; и/или вариабельный домен легкой цепи содержит аминокислотную последовательность, 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 АВ-64.1 или аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 86. В некоторых вариантах осуществления антитела к CD33 по данному изобретению содержат вариабельный домен тяжелой цепи, содержащий аминокислотную последовательность, 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 варибельного домена тяжелой цепи антитела АВ-64.1 или с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 52, причем варибельный домен тяжелой цепи содержит аминокислотные последовательности HVR-H1, HVR-H2 и HVR-H3 антитела АВ-64.1. В некоторых вариантах осуществления антитела к CD33 по данному изобретению содержат варибельный домен легкой цепи, содержащий аминокислотную последовательность, 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 варибельного домена легкой цепи антитела АВ-64.1 или с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 86, причем варибельный домен легкой цепи содержит аминокислотные последовательности HVR-L1, HVR-L2 и HVR-L3 антитела АВ-64.1. В некоторых вариантах осуществления антитело к CD33 содержит последовательность варибельного 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 варибельного домена тяжелой цепи антитела АВ-64.1 или с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 52 и содержит замены (*например*, консервативные замены, вставки или делеции относительно эталонной последовательности), но антитело к CD33, содержащее эту последовательность, сохраняет способность связываться с CD33. В определенных вариантах осуществления в аминокислотной последовательности варибельного домена тяжелой цепи антитела АВ-64.1 или в аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 52 было заменено, вставлено и/или удалено в общей сложности от 1 до 10 аминокислот. В определенных вариантах осуществления в аминокислотной последовательности варибельного домена тяжелой цепи антитела АВ-64.1 или в аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 52 было заменено, вставлено и/или удалено в общей сложности от 1 до 5 аминокислот. В определенных вариантах осуществления замены, вставки или делеции происходят в областях за пределами HVR (*т.е.* в областях FR). В некоторых вариантах осуществления замены, вставки или делеции происходят в областях FR. Необязательно антитело к CD33 содержит последовательность VH антитела CD33 или SEQ ID NO: 52, включая посттрансляционные модификации данной последовательности. В конкретном варианте

осуществления VH содержит одну, две или три HVR, выбранные из: (a) аминокислотной последовательности HVR-H1 антитела АВ-64.1, (b) аминокислотной последовательности HVR-H2 антитела АВ-64.1 и (c) аминокислотной последовательности HVR-H3 антитела АВ-64.1. В некоторых вариантах осуществления изобретения антитела к CD33 по данному изобретению 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, вставки или делеции относительно эталонной последовательности), но антитело к CD33, содержащее эту последовательность, сохраняет способность связываться с CD33. В определенных вариантах осуществления в аминокислотной последовательности переменного домена легкой цепи антитела АВ-64.1 или в аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 86 было заменено, вставлено и/или удалено в общей сложности от 1 до 10 аминокислот. В определенных вариантах осуществления в аминокислотной последовательности переменного домена легкой цепи антитела АВ-64.1 или в аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 86 было заменено, вставлено и/или удалено в общей сложности от 1 до 5 аминокислот. В определенных вариантах осуществления замены, вставки или делеции происходят в областях за пределами HVR (*т.е.* в областях FR). В некоторых вариантах осуществления замены, вставки или делеции происходят в областях FR. Необязательно антитело к CD33 содержит последовательность VL антитела АВ-64.1 или SEQ ID NO: 86, включая посттрансляционные модификации данной последовательности. В конкретном варианте осуществления VL содержит одну, две или три HVR, выбранные из: (a) аминокислотной последовательности HVR-L1 антитела АВ-64.1, (b) аминокислотной последовательности HVR-L2 антитела АВ-64.1 и (c) аминокислотной последовательности HVR-L3 антитела АВ-64.1.

[186] В некоторых вариантах осуществления антитела к CD33 по данному изобретению содержат переменный домен легкой цепи и переменный домен тяжелой цепи, причем переменный домен тяжелой цепи содержит аминокислотную последовательность, 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 аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 58; и/или переменный домен легкой цепи содержит аминокислотную последовательность, 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 АВ-64.1.1 или аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 86. В некоторых вариантах осуществления антитела к CD33 по данному изобретению содержат вариабельный домен тяжелой цепи, содержащий аминокислотную последовательность, 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 тяжелой цепи антитела АВ-64.1.1 или с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 58, причем вариабельный домен тяжелой цепи содержит аминокислотные последовательности HVR-H1, HVR-H2 и HVR-H3 антитела АВ-64.1.1. В некоторых вариантах осуществления антитела к CD33 по данному изобретению содержат вариабельный домен легкой цепи, содержащий аминокислотную последовательность, 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 АВ-64.1.1 или с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 86, причем вариабельный домен легкой цепи содержит аминокислотные последовательности HVR-L1, HVR-L2 и HVR-L3 антитела АВ-64.1.1. В некоторых вариантах осуществления антитело к CD33 содержит последовательность вариабельного 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 вариабельного домена тяжелой цепи антитела АВ-64.1.1 или с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 58 и содержит замены (*например*, консервативные замены, вставки или делеции относительно эталонной последовательности), но антитело к CD33, содержащее эту последовательность, сохраняет способность связываться с CD33. В определенных вариантах осуществления в аминокислотной последовательности вариабельного домена тяжелой цепи антитела АВ-64.1.1 или в аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 58 было заменено, вставлено и/или удалено в общей сложности от 1 до 10 аминокислот. В определенных

вариантах осуществления в аминокислотной последовательности вариабельного домена тяжелой цепи антитела АВ-64.1.1 или в аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 58 было заменено, вставлено и/или удалено в общей сложности от 1 до 5 аминокислот. В определенных вариантах осуществления замены, вставки или делеции происходят в областях за пределами HVR (*т.е.* в областях FR). В некоторых вариантах осуществления замены, вставки или делеции происходят в областях FR. Необязательно антитело к CD33 содержит последовательность VH антитела CD33 или SEQ ID NO: 58, включая посттрансляционные модификации данной последовательности. В конкретном варианте осуществления VH содержит одну, две или три HVR, выбранные из: (а) аминокислотной последовательности HVR-H1 антитела АВ-64.1.1, (b) аминокислотной последовательности HVR-H2 антитела АВ-64.1.1 и (с) аминокислотной последовательности HVR-H3 антитела АВ-64.1.1. В некоторых вариантах осуществления антитела к CD33 по данному изобретению 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 АВ-64.1.1 или с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 86 и содержащую замены (*например*, консервативные замены, вставки или делеции относительно эталонной последовательности), но антитело к CD33, содержащее эту последовательность, сохраняет способность связываться с CD33. В определенных вариантах осуществления в аминокислотной последовательности вариабельного домена легкой цепи антитела АВ-64.1.1 или в аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 86 было заменено, вставлено и/или удалено в общей сложности от 1 до 10 аминокислот. В определенных вариантах осуществления в аминокислотной последовательности вариабельного домена легкой цепи антитела АВ-64.1.1 или в аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 86 было заменено, вставлено и/или удалено в общей сложности от 1 до 5 аминокислот. В определенных вариантах осуществления замены, вставки или делеции происходят в областях за пределами HVR (*т.е.* в областях FR). В некоторых вариантах осуществления замены, вставки или делеции происходят в областях FR. Необязательно антитело к CD33 содержит последовательность VL антитела АВ-64.1.1 или SEQ ID NO: 86, включая посттрансляционные модификации данной последовательности. В конкретном варианте осуществления VL содержит одну, две или три HVR, выбранные из: (а) аминокислотной последовательности HVR-L1 антитела АВ-64.1.1, (b) аминокислотной последовательности HVR-L2 антитела АВ-64.1.1 и (с) аминокислотной последовательности HVR-L3 антитела АВ-64.1.1.

[187] В некоторых вариантах осуществления антитела к CD33 по данному изобретению содержат вариабельный домен легкой цепи и вариабельный домен тяжелой цепи, причем вариабельный домен тяжелой цепи содержит аминокислотную

последовательность, 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 аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 59; и/или переменный домен легкой цепи содержит аминокислотную последовательность, 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-64.1.2 или аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 86. В некоторых вариантах осуществления антитела к CD33 по данному изобретению содержат переменный домен тяжелой цепи, содержащий аминокислотную последовательность, 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, причем переменный домен тяжелой цепи содержит аминокислотные последовательности HVR-H1, HVR-H2 и HVR-H3 антитела АВ-64.1.2. В некоторых вариантах осуществления антитела к CD33 по данному изобретению содержат переменный домен легкой цепи, содержащий аминокислотную последовательность, 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-64.1.2 или с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 86, причем переменный домен легкой цепи содержит аминокислотные последовательности HVR-L1, HVR-L2 и HVR-L3 антитела АВ-64.1.2. В некоторых вариантах осуществления антитело к CD33 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 вариабельного домена тяжелой цепи антитела АВ-64.1.2 или с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 59 и содержит замены (*например*, консервативные замены, вставки или делеции относительно эталонной последовательности), но антитело к CD33, содержащее эту последовательность, сохраняет способность связываться с CD33. В определенных вариантах осуществления в аминокислотной последовательности вариабельного домена тяжелой цепи антитела АВ-64.1.2 или в аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 59 было заменено, вставлено и/или удалено в общей сложности от 1 до 10 аминокислот. В определенных вариантах осуществления в аминокислотной последовательности вариабельного домена тяжелой цепи антитела АВ-64.1.2 или в аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 59 было заменено, вставлено и/или удалено в общей сложности от 1 до 5 аминокислот. В определенных вариантах осуществления замены, вставки или делеции происходят в областях за пределами HVR (*т.е.* в областях FR). В некоторых вариантах осуществления замены, вставки или делеции происходят в областях FR. Необязательно антитело к CD33 содержит последовательность VH антитела CD33 или SEQ ID NO: 59, включая посттрансляционные модификации данной последовательности. В конкретном варианте осуществления VH содержит одну, две или три HVR, выбранные из: (а) аминокислотной последовательности HVR-H1 антитела АВ-64.1.2, (b) аминокислотной последовательности HVR-H2 антитела АВ-64.1.2 и (с) аминокислотной последовательности HVR-H3 антитела АВ-64.1.2. В некоторых вариантах осуществления антитела к CD33 по данному изобретению 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 АВ-64.1.2 или с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 86 и содержащую замены (*например*, консервативные замены, вставки или делеции относительно эталонной последовательности), но антитело к CD33, содержащее эту последовательность, сохраняет способность связываться с CD33. В определенных вариантах осуществления в аминокислотной последовательности вариабельного домена легкой цепи антитела АВ-64.1.2 или в аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 86 было заменено, вставлено и/или удалено в общей сложности от 1 до 10 аминокислот. В определенных вариантах осуществления в аминокислотной последовательности вариабельного домена легкой цепи антитела АВ-64.1.2 или в аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 86 было заменено, вставлено и/или удалено в общей сложности от 1 до 5 аминокислот. В определенных вариантах осуществления замены, вставки или делеции происходят в областях за пределами HVR (*т.е.* в областях FR). В некоторых вариантах осуществления замены, вставки или делеции происходят в областях FR. Необязательно антитело к CD33 содержит последовательность VL антитела АВ-64.1.2

или SEQ ID NO: 86, включая посттрансляционные модификации данной последовательности. В конкретном варианте осуществления VL содержит одну, две или три HVR, выбранные 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.

[188] В некоторых вариантах осуществления антитела к CD33 по данному изобретению содержат переменный домен легкой цепи и переменный домен тяжелой цепи, причем переменный домен тяжелой цепи содержит аминокислотную последовательность, 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 аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 60; и/или переменный домен легкой цепи содержит аминокислотную последовательность, 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 аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 86. В некоторых вариантах осуществления антитела к CD33 по данному изобретению содержат переменный домен тяжелой цепи, содержащий аминокислотную последовательность, 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, причем переменный домен тяжелой цепи содержит аминокислотные последовательности HVR-H1, HVR-H2 и HVR-H3 антитела AB-64.1.3. В некоторых вариантах осуществления антитела к CD33 по данному изобретению содержат переменный домен легкой цепи, содержащий аминокислотную последовательность, 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, причем вариабельный домен легкой цепи содержит аминокислотные последовательности HVR-L1, HVR-L2 и HVR-L3 антитела АВ-64.1.3. В некоторых вариантах осуществления антитело к CD33 содержит последовательность вариабельного 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 вариабельного домена тяжелой цепи антитела АВ-64.1.3 или с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 60 и содержит замены (*например*, консервативные замены, вставки или делеции относительно эталонной последовательности), но антитело к CD33, содержащее эту последовательность, сохраняет способность связываться с CD33. В определенных вариантах осуществления в аминокислотной последовательности вариабельного домена тяжелой цепи антитела АВ-64.1.3 или в аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 60 было заменено, вставлено и/или удалено в общей сложности от 1 до 10 аминокислот. В определенных вариантах осуществления в аминокислотной последовательности вариабельного домена тяжелой цепи антитела АВ-64.1.3 или в аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 60 было заменено, вставлено и/или удалено в общей сложности от 1 до 5 аминокислот. В определенных вариантах осуществления замены, вставки или делеции происходят в областях за пределами HVR (*т.е.* в областях FR). В некоторых вариантах осуществления замены, вставки или делеции происходят в областях FR. Необязательно антитело к CD33 содержит последовательность VH антитела CD33 или SEQ ID NO: 60, включая посттрансляционные модификации данной последовательности. В конкретном варианте осуществления VH содержит одну, две или три HVR, выбранные из: (а) аминокислотной последовательности HVR-H1 антитела АВ-64.1.3, (b) аминокислотной последовательности HVR-H2 антитела АВ-64.1.3 и (с) аминокислотной последовательности HVR-H3 антитела АВ-64.1.3. В некоторых вариантах осуществления антитела к CD33 по данному изобретению 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 АВ-64.1.3 или с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 86 и содержащую замены (*например*, консервативные замены, вставки или делеции относительно эталонной последовательности), но антитело к CD33, содержащее эту последовательность, сохраняет способность связываться с CD33. В определенных вариантах осуществления в аминокислотной последовательности вариабельного домена легкой цепи антитела АВ-64.1.3 или в аминокислотной последовательности SEQ ID NO:

86 было заменено, вставлено и/или удалено в общей сложности от 1 до 10 аминокислот. В определенных вариантах осуществления в аминокислотной последовательности переменного домена легкой цепи антитела АВ-64.1.3 или в аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 86 было заменено, вставлено и/или удалено в общей сложности от 1 до 5 аминокислот. В определенных вариантах осуществления замены, вставки или делеции происходят в областях за пределами HVR (*т.е.* в областях FR). В некоторых вариантах осуществления замены, вставки или делеции происходят в областях FR. Необязательно антитело к CD33 содержит последовательность VL антитела АВ-64.1.3 или SEQ ID NO: 86, включая посттрансляционные модификации данной последовательности. В конкретном варианте осуществления VL содержит одну, две или три HVR, выбранные из: (a) аминокислотной последовательности HVR-L1 антитела АВ-64.1.3, (b) аминокислотной последовательности HVR-L2 антитела АВ-64.1.3 и (c) аминокислотной последовательности HVR-L3 антитела АВ-64.1.3.

[189] В некоторых вариантах осуществления антитела к CD33 по данному изобретению содержат переменный домен легкой цепи и переменный домен тяжелой цепи, причем переменный домен тяжелой цепи содержит аминокислотную последовательность, 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 аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 61; и/или переменный домен легкой цепи содержит аминокислотную последовательность, 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 аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 86. В некоторых вариантах осуществления антитела к CD33 по данному изобретению содержат переменный домен тяжелой цепи, содержащий аминокислотную последовательность, 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, причем переменный домен тяжелой цепи содержит аминокислотные последовательности HVR-H1, HVR-H2 и HVR-H3 антитела АВ-64.1.4. В некоторых

вариантах осуществления антитела к CD33 по данному изобретению содержат переменный домен легкой цепи, содержащий аминокислотную последовательность, 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, причем переменный домен легкой цепи содержит аминокислотные последовательности HVR-L1, HVR-L2 и HVR-L3 антитела АВ-64.1.4. В некоторых вариантах осуществления антитело к CD33 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 содержит замены (*например*, консервативные замены, вставки или делеции относительно эталонной последовательности), но антитело к CD33, содержащее эту последовательность, сохраняет способность связываться с CD33. В определенных вариантах осуществления в аминокислотной последовательности переменного домена тяжелой цепи антитела АВ-64.1.4 или в аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 61 было заменено, вставлено и/или удалено в общей сложности от 1 до 10 аминокислот. В определенных вариантах осуществления в аминокислотной последовательности переменного домена тяжелой цепи антитела АВ-64.1.4 или в аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 61 было заменено, вставлено и/или удалено в общей сложности от 1 до 5 аминокислот. В определенных вариантах осуществления замены, вставки или делеции происходят в областях за пределами HVR (*т.е.* в областях FR). В некоторых вариантах осуществления замены, вставки или делеции происходят в областях FR. Необязательно антитело к CD33 содержит последовательность VH антитела CD33 или SEQ ID NO: 61, включая посттрансляционные модификации данной последовательности. В конкретном варианте осуществления VH содержит одну, две или три HVR, выбранные из: (а) аминокислотной последовательности HVR-H1 антитела АВ-64.1.4, (b) аминокислотной последовательности HVR-H2 антитела АВ-64.1.4 и (c) аминокислотной последовательности HVR-H3 антитела АВ-64.1.4. В некоторых вариантах осуществления антитела к CD33 по данному изобретению 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, вставки или делеции относительно эталонной последовательности), но антитело к CD33, содержащее эту последовательность, сохраняет способность связываться с CD33. В определенных вариантах осуществления в аминокислотной последовательности переменного домена легкой цепи антитела АВ-64.1.4 или в аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 86 было заменено, вставлено и/или удалено в общей сложности от 1 до 10 аминокислот. В определенных вариантах осуществления в аминокислотной последовательности переменного домена легкой цепи антитела АВ-64.1.4 или в аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 86 было заменено, вставлено и/или удалено в общей сложности от 1 до 5 аминокислот. В определенных вариантах осуществления замены, вставки или делеции происходят в областях за пределами HVR (*т.е.* в областях FR). В некоторых вариантах осуществления замены, вставки или делеции происходят в областях FR. Необязательно антитело к CD33 содержит последовательность VL антитела АВ-64.1.4 или SEQ ID NO: 86, включая посттрансляционные модификации данной последовательности. В конкретном варианте осуществления VL содержит одну, две или три HVR, выбранные из: (а) аминокислотной последовательности HVR-L1 антитела АВ-64.1.4, (b) аминокислотной последовательности HVR-L2 антитела АВ-64.1.4 и (с) аминокислотной последовательности HVR-L3 антитела АВ-64.1.4.

[190] В некоторых вариантах осуществления антитела к CD33 по данному изобретению содержат переменный домен легкой цепи и переменный домен тяжелой цепи, причем переменный домен тяжелой цепи содержит аминокислотную последовательность, 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 аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 62; и/или переменный домен легкой цепи содержит аминокислотную последовательность, 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 аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 86. В некоторых вариантах осуществления антитела к CD33 по данному изобретению содержат переменный домен тяжелой цепи, содержащий аминокислотную последовательность, 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, причем переменный домен тяжелой цепи содержит аминокислотные последовательности HVR-H1, HVR-H2 и HVR-H3 антитела АВ-64.1.5. В некоторых вариантах осуществления антитела к CD33 по данному изобретению содержат переменный домен легкой цепи, содержащий аминокислотную последовательность, 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, причем переменный домен легкой цепи содержит аминокислотные последовательности HVR-L1, HVR-L2 и HVR-L3 антитела АВ-64.1.5. В некоторых вариантах осуществления антитело к CD33 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 содержит замены (*например*, консервативные замены, вставки или делеции относительно эталонной последовательности), но антитело к CD33, содержащее эту последовательность, сохраняет способность связываться с CD33. В определенных вариантах осуществления в аминокислотной последовательности переменного домена тяжелой цепи антитела АВ-64.1.5 или в аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 62 было заменено, вставлено и/или удалено в общей сложности от 1 до 10 аминокислот. В определенных вариантах осуществления в аминокислотной последовательности переменного домена тяжелой цепи антитела АВ-64.1.5 или в аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 62 было заменено, вставлено и/или удалено в общей сложности от 1 до 5 аминокислот. В определенных вариантах осуществления замены, вставки или делеции происходят в областях за пределами HVR (*т.е.* в областях FR). В некоторых вариантах осуществления замены, вставки или делеции происходят в областях FR. Необязательно антитело к CD33 содержит последовательность VH антитела CD33 или SEQ ID NO: 62, включая посттрансляционные модификации данной последовательности. В конкретном варианте

осуществления VH содержит одну, две или три HVR, выбранные 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 антитела к CD33 по данному изобретению 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, вставки или делеции относительно эталонной последовательности), но антитело к CD33, содержащее эту последовательность, сохраняет способность связываться с CD33. В определенных вариантах осуществления в аминокислотной последовательности переменного домена легкой цепи антитела АВ-64.1.5 или в аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 86 было заменено, вставлено и/или удалено в общей сложности от 1 до 10 аминокислот. В определенных вариантах осуществления в аминокислотной последовательности переменного домена легкой цепи антитела АВ-64.1.5 или в аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 86 было заменено, вставлено и/или удалено в общей сложности от 1 до 5 аминокислот. В определенных вариантах осуществления замены, вставки или делеции происходят в областях за пределами HVR (*т.е.* в областях FR). В некоторых вариантах осуществления замены, вставки или делеции происходят в областях FR. Необязательно антитело к CD33 содержит последовательность VL антитела АВ-64.1.5 или SEQ ID NO: 86, включая посттрансляционные модификации данной последовательности. В конкретном варианте осуществления VL содержит одну, две или три HVR, выбранные из: (а) аминокислотной последовательности HVR-L1 антитела АВ-64.1.5, (b) аминокислотной последовательности HVR-L2 антитела АВ-64.1.5 и (с) аминокислотной последовательности HVR-L3 антитела АВ-64.1.5.

[191] В некоторых вариантах осуществления антитела к CD33 по данному изобретению содержат переменный домен легкой цепи и переменный домен тяжелой цепи, причем переменный домен тяжелой цепи содержит аминокислотную последовательность, 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 аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 63; и/или переменный домен легкой цепи содержит аминокислотную последовательность, 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 АВ-64.1.6 или аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 86. В некоторых вариантах осуществления антитела к CD33 по данному изобретению содержат вариабельный домен тяжелой цепи, содержащий аминокислотную последовательность, 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 тяжелой цепи антитела АВ-64.1.6 или с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 63, причем вариабельный домен тяжелой цепи содержит аминокислотные последовательности HVR-H1, HVR-H2 и HVR-H3 антитела АВ-64.1.6. В некоторых вариантах осуществления антитела к CD33 по данному изобретению содержат вариабельный домен легкой цепи, содержащий аминокислотную последовательность, 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 АВ-64.1.6 или с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 86, причем вариабельный домен легкой цепи содержит аминокислотные последовательности HVR-L1, HVR-L2 и HVR-L3 антитела АВ-64.1.6. В некоторых вариантах осуществления антитело к CD33 содержит последовательность вариабельного 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 вариабельного домена тяжелой цепи антитела АВ-64.1.6 или с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 63 и содержит замены (*например*, консервативные замены, вставки или делеции относительно эталонной последовательности), но антитело к CD33, содержащее эту последовательность, сохраняет способность связываться с CD33. В определенных вариантах осуществления в аминокислотной последовательности вариабельного домена тяжелой цепи антитела АВ-64.1.6 или в аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 63 было заменено, вставлено и/или удалено в общей сложности от 1 до 10 аминокислот. В определенных

вариантах осуществления в аминокислотной последовательности переменного домена тяжелой цепи антитела АВ-64.1.6 или в аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 63 было заменено, вставлено и/или удалено в общей сложности от 1 до 5 аминокислот. В определенных вариантах осуществления замены, вставки или делеции происходят в областях за пределами HVR (*т.е.* в областях FR). В некоторых вариантах осуществления замены, вставки или делеции происходят в областях FR. Необязательно антитело к CD33 содержит последовательность VH антитела CD33 или SEQ ID NO: 63, включая посттрансляционные модификации данной последовательности. В конкретном варианте осуществления VH содержит одну, две или три HVR, выбранные 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 антитела к CD33 по данному изобретению 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-64.1.6 или с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 86 и содержащую замены (*например*, консервативные замены, вставки или делеции относительно эталонной последовательности), но антитело к CD33, содержащее эту последовательность, сохраняет способность связываться с CD33. В определенных вариантах осуществления в аминокислотной последовательности переменного домена легкой цепи антитела АВ-64.1.6 или в аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 86 было заменено, вставлено и/или удалено в общей сложности от 1 до 10 аминокислот. В определенных вариантах осуществления в аминокислотной последовательности переменного домена легкой цепи антитела АВ-64.1.6 или в аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 86 было заменено, вставлено и/или удалено в общей сложности от 1 до 5 аминокислот. В определенных вариантах осуществления замены, вставки или делеции происходят в областях за пределами HVR (*т.е.* в областях FR). В некоторых вариантах осуществления замены, вставки или делеции происходят в областях FR. Необязательно антитело к CD33 содержит последовательность VL антитела АВ-64.1.6 или SEQ ID NO: 86, включая посттрансляционные модификации данной последовательности. В конкретном варианте осуществления VL содержит одну, две или три HVR, выбранные из: (а) аминокислотной последовательности HVR-L1 антитела АВ-64.1.6, (b) аминокислотной последовательности HVR-L2 антитела АВ-64.1.6 и (с) аминокислотной последовательности HVR-L3 антитела АВ-64.1.6.

[192] В некоторых вариантах осуществления антитела к CD33 по данному изобретению содержат переменный домен легкой цепи и переменный домен тяжелой цепи, причем переменный домен тяжелой цепи содержит аминокислотную

последовательность, 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-64.1.7 или аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 64; и/или переменный домен легкой цепи содержит аминокислотную последовательность, 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-64.1.7 или аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 86. В некоторых вариантах осуществления антитела к CD33 по данному изобретению содержат переменный домен тяжелой цепи, содержащий аминокислотную последовательность, 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-64.1.7 или с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 64, причем переменный домен тяжелой цепи содержит аминокислотные последовательности HVR-H1, HVR-H2 и HVR-H3 антитела АВ-64.1.7. В некоторых вариантах осуществления антитела к CD33 по данному изобретению содержат переменный домен легкой цепи, содержащий аминокислотную последовательность, 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-64.1.7 или с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 86, причем переменный домен легкой цепи содержит аминокислотные последовательности HVR-L1, HVR-L2 и HVR-L3 антитела АВ-64.1.7. В некоторых вариантах осуществления антитело к CD33 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 вариабельного домена тяжелой цепи антитела АВ-64.1.7 или с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 64 и содержит замены (*например*, консервативные замены, вставки или делеции относительно эталонной последовательности), но антитело к CD33, содержащее эту последовательность, сохраняет способность связываться с CD33. В определенных вариантах осуществления в аминокислотной последовательности вариабельного домена тяжелой цепи антитела АВ-64.1.7 или в аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 64 было заменено, вставлено и/или удалено в общей сложности от 1 до 10 аминокислот. В определенных вариантах осуществления в аминокислотной последовательности вариабельного домена тяжелой цепи антитела АВ-64.1.7 или в аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 64 было заменено, вставлено и/или удалено в общей сложности от 1 до 5 аминокислот. В определенных вариантах осуществления замены, вставки или делеции происходят в областях за пределами HVR (*т.е.* в областях FR). В некоторых вариантах осуществления замены, вставки или делеции происходят в областях FR. Необязательно антитело к CD33 содержит последовательность VH антитела CD33 или SEQ ID NO: 64, включая посттрансляционные модификации данной последовательности. В конкретном варианте осуществления VH содержит одну, две или три HVR, выбранные из: (а) аминокислотной последовательности HVR-H1 антитела АВ-64.1.7, (b) аминокислотной последовательности HVR-H2 антитела АВ-64.1.7 и (с) аминокислотной последовательности HVR-H3 антитела АВ-64.1.7. В некоторых вариантах осуществления антитела к CD33 по данному изобретению 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 АВ-64.1.7 или с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 86 и содержащую замены (*например*, консервативные замены, вставки или делеции относительно эталонной последовательности), но антитело к CD33, содержащее эту последовательность, сохраняет способность связываться с CD33. В определенных вариантах осуществления в аминокислотной последовательности вариабельного домена легкой цепи антитела АВ-64.1.7 или в аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 86 было заменено, вставлено и/или удалено в общей сложности от 1 до 10 аминокислот. В определенных вариантах осуществления в аминокислотной последовательности вариабельного домена легкой цепи антитела АВ-64.1.7 или в аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 86 было заменено, вставлено и/или удалено в общей сложности от 1 до 5 аминокислот. В определенных вариантах осуществления замены, вставки или делеции происходят в областях за пределами HVR (*т.е.* в областях FR). В некоторых вариантах осуществления замены, вставки или делеции происходят в областях FR. Необязательно антитело к CD33 содержит последовательность VL антитела АВ-64.1.7

или SEQ ID NO: 86, включая посттрансляционные модификации данной последовательности. В конкретном варианте осуществления VL содержит одну, две или три HVR, выбранные 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.

[193] В некоторых вариантах осуществления антитела к CD33 по данному изобретению содержат переменный домен легкой цепи и переменный домен тяжелой цепи, причем переменный домен тяжелой цепи содержит аминокислотную последовательность, 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-64.1.8 или аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 65; и/или переменный домен легкой цепи содержит аминокислотную последовательность, 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-64.1.8 или аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 86. В некоторых вариантах осуществления антитела к CD33 по данному изобретению содержат переменный домен тяжелой цепи, содержащий аминокислотную последовательность, 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-64.1.8 или с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 65, причем переменный домен тяжелой цепи содержит аминокислотные последовательности HVR-H1, HVR-H2 и HVR-H3 антитела AB-64.1.8. В некоторых вариантах осуществления антитела к CD33 по данному изобретению содержат переменный домен легкой цепи, содержащий аминокислотную последовательность, 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-64.1.8 или с аминокислотной последовательностью SEQ

ID NO: 86, причем вариабельный домен легкой цепи содержит аминокислотные последовательности HVR-L1, HVR-L2 и HVR-L3 антитела АВ-64.1.8. В некоторых вариантах осуществления антитело к CD33 содержит последовательность вариабельного 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 вариабельного домена тяжелой цепи антитела АВ-64.1.8 или с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 65 и содержит замены (*например*, консервативные замены, вставки или делеции относительно эталонной последовательности), но антитело к CD33, содержащее эту последовательность, сохраняет способность связываться с CD33. В определенных вариантах осуществления в аминокислотной последовательности вариабельного домена тяжелой цепи антитела АВ-64.1.8 или в аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 65 было заменено, вставлено и/или удалено в общей сложности от 1 до 10 аминокислот. В определенных вариантах осуществления в аминокислотной последовательности вариабельного домена тяжелой цепи антитела АВ-64.1.8 или в аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 65 было заменено, вставлено и/или удалено в общей сложности от 1 до 5 аминокислот. В определенных вариантах осуществления замены, вставки или делеции происходят в областях за пределами HVR (*т.е.* в областях FR). В некоторых вариантах осуществления замены, вставки или делеции происходят в областях FR. Необязательно антитело к CD33 содержит последовательность VH антитела CD33 или SEQ ID NO: 65, включая посттрансляционные модификации данной последовательности. В конкретном варианте осуществления VH содержит одну, две или три HVR, выбранные 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 антитела к CD33 по данному изобретению 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 АВ-64.1.8 или с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 86 и содержащую замены (*например*, консервативные замены, вставки или делеции относительно эталонной последовательности), но антитело к CD33, содержащее эту последовательность, сохраняет способность связываться с CD33. В определенных вариантах осуществления в аминокислотной последовательности вариабельного домена легкой цепи антитела АВ-64.1.8 или в аминокислотной последовательности SEQ ID NO:

86 было заменено, вставлено и/или удалено в общей сложности от 1 до 10 аминокислот. В определенных вариантах осуществления в аминокислотной последовательности переменного домена легкой цепи антитела АВ-64.1.8 или в аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 86 было заменено, вставлено и/или удалено в общей сложности от 1 до 5 аминокислот. В определенных вариантах осуществления замены, вставки или делеции происходят в областях за пределами HVR (*т.е.* в областях FR). В некоторых вариантах осуществления замены, вставки или делеции происходят в областях FR. Необязательно антитело к CD33 содержит последовательность VL антитела АВ-64.1.8 или SEQ ID NO: 86, включая посттрансляционные модификации данной последовательности. В конкретном варианте осуществления VL содержит одну, две или три HVR, выбранные из: (a) аминокислотной последовательности HVR-L1 антитела АВ-64.1.8, (b) аминокислотной последовательности HVR-L2 антитела АВ-64.1.8 и (c) аминокислотной последовательности HVR-L3 антитела АВ-64.1.8.

[194] В некоторых вариантах осуществления антитела к CD33 по данному изобретению содержат переменный домен легкой цепи и переменный домен тяжелой цепи, причем переменный домен тяжелой цепи содержит аминокислотную последовательность, 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 аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 66; и/или переменный домен легкой цепи содержит аминокислотную последовательность, 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 аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 86. В некоторых вариантах осуществления антитела к CD33 по данному изобретению содержат переменный домен тяжелой цепи, содержащий аминокислотную последовательность, 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, причем переменный домен тяжелой цепи содержит аминокислотные последовательности HVR-H1, HVR-H2 и HVR-H3 антитела АВ-64.1.9. В некоторых

вариантах осуществления антитела к CD33 по данному изобретению содержат переменный домен легкой цепи, содержащий аминокислотную последовательность, 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-64.1.9 или с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 86, причем переменный домен легкой цепи содержит аминокислотные последовательности HVR-L1, HVR-L2 и HVR-L3 антитела AB-64.1.9. В некоторых вариантах осуществления антитело к CD33 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-64.1.9 или с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 66 и содержит замены (*например*, консервативные замены, вставки или делеции относительно эталонной последовательности), но антитело к CD33, содержащее эту последовательность, сохраняет способность связываться с CD33. В определенных вариантах осуществления в аминокислотной последовательности переменного домена тяжелой цепи антитела AB-64.1.9 или в аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 66 было заменено, вставлено и/или удалено в общей сложности от 1 до 10 аминокислот. В определенных вариантах осуществления в аминокислотной последовательности переменного домена тяжелой цепи антитела AB-64.1.9 или в аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 66 было заменено, вставлено и/или удалено в общей сложности от 1 до 5 аминокислот. В определенных вариантах осуществления замены, вставки или делеции происходят в областях за пределами HVR (*т.е.* в областях FR). В некоторых вариантах осуществления замены, вставки или делеции происходят в областях FR. Необязательно антитело к CD33 содержит последовательность VH антитела CD33 или SEQ ID NO: 66, включая посттрансляционные модификации данной последовательности. В конкретном варианте осуществления VH содержит одну, две или три HVR, выбранные из: (а) аминокислотной последовательности HVR-H1 антитела AB-64.1.9, (b) аминокислотной последовательности HVR-H2 антитела AB-64.1.9 и (c) аминокислотной последовательности HVR-H3 антитела AB-64.1.9. В некоторых вариантах осуществления антитела к CD33 по данному изобретению 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, вставки или делеции относительно эталонной последовательности), но антитело к CD33, содержащее эту последовательность, сохраняет способность связываться с CD33. В определенных вариантах осуществления в аминокислотной последовательности переменного домена легкой цепи антитела АВ-64.1.9 или в аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 86 было заменено, вставлено и/или удалено в общей сложности от 1 до 10 аминокислот. В определенных вариантах осуществления в аминокислотной последовательности переменного домена легкой цепи антитела АВ-64.1.9 или в аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 86 было заменено, вставлено и/или удалено в общей сложности от 1 до 5 аминокислот. В определенных вариантах осуществления замены, вставки или делеции происходят в областях за пределами HVR (*т.е.* в областях FR). В некоторых вариантах осуществления замены, вставки или делеции происходят в областях FR. Необязательно антитело к CD33 содержит последовательность VL антитела АВ-64.1.9 или SEQ ID NO: 86, включая посттрансляционные модификации данной последовательности. В конкретном варианте осуществления VL содержит одну, две или три HVR, выбранные из: (a) аминокислотной последовательности HVR-L1 антитела АВ-64.1.9, (b) аминокислотной последовательности HVR-L2 антитела АВ-64.1.9 и (c) аминокислотной последовательности HVR-L3 антитела АВ-64.1.9.

[195] В некоторых вариантах осуществления антитела к CD33 по данному изобретению содержат переменный домен легкой цепи и переменный домен тяжелой цепи, причем переменный домен тяжелой цепи содержит аминокислотную последовательность, 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-64.1.10 или аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 67; и/или переменный домен легкой цепи содержит аминокислотную последовательность, 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-64.1.10 или аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 86. В некоторых вариантах осуществления антитела к CD33 по данному изобретению содержат переменный домен тяжелой цепи, содержащий аминокислотную последовательность, 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-64.1.10 или с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 67, причем переменный домен тяжелой цепи содержит аминокислотные последовательности HVR-H1, HVR-H2 и HVR-H3 антитела АВ-64.1.10. В некоторых вариантах осуществления антитела к CD33 по данному изобретению содержат переменный домен легкой цепи, содержащий аминокислотную последовательность, 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-64.1.10 или с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 86, причем переменный домен легкой цепи содержит аминокислотные последовательности HVR-L1, HVR-L2 и HVR-L3 антитела АВ-64.1.10. В некоторых вариантах осуществления антитело к CD33 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-64.1.10 или с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 67 и содержит замены (*например*, консервативные замены, вставки или делеции относительно эталонной последовательности), но антитело к CD33, содержащее эту последовательность, сохраняет способность связываться с CD33. В определенных вариантах осуществления в аминокислотной последовательности переменного домена тяжелой цепи антитела АВ-64.1.10 или в аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 67 было заменено, вставлено и/или удалено в общей сложности от 1 до 10 аминокислот. В определенных вариантах осуществления в аминокислотной последовательности переменного домена тяжелой цепи антитела АВ-64.1.10 или в аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 67 было заменено, вставлено и/или удалено в общей сложности от 1 до 5 аминокислот. В определенных вариантах осуществления замены, вставки или делеции происходят в областях за пределами HVR (*т.е.* в областях FR). В некоторых вариантах осуществления замены, вставки или делеции происходят в областях FR. Необязательно антитело к CD33 содержит последовательность VH антитела CD33 или SEQ ID NO: 67, включая посттрансляционные модификации данной последовательности. В конкретном

варианте осуществления VH содержит одну, две или три HVR, выбранные 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 антитела к CD33 по данному изобретению 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, вставки или делеции относительно эталонной последовательности), но антитело к CD33, содержащее эту последовательность, сохраняет способность связываться с CD33. В определенных вариантах осуществления в аминокислотной последовательности вариабельного домена легкой цепи антитела AB-64.1.10 или в аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 86 было заменено, вставлено и/или удалено в общей сложности от 1 до 10 аминокислот. В определенных вариантах осуществления в аминокислотной последовательности вариабельного домена легкой цепи антитела AB-64.1.10 или в аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 86 было заменено, вставлено и/или удалено в общей сложности от 1 до 5 аминокислот. В определенных вариантах осуществления замены, вставки или делеции происходят в областях за пределами HVR (*т.е.* в областях FR). В некоторых вариантах осуществления замены, вставки или делеции происходят в областях FR. Необязательно антитело к CD33 содержит последовательность VL антитела AB-64.1.10 или SEQ ID NO: 86, включая посттрансляционные модификации данной последовательности. В конкретном варианте осуществления VL содержит одну, две или три HVR, выбранные 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.

[196] В некоторых вариантах осуществления антитела к CD33 по данному изобретению содержат вариабельный домен легкой цепи и вариабельный домен тяжелой цепи, причем вариабельный домен тяжелой цепи содержит аминокислотную последовательность, 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 тяжелой цепи антитела AB-64.1.11 или аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 68; и/или вариабельный домен легкой

цепи содержит аминокислотную последовательность, 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-64.1.11 или аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 86. В некоторых вариантах осуществления антитела к CD33 по данному изобретению содержат переменный домен тяжелой цепи, содержащий аминокислотную последовательность, 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-64.1.11 или с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 68, причем переменный домен тяжелой цепи содержит аминокислотные последовательности HVR-H1, HVR-H2 и HVR-H3 антитела АВ-64.1.11. В некоторых вариантах осуществления антитела к CD33 по данному изобретению содержат переменный домен легкой цепи, содержащий аминокислотную последовательность, 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-64.1.11 или с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 86, причем переменный домен легкой цепи содержит аминокислотные последовательности HVR-L1, HVR-L2 и HVR-L3 антитела АВ-64.1.11. В некоторых вариантах осуществления антитело к CD33 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-64.1.11 или с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 68 и содержит замены (*например*, консервативные замены, вставки или делеции относительно эталонной последовательности), но антитело к CD33, содержащее эту последовательность, сохраняет способность связываться с CD33. В определенных вариантах осуществления в аминокислотной последовательности переменного домена тяжелой цепи антитела АВ-64.1.11 или в аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 68 было заменено,

вставлено и/или удалено в общей сложности от 1 до 10 аминокислот. В определенных вариантах осуществления в аминокислотной последовательности переменного домена тяжелой цепи антитела AB-64.1.11 или в аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 68 было заменено, вставлено и/или удалено в общей сложности от 1 до 5 аминокислот. В определенных вариантах осуществления замены, вставки или делеции происходят в областях за пределами HVR (*т.е.* в областях FR). В некоторых вариантах осуществления замены, вставки или делеции происходят в областях FR. Необязательно антитело к CD33 содержит последовательность VH антитела CD33 или SEQ ID NO: 68, включая посттрансляционные модификации данной последовательности. В конкретном варианте осуществления VH содержит одну, две или три HVR, выбранные 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 антитела к CD33 по данному изобретению 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, вставки или делеции относительно эталонной последовательности), но антитело к CD33, содержащее эту последовательность, сохраняет способность связываться с CD33. В определенных вариантах осуществления в аминокислотной последовательности переменного домена легкой цепи антитела AB-64.1.11 или в аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 86 было заменено, вставлено и/или удалено в общей сложности от 1 до 10 аминокислот. В определенных вариантах осуществления в аминокислотной последовательности переменного домена легкой цепи антитела AB-64.1.11 или в аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 86 было заменено, вставлено и/или удалено в общей сложности от 1 до 5 аминокислот. В определенных вариантах осуществления замены, вставки или делеции происходят в областях за пределами HVR (*т.е.* в областях FR). В некоторых вариантах осуществления замены, вставки или делеции происходят в областях FR. Необязательно антитело к CD33 содержит последовательность VL антитела AB-64.1.11 или SEQ ID NO: 86, включая посттрансляционные модификации данной последовательности. В конкретном варианте осуществления VL содержит одну, две или три HVR, выбранные 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.

[197] В некоторых вариантах осуществления антитела к CD33 по данному

изобретению содержат переменный домен легкой цепи и переменный домен тяжелой цепи, причем переменный домен тяжелой цепи содержит аминокислотную последовательность, 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-64.1.12 или аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 69; и/или переменный домен легкой цепи содержит аминокислотную последовательность, 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-64.1.12 или аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 86. В некоторых вариантах осуществления антитела к CD33 по данному изобретению содержат переменный домен тяжелой цепи, содержащий аминокислотную последовательность, 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-64.1.12 или с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 69, причем переменный домен тяжелой цепи содержит аминокислотные последовательности HVR-H1, HVR-H2 и HVR-H3 антитела AB-64.1.12. В некоторых вариантах осуществления антитела к CD33 по данному изобретению содержат переменный домен легкой цепи, содержащий аминокислотную последовательность, 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-64.1.12 или с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 86, причем переменный домен легкой цепи содержит аминокислотные последовательности HVR-L1, HVR-L2 и HVR-L3 антитела AB-64.1.12. В некоторых вариантах осуществления антитело к CD33 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 вариабельного домена тяжелой цепи антитела АВ-64.1.12 или с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 69 и содержит замены (*например*, консервативные замены, вставки или делеции относительно эталонной последовательности), но антитело к CD33, содержащее эту последовательность, сохраняет способность связываться с CD33. В определенных вариантах осуществления в аминокислотной последовательности вариабельного домена тяжелой цепи антитела АВ-64.1.12 или в аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 69 было заменено, вставлено и/или удалено в общей сложности от 1 до 10 аминокислот. В определенных вариантах осуществления в аминокислотной последовательности вариабельного домена тяжелой цепи антитела АВ-64.1.12 или в аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 69 было заменено, вставлено и/или удалено в общей сложности от 1 до 5 аминокислот. В определенных вариантах осуществления замены, вставки или делеции происходят в областях за пределами HVR (*т.е.* в областях FR). В некоторых вариантах осуществления замены, вставки или делеции происходят в областях FR. Необязательно антитело к CD33 содержит последовательность VH антитела CD33 или SEQ ID NO: 69, включая посттрансляционные модификации данной последовательности. В конкретном варианте осуществления VH содержит одну, две или три HVR, выбранные из: (a) аминокислотной последовательности HVR-H1 антитела АВ-64.1.12, (b) аминокислотной последовательности HVR-H2 антитела АВ-64.1.12 и (c) аминокислотной последовательности HVR-H3 антитела АВ-64.1.12. В некоторых вариантах осуществления антитела к CD33 по данному изобретению 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 АВ-64.1.12 или с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 86 и содержащую замены (*например*, консервативные замены, вставки или делеции относительно эталонной последовательности), но антитело к CD33, содержащее эту последовательность, сохраняет способность связываться с CD33. В определенных вариантах осуществления в аминокислотной последовательности вариабельного домена легкой цепи антитела АВ-64.1.12 или в аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 86 было заменено, вставлено и/или удалено в общей сложности от 1 до 10 аминокислот. В определенных вариантах осуществления в аминокислотной последовательности вариабельного домена легкой цепи антитела АВ-64.1.12 или в аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 86 было заменено, вставлено и/или удалено в общей сложности от 1 до 5 аминокислот. В определенных вариантах осуществления замены, вставки или делеции происходят в

областях за пределами HVR (*m.e.* в областях FR). В некоторых вариантах осуществления замены, вставки или делеции происходят в областях FR. Необязательно антитело к CD33 содержит последовательность VL антитела AB-64.1.12 или SEQ ID NO: 86, включая посттрансляционные модификации данной последовательности. В конкретном варианте осуществления VL содержит одну, две или три HVR, выбранные из: (a) аминокислотной последовательности HVR-L1 антитела AB-64.1.12, (b) аминокислотной последовательности HVR-L2 антитела AB-64.1.12 и (c) аминокислотной последовательности HVR-L3 антитела AB-64.1.12.

[198] В некоторых вариантах осуществления антитела к CD33 по данному изобретению содержат переменный домен легкой цепи и переменный домен тяжелой цепи, причем переменный домен тяжелой цепи содержит аминокислотную последовательность, 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-64.1.13 или аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 52; и/или переменный домен легкой цепи содержит аминокислотную последовательность, 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-64.1.13 или аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 86. В некоторых вариантах осуществления антитела к CD33 по данному изобретению содержат переменный домен тяжелой цепи, содержащий аминокислотную последовательность, 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-64.1.13 или с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 52, причем переменный домен тяжелой цепи содержит аминокислотные последовательности HVR-H1, HVR-H2 и HVR-H3 антитела AB-64.1.13. В некоторых вариантах осуществления антитела к CD33 по данному изобретению содержат переменный домен легкой цепи, содержащий аминокислотную последовательность, 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-64.1.13 или с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 86.

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, причем переменный домен легкой цепи содержит аминокислотные последовательности HVR-L1, HVR-L2 и HVR-L3 антитела АВ-64.1.13. В некоторых вариантах осуществления антитело к CD33 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 содержит замены (*например*, консервативные замены, вставки или делеции относительно эталонной последовательности), но антитело к CD33, содержащее эту последовательность, сохраняет способность связываться с CD33. В определенных вариантах осуществления в аминокислотной последовательности переменного домена тяжелой цепи антитела АВ-64.1.13 или в аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 52 было заменено, вставлено и/или удалено в общей сложности от 1 до 10 аминокислот. В определенных вариантах осуществления в аминокислотной последовательности переменного домена тяжелой цепи антитела АВ-64.1.13 или в аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 52 было заменено, вставлено и/или удалено в общей сложности от 1 до 5 аминокислот. В определенных вариантах осуществления замены, вставки или делеции происходят в областях за пределами HVR (*т.е.* в областях FR). В некоторых вариантах осуществления замены, вставки или делеции происходят в областях FR. Необязательно антитело к CD33 содержит последовательность VH антитела CD33 или SEQ ID NO: 52, включая посттрансляционные модификации данной последовательности. В конкретном варианте осуществления VH содержит одну, две или три HVR, выбранные из: (a) аминокислотной последовательности HVR-H1 антитела АВ-64.1.13, (b) аминокислотной последовательности HVR-H2 антитела АВ-64.1.13 и (c) аминокислотной последовательности HVR-H3 антитела АВ-64.1.13. В некоторых вариантах осуществления антитела к CD33 по данному изобретению 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-64.1.13 или с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 86 и содержащую замены (*например*, консервативные замены, вставки или делеции относительно эталонной

последовательности), но антитело к CD33, содержащее эту последовательность, сохраняет способность связываться с CD33. В определенных вариантах осуществления в аминокислотной последовательности переменного домена легкой цепи антитела АВ-64.1.13 или в аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 86 было заменено, вставлено и/или удалено в общей сложности от 1 до 10 аминокислот. В определенных вариантах осуществления в аминокислотной последовательности переменного домена легкой цепи антитела АВ-64.1.13 или в аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 86 было заменено, вставлено и/или удалено в общей сложности от 1 до 5 аминокислот. В определенных вариантах осуществления замены, вставки или делеции происходят в областях за пределами HVR (*m.e.* в областях FR). В некоторых вариантах осуществления замены, вставки или делеции происходят в областях FR. Необязательно антитело к CD33 содержит последовательность VL антитела АВ-64.1.13 или SEQ ID NO: 86, включая посттрансляционные модификации данной последовательности. В конкретном варианте осуществления VL содержит одну, две или три HVR, выбранные из: (a) аминокислотной последовательности HVR-L1 антитела АВ-64.1.13, (b) аминокислотной последовательности HVR-L2 антитела АВ-64.1.13 и (c) аминокислотной последовательности HVR-L3 антитела АВ-64.1.13.

[199] В некоторых вариантах осуществления антитела к CD33 по данному изобретению содержат переменный домен легкой цепи и переменный домен тяжелой цепи, причем переменный домен тяжелой цепи содержит аминокислотную последовательность, 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 аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 71; и/или переменный домен легкой цепи содержит аминокислотную последовательность, 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-64.1.14 или аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 86. В некоторых вариантах осуществления антитела к CD33 по данному изобретению содержат переменный домен тяжелой цепи, содержащий аминокислотную последовательность, 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, причем переменный домен тяжелой цепи содержит аминокислотные последовательности HVR-H1, HVR-H2 и HVR-H3 антитела АВ-64.1.14. В некоторых вариантах осуществления антитела к CD33 по данному изобретению содержат переменный домен легкой цепи, содержащий аминокислотную последовательность, 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-64.1.14 или с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 86, причем переменный домен легкой цепи содержит аминокислотные последовательности HVR-L1, HVR-L2 и HVR-L3 антитела АВ-64.1.14. В некоторых вариантах осуществления антитело к CD33 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 содержит замены (*например*, консервативные замены, вставки или делеции относительно эталонной последовательности), но антитело к CD33, содержащее эту последовательность, сохраняет способность связываться с CD33. В определенных вариантах осуществления в аминокислотной последовательности переменного домена тяжелой цепи антитела АВ-64.1.14 или в аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 71 было заменено, вставлено и/или удалено в общей сложности от 1 до 10 аминокислот. В определенных вариантах осуществления в аминокислотной последовательности переменного домена тяжелой цепи антитела АВ-64.1.14 или в аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 71 было заменено, вставлено и/или удалено в общей сложности от 1 до 5 аминокислот. В определенных вариантах осуществления замены, вставки или делеции происходят в областях за пределами HVR (*т.е.* в областях FR). В некоторых вариантах осуществления замены, вставки или делеции происходят в областях FR. Необязательно антитело к CD33 содержит последовательность VH антитела CD33 или SEQ ID NO: 71, включая посттрансляционные модификации данной последовательности. В конкретном варианте осуществления VH содержит одну, две или три HVR, выбранные 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

антитела к CD33 по данному изобретению 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, вставки или делеции относительно эталонной последовательности), но антитело к CD33, содержащее эту последовательность, сохраняет способность связываться с CD33. В определенных вариантах осуществления в аминокислотной последовательности вариабельного домена легкой цепи антитела AB-64.1.14 или в аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 86 было заменено, вставлено и/или удалено в общей сложности от 1 до 10 аминокислот. В определенных вариантах осуществления в аминокислотной последовательности вариабельного домена легкой цепи антитела AB-64.1.14 или в аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 86 было заменено, вставлено и/или удалено в общей сложности от 1 до 5 аминокислот. В определенных вариантах осуществления замены, вставки или делеции происходят в областях за пределами HVR (*т.е.* в областях FR). В некоторых вариантах осуществления замены, вставки или делеции происходят в областях FR. Необязательно антитело к CD33 содержит последовательность VL антитела AB-64.1.14 или SEQ ID NO: 86, включая посттрансляционные модификации данной последовательности. В конкретном варианте осуществления VL содержит одну, две или три HVR, выбранные 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.

[200] В некоторых вариантах осуществления антитела к CD33 по данному изобретению содержат вариабельный домен легкой цепи и вариабельный домен тяжелой цепи, причем вариабельный домен тяжелой цепи содержит аминокислотную последовательность, 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 тяжелой цепи антитела AB-64.1.15 или аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 72; и/или вариабельный домен легкой цепи содержит аминокислотную последовательность, 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.

мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью переменного домена легкой цепи антитела АВ-64.1.15 или аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 86. В некоторых вариантах осуществления антитела к CD33 по данному изобретению содержат переменный домен тяжелой цепи, содержащий аминокислотную последовательность, 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-64.1.15 или с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 72, причем переменный домен тяжелой цепи содержит аминокислотные последовательности HVR-H1, HVR-H2 и HVR-H3 антитела АВ-64.1.15. В некоторых вариантах осуществления антитела к CD33 по данному изобретению содержат переменный домен легкой цепи, содержащий аминокислотную последовательность, 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-64.1.15 или с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 86, причем переменный домен легкой цепи содержит аминокислотные последовательности HVR-L1, HVR-L2 и HVR-L3 антитела АВ-64.1.15. В некоторых вариантах осуществления антитело к CD33 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-64.1.15 или с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 72 и содержит замены (*например*, консервативные замены, вставки или делеции относительно эталонной последовательности), но антитело к CD33, содержащее эту последовательность, сохраняет способность связываться с CD33. В определенных вариантах осуществления в аминокислотной последовательности переменного домена тяжелой цепи антитела АВ-64.1.15 или в аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 72 было заменено, вставлено и/или удалено в общей сложности от 1 до 10 аминокислот. В определенных вариантах осуществления в аминокислотной последовательности переменного домена тяжелой цепи антитела АВ-64.1.15 или в аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 72 было заменено, вставлено и/или удалено в общей сложности от 1 до 5

аминокислот. В определенных вариантах осуществления замены, вставки или делеции происходят в областях за пределами HVR (*т.е.* в областях FR). В некоторых вариантах осуществления замены, вставки или делеции происходят в областях FR. Необязательно антитело к CD33 содержит последовательность VH антитела CD33 или SEQ ID NO: 72, включая посттрансляционные модификации данной последовательности. В конкретном варианте осуществления VH содержит одну, две или три HVR, выбранные 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 антитела к CD33 по данному изобретению 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, вставки или делеции относительно эталонной последовательности), но антитело к CD33, содержащее эту последовательность, сохраняет способность связываться с CD33. В определенных вариантах осуществления в аминокислотной последовательности переменного домена легкой цепи антитела AB-64.1.15 или в аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 86 было заменено, вставлено и/или удалено в общей сложности от 1 до 10 аминокислот. В определенных вариантах осуществления в аминокислотной последовательности переменного домена легкой цепи антитела AB-64.1.15 или в аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 86 было заменено, вставлено и/или удалено в общей сложности от 1 до 5 аминокислот. В определенных вариантах осуществления замены, вставки или делеции происходят в областях за пределами HVR (*т.е.* в областях FR). В некоторых вариантах осуществления замены, вставки или делеции происходят в областях FR. Необязательно антитело к CD33 содержит последовательность VL антитела AB-64.1.15 или SEQ ID NO: 86, включая посттрансляционные модификации данной последовательности. В конкретном варианте осуществления VL содержит одну, две или три HVR, выбранные 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.

[201] В некоторых вариантах осуществления антитело к CD33 представляет собой моноклональное антитело к CD33 AB-64.1.2. В некоторых вариантах осуществления антитело к CD33 представляет собой выделенное антитело, которое связывается по существу с тем же эпитопом CD33, что и AB-64.1.2. В некоторых вариантах осуществления антитело к CD33 представляет собой выделенное антитело, содержащее

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

[202] В некоторых вариантах осуществления антитело к CD33 представляет собой моноклональное антитело к CD33 АВ-64.1.8. В некоторых вариантах осуществления антитело CD33 сортилин представляет собой выделенное антитело, которое связывается по существу с тем же эпитопом CD33, что и АВ-64.1.8. В некоторых вариантах осуществления антитело к CD33 представляет собой выделенное антитело, содержащее HVR-H1, HVR-H2 и HVR-H3 переменного домена тяжелой цепи моноклонального антитела АВ-64.1.8. В некоторых вариантах осуществления антитело к CD33 представляет собой выделенное антитело, содержащее переменный домен HVR-L1, HVR-L2 и HVR-L3 в легкой цепи моноклонального антитела АВ-64.1.8. В некоторых вариантах осуществления антитело к CD33 представляет собой выделенное антитело, содержащее HVR-H1, HVR-H2 и HVR-H3 переменного домена тяжелой цепи и HVR-L1, HVR-L2 и HVR-L3 переменного домена легкой цепи моноклонального антитела АВ-64.1.8.

[203] В определенных вариантах осуществления антитело к CD33 представляет собой антитело-антагонист. В определенных вариантах осуществления антитело к CD33 представляет собой антитело-антагонист или инертное антитело. В некоторых вариантах осуществления антитела к CD33 по данному изобретению относятся к классу IgG, классу IgM или классу IgA. В некоторых вариантах осуществления антитела к CD33 по данному изобретению относятся к классу IgG и имеют изотип IgG1, IgG2, IgG3 или IgG4.

[204] Дополнительно, антитела к CD33, *например*, антитела, которые специфически связываются с белком CD33 по данному изобретению, могут быть идентифицированы, проверены и/или охарактеризованы по их физическим/химическим свойствам и/или биологической активности с помощью различных известных в данной области техники анализов.

Антитела к CD33, способные связывать рецепторы Fc гамма

[205] В некоторых вариантах осуществления антитела к CD33 по данному изобретению сохраняют способность связывать рецепторы Fc гамма. В некоторых вариантах осуществления такие антитела, когда они имеют правильную эпитопную специфичность, совместимую с активацией рецептора, могут иметь особенности, которые позволяют им группироваться и временно стимулировать, например, рецептор CD33. В некоторых вариантах осуществления такие антитела могут впоследствии действовать как долговременные ингибиторы экспрессии CD33 и/или одной или более активностей белка CD33, индуцируя деградацию CD33, десенсибилизацию CD33, расщепление CD33, интернализацию CD33, шеддинг CD33, подавление экспрессии CD33 и/или лизосомную

деградацию CD33.

[206] Антитела к CD33 по данному изобретению *in vivo* могут кластеризовать рецепторы и временно активировать CD33 с помощью одного или более из множества возможных механизмов. Некоторые изотипы антител человека, такие как IgG2, благодаря своей уникальной структуре обладают внутренней способностью кластеризовать рецепторы или сохранять рецепторы в кластерной конфигурации, тем самым временно активируя рецепторы, такие как CD33, без связывания с рецептором Fc (*например*, White et al., (2015) Cancer Cell 27, 138-148).

[207] В некоторых вариантах осуществления другие антитела могут кластеризовать рецепторы (*например*, CD33) путем связывания с рецепторами Fcg на соседних клетках. В некоторых вариантах осуществления связывание константной области Fc IgG антитела с рецепторами Fcg может приводить к агрегации антител, и антитела, в свою очередь, могут агрегировать рецепторы, с которыми они связываются, через свою вариабельную область (Chu et al (2008) Mol Immunol, 45:3926-3933; and Wilson et al., (2011) Cancer Cell 19, 101-113). В некоторых вариантах осуществления связывание с ингибирующим рецептором Fcg FcgR (FcgRIIB), которое не вызывает секрецию цитокинов, окислительный взрыв, усиление фагоцитоза и усиление антителозависимой клеточно-опосредованной цитотоксичности (АЗКЦ), является предпочтительным способом кластеризации антител *in vivo*, поскольку связывание с FcgRIIB не связано с побочными эффектами иммунного ответа.

[208] Существуют другие механизмы, с помощью которых антитела к CD33 по данному изобретению могут кластеризовать рецепторы. Например, фрагменты антител (*например*, фрагменты Fab), которые поперечно сшиты вместе, можно использовать для кластеризации рецепторов (*например*, CD33) способом, аналогичным антителам с областями Fc, которые связывают рецепторы Fcg, как описано выше. В некоторых вариантах осуществления поперечно-сшитые фрагменты антител (*например*, фрагменты Fab) могут временно функционировать как антитела-агонисты, если они индуцируют кластеризацию рецепторов на поверхности клетки и связывают соответствующий эпитоп на мишени (*например*, CD33).

[209] Следовательно, в некоторых вариантах осуществления антитела по данному изобретению, которые связывают белок CD33, могут включать антитела, которые благодаря своей эпитопной специфичности связывают CD33 и временно активируют одну или более активностей CD33, прежде чем они, например, уменьшают клеточные уровни CD33, ингибируют одну или более активностей CD33 и/или ингибируют взаимодействие (*например*, связывание) между CD33 и одним или более лигандами CD33. В некоторых вариантах осуществления такие антитела могут связываться с лигандсвязывающим участком на CD33 и временно имитировать действие природного лиганда или стимулировать целевой антиген к передаче сигнала путем связывания с одним или более доменами, которые не являются лигандсвязывающими участками. В некоторых вариантах осуществления такие антитела не будут мешать связыванию лиганда. В некоторых

вариантах осуществления, независимо от того, связываются ли антитела с лигандсвязывающими участками на CD33, такие антитела могут впоследствии действовать как долговременные ингибиторы экспрессии CD33 и/или одной или более активностей белка CD33, индуцируя деградацию CD33, десенсибилизацию CD33, расщепление CD33, интернализацию CD33, шеддинг CD33, подавление экспрессии CD33 и/или лизосомную деградацию CD33.

[210] В некоторых вариантах осуществления антитело к CD33 по данному изобретению представляет собой антитело, которое временно индуцирует одну или более активностей белка CD33. В некоторых вариантах осуществления антитело транзиторно индуцирует одну или более активностей после связывания с белком CD33, экспрессированным в клетке. В некоторых вариантах осуществления белок CD33 на поверхности клетки. В некоторых вариантах осуществления одна или более активностей белка CD33, которые временно индуцируются антителами к CD33 по данному изобретению, могут включать, без ограничения, фосфорилирование Туг-340 и Туг-358 тирозинкиназой семейства Src, такой как LCK и FYN; рекрутирование и связывание тирозинспецифических протеинфосфатаз SHP1 и SHP2; рекрутирование и связывание с PLC-гамма 1, который действует как фактор обмена гуаниновых нуклеотидов для Dynamini-1; рекрутирование и связывание с белком, содержащим SH2-домен (*например*, Crkl); рекрутирование и связывание тирозинкиназы селезенки Syk; рекрутирование и связывание с рекрутирование и связывание с SH3-SH2-SH3 рецептором фактора роста белка 2 (Grb2); рекрутирование и связывание нескольких SH2-содержащих белков; фосфорилирование Ser-307 и Ser-342 протеинкиназой C; модулированную экспрессию одного или более противовоспалительных цитокинов, IL-4, IL-10, IL-13, IL-35, IL-16, TNF-бета, IL-1Ra, Г-КСФ и растворимых рецепторов для TNF, IFN-бета 1a, IFN-бета 1b или IL-6 в моноцитах, макрофагах, Т-клетках, дендритных клетках, нейтрофилах и/или микроглии; снижение мобилизации внутриклеточного кальция; модулированную экспрессию одного или более провоспалительных цитокинов IFN-a4, IFN-b, IL-1 β , TNF- α , IL-6, IL-8, СРБ, членов семейства IL-20, LIF, IFN-гамма, OSM, CNTF, ГМ-КСФ, IL-11, IL-12, IL-17, IL-18, IL-23, CXCL10, IL-33, СРБ, IL-33, MCP-1 и MIP-1-бета в моноцитах, макрофагах, Т-клетках, дендритных клетках, нейтрофилах и/или микроглии; модулированную экспрессию одного или более белков, выбранных из C1qa, C1qB, C1qC, C1s, C1R, C4, C2, C3, ITGB2, HMOX1, LAT2, CASP1, CSTA, VSIG4, MS4A4A, C3AR1, GPX1, ТугоBP, ALOX5AP, ITGAM, SLC7A7, CD4, ITGAX, PYCARD, CD14, CD16, HLA-DR и CCR2; ингибирование фосфорилирования киназы, регулируемой внеклеточными сигналами (ERK); снижение фосфорилирования тирозина на множестве клеточных белков; модулированную экспрессию С-С хемокинового рецептора 7 (CCR7); ингибирование хемотаксиса микроглиальных клеток в отношении клеток, экспрессирующих CCL19 и CCL21; активацию фосфоинозитид-3-киназы; уменьшение роста моноцитов, макрофагов, Т-клеток, дендритных клеток и/или микроглии; снижение пролиферации Т-клеток, индуцированной дендритными клетками, дендритными клетками

костного мозга, моноцитами, микроглией, микроглией M1, активированной микроглией M1, микроглией M2, макрофагами, макрофагами M1, активированными макрофагами M1 и/или макрофагами M2; ингибирование образования остеокластов, снижение скорости остеокластогенеза или то и другое; снижение выживаемости нейтрофилов, дендритных клеток, дендритных клеток костного мозга, макрофагов, макрофагов M1, активированных макрофагов M1, макрофагов M2, моноцитов, остеокластов, Т-клеток, Т-хелперов, цитотоксических Т-клеток, гранулоцитов, микроглии, микроглии M1, активированной микроглии M1 и/или микроглии M2; уменьшение пролиферации нейтрофилов, дендритных клеток, дендритных клеток костного мозга, макрофагов, макрофагов M1, активированных макрофагов M1, макрофагов M2, моноцитов, остеокластов, Т-клеток, Т-хелперов, цитотоксических Т-клеток, гранулоцитов, микроглии, активированной микроглии M1, микроглии M1 и/или микроглии M2; ингибирование миграции нейтрофилов, дендритных клеток, дендритных клеток костного мозга, макрофагов, макрофагов M1, активированных макрофагов M1, макрофагов M2, моноцитов, остеокластов, Т-клеток, Т-хелперов, цитотоксических Т-клеток, гранулоцитов, микроглии, микроглии M1, активированной микроглии M1 и/или микроглии M2; снижение одной или более функций нейтрофилов, дендритных клеток, дендритных клеток костного мозга, макрофагов, макрофагов M1, активированных макрофагов M1, макрофагов M2, моноцитов, остеокластов, Т-клеток, Т-хелперов, цитотоксических Т-клеток, гранулоцитов, микроглии, микроглии M1, активированной микроглии M1 и/или микроглии M2; ингибирование созревания нейтрофилов, дендритных клеток, дендритных клеток костного мозга, макрофагов, макрофагов M1, активированных макрофагов M1, макрофагов M2, моноцитов, остеокластов, Т-клеток, Т-хелперов, цитотоксических Т-клеток, гранулоцитов, микроглии, микроглии M1, активированной микроглии M1 и/или микроглии M2; увеличение 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; снижение 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 рецептора, содержащего ITAM; фосфорилирование сигнальных молекул, которые опосредуют передачу сигналов ITAM; снижение активации паттерн-распознающих рецепторов; снижение активации Toll-подобных рецепторов; снижение активации связанного с повреждением клиренса клеточного и белкового дебриса; взаимодействие между CD33 и одним или более его лигандами; взаимодействие между CD33 и корецептором, таким как CD64; уменьшение одного или более типов клиренса, выбранного из апоптотического клиренса нейронов, клиренса дисфункционального синапса, клиренса фрагментов нервной ткани, клиренса ткани, отличной от нервной, клиренса бактерий или других инородных тел, клиренса вызывающих заболевание белков и клиренса опухолевых клеток; ингибирование фагоцитоза одного или более апоптотических нейронов, фрагментов

нервной ткани, фрагментов ткани, отличной от нервной, бактерий, других инородных тел, вызывающих заболевание белков, вызывающих заболевание пептидов, вызывающих заболевание нуклеиновых кислот, вызывающих заболевание липидов или опухолевых клеток; ингибирование клиренса вызывающей заболевание нуклеиновой кислоты, такой как вызывающая заболевание нуклеиновая кислота, которая представляет собой антисмысловую РНК с экспансией GGCCCC-повтора (G2C4); активацию клиренса вызывающего заболевание белка, выбранного из бета-амилоида, бета-амилоидных бляшек, белка-предшественника амилоида или его фрагментов, тау-белка, IAPP, альфа-синуклеина, TDP-43, белка FUS, C9orf72 (открытой рамки считывания 72 хромосомы 9), белка с9RAN, прионного белка, PrPSc, гентингина, кальцитонина, супероксиддисмутазы, атаксина, атаксина 1, атаксина 2, атаксина 3, атаксина 7, атаксина 8, атаксина 10, телец Леви, предсердного натрийуретического фактора, островкового амилоидного полипептида, инсулина, аполипопептида AI, сывороточного амилоида A, медины, пролактина, транстиретина, лизоцима, бета 2 микроглобулина, гельзолина, кератоэпителина, цистатина, легкой цепи иммуноглобулина AL, белка S-IBM, продуктов ассоциированной с повторами не-ATG-трансляции (RAN), 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 положительного иммунного ответа на различные типы злокачественного новообразования, выбранные из рака мочевого пузыря, рака головного мозга, рака молочной железы, рака толстой кишки, рака прямой кишки, рака эндометрия, рака почки, почечно-клеточного рака, рака лоханки, лейкоза, рака легкого, меланомы, неходжкинской лимфомы, острого миелоидного лейкоза, рака поджелудочной железы, рака предстательной железы, рака яичников, фибросаркомы и рака щитовидной железы; ингибирование положительного иммунного ответа на различные типы неврологических расстройств, выбранных из деменции, лобно-височной деменции, болезни Альцгеймера, сосудистой деменции, смешанной деменции, болезни Крейтцфельда - Якоба, нормотензивной гидроцефалии, бокового амиотрофического склероза, болезни Хантингтона, таупатии, болезни Насу - Хакола, инсульта, острой травмы, хронической травмы, эссенциального тремора, болезни Бехчета, болезни Паркинсона, деменции с тельцами Леви, множественной системной атрофии, синдрома Шай - Дрейджера, прогрессирующего надъядерного паралича, кортикальной дегенерации базальных ганглиев, острого диссеминированного энцефаломиелита, гранулематозного заболевания, саркоидоза, болезни старения, судорог, травмы спинного мозга, черепно-мозговых травм, возрастной макулярной дегенерации, глаукомы, пигментного ретинита, дегенерации сетчатки и рассеянного склероза; ингибирование положительного иммунного ответа на различные типы воспалительных и инфекционных заболеваний, выбранных из волчанки, острого и хронического колита, заживления ран, болезни Крона, воспалительного заболевания кишечника, язвенного колита, ожирения, малярии, инфекции дыхательных

путей, сепсиса, инфекции глаз, системной инфекции, волчанки, артрита, низкой плотности костей, остеопороза, остеогенеза, связанного с остеопорозом заболевания и костной болезни Педжета; ингибирование фагоцитоза одного или более апоптотических нейронов, фрагментов нервной ткани, дисфункциональных синапсов, фрагментов ткани, отличной от нервной, бактерий, других инородных тел, вызывающих заболевание белков, вызывающих заболевание пептидов, вызывающих заболевание нуклеиновых кислот или опухолевых клеток, причем вызывающие заболевание нуклеиновые кислоты могут представлять собой антисмысловую РНК с экспансией повтора GGCCCC (G2C4), вызывающие заболевание белки могут включать бета-амилоид, олигомерный бета-амилоид, бета-амилоидные бляшки, белок-предшественник амилоида или его фрагменты, тау-белок, IAPP, альфа-синуклеин, TDP-43, белок FUS, C9orf72 (открытую рамку считывания 72 хромосомы 9), белок c9RAN, прионный белок, PrPSc, гентингтин, кальцитонин, супероксиддисмутазу, атаксин, атаксин 1, атаксин 2, атаксин 3, атаксин 7, атаксин 8, атаксин 10, тельца Леви, предсердный натрийуретический фактор, островковый амилоидный полипептид, инсулин, аполипопротеин AI, сывороточный амилоид A, медин, пролактин, транстиретин, лизоцим, бета 2 микроглобулин, гельзолин, кератоэпителин, цистатин, легкую цепь иммуноглобулина AL, белок S-IBM, продукты ассоциированной с повторами не-ATG-трансляции (RAN), 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 быть из злокачественного новообразования, выбранного из рака мочевого пузыря, рака головного мозга, рака молочной железы, рака толстой кишки, рака прямой кишки, рака эндометрия, рака почки, почечноклеточного рака, рака лоханки, лейкоза, рака легкого, меланомы, неходжкинской лимфомы, рака поджелудочной железы, рака предстательной железы, рака яичников, фибросаркомы или рака щитовидной железы; связывание с лигандом CD33 на опухолевых клетках; связывание с лигандом CD33 на дендритных клетках, дендритных клетках костного мозга, моноцитах, микроглии, Т-клетках, нейтрофилах и/или макрофагах; ингибирование уничтожения опухолевых клеток одним или более из микроглии, макрофагов, дендритных клеток, дендритных клеток костного мозга, нейтрофилов, Т-клеток, Т-хелперов или цитотоксических Т-клеток; ингибирование активности против пролиферации опухолевых клеток одного или более из микроглии, макрофагов, дендритных клеток, дендритных клеток костного мозга, нейтрофилов, Т-клеток, Т-хелперов или цитотоксических Т-клеток; ингибирование активности против метастазирования опухолевыми клетками одного или более из микроглии, макрофагов, дендритных клеток, дендритных клеток костного мозга, нейтрофилов, Т-клеток, Т-хелперов или цитотоксических Т-клеток; стимулирование иммуносупрессорных дендритных клеток, иммуносупрессорных макрофагов, миелоидных супрессорных клеток, опухоль-ассоциированных макрофагов или регуляторных Т-клеток; ингибирование одного или более рецепторов, содержащих мотив ITAM, таких как TREM1, TREM2, FcγR,

DAP10 и DAP12; ингибирование одного или более рецепторов, содержащих мотив D/Ex0-2Y_{xx}L/IX6-8Y_{xx}L/I (SEQ ID NO:165); ингибирование передачи сигналов одним или более паттерн-распознающими рецепторами (PRR), такими как рецепторы, которые идентифицируют молекулярные паттерны, связанные с патогенами (PAMP), рецепторы, которые идентифицируют молекулярные паттерны, связанные с повреждениями (DAMP); ингибирование передачи сигналов одним или более Toll-подобными рецепторами; ингибирование сигнального пути JAK-STAT; ингибирование ядерного фактора, усилителя каппа-легкой цепи активированных В-клеток (NFκB); ингибирование мобилизации PLCγ/PKC/кальция; ингибирование передачи сигналов PI3K/Akt, Ras/MAPK; модулированную экспрессию одного или более воспалительных рецепторов, таких как CD86, экспрессируемых на одном или более из микроглии, макрофагов, дендритных клеток, дендритных клеток костного мозга, нейтрофилов, Т-клеток, Т-хелперов или цитотоксических Т-клеток; увеличение экспрессии одного или более CD33-зависимых генов; нормализацию нарушенной экспрессии CD33-зависимого гена; и снижение экспрессии одного или более ITAM-зависимых генов, таких как факторы транскрипции NFAT. Антитела к CD33 по данному изобретению могут быть проверены на их способность транзиторно индуцировать одну или более активностей белка CD33 с использованием любой подходящей методики или анализа, известного в данной области техники и раскрытого в данном документе. Независимо от активностей, которые такие антитела транзиторно индуцируют, такие антитела могут впоследствии действовать как долговременные ингибиторы экспрессии CD33 и/или одной или более активностей белка CD33, индуцируя деградацию CD33, десенсибилизацию CD33, расщепление CD33, интернализацию CD33, шеддинг CD33, подавление экспрессии CD33 и/или лизосомную деградацию CD33. В некоторых вариантах осуществления антитело к CD33 транзиторно индуцирует одну или более активностей белка CD33 независимо от связывания с рецептором Fc.

[211] Иллюстративные изотипы и модификации Fc антител представлены в **таблице В** ниже. В некоторых вариантах осуществления антитело к CD33 по данному изобретению, которое способно связывать рецептор Fc гамма, имеет изотип Fc, указанный в **таблице В** ниже.

Таблица В: Иллюстративные изотипы Fc антитела к CD33, которые способны связывать рецептор Fc гамма

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	Ак от 118 до 260 IgG2 и ак от 261 до 447 IgG4
	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 ДТ с LC (легкой цепью) каппа НС C127S с LC каппа LC каппа C214S LC каппа C214S и НС C233S LC C214S каппа и НС C232S Любая из приведенных выше мутаций вместе с мутациями P330S и P331S Фрагмент F(ab') ₂ IgG1 ДТ и любая из приведенных выше мутаций
IgG1	Замените константную область 1 тяжелой цепи (CH1) и шарнирную область IgG1 на CH1 и шарнирную область IgG2. ASTKGPSVFP LAPCSRSTSE STAALGCLVK DYFPEPVTVS

	WNSGALTSGV HTFPAVLQSS GLYSLSSVVT VPSSNFGTQT YTCNVDPHKPS NTKVDKTVR KCCVECPPCP (SEQ ID NO: 166) На LC каппа
IgG1	Любая из перечисленных выше мутаций вместе с A330L/A330S, и/или L234F, и/или L235E, и/или P331S
IgG1, IgG2 или IgG4	Любая из приведенных выше мутаций вместе с M252Y и/или S254T и/или T256E
IgG1 мыши, IgG2a мыши, IgG2b мыши	Для моделей болезней мышей
IgG4	ДТ
IgG1	Любая из перечисленных выше мутаций вместе с E430G, E430S, E430F, E430T, E345K, E345Q, E345R, E345Y, S440Y, S440W и/или любой их комбинацией.
IgG2	Любая из перечисленных выше мутаций вместе с E430G, E430S, E430F, E430T, E345K, E345Q, E345R, E345Y, S440Y, S440W и/или любой их комбинацией.

[212] В дополнение к изотипам, описанным в таблице С, и без привязки к теории считается, что антитела с изотипами IgG1 или IgG3 человека и их мутанты (например, Strohl (2009) Current Opinion in Biotechnology 2009, 20:685-691), которые связывают Fcγ-рецепторы I, IIА, IIС, IIА, IIВ у человека и/или Fcγ-рецепторы I, II и IV у мыши, также могут действовать как временные антитела-агонисты.

[213] В некоторых вариантах осуществления антитело, связывающееся с рецептором Fc гамма, относится к классу IgG, классу IgM или классу IgA. В некоторых вариантах осуществления антитело, связывающееся с рецептором Fc гамма, имеет изотип IgG1, IgG2, IgG3 или IgG4. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит одну или более (например, одну или более, два или более, три или более, четыре или более, пять или более, шесть или более, семь или более, восемь или более, девять или более, 10 или более, 11 или более, 12 или более, или все тринадцать) аминокислотных замен в области Fc в положении остатка, выбранном из группы, состоящей из: C127S, L234A, L234F, L235A, L235E, S267E, K322A, L328F, A330S, P331S, E345R, E430G, S440Y в любой комбинации (положение остатка согласно нумерации EU или Kabat). В некоторых вариантах осуществления область Fc содержит аминокислотную замену в положении E430G. В некоторых вариантах осуществления область Fc содержит аминокислотную замену в положениях L243A, L235A и P331A. В некоторых вариантах осуществления область Fc содержит аминокислотную замену в положениях L243A, L235A, P331A. В некоторых вариантах осуществления область Fc содержит

аминокислотную замену в положениях K322A и E430G. В некоторых вариантах осуществления область Fc содержит аминокислотную замену в положениях P331S и E430G. В некоторых вариантах осуществления область Fc содержит аминокислотную замену в положениях A330S, P331S и E430G. В некоторых вариантах осуществления область Fc содержит аминокислотную замену в положениях K322A, A330S и P331S. В некоторых вариантах осуществления область Fc содержит аминокислотную замену в положениях K322A, P331S и E430G. В некоторых вариантах осуществления область Fc содержит аминокислотную замену в положениях A330S, P331S и E430G. В некоторых вариантах осуществления область Fc содержит аминокислотную замену в положениях S267E и L328F. В некоторых вариантах осуществления область Fc содержит аминокислотную замену в положении C127S. В некоторых вариантах осуществления область Fc содержит аминокислотную замену в положениях E345R, E430G и S440Y. В некоторых вариантах осуществления область Fc содержит аминокислотную замену в положениях L243A, L235A и P331S.

[214] В определенных вариантах осуществления антитело, связывающее Fc-гамма-рецептор, имеет изотип IgG2. В некоторых вариантах осуществления антитело, связывающееся с рецептором Fc гамма, содержит константную область IgG2 человека. В некоторых вариантах осуществления константная область IgG2 человека включает область Fc. В некоторых вариантах осуществления антитело, связывающееся с рецептором Fc гамма, связывает ингибирующий рецептор Fc. В определенных вариантах осуществления ингибирующий рецептор Fc представляет собой ингибирующий рецептор Fc-гамма IIb (FcγIIb). В некоторых вариантах осуществления область Fc содержит одну или более модификаций. Например, в некоторых вариантах осуществления область Fc содержит одну или более аминокислотных замен (например, по сравнению с областью Fc дикого типа того же изотипа). В некоторых вариантах осуществления одна или более аминокислотных замен выбраны 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, где аминокислотное положение соответствует системе нумерации EU или Kabat.

[215] В некоторых вариантах осуществления антитело, связывающееся с Fc-гамма-рецептором, имеет изотип IgG2 с константным доменом тяжелой цепи, который содержит аминокислотную замену C127S, где аминокислотное положение соответствует системе нумерации EU или Kabat (White et al., (2015) *Cancer Cell* 27, 138-148; Lightle et al., (2010) *PROTEIN SCIENCE* 19:753-762; и WO2008079246).

[216] 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 аминокислотное положение соответствует системе нумерации EU или Kabat (White et al., (2015) *Cancer Cell* 27, 138-148; Lightle et al., (2010) *PROTEIN SCIENCE* 19:753-762; и WO2008079246).

[217] В определенных вариантах осуществления антитело, связывающееся с рецептором Fc гамма имеет изотип IgG1. В некоторых вариантах осуществления антитело, связывающееся с рецептором Fc гамма, содержит константную область IgG1 мыши. В некоторых вариантах осуществления антитело, связывающее Fc-гамма-рецептор, содержит константную область IgG1 человека. В некоторых вариантах осуществления константная область IgG1 человека включает область Fc. В некоторых вариантах осуществления антитело, связывающееся с рецептором Fc гамма, связывает ингибирующий рецептор Fc. В определенных вариантах осуществления ингибирующий рецептор Fc представляет собой ингибирующий рецептор Fc-гамма IIB (FcγIIB). В некоторых вариантах осуществления область Fc содержит одну или более модификаций. Например, в некоторых вариантах осуществления область Fc содержит одну или более аминокислотных замен (например, по сравнению с областью Fc дикого типа того же изотипа). В некоторых вариантах осуществления одна или более аминокислотных замен выбраны 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, где аминокислотное положение соответствует системе нумерации EU или Kabat.

[218] В некоторых вариантах осуществления антитело содержит константный домен тяжелой цепи 1 изотипа IgG2 (CH1) и шарнирную область (White et al., (2015) *Cancer Cell* 27, 138-148). В определенных вариантах осуществления CH1 изотипа IgG2 и шарнирная область содержат аминокислотную последовательность ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTKVERKCCVECPPCP (SEQ ID NO: 166). В некоторых вариантах осуществления область Fc антитела содержит аминокислотную замену S267E, аминокислотную замену L328F или то и другое, и/или аминокислотную замену N297A или N297Q, при этом аминокислотное положение соответствует системе нумерации EU или Kabat.

[219] В определенных вариантах осуществления антитело, связывающее Fc-гамма-рецептор, имеет изотип IgG4. В некоторых вариантах осуществления антитело, связывающее Fc-гамма-рецептор, содержит константную область IgG4 человека. В некоторых вариантах осуществления константная область IgG4 человека включает

область Fc. В некоторых вариантах осуществления антитело, связывающееся с рецептором Fc гамма, связывает ингибирующий рецептор Fc. В определенных вариантах осуществления ингибирующий рецептор Fc представляет собой ингибирующий рецептор Fc-гамма IIВ (FcγIIВ). В некоторых вариантах осуществления область Fc содержит одну или более модификаций. Например, в некоторых вариантах осуществления область Fc содержит одну или более аминокислотных замен (например, по сравнению с областью Fc дикого типа того же изотипа). В некоторых вариантах осуществления одна или более аминокислотных замен выбраны из L235A, G237A, S228P, L236E (Reddy et al., (2000) *J Immunol*, 164:1925-1933), S267E, E318A, L328F, M252Y, S254T и/или T256E, при этом аминокислотное положение соответствует системе нумерации EU или Kabat.

[220] В определенных вариантах осуществления антитело, связывающееся с рецептором Fc гамма имеет гибридный изотип IgG2/4. В некоторых вариантах осуществления антитело, связывающееся с рецептором Fc гамма, содержит аминокислотную последовательность, содержащую аминокислоты от 118 до 260 согласно нумерации EU или по Kabat человеческого IgG2 и аминокислоты 261-447 согласно нумерации EU или Kabat IgG4 человека (WO 1997/11971; WO 2007/106585).

[221] В определенных вариантах осуществления антитело содержит константную область IgG4 мыши (Bartholomaeus, et al. (2014). *J. Immunol.* 192, 2091-2098).

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

[223] В определенных вариантах осуществления антитело содержит одну или более аминокислотных замен в области Fc в положении остатка, выбранных из C127S, L234A, L234F, L235A, L235E, S267E, K322A, L328F, A330S, P331S, E345R, E430G, S440Y и любой их комбинации, где нумерация остатков соответствует нумерации EU или Kabat. В некоторых вариантах осуществления область Fc содержит аминокислотную замену в положениях E430G, L243A, L235A и P331S, где нумерация положения остатка соответствует нумерации EU. В некоторых вариантах осуществления область Fc содержит аминокислотную замену в положениях E430G и P331S, где нумерация положения остатка соответствует нумерации EU. В некоторых вариантах осуществления область Fc содержит аминокислотную замену в положениях E430G и K322A, где нумерация положения остатка соответствует нумерации EU. В некоторых вариантах осуществления область Fc содержит аминокислотную замену в положениях E430G, A330S и P331S, где нумерация положения остатка соответствует нумерации EU. В некоторых вариантах осуществления область Fc содержит аминокислотную замену в положениях E430G, K322A, A330S и P331S, где нумерация положения остатка соответствует нумерации EU. В некоторых вариантах осуществления область Fc содержит аминокислотную замену в положениях E430G, K322A и A330S, где нумерация положения остатка соответствует нумерации EU. В некоторых вариантах осуществления область Fc содержит аминокислотную замену в

положениях E430G, K322A и P331S, где нумерация положения остатка соответствует нумерации EU. В некоторых вариантах осуществления область Fc содержит аминокислотную замену в положениях S267E и L328F, где нумерация положения остатка соответствует нумерации EU. В некоторых вариантах осуществления область Fc содержит аминокислотную замену в положении C127S, где нумерация положения остатка соответствует нумерации EU. В некоторых вариантах осуществления область Fc содержит аминокислотную замену в положениях E345R, E430G и S440Y, где нумерация положения остатка соответствует нумерации EU. В некоторых вариантах осуществления область Fc содержит аминокислотную замену в положениях L243A, L235A и P331S, где нумерация положения остатка соответствует нумерации EU.

Инертные антитела

[224] Другой класс антител к CD33 по данному изобретению включает инертные антитела. Используемый в данном документе термин «инертные» антитела относится к антителам, которые специфически связывают свой 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 более 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 представлять собой инертные антитела, даже если они обладают эпитопной специфичностью, совместимой с активацией рецептора.

[225] В некоторых вариантах осуществления антитела, которые связывают белок CD33, могут включать антитела, которые связывают CD33, но из-за их эпитопной специфичности или характеристик не снижают клеточные уровни CD33 и/или ингибируют взаимодействие (например, связывание) между CD33 и одним или более лигандами CD33. В некоторых вариантах осуществления такие антитела можно использовать в качестве карго, например, для транспорта токсинов (например, химиотерапевтических средств) в опухолевые клетки. Следовательно, в некоторых вариантах осуществления антитела по данному изобретению являются инертными антителами, которые связывают CD33, но неспособны снижать клеточные уровни CD33, ингибируя взаимодействие (например, связывание) между CD33 и одним или более лигандами CD33 или индуцируя одну или более активностей белка CD33.

[226] Антитела, которые либо снижают, либо не снижают клеточные уровни CD33 в клетках, можно комбинировать с инертной областью Fc, которая демонстрирует сниженное связывание с одним или более Fcγ-рецепторами. Примеры таких областей Fc и модификаций представлены в таблице D ниже. В некоторых вариантах осуществления антитело с инертной областью Fc имеет изотип Fc, указанный в таблице D ниже.

Ингибирующие антитела к CD33

[227] Третий класс антител к CD33 по данному изобретению включает антитела,

которые блокируют или иным образом ингибируют одну или более активностей CD33. В некоторых вариантах осуществления антитела, связывающие белок CD33, могут включать антитела, которые снижают клеточный уровень CD33 (*например*, уровень CD33 на поверхности клетки, внутриклеточный уровень CD33 и/или общий уровень CD33), ингибируют взаимодействие (*например*, связывание) между CD33 и/или одним или более лигандами CD33, и ингибируют одну или более активностей белка CD33. Такие антитела ингибируют одну или более активностей белка CD33 либо путем предотвращения взаимодействия (*например*, связывания) между CD33 и одним или более CD33, либо путем предотвращения трансдукции сигнала от внеклеточного домена CD33 в цитоплазме клетки в присутствии одного или более лигандов CD33. Антитела также могут ингибировать одну или более активностей белка CD33 путем снижения уровней CD33 на клеточной поверхности, путем индукции деградации CD33, десенсибилизации CD33, расщепления CD33, интернализации CD33, шеддинга CD33, подавления экспрессии CD33 и/или лизосомной деградации CD33. В некоторых вариантах осуществления такие антитела к CD33 не будут временно активировать CD33.

[228] В определенных вариантах осуществления в данном изобретении представлено антитело к CD33, при этом антитело к CD33 снижает клеточные уровни CD33, снижает уровни CD33 на поверхности клеток, снижает внутриклеточные уровни CD33, снижает общие уровни CD33 или любую их комбинацию. В определенных вариантах осуществления антитело к CD33 снижает клеточные уровни CD33, снижает уровни CD33 на поверхности клеток, снижает внутриклеточные уровни CD33, снижает общие уровни CD33 или любую их комбинацию в моноцитах, гранулоцитах, моноцитах периферической крови, гранулоцитах периферической крови, моноцитах СМЖ и/или гранулоцитах СМЖ.

[229] В определенных вариантах осуществления в данном изобретении представлено антитело к CD33, причем антитело к CD33 индуцирует деградацию CD33, расщепление CD33, интернализацию CD33, подавление экспрессии CD33 или любую их комбинацию. В определенных вариантах осуществления антитело к CD33 индуцирует деградацию CD33, расщепление CD33, интернализацию CD33, подавление экспрессии CD33 или любую их комбинацию в моноцитах, гранулоцитах, моноцитах периферической крови, гранулоцитах периферической крови, моноцитах СМЖ и/или гранулоцитах СМЖ.

[230] В определенных вариантах осуществления настоящее изобретение относится к антителу к CD33, при этом антитело к CD33 снижает клеточные уровни CD33 и ингибирует взаимодействие между CD33 и лигандом CD33. В определенных вариантах осуществления антитело к CD33 снижает клеточные уровни CD33 и ингибирует взаимодействие между CD33 и лигандом CD33 в моноцитах, гранулоцитах, моноцитах периферической крови, гранулоцитах периферической крови, моноцитах СМЖ и/или гранулоцитах СМЖ.

[231] В некоторых вариантах осуществления введение антитела к CD33 в соответствии со способами, представленными в данном документе, снижает уровень CD33

на клеточной поверхности по меньшей мере на около 70% (например, по меньшей мере на около 70%, по меньшей мере на около 75%, по меньшей мере на около 80%, по меньшей мере на около 85%, по меньшей мере на около 90%, по меньшей мере на около 95% или по меньшей мере на около 99%) по сравнению с уровнем CD33 на клеточной поверхности до введения антитела к CD33. В некоторых вариантах осуществления введение антитела к CD33 в соответствии с представленными в данном документе способами снижает уровень CD33 на поверхности клеток по меньшей мере на около 75% по сравнению с уровнем CD33 на поверхности клеток до введения антитела к CD33. В некоторых вариантах осуществления введение антитела к CD33 в соответствии с представленными в данном документе способами снижает уровень CD33 на поверхности клеток по меньшей мере на около 80% по сравнению с уровнем CD33 на поверхности клеток до введения антитела к CD33. В некоторых вариантах осуществления введение антитела к CD33 в соответствии с представленными в данном документе способами снижает уровень CD33 на поверхности клеток по меньшей мере на около 85% по сравнению с уровнем CD33 на поверхности клеток до введения антитела к CD33. В некоторых вариантах осуществления введение антитела к CD33 в соответствии с представленными в данном документе способами снижает уровень CD33 на поверхности клеток по меньшей мере на около 90% по сравнению с уровнем CD33 на поверхности клеток до введения антитела к CD33. В некоторых вариантах осуществления снижение уровня CD33 на поверхности клеток присутствует в течение по меньшей мере около 10 дней (например, по меньшей мере 10 дней, по меньшей мере 15 дней, по меньшей мере 20 дней, по меньшей мере 25 дней, по меньшей мере 30 дней, по меньшей мере 35 дней, по меньшей мере 40 дней, по меньшей мере 45 дней, по меньшей мере 50 дней, по меньшей мере 55 дней, по меньшей мере 60 дней, по меньшей мере 70 дней, по меньшей мере 80 дней, по меньшей мере 90 дней или по меньшей мере 100 дней) после введения антитела к CD33. В некоторых вариантах осуществления снижение уровней CD33 на поверхности клеток наблюдается в течение по меньшей мере около 12 дней после введения антитела к CD33. В некоторых вариантах осуществления снижение уровней CD33 на поверхности клеток наблюдается в течение по меньшей мере около 17 дней после введения антитела к CD33. В некоторых вариантах осуществления снижение уровней CD33 на поверхности клеток наблюдается в течение по меньшей мере около 29 дней после введения антитела к CD33. В некоторых вариантах осуществления снижение уровней CD33 на поверхности клеток наблюдается в течение по меньшей мере около 42 дней после введения антитела к CD33. В некоторых вариантах осуществления снижение уровней CD33 на поверхности клеток наблюдается в течение по меньшей мере около 56 дней после введения антитела к CD33. В некоторых вариантах осуществления снижение уровня CD33 на поверхности клеток представляет собой снижение уровня CD33 на моноцитах, гранулоцитах, моноцитах периферической крови, гранулоцитах периферической крови, моноцитах СМЖ и/или гранулоцитах СМЖ

индивидуума.

[232] В некоторых вариантах осуществления антитело к CD33 по данному изобретению снижает уровни CD33 на поверхности клеток более чем на 70% (например, на около 70% или более, на около 75% или более, на около 80% или более, на около 85% или более, на около 90% или более, на около 95% или более, на около 99% или более) по сравнению с уровнями CD33 на поверхности клеток до введения антитела к CD33. В некоторых вариантах осуществления антитело к CD33 по данному изобретению снижает уровень CD33 на поверхности клеток более чем на 70% после введения одной внутривенной дозы от 1,6 мг/кг до 15 мг/кг (например, около 1,6 мг/кг, около 2 мг/кг, около 3 мг/кг, около 4 мг/кг, около 5 мг/кг, около 6 мг/кг, около 7 мг/кг, около 8 мг/кг, около 9 мг/кг, около 10 мг/кг, около 11 мг/кг, около 12 мг/кг, около 13 мг/кг, около 14 мг/кг или около 15 мг/кг) антитела по сравнению с уровнем CD33 на поверхности клеток до введения антитела к CD33. В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело к CD33 по данному изобретению снижает уровень CD33 на поверхности клеток более чем на 70% после введения одной внутривенной дозы антитела в количестве 1,6 мг/кг по сравнению с уровнем CD33 на поверхности клеток до введения антитела к CD33. В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело к CD33 по данному изобретению снижает уровень CD33 на поверхности клеток более чем на 70% после введения одной внутривенной дозы антитела в количестве 15 мг/кг по сравнению с уровнем CD33 на поверхности клеток до введения антитела к CD33. В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело к CD33 по данному изобретению снижает уровень CD33 на поверхности клеток более чем на 80% после введения одной внутривенной дозы антитела в количестве 15 мг/кг по сравнению с уровнем CD33 на поверхности клеток до введения антитела к CD33. В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело к CD33 по данному изобретению снижает уровень CD33 на поверхности клеток более чем на 85% после введения одной внутривенной дозы антитела в количестве 15 мг/кг по сравнению с уровнем CD33 на поверхности клеток до введения антитела к CD33. В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело к CD33 по данному изобретению снижает уровень CD33 на поверхности клеток более чем на 90% после введения одной внутривенной дозы антитела в количестве 15 мг/кг по сравнению с уровнем CD33 на поверхности клеток до введения антитела к CD33. В некоторых вариантах осуществления снижение уровней CD33 на поверхности клеток происходит в моноцитах из цельной крови, гранулоцитах, моноцитах периферической крови, гранулоцитах периферической крови, моноцитах СМЖ и/или гранулоцитах СМЖ индивидуума.

[233] В некоторых вариантах осуществления уровень CD33 на поверхности клеток может быть определен в соответствии с любым способом, известным в данной области техники. В некоторых вариантах осуществления уровень CD33 на поверхности клеток может быть определен с помощью проточной цитометрии. В некоторых вариантах осуществления уровень CD33 на поверхности клеток выражается как средняя

интенсивность флуоресценции (MFI). В некоторых вариантах осуществления уровень CD33 на поверхности клеток выражается в молекулах эквивалентного растворимого флуорохрома (MESF) (например, см. Schawrts et al., (2004) Clin Cytometry 57B:1-6).

[234] В некоторых вариантах осуществления антитела к CD33 по данному изобретению могут иметь эпитопную специфичность временного антагонистического антитела к CD33 по данному изобретению, но имеют домен Fc, который не способен связывать Fcγ-рецепторы и, таким образом, не может, например, временно кластеризовать и активировать CD33.

[235] В некоторых вариантах осуществления антитела к CD33 по данному изобретению обладают, без ограничения, одной или более из следующих активностей: способность уменьшать связывание белка CD33 с одним или более лигандами CD33, такими как гликолипиды, содержащие сиаловую кислоту или гликопротеины, содержащие сиаловую кислоту, способность снижать связывание белка-супрессора цитокиновых сигналов (SOCS) (например, белка SOCS3) с белком CD33, способность увеличивать протеасомальную деградацию белка CD33, способность снижать функциональную экспрессию CD33 на поверхности циркулирующих дендритных клеток, макрофагов, моноцитов, Т-клеток и/или микроглии, способность снижать фосфорилирование Tyr-340 и Tyr-358 с помощью тирозинкиназы семейства Src, такой как LCK и FYN, способность уменьшать рекрутирование и связывание тирозин-специфических протеинфосфатаз SHP1 и SHP2, способность уменьшать рекрутирование и связывание с PLC-γ1, который действует как фактор обмена гуаниновых нуклеотидов для Dynamin-1, способность уменьшать рекрутирование и связывание с Crkl, способность снижать рекрутирование и связывание тирозинкиназы селезенки Syk, способность уменьшать рекрутирование и связывание с SH3-SH2-SH3 рецептором фактора роста белка 2 (Grb2), способность снижать рекрутирование и связывание нескольких SH2-содержащих белков, способность увеличивать мобилизацию внутриклеточного кальция, способность модулировать выработку провоспалительных цитокинов IL-1β, 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 выживаемость моноцитов, макрофагов, дендритных клеток, Т-клеток, и/или микроглии, способность увеличивать фосфорилирование тирозина на множестве клеточных белков, способность увеличивать фагоцитарную активность моноцитов, макрофагов, дендритных клеток и/или микроглии, способность увеличивать пролиферацию моноцитов, макрофагов, дендритных клеток, Т-клеток и/или микроглии, способность увеличивать фосфорилирование сигнальных молекул, которые опосредуют передачу сигналов ITAM, способность увеличивать функцию паттерн-распознающих рецепторов, способность увеличивать функцию Toll-подобных рецепторов, способность увеличивать функцию рецепторов молекулярных паттернов, ассоциированных с повреждениями (DAMP), способность модулировать экспрессию C-С-хемокинового рецептора 7 (CCR7) и способность увеличивать клиренс клеточного и белкового дебриса.

[236] В некоторых вариантах осуществления антитела к CD33 по данному изобретению имеют область Fc, которая демонстрирует сниженное связывание с одним или более Fcγ-рецепторами. Примеры таких областей Fc и модификаций представлены в таблице D ниже. В некоторых вариантах осуществления антитело имеет изотип Fc, указанный в таблице D ниже.

Изотипы антител Fc с пониженным связыванием с рецепторами Fc гамма

[237] В некоторых вариантах осуществления антитела к CD33 со сниженным связыванием с Fc-гамма-рецепторами имеют изотип Fc, указанный в **таблице C** ниже.

Таблица C: Иллюстративные изотипы Fc антитела к CD33 со сниженным связыванием с Fc-гамма-рецептором

Изотип Fc	Мутация (схема нумерации EU)
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 G236-удалено 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

Изотип Fc	Мутация (схема нумерации EU)
	A330S и P331S
IgG1, IgG2 или IgG4	модификации дельта a, b, c, ab, ac, g
IgG1	Любая из перечисленных выше мутаций вместе с A330L или L234F и/или L235E и/или P331S
IgG1, IgG2 или IgG4	Любая из приведенных выше мутаций вместе с M252Y и/или S254T и/или T256E

[238] В определенных вариантах осуществления антитело к CD33 имеет изотип IgG1. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит константную область IgG1 мыши. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит константную область IgG1 человека. В некоторых вариантах осуществления константная область IgG1 человека включает область Fc. В некоторых вариантах осуществления область Fc содержит одну или более модификаций. Например, в некоторых вариантах осуществления область Fc содержит одну или более аминокислотных замен (например, по сравнению с областью Fc дикого типа того же изотипа).

[239] В некоторых вариантах осуществления одна или более аминокислотных замен выбраны 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, где аминокислотное положение соответствует системе нумерации EU или Kabat. В определенных вариантах осуществления область Fc дополнительно содержит делецию аминокислоты в положении, соответствующем глицину 236 в соответствии с системой нумерации EU или Kabat.

[240] В некоторых вариантах осуществления антитело к CD33 имеет изотип IgG1 с константной областью тяжелой цепи, которая содержит аминокислотную замену C220S в соответствии с системой нумерации EU или Kabat. В некоторых вариантах осуществления область Fc дополнительно содержит одну или более дополнительных аминокислотных замен, выбранных из A330L, L234F; L235E и/или P331S в соответствии с системой нумерации EU или Kabat. В определенных вариантах осуществления антитело к CD33 имеет изотип IgG2. В некоторых вариантах осуществления антитело к CD33 содержит константную область IgG2 человека. В некоторых вариантах осуществления константная область IgG2 человека включает область Fc. В некоторых вариантах осуществления область Fc содержит одну или более модификаций. Например, в некоторых вариантах осуществления область Fc содержит одну или более аминокислотных замен (например, по

сравнению с областью Fc дикого типа того же изотипа). В некоторых вариантах осуществления одна или более аминокислотных замен выбраны из P238S, V234A, G237A, H268A, H268Q, H268E, V309L, N297A, N297Q, V309L, A330S, P331S, C232S, C233S, M252Y, S254T и/или T256E, где аминокислотное положение соответствует системе нумерации EU или Kabat (Vafa O. et al., (2014) *Methods* 65:114-126).

[241] В определенных вариантах осуществления антитело к CD33 имеет изотип IgG4. В некоторых вариантах осуществления антитело к CD33 содержит константную область IgG4 человека. В некоторых вариантах осуществления константная область IgG4 человека включает область Fc. В некоторых вариантах осуществления область Fc содержит одну или более модификаций. Например, в некоторых вариантах осуществления область Fc содержит одну или более аминокислотных замен (например, по сравнению с областью Fc дикого типа того же изотипа). В некоторых вариантах осуществления одна или более аминокислотных замен выбраны 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, где аминокислотное положение соответствует системе нумерации EU или Kabat. 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 согласно нумерации EU).

[242] В некоторых вариантах осуществления область Fc дополнительно содержит одну или более дополнительных аминокислотных замен, выбранных из M252Y, S254T и/или T256E, где аминокислотное положение соответствует системе нумерации EU или Kabat.

Дополнительные мутации IgG

[243] В некоторых вариантах осуществления один или более вариантов IgG1, описанных в данном документе, могут быть объединены 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), где аминокислотное положение соответствует системе нумерации EU или Kabat, для устранения активации комплемента. В некоторых вариантах осуществления варианты IgG, описанные в данном документе, могут быть объединены с одной или более мутациями для увеличения времени полужизни антитела к CD33 в сыворотке человека (например, мутации M252Y, S254T, T256E в соответствии с системой нумерации EU или Kabat) (Dall'Acqua et al., (2006) *J Biol Chem*, 281:23514-23524; and Strohl et al., (2009) *Current Opinion in Biotechnology*, 20:685-691).

[244] В некоторых вариантах осуществления вариант IgG4 по данному изобретению может быть объединен с мутацией S228P в соответствии с системой нумерации EU или Kabat (Angal et al., (1993) *Mol Immunol*, 30:105-108) и/или с одной или

более мутациями, раскрытыми в Peters et al., (2012) J Biol Chem. 13;287(29):24525-33) для усиления стабилизации антител.

Биспецифические антитела

[245] Определенные аспекты данного изобретения относятся к биспецифическим антителам, которые связываются с одним или более доменами белка CD33 по данному изобретению и вторым антигеном. Способы получения биспецифических антител хорошо известны в данной области техники и описаны в данном документе. В некоторых вариантах осуществления биспецифические антитела по данному изобретению связываются с одним или более аминокислотными остатками белка CD33 по данному изобретению, такими как один или более аминокислотных остатков CD33 человека (SEQ ID NO: 1), или аминокислотными остатками на белке CD33, соответствующими аминокислотным остаткам SEQ ID NO: 1. В некоторых вариантах осуществления биспецифические антитела по данному изобретению распознают первый антиген и второй антиген. В некоторых вариантах осуществления первый антиген представляет собой белок CD33 или его встречающийся в природе 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 ограничения, рецептор трансферрина (TR), рецептор инсулина (HIR), рецептор инсулиноподобного фактора роста (IGFR), белки 1 и 2, связанные с рецептором липопротеинов низкой плотности (LPR-1 и 2), рецептор дифтерийного токсина, CRM197, однодоменное антитело ламы, TMEM 30 (A), домен трансдукции белка, TAT, Syn-B, пенетратин, полиаргининовый пептид, пептиды ангиопепа, такие как ANG1005 (см., например, Gabathuler, 2010), и другие белки клеточной поверхности, которыми обогащены эндотелиальные клетки гематоэнцефалического барьера (см, например, Daneman et al., PLoS One. 2010 Oct 29;5(10):e13741). В некоторых вариантах осуществления второй антиген представляет собой вызывающий заболевание белок, который выбирают из группы, состоящей из, без ограничения, бета-амилоида, олигомерного бета-амилоида, бета-амилоидных бляшек, белка-предшественника амилоида или его фрагментов, тау-белка, IAPP, альфа-синуклеина, TDP-43, белка FUS, C9orf72 (открытая рамка считывания 72 хромосомы 9), белка c9RAN, прионного белка, PrPSc, гентингтина, кальцитонина, супероксиддисмутаза, атаксина, атаксина 1, атаксина 2, атаксина 3, атаксина 7, атаксина 8, атаксина 10, телец Леви, предсердного натрийуретического фактора, островкового амилоидного полипептида, инсулина, аполипопротеина AI, амилоида А сыворотки, медины, пролактина, транстиретины, лизоцима, бета 2 микроглобулина, гельзолина, кератоэпителина, цистатина, легкой цепи иммуноглобулина AL, белка S-IBM, ассоциированный с повторами продуктов не-ATG-трансляции (RAN), пептидов с повторами диПептидов (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); В некоторых вариантах осуществления второй антиген представляет собой один или более лигандов и/или белков, экспрессируемых на иммунных клетках, включая, без ограничения, 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 более опухолевых клетках.

Фрагменты антител

[246] Определенные аспекты настоящего изобретения относятся к фрагментам антител, которые связываются с одним или более белками CD33 по данному изобретению, встречающимся в природе вариантом белка CD33 и связанным с заболеванием вариантом белка CD33. В некоторых вариантах осуществления фрагмент антитела представляет собой фрагмент Fab, Fab', Fab'-SH, F(ab')₂, Fv или scFv.

[247] В некоторых вариантах осуществления фрагмент антитела используется в комбинации со вторым антителом к CD33 и/или с одним или более антителами, которые специфически связывают вызывающий заболевание белок, выбранный из бета-амилоида, олигомерного бета-амилоида, бета-амилоидных бляшек, белка-предшественника амилоида или его фрагмента, тау-белка, IAPP, альфа-синуклеина, TDP-43, белка FUS, C9orf72 (открытая рамка считывания 72 хромосомы 9), белка с9RAN, прионного белка, PrPSc, гентингтина, кальцитонина, супероксиддисмутаза, атаксина, атаксина 1, атаксина 2, атаксина 3, атаксина 7, атаксина 8, атаксина 10, телец Леви, предсердного натрийуретического фактора, островкового амилоидного полипептида, инсулина, аполипопротеина AI, сывороточного амилоида A, медины, пролактина, транстиретина, лизоцима, бета 2 микроглобулина, гельзолина, кератоэпителина, цистатина, легкой цепи иммуноглобулина AL, белка S-IBM, продуктов ассоциированной с повторами не-ATG-трансляции (RAN), 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 более 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.

[248] В некоторых вариантах осуществления фрагменты антител по данному изобретению могут быть функциональными фрагментами, которые связывают тот же эпитоп, что и любое из антител к CD33 настоящему изобретению. В некоторых вариантах осуществления фрагменты антител представляют собой миниатюрные версии антител к

CD33 или фрагментов антител по данному изобретению, которые имеют тот же эпитоп, что и соответствующее полноразмерное антитело, но имеют гораздо меньшую молекулярную массу. Такие миниатюрные фрагменты антител к CD33 могут иметь лучшую способность проникновения в мозг и более короткое время полужизни, что является преимуществом для визуализации и диагностических целей (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 антител к CD33 по данному изобретению имеют лучшее проникновение в мозг по сравнению с их соответствующими полноразмерными антителами и/или имеют более короткий период полужизни по сравнению с их соответствующими полноразмерными антителами.

Каркасы антител

[249] Любое из описанных в данном документе антител дополнительно содержит каркас. В некоторых вариантах осуществления каркасная область представляет собой каркасную область иммуноглобулина человека. Например, в некоторых вариантах осуществления антитело (*например*, антитело к CD33) содержит HVR, как в любом из вышеперечисленных вариантов осуществления, и дополнительно содержит акцепторный каркас человека, *например*, каркас иммуноглобулина человека или консенсусный каркас человека. Каркасные области иммуноглобулина человека могут быть частью антитела человека, или антитело отличного от человека животного может быть гуманизировано путем замены одной или более эндогенных каркасных областей человеческими каркасными областями. Человеческие каркасные области, которые можно использовать для гуманизации, включают, но не ограничиваются ими: каркасные области, выбранные с использованием метода «наилучшего соответствия» (см., например, Sims et al. J. Immunol. 151:2296 (1993)); каркасные области, полученные из консенсусной последовательности человеческих антител определенной подгруппы вариабельных областей легкой или тяжелой цепи (см., например, Carter et al. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 89:4285 (1992); и Presta et al., J. Immunol, 151:2623 (1993)); зрелые каркасные области человека (соматически мутированные) или каркасные области зародышевой линии человека (см., например, Almagro and Fransson Front. Biosci. 13:1619-1633 (2008)); и каркасные области, полученные из скрининговых 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)).

[250] В некоторых вариантах осуществления антитела к CD33 по данному изобретению содержат вариабельную область тяжелой цепи, содержащую одну или более (*например*, одну или более, две или более, три или более или все четыре) каркасные области, выбранные из VH FR1, VH FR2, VH FR3 и VH FR4 (как показано 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: $X_1AX_2X_3X_4X_5X_6RX_7TX_8TVDX_9X_{10}X_{11}STX_{12}YMELSSLRSED TAVYYCAR$ (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. 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: $WGQGT LX_1TVSS$ (SEQ ID NO: 160), где X_1 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 антитела содержит вариabельную область тяжелой цепи, содержащую VH FR1 в соответствии с формулой VII, VH FR2, содержащую последовательность SEQ ID NO: 5, VH FR3 в соответствии с формулой VIII и VH FR4 в соответствии с формулой IX. В некоторых вариантах осуществления антитела к CD33 по данному изобретению содержат вариabельную область тяжелой цепи, включающую VH FR1, содержащую последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 2-4, VH FR2, содержащую последовательность SEQ ID NO: 5, VH FR3, содержащую последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 6-19, и VH FR4, содержащую последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 20-21. В некоторых вариантах осуществления антитела к CD33 по данному изобретению содержат вариabельную 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 показано в таблице 3).

[251] В некоторых вариантах осуществления антитела к CD33 по данному изобретению содержат вариabельную область легкой цепи, содержащую одну или более (*например*, одну или более, две или более, три или более или все четыре) каркасные области, выбранные из VL FR1, VL FR2, VL FR3 и VL FR4 (как показано в таблицах 6A-6D). В некоторых вариантах осуществления 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

Е, 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 антитела к CD33 по данному изобретению 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 антитела к CD33 по данному изобретению содержат вариабельную область легкой цепи, включающую VL FR1, содержащую последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 22-26, VL FR2, содержащую последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 27-28, VL FR3, содержащую последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 29-31, и VL FR4, содержащую последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 32-33. В некоторых вариантах осуществления антитела к CD33 по данному изобретению содержат вариабельную область легкой цепи, включающую 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 показано в таблице 4).

[252] В некоторых вариантах осуществления антитела к CD33 по данному изобретению содержат вариабельную область тяжелой цепи, содержащую одну или более (*например*, одну или более, две или более, три или более или все четыре) каркасные области, выбранные из VH FR1, VH FR2, VH FR3 и VH FR4 (как показано в таблицах 5A-5D), и вариабельную область легкой цепи, содержащую одну или более (*например*, одну или более, две или более, три или более или все четыре) каркасные области, выбранные из VL FR1, VL FR2, VL FR3 и VL FR4 (как показано в таблицах 6A-6D). В некоторых

вариантах осуществления антитела к CD33 по данному изобретению содержат переменную область тяжелой цепи, содержащую VH FR1 в соответствии с формулой VII, VH FR2, содержащую 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 антитела к CD33 по данному изобретению содержат переменную область тяжелой цепи, включающую VH FR1, содержащую последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 2-4, VH FR2, содержащую последовательность SEQ ID NO: 5, VH FR3, содержащую последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 6-19, и VH FR4, содержащую последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 20-21, переменную область легкой цепи, включающую VL FR1, содержащую последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 22-26, VL FR2, содержащую последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 27-28, VL FR3, содержащую последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 29-31, и VL FR4, содержащую последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 32-33. В некоторых вариантах осуществления антитела к CD33 по данному изобретению содержат переменную область тяжелой цепи, включающую 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 показано в таблице 3), и переменную область легкой цепи, включающую 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 показано в таблице 4).

Фармакокинетика антител к CD33

[253] В некоторых вариантах осуществления конечный период полужизни антитела к CD33 в плазме составляет от около 4 дней до около 12 дней (например, в любой период из около 4 дней, около 5 дней, около 6 дней, около 7 дней, около 8 дней, около 9 дней, около 10 дней, около 11 дней или около 12 дней). В некоторых вариантах осуществления конечный период полужизни антитела к CD33 составляет около 4 дней. В некоторых вариантах осуществления конечный период полужизни антитела к CD33 составляет около 10 дней. В некоторых вариантах осуществления конечный период полужизни антитела к CD33 составляет около 11 дней. В некоторых вариантах осуществления конечный период

полужизни антитела к CD33 после однократного введения антитела в дозе 1,6 мг/кг составляет около 4 дней. В некоторых вариантах осуществления конечный период полужизни антитела к CD33 после однократного введения антитела в дозе 1,6 мг/кг составляет около 5 дней. В некоторых вариантах осуществления конечный период полужизни антитела к CD33 после однократного введения антитела в дозе 5 мг/кг составляет около 7 дней. В некоторых вариантах осуществления конечный период полужизни антитела к CD33 после однократного введения антитела в дозе 5 мг/кг составляет около 8 дней. В некоторых вариантах осуществления конечный период полужизни антитела к CD33 после однократного введения антитела в дозе 15 мг/кг составляет около 10 дней. В некоторых вариантах осуществления конечный период полужизни антитела к CD33 после однократного введения антитела в дозе 15 мг/кг составляет около 11 дней. В некоторых вариантах осуществления конечный период полужизни антитела к CD33 после однократного введения антитела в дозе 30 мг/кг составляет около 9 дней. В некоторых вариантах осуществления конечный период полужизни антитела к CD33 после однократного введения антитела в дозе 30 мг/кг составляет около 10 дней.

[254] В некоторых вариантах осуществления конечный период полужизни антитела к CD33 по данному изобретению определяют с помощью любого способа, известного в данной области техники. В некоторых вариантах осуществления конечный период полужизни антитела к CD33 по данному изобретению определяют с помощью твердофазного иммуноферментного анализа (ИФА). В некоторых вариантах осуществления конечный период полужизни антитела к CD33 по данному изобретению определяют в крови индивидуума. В некоторых вариантах осуществления терминальный период полувыведения антитела к CD33 по данному изобретению определяют в плазме индивидуума. В некоторых вариантах осуществления конечный период полужизни антитела к CD33 по данному изобретению определяют в сыворотке индивидуума. В некоторых вариантах осуществления конечный период полужизни антитела к CD33 по данному изобретению определяют в СМЖ индивидуума.

Белки CD33

[255] В одном аспекте в данном изобретении предложены антитела, такие как выделенные (например, моноклональные) антитела, которые взаимодействуют или иным образом связываются с областью, такой как эпитоп, в белке CD33 по данному изобретению. В некоторых вариантах осуществления антитела взаимодействуют или иным образом связываются с областью, такой как эпитоп, в белке CD33 по данному изобретению с улучшенной/усиленной кинетикой (*например*, по сравнению с антителом к CD33, имеющим вариабельную область тяжелой цепи, содержащую последовательность SEQ ID NO: 103, и вариабельную область легкой цепи, содержащую последовательность SEQ ID NO: 104). В некоторых вариантах осуществления антитела взаимодействуют или иным образом связываются с областью, такой как эпитоп, в белке CD33 на клетках человека, таких как дендритные клетки, с полумаксимальной эффективной концентрацией

(EC₅₀), которая ниже, чем у указанного контрольного антитела (*например*, по сравнению антителом к CD33, имеющим вариабельную область тяжелой цепи, содержащую последовательность SEQ ID NO: 103, и вариабельную область легкой цепи, содержащую последовательность SEQ ID NO: 104). В некоторых вариантах осуществления антитела к CD33 по данному изобретению связываются с белком CD33 и модулируют одну или более активностей CD33 после связывания с белком CD33, например, активность, связанную с экспрессией CD33 в клетке. Белки CD33 по данному изобретению включают, без ограничения, белок CD33 млекопитающих, белок CD33 человека, белок CD33 мыши и белок CD33 крысы.

[256] CD33 по-разному упоминается как молекула CD33, Siglec3, Siglec-3, антиген CD33 (Grp67), P67, Grp67, связывающий сиаловую кислоту Ig-подобный лектин 3, поверхностный антиген миелоидных клеток CD33 или FLJ00391.

[257] CD33 представляет собой иммуноглобулиноподобный рецептор, в первую очередь экспрессируемый на клетках миелоидного происхождения, включая, помимо прочего, макрофаги, дендритные клетки, остеокласты, моноциты и микроглию. В некоторых вариантах осуществления CD33 образует рецепторно-сигнальный комплекс с CD64. В некоторых вариантах осуществления передача сигнала CD33 приводит к подавлению нижестоящего PI3K или других внутриклеточных сигналов. На миелоидных клетках сигналы Toll-подобного рецептора (TLR) важны для ингибирования активности CD33, например, в контексте ответа на инфекцию. TLR также играют ключевую роль в патологическом воспалительном ответе, например, TLR, экспрессируемые в макрофагах и дендритных клетках.

[258] Аминокислотная последовательность CD33 человека представлена ниже как SEQ ID NO: 1:

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

GIFPGDGS GK QETRAGVVHG AIGGAGVTAL LALCLCLIFF IVKTHRRKAA
RTAVGRNDTH

PTTGSASPKH QKKSKLHGPT ETSSCSGAAP TVEMDEELHY ASLNFHGMNP
SKDTSTEYSE

VRTQ

[259] В некоторых вариантах осуществления CD33 представляет собой белок-предшественник, который содержит сигнальную последовательность. В некоторых вариантах осуществления CD33 представляет собой зрелый белок. В некоторых вариантах осуществления зрелый белок CD33 не содержит сигнальную последовательность. В некоторых вариантах осуществления зрелый белок CD33 экспрессируется на клетке. В некоторых вариантах осуществления зрелый белок CD33 экспрессируется на клетке, такой

как поверхность клетки, включая, без ограничения, дендритные клетки человека, макрофаги человека, моноциты человека, остеокласты человека, нейтрофилы человека, Т-клетки человека, Т-хелперы человека, цитотоксические Т-клетки человека, гранулоциты человека и микроглия человека. Антитела к CD33 по данному изобретению могут связывать любой из белков CD33 по данному изобретению, экспрессируемых на любой клетке, описанной в данном документе.

[260] Белки CD33 по данному изобретению, такие как CD33 человека, содержат несколько доменов, включая, помимо прочего, сигнальную последовательность, расположенную в пределах аминокислотных остатков 1-17 SEQ ID NO: 1, внеклеточный иммуноглобулиноподобный домен варибельного типа (IgV), расположенный в пределах аминокислотных остатков 19-135 SEQ ID NO: 1, Ig-подобный домен C2-типа, расположенный в пределах аминокислотных остатков 145-228 SEQ ID NO: 1, трансмембранный домен, расположенный в пределах аминокислотных остатков 260-282 SEQ ID NO: 1, мотив 1 ITIM, расположенный в пределах аминокислотных остатков 338-343 SEQ ID NO: 1, и мотив 2 ITIM, расположенный в пределах аминокислотных остатков 356-361 SEQ ID NO: 1. Специалист в данной области техники поймет, что начальные и конечные остатки доменов по данному изобретению могут варьировать в зависимости от используемой программы компьютерного моделирования или метода, используемого для определения домена.

[261] Определенные аспекты настоящего изобретения относятся к антителам к CD33, которые связываются с CD33 человека или его гомологом, включая, без ограничения, белок CD33 млекопитающего и ортологи CD33 других видов. В некоторых вариантах осуществления антитела к CD33 по данному изобретению связываются с CD33 человека или его гомологом с улучшенной/усиленной кинетикой связывания (*например*, по сравнению с антителом к CD33, имеющим варибельную область тяжелой цепи, содержащую последовательность SEQ ID NO: 103, и варибельную область легкой цепи, содержащую последовательность SEQ ID NO: 104).

[262] Соответственно, используемый в данном документе белок «CD33» по данному изобретению включает, без ограничения, белок CD33 млекопитающего, белок CD33 человека, белок CD33 приматов, белок CD33 мыши и белок CD33 крысы. Кроме того, антитела к CD33 по данному изобретению могут связывать эпитоп в белке CD33 человека, CD33 приматов. В некоторых вариантах осуществления антитела к CD33 по данному изобретению могут специфически связываться с CD33 человека.

[263] В некоторых вариантах осуществления антитела по данному изобретению могут связывать CD33 зависимым от pH образом. В некоторых вариантах осуществления антитела по данному изобретению могут связываться с CD33 при нейтральном pH и интернализироваться без диссоциации от белка CD33. Альтернативно, при кислом pH антитела по данному изобретению могут диссоциировать от CD33, как только они интернализуются, а затем разрушаются по эндосомальному/лизосомальному пути. В определенных вариантах осуществления антитела к CD33 связывают CD33 при pH в

диапазоне 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 определенных вариантах осуществления антитело к CD33 диссоциирует от CD33 при pH менее чем 6,0, менее чем 5,5, менее чем 5,0, менее чем 4,5, менее чем 4,0, менее чем 3,5, менее чем 3,0, менее чем 2,5 или менее чем 2,0.

[264] В некоторых вариантах осуществления антитела по данному изобретению связываются с белком CD33 дикого типа по данному изобретению, его встречающимися в природе вариантами и/или его связанными с заболеванием вариантами.

[265] В некоторых вариантах осуществления антитела по данному изобретению связывают вариант CD33 человека, причем вариант содержит однонуклеотидный полиморфизм (ОНП) rs3865444C с нуклеотидом (C). В некоторых вариантах осуществления антитела по данному изобретению, которые снижают клеточные уровни CD33 и/или которые связываются или взаимодействуют с CD33, связываются с вариантом CD33 человека, причем вариант содержит ОНП rs3865444 с нуклеотидом (A). В некоторых вариантах осуществления антитела к CD33 по данному изобретению связывают вариант CD33 человека, причем вариант содержит ОНП rs3865444^{AC} или rs3865444^{CC}.

[266] В некоторых вариантах осуществления антитела по данному изобретению, которые снижают клеточные уровни CD33 и/или которые связываются или взаимодействуют с CD33, связывают вариант CD33 человека, при этом вариант содержит SNP rs35112940 с нуклеотидами GG, нуклеотидами AA или нуклеотидами AG. В некоторых вариантах осуществления антитела по данному изобретению, которые снижают клеточные уровни CD33 и/или которые связываются или взаимодействуют с CD33, связываются с вариантом CD33 человека, причем вариант содержит ОНП rs12459419 с генотипами CC, CT или TT. В определенных вариантах осуществления субъект имеет гомозиготный или гетерозиготный по кодирующим ОНП, rs1803 с нуклеотидами GG, нуклеотидами CG или нуклеотидами CC.

[267] В некоторых вариантах осуществления изобретения антитела по данному изобретению, которые снижают клеточные уровни CD33 и/или которые связываются или взаимодействуют с CD33, связываются с белком CD33, экспрессируемым на поверхности клетки, включая, без ограничения, дендритные клетки человека, макрофаги человека, моноциты человека, остеокласты человека, нейтрофилы человека, Т-клетки человека, Т-хелперы человека, цитотоксические Т-клетки человека, гранулоциты человека и микроглию человека. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения антитела, которые снижают клеточные уровни CD33 и/или которые связываются или взаимодействуют с CD33, связываются с белком CD33, экспрессируемым на поверхности клетки, и модулируют (например, индуцируют или ингибируют) по меньшей мере одну активность CD33 по данному изобретению после связывания с экспрессируемым на поверхности белком CD33. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения антитело к CD33 специфически связывается с белком CD33. В некоторых

вариантах осуществления настоящего изобретения антитело к CD33 дополнительно связывается с по меньшей мере одним дополнительным белком Siglec. В некоторых вариантах осуществления антитело к CD33 модулирует одну или более активностей по меньшей мере одного дополнительного белка Siglec или клетки, экспрессирующей по меньшей мере один дополнительный белок Siglec.

Лиганды CD33

[268] Белки CD33 по данному изобретению могут взаимодействовать (например, связываться) с одним или более лигандами CD33.

[269] Иллюстративные лиганды CD33 включают, без ограничения, сиаловую кислоту, гликолипиды, содержащие сиаловую кислоту, гликопротеины, содержащие сиаловую кислоту, гликолипиды, содержащие альфа-2,6-связанную сиаловую кислоту, гликопротеины, содержащие альфа-2,6-связанную сиаловую кислоту, гликолипиды, содержащие альфа-2,3-связанную сиаловую кислоту, гликопротеины, содержащие альфа-2,3-связанную сиаловую кислоту, альфа-1-кислый гликопротеин (AGP), белок CD24, ганглиозиды (например, гликолипиды, содержащие церамид, связанный с сиалированным гликаном), секретлируемые муцины, лиганды CD33, экспрессируемые на эритроцитах, 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, связанные с бета-амилоидными бляшками, лиганды CD33 на клубках тау-белков, лиганды CD33 на вызывающих заболевания белках, лиганды CD33 на вызывающих заболевание пептидах, лиганды CD33, экспрессируемые на макрофагах, лиганды CD33, экспрессируемые на естественных клетках-киллерах, лиганды CD33, экспрессируемые на Т-клетках, лиганды CD33, экспрессируемые на Т-хелперах, лиганды CD33, экспрессируемые на цитотоксических Т-клетках, лиганды CD33, экспрессируемые на В-клетках, лиганды CD33, экспрессируемые на погруженных в опухоль иммуносупрессорных дендритных клетках, лиганды CD33, экспрессируемые на погруженных в опухоль иммуносупрессорах макрофаги, лиганды CD33, экспрессируемые на миелоидных супрессорных клетках, и лиганды CD33, экспрессируемые на регуляторных Т-клетках. В некоторых вариантах осуществления лиганды CD33 по данному изобретению представляют собой ганглиозиды. Ганглиозиды, как правило, имеют общее лактоцерамидное ядро и один или более остатков сиаловой кислоты.

[270] Дополнительные примеры подходящих ганглиозидных лигандов перечислены в **Таблице А**. Как правило, ганглиозид представляет собой молекулу, состоящую из гликофинголипида с одной или более сиаловыми кислотами (например, п-ацетилнейраминовой кислотой, NANA), связанными с сахарной цепью.

Таблица А: Структуры иллюстративных 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
 асиал-GM1,GA1=bDGalp(1-3)bDGalpNAc(1-4)bDGalp(1-4)bDGlc(1-1)Cer
 асиал-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
 GD1alpha=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)bDGl(1-1)Cer
 CerGQ1b=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-нейраминавая кислота
 aNeu5Ac9Ac=5,9- диацетил-альфа-нейраминавая кислота
 bDGalp=бета-D-галактопираноза
 bDGalpNAc=N-ацетил-бета-D-галактопираноза
 bDGlc=бета-D-глюкопираноза
 Cer=церамид (общий N-ацилированный сфингоид)

Активности CD33

Модулированная экспрессия связанных с иммунной системой белков

[271] В некоторых вариантах осуществления антитела к CD33 по данному изобретению 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 ограничения, модуляцию экспрессии гена, модуляцию транскрипционной экспрессии или модуляцию экспрессии белка. Можно использовать любой известный в данной области техники метод определения экспрессии гена, транскрипта (например, мРНК) и/или белка. Например, анализ нозерн-блот можно использовать для определения уровней экспрессии генов противовоспалительных медиаторов, ОТ-ПЦР можно использовать для определения уровня транскрипции противовоспалительных медиаторов, а анализ вестерн-блот можно использовать для определения уровней белка противовоспалительных медиаторов.

[272] В данном контексте PD-L1, PD-L2, B7-H2, B7-H3, CD200R, CD163 и/или CD206 могут иметь модулированную экспрессию, если их экспрессия в одной или более клетках субъекта, получавшего антитела к CD33 по данному изобретению, модулируется (например, увеличивается или уменьшается) по сравнению с экспрессией PD-L1, PD-L2, B7-H2, B7-H3, CD200R, CD163 и/или CD206, экспрессируемых в одной или более клетках соответствующего субъекта, который не получает лечение антителом. В некоторых вариантах осуществления антитело к CD33 по данному изобретению может модулировать экспрессию PD-L1, PD-L2, B7-H2, B7-H3, CD200R, CD163 и/или CD206 в одной или более 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 более клетках соответствующего субъекта, который не получает лечение антителом. В других вариантах осуществления антитело к CD33 по данному изобретению модулирует экспрессию PD-L1, PD-L2, B7-H2, B7-H3, CD200R, CD163 и/или CD206 в одной или более 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 раза, по меньшей мере 6,0 раз, по меньшей мере 6,5 раза, по меньшей мере 7,0 раз, по меньшей мере 7,5 раза, по меньшей мере 8,0 раз, по меньшей мере 8,5 раза, по меньшей мере 9,0 раз, по меньшей мере 9,5 раза или в 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 более клетках соответствующего субъекта, который не получает лечение антителом.

[273] В некоторых вариантах осуществления антитела к CD33 по данному изобретению применимы для предотвращения, снижения риска возникновения или лечения патологических состояний и/или заболеваний, связанных с аномальными уровнями PD-L1, PD-L2, B7-H2, B7-H3, CD200R, CD163 и/или CD206, включая, без ограничения, деменцию, лобно-височную деменцию, болезнь Альцгеймера, сосудистую деменцию, смешанную деменцию, болезнь Крейтцфельда - Якоба, нормотензивную гидроцефалию, боковой амиотрофический склероз, болезнь Хантингтона, таупатию, болезнь Насу - Хакола, инсульт, острую травму, хроническую травму, волчанку, острый и хронический колит, ревматоидный артрит, заживление ран, болезнь Крона, воспалительное заболевание кишечника, язвенный колит, ожирение, малярию, эссенциальный тремор, волчанку центральной нервной системы, болезнь Бехчета, болезнь Паркинсона, деменцию с тельцами Леви, множественную системную атрофию, синдром Шая - Дрейджера, прогрессирующий надъядерный паралич, кортикобазальную дегенерацию, острый рассеянный энцефаломиелит, гранулематозное заболевание, саркоидоз, возрастные заболевания, судорожные приступы, травмы спинного мозга, черепно-мозговые травмы, возрастную макулярную дегенерацию, глаукому, пигментный ретинит, дегенерацию сетчатки, инфекцию дыхательных путей, сепсис, глазные инфекции, системные инфекции, волчанку, артрит, рассеянный склероз, низкую плотность костей, остеопороз, остеогенез, связанное с остеопорозом заболевание, костную болезнь Педжета, и рак, включая рак мочевого пузыря, рак головного мозга, рак молочной железы, рак толстой кишки, рак прямой кишки, рак эндометрия, рак почки, почечноклеточный рак, рак почечной лоханки, лейкоз, рак легкого, меланому, неходжкинскую лимфому, рак поджелудочной железы, рак предстательной железы, рак яичников, фибросаркому, острый лимфобластный лейкоз (ОЛЛ), острый миелоидный лейкоз (ОМЛ), хронический лимфоцитарный лейкоз (ХЛЛ), хронический миелоидный лейкоз (ХМЛ), множественную миелому, истинную полицитемию, эссенциальный тромбоцитоз, первичный или идиопатический миелофиброз, первичный или идиопатический миелосклероз, миелоидные опухоли, опухоли, экспрессирующие CD33, рак щитовидной железы; инфекции, герпес ЦНС, паразитарные инфекции, инфекцию, вызванную *Trypanosoma*, инфекцию, вызванную *Trypanosoma cruzi*, инфекцию, вызванную *Pseudomonas aeruginosa*, инфекцию, вызванную *Leishmania donovani*, инфекцию, вызванную *Streptococcus* группы В, инфекцию, вызванную *Campylobacter jejuni*, инфекцию, вызванную *Neisseria*

meningiditis, ВИЧ-инфекцию I типа и инфекцию, вызванную *Haemophilus influenzae*.

Повышение или нормализация способности дендритных клеток костного мозга индуцировать пролиферацию антигенспецифических Т-клеток

[274] В некоторых вариантах осуществления антитела к CD33 по данному изобретению могут усиливать и/или нормализовать способность дендритных клеток костного мозга индуцировать пролиферацию антигенспецифических Т-клеток после связывания с белком CD33, экспрессируемым в клетке.

[275] В некоторых вариантах осуществления изобретения антагонистические антитела к CD33 по данному изобретению могут усиливать и/или нормализовать способность дендритных клеток костного мозга индуцировать пролиферацию антигенспецифических Т-клеток в одной или более дендритных клетках костного мозга 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 на по меньшей мере 200%, например, по сравнению со способностью дендритных клеток костного мозга индуцировать пролиферацию антигенспецифических Т-клеток в одной или более дендритных клетках костного мозга соответствующего субъекта, который не получает лечение антителом. В других вариантах осуществления антагонистическое антитело к CD33 может усиливать и/или нормализовать способность дендритных клеток костного мозга индуцировать пролиферацию антигенспецифических Т-клеток в одной или более дендритных клетках костного мозга 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 раза, по меньшей мере 6,0 раз, по меньшей мере 6,5 раза, по меньшей мере 7,0 раз, по меньшей мере 7,5 раза, по меньшей мере 8,0 раз, по меньшей мере 8,5 раза, по меньшей мере 9,0 раз, по меньшей мере 9,5 раза, или в по меньшей мере 10 раз, например, по сравнению со способностью дендритных клеток костного мозга индуцировать пролиферацию антигенспецифических Т-клеток в одной или более дендритных клетках костного мозга соответствующего субъекта, который не получает лечение антителом.

[276] В некоторых вариантах осуществления антитела к CD33 по данному изобретению применимы для предотвращения, снижения риска возникновения или лечения патологических состояний и/или заболеваний, связанных со сниженной или дисрегулированной способностью дендритных клеток костного мозга индуцировать пролиферацию антигенспецифических Т-клеток, включая, без ограничения, деменцию, лобно-височную деменцию, болезнь Альцгеймера, сосудистую деменцию, смешанную деменцию, болезнь Крейтцфельда - Якоба, нормотензивную гидроцефалию, боковой амиотрофический склероз, болезнь Хантингтона, таупатию, болезнь Насу - Хакола, инсульт, острую травму, хроническую травму, волчанку, острый и хронический колит, ревматоидный артрит, заживление раны, болезнь Крона, воспалительное заболевание кишечника, язвенный колит, ожирение, малярию, эссенциальный тремор, волчанку центральной нервной системы, болезнь Бехчета, болезнь Паркинсона, деменцию с тельцами Леви, множественную системную атрофию, синдром Шая - Дрейджера, прогрессирующий надъядерный паралич, кортикобазальную дегенерацию, острый рассеянный энцефаломиелит, гранулематозное заболевание, саркоидоз, возрастные заболевания, судорожные приступы, травмы спинного мозга, черепно-мозговые травмы, возрастную макулярную дегенерацию, глаукому, пигментный ретинит, дегенерацию сетчатки, инфекцию дыхательных путей, сепсис, глазные инфекции, системные инфекции, волчанку, артрит, рассеянный склероз, низкую плотность костей, остеопороз, остеогенез, связанное с остеопорозом заболевание, костную болезнь Педжета, и рак, включая рак мочевого пузыря, рак головного мозга, рак молочной железы, рак толстой кишки, рак прямой кишки, рак эндометрия, рак почки, почечноклеточный рак, рак почечной лоханки, лейкоз, рак легкого, меланому, неходжкинскую лимфому, рак поджелудочной железы, рак предстательной железы, рак яичников, фибросаркому, острый лимфобластный лейкоз (ОЛЛ), острый миелоидный лейкоз (ОМЛ), хронический лимфоцитарный лейкоз (ХЛЛ), хронический миелоидный лейкоз (ХМЛ), множественную миелому, истинную полицитемию, эссенциальный тромбоцитоз, первичный или идиопатический миелофиброз, первичный или идиопатический миелосклероз, миелоидные опухоли, опухоли, экспрессирующие CD33, рак щитовидной железы; инфекции, герпес ЦНС, паразитарные инфекции, инфекцию, вызванную *Trypanosoma*, инфекцию, вызванную *Trypanosoma cruzi*, инфекцию, вызванную *Pseudomonas aeruginosa*, инфекцию, вызванную *Leishmania donovani*, инфекцию, вызванную *Streptococcus* группы В, инфекцию, вызванную *Campylobacter jejuni*, инфекцию, вызванную *Neisseria meningitidis*, ВИЧ-инфекцию I типа и инфекцию, вызванную *Haemophilus influenzae*.

Пролиферация и выживаемость клеток, экспрессирующих CD33

[277] В некоторых вариантах осуществления антитела к CD33 по данному изобретению могут увеличивать пролиферацию, выживаемость и/или функцию дендритных клеток, макрофагов, моноцитов, нейтрофилов, остеокластов, клеток Лангерганса в коже, клеток Купфера, Т-клеток, Т-хелперов, цитотоксических Т-клеток и клеток микроглии после связывания с белком CD33, экспрессируемым на клетке.

[278] Клетки микроглии представляют собой тип глиальных клеток, которые являются резидентными макрофагами головного и спинного мозга и, таким образом, действуют как первая и основная форма активной иммунной защиты в центральной нервной системе (ЦНС). Клетки микроглии составляют 20% от общей популяции глиальных клеток головного мозга. Клетки микроглии постоянно очищают ЦНС от бляшек, поврежденных нейронов и инфекционных агентов. Головной и спинной мозг считаются органами с «привилегированным иммунитетом», поскольку они отделены от остального тела рядом эндотелиальных клеток, известных как гематоэнцефалический барьер, который предотвращает попадание большинства патогенов в уязвимую нервную ткань. В случае, когда инфекционные агенты попадают непосредственно в мозг или пересекают гематоэнцефалический барьер, клетки микроглии должны быстро реагировать, чтобы ограничить воспаление и уничтожить инфекционные агенты, прежде чем они повредят чувствительную нервную ткань. Из-за недоступности антител из остальной части тела (некоторые антитела достаточно малы, чтобы пересечь гематоэнцефалический барьер) микроглия должна быть способна распознавать инородные тела, поглотить их и действовать как антигенпрезентирующие клетки, активирующие Т-клетки. Поскольку этот процесс должен выполняться быстро, чтобы предотвратить потенциально смертельное повреждение, микроглиальные клетки чрезвычайно чувствительны даже к небольшим патологическим изменениям в ЦНС. Частично они достигают этой чувствительности благодаря уникальным калиевым каналам, которые реагируют даже на небольшие изменения внеклеточного калия.

[279] В контексте данного документа макрофаги по настоящему описанию включают, без ограничения, макрофаги M1, активированные макрофаги M1 и макрофаги M2. В контексте данного документа клетки микроглии по данному изобретению включают, без ограничения, клетки микроглии M1, активированные клетки микроглии M1 и клетки микроглии M2.

[280] В некоторых вариантах осуществления антитела к CD33 по данному изобретению могут увеличивать экспрессию CD80, CD83 и/или CD86 на дендритных клетках, моноцитах и/или макрофагах.

[281] В данном контексте скорость пролиферации, выживаемость и/или функция макрофагов, дендритных клеток, моноцитов, Т-клеток, нейтрофилов и/или микроглии может включать повышенную экспрессию, если скорость пролиферации, выживаемость и/или функция дендритных клеток, макрофагов, моноцитов, нейтрофилов, остеокластов, клеток Лангерганса в коже, клеток Купфера и/или микроглии у субъекта, получавшего лечение антителом к CD33 по данному изобретению, превышает скорость пролиферации, выживаемость и/или функцию дендритных клеток, макрофагов, моноцитов, остеокластов, клеток Лангерганса в коже, клеток Купфера, Т-клеток, нейтрофилов и/или микроглии у соответствующего субъекта, который не получает лечение антителом. В некоторых вариантах осуществления антитело к CD33 по данному изобретению может увеличивать скорость пролиферации, выживаемость и/или функцию дендритных клеток, макрофагов,

моноцитов, остеокластов, клеток Лангерганса в коже, клеток Купфера, Т-клеток и/или микроглии у 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 на по меньшей мере 200%, например, по сравнению со скоростью пролиферации, выживаемостью и/или функцией дендритных клеток, макрофагов, моноцитов, остеокластов, клеток Лангерганса в коже, клеток Купфера, Т-клеток и/или микроглии у соответствующего субъекта, который не получает лечение антителом. В других вариантах осуществления антитело к CD33 по данному изобретению может увеличивать скорость пролиферации, выживаемость и/или функцию дендритных клеток, макрофагов, моноцитов, остеокластов, клеток Лангерганса в коже, клеток Купфера, Т-клеток и/или микроглии у 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 раза, по меньшей мере 6,0 раз, по меньшей мере 6,5 раза, по меньшей мере 7,0 раз, по меньшей мере 7,5 раза, по меньшей мере 8,0 раз, по меньшей мере 8,5 раза, по меньшей мере 9,0 раз, по меньшей мере 9,5 раза или в по меньшей мере 10 раз, например, по сравнению со скоростью пролиферации, выживаемостью и/или функцией дендритных клеток, макрофагов, моноцитов, остеокластов, клеток Лангерганса в коже, клеток Купфера, Т-клеток и/или микроглии у соответствующего субъекта, который не получает лечение антителом.

[282] В некоторых вариантах осуществления антитела к CD33 по данному изобретению применимы для предотвращения, снижения риска возникновения или лечения патологических состояний и/или заболеваний, связанных со снижением пролиферации, выживаемости, повышенным апоптозом и/или функцией дендритных клеток, нейтрофилов, макрофагов, моноцитов, остеокластов, клеток Лангерганса в коже, клеток Купфера, Т-клеток и/или микроглии, включая, без ограничения, деменцию, лобно-височную деменцию, болезнь Альцгеймера, сосудистую деменцию, смешанную деменцию, болезнь Крейтцфельда - Якоба, нормотензивную гидроцефалию, боковой амиотрофический склероз, болезнь Хантингтона, таупатию, болезнь Насу - Хакола,

инсульт, острую травму, хроническую травму, волчанку, острый и хронический колит, ревматоидный артрит, заживление раны, болезнь Крона, воспалительное заболевание кишечника, язвенный колит, ожирение, малярию, эссенциальный тремор, волчанку центральной нервной системы, болезнь Бехчета, болезнь Паркинсона, деменцию с тельцами Леви, множественную системную атрофию, синдром Шая - Дрейджера, прогрессирующий надъядерный паралич, кортикобазальную дегенерацию, острый рассеянный энцефаломиелит, гранулематозное заболевание, саркоидоз, возрастные заболевания, судорожные приступы, травмы спинного мозга, черепно-мозговые травмы, возрастную макулярную дегенерацию, глаукому, пигментный ретинит, дегенерацию сетчатки, инфекцию дыхательных путей, сепсис, глазные инфекции, системные инфекции, волчанку, артрит, рассеянный склероз, низкую плотность костей, остеопороз, остеогенез, связанное с остеопорозом заболевание, костную болезнь Педжета, и рак, включая рак мочевого пузыря, рак головного мозга, рак молочной железы, рак толстой кишки, рак прямой кишки, рак эндометрия, рак почки, почечноклеточный рак, рак почечной лоханки, лейкоз, рак легкого, меланому, неходжкинскую лимфому, рак поджелудочной железы, рак предстательной железы, рак яичников, фибросаркому, острый лимфобластный лейкоз (ОЛЛ), острый миелоидный лейкоз (ОМЛ), хронический лимфоцитарный лейкоз (ХЛЛ), хронический миелоидный лейкоз (ХМЛ), множественную миелому, истинную полицитемию, эссенциальный тромбоцитоз, первичный или идиопатический миелофиброз, первичный или идиопатический миелосклероз, миелоидные опухоли, опухоли, экспрессирующие CD33, рак щитовидной железы; инфекции, герпес ЦНС, паразитарные инфекции, инфекцию, вызванную *Trypanosoma*, инфекцию, вызванную *Trypanosoma cruzi*, инфекцию, вызванную *Pseudomonas aeruginosa*, инфекцию, вызванную *Leishmania donovani*, инфекцию, вызванную *Streptococcus* группы В, инфекцию, вызванную *Campylobacter jejuni*, инфекцию, вызванную *Neisseria meningitidis*, ВИЧ-инфекцию I типа и инфекцию, вызванную *Haemophilus influenzae*.

CD33-зависимая активация иммунных клеток

[283] В некоторых вариантах осуществления антагонистические антитела к CD33 по данному изобретению могут увеличивать активность цитотоксических Т-клеток, Т-хелперов, или их обоих. В некоторых вариантах осуществления антагонистические антитела к CD33 по данному изобретению полезны для предотвращения, снижения риска или лечения патологических состояний и/или заболеваний, связанных со сниженной активностью цитотоксических Т-клеток, Т-хелперов, или обоих, включая без ограничения, опухоли, включая солидные опухоли, такие как рак мочевого пузыря, рак головного мозга, рак молочной железы, рак толстой кишки, рак прямой кишки, рак эндометрия, рак почки, почечноклеточный рак, рак почечной лоханки, лейкоз, рак легкого, меланому, неходжкинскую лимфому, рак поджелудочной железы, рак предстательной железы, рак яичников, фибросаркому и рак щитовидной железы.

[284] В некоторых вариантах осуществления антагонистические антитела к CD33 по данному изобретению могут вызывать увеличение пролиферации, выживаемости,

активности и/или количества Т-клеток, цитотоксических Т-клеток, CD3⁺ Т-клеток, Т-хелперов, дендритных клеток, макрофагов, моноцитов, нейтрофилов, остеокластов, клеток Лангерганса в коже, клеток Купфера и/или клеток микроглии. В некоторых вариантах осуществления изобретения антитела-агонисты к CD33 по данному изобретению индуцируют увеличение пролиферации, выживаемости, активности и/или количества Т-клеток, цитотоксических Т-клеток, CD3⁺ Т-клеток, Т-хелперов, дендритных клеток, макрофагов, моноцитов, нейтрофилов, остеокластов, клеток Лангерганса в коже, клеток Купфера и/или клеток микроглии в присутствии супрессорных клеток миелоидного происхождения (MDSC).

[285] В данном контексте скорость пролиферации, выживаемость, активность и/или количество Т-лимфоцитов, цитотоксических Т-клеток, CD3⁺ Т-клеток, Т-хелперов, дендритных клеток, макрофагов, моноцитов, нейтрофилов, остеокластов, клеток Лангерганса в коже, клеток Купфера и/или клеток микроглии могут включать повышенную скорость, если скорость пролиферации, выживаемость, активность и/или количество Т-клеток, цитотоксических Т-клеток, CD3⁺ Т-клеток, Т-хелперов, дендритных клеток, макрофагов, моноцитов, нейтрофилов, остеокластов, клеток Лангерганса в коже, клеток Купфера и/или клеток микроглии у субъекта, получавшего антитела к CD33 по данному изобретению, выше, чем скорость пролиферации, выживаемость, активность и/или количество Т-клеток, цитотоксических Т-клеток, CD3⁺ Т-клеток, Т-хелперов, дендритных клеток, макрофагов, моноцитов, нейтрофилов, остеокластов, клеток Лангерганса в коже, клеток Купфера и/или клеток микроглии у соответствующего субъекта, который не получают лечение антителом. В некоторых вариантах осуществления антитело к CD33 по данному изобретению может увеличивать пролиферацию, выживаемость, активность и/или количество Т-клеток, цитотоксических Т-клеток, CD3⁺ Т-клеток, Т-хелперов, дендритных клеток, макрофагов, моноцитов, нейтрофилов, остеокластов, клеток Лангерганса в коже, клеток Купфера и/или клеток микроглии у 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 на по меньшей мере 200%, например, по сравнению с уровнем пролиферации, выживаемости, активности, и/или с количеством Т-клеток, цитотоксических Т-клеток, CD3⁺ Т-клеток, Т-хелперов, дендритных клеток, макрофагов, например, моноцитов, нейтрофилов, остеокластов, клеток Лангерганса в коже, клеток Купфера и/или клеток микроглии у соответствующего субъекта, который не получал лечение антителом. В других вариантах

осуществления антитело к CD33 по данному изобретению может увеличивать пролиферацию, выживаемость, активность и/или количество Т-клеток, цитотоксических Т-клеток, CD3⁺ Т-клеток, Т-хелперов, дендритных клеток, макрофагов, моноцитов, нейтрофилов, остеокластов, клеток Лангерганса в коже, клеток Купфера и/или клеток микроглии у 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 раза, по меньшей мере 6,0 раз, по меньшей мере 6,5 раза, по меньшей мере 7,0 раз, по меньшей мере 7,5 раза, по меньшей мере 8,0 раз, по меньшей мере 8,5 раза, по меньшей мере 9,0 раз, по меньшей мере 9,5 раза или в по меньшей мере 10 раз, например, по сравнению с уровнем пролиферации, активности и/или количеством Т-клеток, цитотоксических Т-клеток, CD3⁺ Т-клеток, Т-хелперов, дендритных клеток, макрофагов, моноцитов, нейтрофилов, остеокластов, клеток Лангерганса в коже, клеток Купфера и/или клеток микроглии у соответствующего субъекта, который не получает лечение антителом.

CD33-зависимое ингибирование опухолевых иммунных клеток

[286] В некоторых вариантах осуществления агонистические антитела к CD33 по данному изобретению могут снижать активность, уменьшать пролиферацию, снижать выживаемость, снижать функциональность, уменьшать инфильтрацию в опухоли или лимфоидные органы (например, селезенку и лимфатические узлы), количество CD14⁺ миелоидных клеток, снижение скорости роста опухоли, уменьшать объем опухоли, уменьшать или ингибировать дифференцировку, выживаемость и/или одну или более функций супрессорных клеток миелоидного происхождения (MDSC), и/или способствовать апоптозу Т-регуляторных клеток или ингибирующих погруженных в опухоль иммуносупрессорных дендритных клеток, или опухоль-ассоциированных макрофагов, или супрессорных клеток миелоидного происхождения. В некоторых вариантах осуществления агонистические антитела к CD33 по данному изобретению полезны для предотвращения, снижения риска или лечения патологических состояний и/или заболеваний, связанных с активностью одного или более типов иммуносупрессорных клеток, включая, помимо прочего, 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, рак эндометрия, рак почки, почечноклеточный рак, рак почечной лоханки, рак легкого, меланому, неходжкинскую лимфому, рак поджелудочной железы, рак предстательной железы, рак яичников, фибросаркому, рак щитовидной железы и опухоли крови, экспрессирующие CD33, такие как лейкозные клетки.

[287] В некоторых вариантах осуществления антагонистические антитела к CD33

по данному изобретению могут уменьшать количество CD14⁺ миелоидных клеток, уменьшать скорость роста опухоли, уменьшать объем опухоли или уменьшать или ингибировать дифференциацию, выживаемость и/или одну или более функций супрессорных клеток миелоидного происхождения (MDSC).

[288] В некоторых вариантах осуществления антитело к CD33 по данному изобретению может уменьшать количество CD14⁺ миелоидных клеток, уменьшать скорость роста опухоли, уменьшать объем опухоли или уменьшать или ингибировать дифференцировку, выживаемость и/или одну или более функций супрессорных клеток миелоидного происхождения (MDSC) у 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 на по меньшей мере 200%, например, по сравнению с количеством CD14⁺ миелоидных клеток, скоростью роста опухоли, объемом опухоли или уровнем дифференцировки, выживаемостью и/или одной или более функциями супрессорных клеток миелоидного происхождения (MDSC) у соответствующего субъекта, который не получает лечение антителом. В других вариантах осуществления антитело к CD33 по данному изобретению может уменьшать количество CD14⁺ миелоидных клеток, уменьшать скорость роста опухоли, уменьшать объем опухоли или уменьшать или ингибировать дифференцировку, выживаемость и/или одну или более функций супрессорных клеток миелоидного происхождения (MDSC) у 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 раза, по меньшей мере 6,0 раз, по меньшей мере 6,5 раза, по меньшей мере 7,0 раз, по меньшей мере 7,5 раза, по меньшей мере 8,0 раз, по меньшей мере 8,5 раза, по меньшей мере 9,0 раз, по меньшей мере 9,5 раза или в по меньшей мере 10 раз, например, по сравнению с количеством CD14⁺ миелоидных клеток, скоростью роста опухоли, объемом опухоли, или уровнем дифференцировки, выживаемостью и/или одной или более функциями супрессорных клеток миелоидного происхождения (MDSC) у соответствующего субъекта, который не получает лечение антителом.

Повышенная эффективность терапевтических средств-ингибиторов контрольных точек

[289] В некоторых вариантах осуществления антагонистические антитела к CD33 по данному изобретению могут повышать эффективность одного или более терапевтических средств-ингибиторов контрольных точек и/или иммуномодулирующих терапевтических средств, например, ингибиторов PD-1, или терапевтических средств, нацеленных на один или более из CTL4, аденозинового пути, PD-L1, PD-L2, OX40, TIM3 и/или LAG3.

[290] В некоторых вариантах осуществления антитело к CD33 по данному изобретению может увеличивать эффективность одного или более терапевтических средств-ингибиторов контрольных точек и/или иммуномодулирующих терапевтических средств, таких как ингибиторы PD-1, или терапевтических средств, нацеленных на один или более из CTL4, аденозинового пути, PD-L1, PD-L2, OX40, TIM3 и/или LAG3 у субъекта, получающего такое одно или более терапевтических средств, 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 на по меньшей мере 200%, например, по сравнению с уровнем эффективности одного или более терапевтических средств-ингибиторов контрольных точек и/или иммуномодулирующих терапевтических средств, например, ингибиторов PD-1 или терапевтических средств, которые нацелены на один или более из CTL4, аденозинового пути, PD-L1, PD-L2, OX40, TIM3 и/или LAG3, у соответствующего субъекта, получающего такое одно или более терапевтических средств, которые не получают лечение антителом. В других вариантах осуществления антитело к CD33 по данному изобретению может увеличивать эффективность одного или более терапевтических средств-ингибиторов контрольных точек и/или иммуномодулирующих терапевтических средств, например, ингибиторов PD-1 или терапевтических средств, нацеленных на один или более из CTL4, аденозинового пути, PD-L1, PD-L2, OX40, TIM3, и/или LAG3 у субъекта, получающего такое одно или более терапевтических средств, 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 раза, по меньшей мере 6,0 раз, по меньшей мере 6,5 раза, по меньшей мере 7,0 раз, по меньшей мере 7,5 раза, по меньшей мере 8,0 раз, по меньшей мере 8,5 раза, по меньшей мере 9,0 раз, по меньшей мере 9,5 раза или в по меньшей мере 10 раз, например, по сравнению с уровнем эффективности одного или более терапевтических средств-ингибиторов контрольных точек и/или иммуномодулирующих терапевтических средств, например, ингибиторов PD-1 или терапевтических средств, которые нацелены на один или более из CTL4, аденозинового пути, PD-L1, PD-L2, OX40, TIM3 и/или LAG3, у соответствующего субъекта, получающего такое одно или более терапевтических средств, который не получает лечение антителом.

Повышенная эффективность химиотерапевтических средств

[291] В некоторых вариантах осуществления антагонистические антитела к CD33 по данному изобретению могут повышать эффективность одного или более химиотерапевтических агентов, таких как гемцитабин, капецитабин, антрациклины, доксорубин (Adriamycin[®]), эпирубин (Ellence[®]), таксаны, паклитаксел (Taxol[®]), доцетаксел (Taxotere[®]), 5-фторурацил (5-ФУ), циклофосфамид (Cytoxan[®]), карбоплатин (Paraplatin[®]), оксалиплатин (Elotaxin[®]), лейковорин и/или темозоломид (Temodar[®]).

[292] В некоторых вариантах осуществления антитело к CD33 по данному изобретению может повышать эффективность одного или более химиотерапевтических агентов у субъекта, получающего такое одно или более терапевтических средств, 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 на по меньшей мере 200%, например, по сравнению с уровнем эффективности одного или более химиотерапевтических агентов у соответствующего субъекта, получающего такое одно или более терапевтических средств, который не получает лечение антителом. В других вариантах осуществления антитело к CD33 по данному изобретению может повышать эффективность одного или более химиотерапевтических агентов у субъекта, получающего такое одно или более терапевтических средств, 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 раза, по меньшей мере 6,0 раз, по меньшей мере 6,5 раза, по меньшей мере 7,0 раз, по меньшей мере 7,5 раза, по меньшей мере 8,0 раз, по меньшей мере 8,5 раза, по меньшей мере 9,0 раз, по меньшей мере 9,5 раза или в по меньшей мере 10 раз, например, по сравнению с уровнем эффективности одного или более химиотерапевтических агентов у соответствующего субъекта, получающего такое одно или более терапевтических средств, которые не получают лечение антителом.

Получение антител

[293] Антитела к CD33 по данному изобретению могут включать 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, гетероконъюгатные антитела, конъюгированные антитела, антитела, полученные из библиотеки, антитела с модифицированными эффекторными функциями, слитые белки, содержащие часть антитела, и любую другую модифицированную конфигурацию молекулы иммуноглобулина, которая содержит сайт распознавания антигена, такой как эпитоп, содержащий аминокислотные остатки белка CD33 по данному изобретению, включая варианты гликозилирования антител, варианты аминокислотных последовательностей антител и ковалентно модифицированные антитела. Антитела к CD33 могут быть человеческого, мышинового, крысиного или любого другого происхождения (включая химерные или гуманизированные антитела).

(1) Поликлональные антитела

[294] Поликлональные антитела, такие как поликлональные антитела к CD33, обычно вырабатываются у животных путем множественных подкожных (п/к) или внутрибрюшинных (в/б) инъекций соответствующего антигена и адъюванта. Может быть полезно конъюгировать соответствующий антиген (например, очищенный или рекомбинантный белок CD33 по данному изобретению) с белком, который является иммуногенным для видов, подлежащих иммунизации, например, гемоцианином моллюска *Megathura crenulata* (KLH), сывороточным альбумином, бычьим тиреоглобулином или ингибитором трипсина сои с использованием бифункционального или дериватизирующего агента, например, сложного эфира малеимидобензоилсульфосукцинимиды (конъюгация через остатки цистеина), N-гидроксисукцинимиды (через остатки лизина), глутаральдегида, ангидрида янтарной кислоты, SOCl₂, или R¹N=C=NR, где R и R¹ независимо представляют собой низшие алкильные группы. Примеры адъювантов, которые можно использовать, включают полный адъювант Фрейнда и адъювант MPL-TDM (монофосфорилилипид А, синтетический дикориномиколат трегалозы). Специалист в данной области техники сможет выбрать протокол иммунизации без проведения необязательных экспериментов.

[295] Животных иммунизируют против желаемого антигена, иммуногенных конъюгатов или производных путем объединения, например, 100 мкг (для кроликов) или 5

мкг (для мышей) белка или конъюгата с 3 объемами полного адъюванта Фрейнда и внутривенной инъекции раствора в несколько участков. Через месяц животным вводят от 1/5 до 1/10 исходного количества пептида или конъюгата в полном адъюванте Фрейнда путем подкожной инъекции в несколько мест. Через семь-четырнадцать дней у животных берут кровь и анализируют сыворотку на титр антител. Животным делают бустерные инъекции до достижения плато титра. Конъюгаты также могут быть получены в культуре рекомбинантных клеток в виде слитых белков. Также агенты, вызывающие агрегацию, такие как квасцы, подходят для усиления иммунного ответа.

(2) Моноклональные антитела

[296] Моноклональные антитела, такие как моноклональные антитела к CD33, получают из популяции по существу гомогенных антител, т.е. отдельные антитела, составляющие популяцию, идентичны, за исключением возможных встречающихся в природе мутаций и/или посттрансляционных модификаций (например, изомеризации, амидации), которые могут присутствовать в незначительных количествах. Таким образом, определение «моноклональное» указывает на то, что антитело не представляет собой смесь отдельных антител.

[297] Например, моноклональные антитела к CD33 могут быть получены с использованием гибридного метода, впервые описанного Kohler et al., *Nature*, 256:495 (1975), или могут быть получены методами рекомбинантной ДНК (патент США № 4816567).

[298] В гибридном методе мышь или другое подходящее животное-хозяин, такое как хомяк, иммунизируют, как описано выше, для выработки лимфоцитов, которые продуцируют или способны продуцировать антитела, которые будут специфически связываться с белком, используемым для иммунизации (например, очищенным или рекомбинантным белком CD33 по данному изобретению). В альтернативном варианте лимфоциты можно иммунизировать *in vitro*. Лимфоциты затем сливают с клетками миеломы, используя подходящий агент для слияния, такой как полиэтиленгликоль, и получают гибридные клетки (Goding, *Monoclonal Antibodies: Principles and Practice*, pp.59-103 (Academic Press, 1986)).

[299] Иммунизирующий агент обычно будет включать антигенный белок (например, очищенный или рекомбинантный белок CD33 по данному изобретению) или его гибридный вариант. Обычно лимфоциты периферической крови («ЛПК») используются, если желательны клетки человеческого происхождения, в то время как клетки селезенки или лимфатических узлов используются, если желательны источники млекопитающих, отличных от человека. Затем лимфоциты сливаются с иммортализованной клеточной линией с использованием подходящего агента для слияния, такого как полиэтиленгликоль, с образованием гибридной клетки. Goding, *Monoclonal Antibodies: Principles and Practice*, Academic Press (1986), pp. 59-103.

[300] Иммортализованные клеточные линии обычно представляют собой трансформированные клетки млекопитающих, особенно клетки миеломы грызунов,

крупного рогатого скота или человека. Обычно используют клеточные линии миеломы крысы или мыши. Полученные таким образом гибридомные клетки высевают и выращивают в подходящей культуральной среде, которая предпочтительно содержит одно или более веществ, которые ингибируют рост или выживаемость неслитых, исходных клеток миеломы. Например, если в исходных клетках миеломы отсутствует фермент гипоксантин-гуанинфосфорибозилтрансфераза (HGPRT или HPRT), культуральная среда для гибридом, как правило, содержит гипоксантин, аминоптерин и тимидин (среда HAT), которые по существу препятствуют росту клеток с дефицитом HGPRT.

[301] Предпочтительными иммортализованными миеломными клетками являются те, которые эффективно сливаются, поддерживают стабильную продукцию антител на высоком уровне выбранными продуцирующими антитела клетками и чувствительны к среде, такой как среда HAT. Среди них предпочтительными являются линии миеломы мышей, такие как линии, полученные из опухолей мышей MOPC-21 и MPC-11 (доступные из Центра распределения клеток Института Солка, Сан-Диего, Калифорния, США), а также клетки SP-2 и их производные (например, X63-Ag8-653) (доступны из Американской коллекции типовых культур, Манассас, Вирджиния, США). Линии клеток миеломы человека и гетеромиеломы мышей и человека также были описаны как пригодные для получения человеческих моноклональных антител (Kozbor, J. Immunol., 133:3001 (1984); Brodeur et al., Monoclonal Antibody Production Techniques and Applications, pp. 51-63 (Marcel Dekker, Inc., New York, 1987)).

[302] Культуральную среду, в которой растут клетки гибридомы, анализируют в отношении выработки моноклональных антител, направленных против антигена (например, белка CD33 по данному изобретению). Предпочтительно, специфичность связывания моноклональных антител, вырабатываемых клетками гибридомы, определяют с помощью иммунопреципитации или *in vitro* анализа связывания, такого как радиоиммуноанализ (РИА) или твердофазный иммуноферментный анализ (ИФА).

[303] Культуральная среда, в которой культивируются гибридомные клетки, может быть проанализирована на наличие моноклональных антител, направленных против желаемого антигена (например, белка CD33 по данному изобретению). Предпочтительно аффинность связывания и специфичность моноклонального антитела можно определять посредством иммунопреципитации или анализа связывания *in vitro*, таким как радиоиммуноанализ (РИА) или фермент-связанный иммуносорбентный анализ (ИФА). Такие методики и анализы известны в данной области техники. Например, аффинность связывания может быть определена в анализе Скэтчарда, описанного в Munson et al., Anal. Biochem., 107:220 (1980).

[304] После идентификации клеток гибридомы, которые вырабатывают антитела с необходимой специфичностью, аффинностью и/или активностью, клоны можно субклонировать с помощью процедур предельного разведения и выращивать стандартными способами (Goding, *выше*). Подходящие для этих целей культуральные среды включают, например среду, D-MEM или RPMI-1640. Кроме того, гибридомные

клетки можно выращивать *in vivo* как опухоли у млекопитающего.

[305] Моноклональные антитела, секретируемые субклонами, подходящим образом отделяются от культуральной среды, асцитной жидкости или сыворотки с помощью обычных процедур очистки иммуноглобулинов, таких как, например, хроматография на белок А-сефарозе, хроматография с гидроксилapatитом, гель-электрофорез, диализ, аффинная хроматография и другими методами, описанные выше.

[306] Моноклональные антитела к CD33 также могут быть получены способами рекомбинантной ДНК, такими как описанные в патенте США № 4816567 и описанные выше. ДНК, кодирующая моноклональные антитела, легко выделяется и секвенируется с использованием стандартных процедур (*например*, с использованием олигонуклеотидных зондов, которые специфически связываются с генами, кодирующими тяжелую и легкую цепи мышиных антител). Гибридомные клетки служат предпочтительным источником такой ДНК. После выделения ДНК может быть помещена в векторы экспрессии, которые затем трансфицируют в клетки-хозяева, такие как клетки *E. coli*, обезьяньи клетки COS, клетки яичника китайского хомячка (СНО) или клетки миеломы, которые иначе не продуцируют белок иммуноглобулина, чтобы осуществить синтез моноклональных антител в таких рекомбинантных клетках-хозяевах. Статьи с обзорами рекомбинантной экспрессии в бактериях ДНК, кодирующей антитело, включают Skerra et al., Curr. Opin. Immunol., 5:256-262 (1993) и Plückthun, Immunol. Rev. 130:151-188 (1992).

[307] В определенных вариантах осуществления антитела к CD33 можно выделить 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) and Marks et al., J. Mol. Biol., 222:581-597 (1991) описали выделение антител мыши и человека, соответственно, из фаговых библиотек. Последующие публикации описывают получение антител человека с высокой аффинностью (наномолярный («нМ») диапазон) путем перетасовки цепей (Marks et al., Bio/Technology, 10:779-783 (1992)), а также комбинаторной инфекцией и рекомбинацией *in vivo* как стратегией создания очень больших фаговых библиотек (Waterhouse et al., Nucl. Acids Res., 21:2265-2266 (1993)). Таким образом, эти методики являются жизнеспособными альтернативами традиционным методикам гибридом моноклональных антител для выделения моноклональных антител желаемой специфичности (*например*, тех, которые связывают белок CD33 по данному изобретению).

[308] ДНК, кодирующую антитела или их фрагменты, также можно модифицировать, например, путем замены кодирующей последовательности гомологичных мышиных последовательностей на константные домены тяжелой и легкой цепей человека (патент США № 4 816 567; 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 являющегося иммуноглобулином. Как правило, такие полипептиды, не являющиеся иммуноглобулином, заменяют на константные домены антитела, или их

заменяют на переменные домены одного антигенсвязывающего сайта антитела, чтобы получить химерное двухвалентное антитело, содержащее один антигенсвязывающий сайт, имеющий специфичность к антигену, и другой антигенсвязывающий сайт, имеющий специфичность к другому антигену.

[309] Описанные в данном документе моноклональные антитела (*например*, антитела к CD33 по данному изобретению или их фрагменты) могут быть моновалентными, получение которых хорошо известно в данной области техники. Например, один метод включает рекомбинантную экспрессию легкой цепи иммуноглобулина и модифицированной тяжелой цепи. Тяжелая цепь, как правило, усечена в любой точке области Fc, чтобы предотвратить ее сшивание. Альтернативно, соответствующие остатки цистеина могут быть заменены другим аминокислотным остатком или удалены, чтобы предотвратить сшивание. Методы *in vitro* также подходят для получения моновалентных антител. Расщепление антител для получения их фрагментов, особенно фрагментов Fab, может быть выполнено с использованием стандартных способов, известных в данной области техники.

[310] Химерные или гибридные антитела к CD33 также могут быть получены *in vitro* с использованием методов, известных в химии синтетических белков, включая методы, включающие сшивающие агенты. Например, иммунотоксины могут быть сконструированы с использованием реакции дисульфидного обмена или путем образования тиоэфирной связи. Примеры подходящих реагентов для этой цели включают иминотиолат и метил-4-меркаптобутиримидат.

(3) Гуманизированные антитела

[311] Антитела к CD33 по данному изобретению или их фрагменты могут дополнительно включать гуманизированные или человеческие антитела. Гуманизированные формы антител нечеловеческого происхождения (*например*, мышиные) представляют собой химерные иммуноглобулины, цепи иммуноглобулинов или их фрагменты (такие как Fab, Fab'-SH, Fv, scFv, F(ab')₂ или другие антигенсвязывающие последовательности антител), которые содержат минимальную последовательность, полученную из иммуноглобулина нечеловеческого происхождения. Гуманизированные антитела включают иммуноглобулины человека (реципиентное антитело), в которых остатки из определяющей комплементарности области (CDR) реципиента заменены остатками из CDR отличных от человека вида (донорское антитело), такого как мышь, крыса или кролик, имеющего желаемую специфичность, аффинность и функциональную способность. В некоторых случаях остатки каркасной области Fv иммуноглобулина человека заменяют соответствующими остатками нечеловеческого происхождения. Гуманизированные антитела могут также содержать остатки, которых нет ни в реципиентном антителе, ни в импортированной CDR или каркасных последовательностях. В общем, гуманизированное антитело может содержать по существу все из по меньшей мере одного и, как правило, двух переменных доменов, в которых все или по существу все области CDR соответствуют доменам иммуноглобулина,

не относящегося к человеку, и все или по существу все области FR являются последовательностями консенсусной последовательности иммуноглобулина человека. Оптимально гуманизированное антитело также будет содержать по меньшей мере часть константной области иммуноглобулина (Fc), как правило, иммуноглобулина человека. 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).

[312] Способы гуманизации нечеловеческих антител хорошо известны в данной области техники. Как правило, гуманизированное антитело имеет один или более аминокислотных остатков, введенных в него из источника, не относящегося к человеку. Эти нечеловеческие аминокислотные остатки часто называются «импортными» остатками, которые, как правило, взяты из «импортного» переменного домена. Гуманизацию по существу можно провести по методу Винтера и соавторов, 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 антитела человека. Соответственно, такими гуманизированными антителами являются химерные антитела (патент США № 4 816 567), где существенно меньше, чем интактный человеческий переменный домен, был замещен соответствующей последовательностью из нечеловеческого вида. На практике гуманизированные антитела обычно представляют собой антитела человека, в которых некоторые остатки CDR и, возможно, некоторые остатки FR замещены остатками из аналогичных сайтов в антителах грызунов.

[313] Выбор переменных доменов человека, как легких, так и тяжелых, для использования при получении гуманизированных антител очень важен для снижения антигенности. Согласно так называемому методу «наилучшего соответствия» проводится скрининг последовательности переменного домена антитела грызуна по всей библиотеке известных человеческих последовательностей переменного домена. Человеческая последовательность, которая наиболее близка к последовательности грызуна, затем принимается за человеческую каркасную область (FR) для гуманизированного антитела. Sims et al., *J. Immunol.*, 151:2296 (1993); Chothia et al., *J. Mol. Biol.*, 196:901 (1987). В другом методе используют конкретную каркасную область, полученную из консенсусной последовательности всех человеческих антител конкретной подгруппы легких или тяжелых цепей. Аналогичную каркасную область можно использовать для нескольких различных гуманизированных антител. Carter et al., *Proc. Nat'l Acad. Sci. USA* 89:4285 (1992); Presta et al., *J. Immunol.* 151:2623 (1993).

[314] Кроме того, важно, чтобы антитела были гуманизированы с сохранением высокой аффинности к антигену и других благоприятных биологических свойств. Для достижения этой цели в соответствии с предпочтительным способом гуманизированные антитела получают путем анализа исходных последовательностей и различных концептуальных гуманизированных продуктов с использованием трехмерных моделей исходных и гуманизированных последовательностей. Трехмерные модели

иммуноглобулинов общедоступны и знакомы специалистам в данной области техники. Доступны компьютерные программы, которые иллюстрируют и отображают возможные трехмерные конформационные структуры выбранных последовательностей иммуноглобулинов-кандидатов. Изучение этих изображений позволяет анализировать вероятную роль остатков в функционировании последовательности иммуноглобулина-кандидата, *т. е.*, анализ остатков, которые влияют на способность иммуноглобулина-кандидата связывать его антиген. Таким образом, остатки FR могут быть выбраны и скомбинированы из реципиентной и импортируемой последовательностей, так что достигается желаемая характеристика антитела, такая как повышенная аффинность к целевому антигену или антигенам (например, белкам CD33 по данному изобретению). В целом, остатки CDR непосредственно и в существенной степени вовлечены в связывание антигена.

[315] Предусмотрены различные формы гуманизированного антитела к CD33. Например, гуманизированное антитело к CD33 может представлять собой фрагмент антитела, такой как Fab, который необязательно конъюгирован с одним или более цитотоксическим агентом (агентами) с целью образования иммуноконъюгата. Альтернативно, гуманизированное антитело к CD33 может быть интактным антителом, таким как интактное антитело IgG1.

(4) Фрагменты антител

[316] В определенных вариантах осуществления имеются преимущества использования фрагментов антител к CD33, а не целых антител к CD33. Меньшие размеры фрагментов обеспечивают быстрый клиренс и лучшее проникновение в головной мозг.

[317] Были разработаны различные способы для получения фрагментов антител. Традиционно данные фрагменты были получены путем протеолитического расщепления интактных антител (*см., например*, Morimoto et al., J. Biochem. Biophys. Method. 24:107-117 (1992); и Brennan et al., Science 229:81 (1985)). Однако сейчас эти фрагменты можно получать непосредственно из рекомбинантных клеток-хозяев, например, с использованием нуклеиновых кислот, кодирующих антитела к CD33 по данному изобретению. Все из фрагментов Fab, Fv и scFv антител могут экспрессироваться в *E. coli* и секретироваться из них, обеспечивая, таким образом, легкое получение больших количеств этих фрагментов. Фрагменты антител к CD33 также можно выделить из фаговых библиотек антител, как обсуждалось выше. Альтернативно, фрагменты Fab'-SH можно непосредственно выделять из *E. coli* и химически связывать с образованием фрагментов F(ab')₂ (Carter et al., Bio/Technology 10:163-167 (1992)). В соответствии с другим подходом фрагменты F(ab')₂ можно выделять непосредственно из культуры рекомбинантных клеток-хозяев. Получение фрагментов антител Fab и F(ab')₂ с увеличенным временем полужизни *in vivo* описано в патенте США № 5 869 046. В других вариантах осуществления выбранное антитело представляет собой одноцепочечный фрагмент Fv (scFv). См. WO 93/16185; патент США № 5 571 894 и патент США № 5 587 458. Фрагмент антитела к CD33 также может представлять собой «линейное антитело»,

например, как описано в патенте США № 5 641 870. Такие линейные фрагменты антител могут быть моноспецифическими или биспецифическими.

(5) Биспецифические и полиспецифические антитела

[318] Биспецифические антитела (бсАт) представляют собой антитела, которые обладают специфичностью связывания по меньшей мере с двумя разными эпитопами, включая эпитопы одного и того же или другого белка (*например*, одного или более белков CD33 по данному изобретению). В качестве альтернативы, одна часть бсАТ может быть нацелена на связывание с целевым антигеном CD33, а другая может быть объединена с плечом, которое связывается со вторым белком. Такие антитела могут быть получены из полноразмерных антител или фрагментов антител (*например*, $F(ab')_2$ биспецифических антител).

[319] Способы получения биспецифических антител известны в данной области техники. Традиционное получение полноразмерных биспецифических антител основано на коэкспрессии двух пар тяжелая цепь/легкая цепь иммуноглобулина, где две цепи имеют разные специфичности. Millstein et al., Nature, 305:537-539 (1983). Из-за случайного распределения тяжелой и легкой цепей иммуноглобулина эти гибридомы (квадромы) продуцируют потенциальную смесь 10 различных молекул антител, из которых только одна имеет правильную биспецифическую структуру. Очистка нужной молекулы, которую, как правило, проводят с помощью аффинной хроматографии, довольно обременительна, а выход продукта низок. Подобные процедуры описаны в WO 93/08829 и в Traunecker et al., EMBO J., 10:3655-3659 (1991).

[320] Согласно другому подходу переменные домены антитела с желаемой специфичностью связывания (сайты объединения антитело-антиген) сливают с последовательностями константных доменов иммуноглобулина. Слияние предпочтительно происходит с константным доменом тяжелой цепи иммуноглобулина, содержащим по меньшей мере часть шарнирной области, области C_{H2} и C_{H3} . Предпочтительно, чтобы первая константная область тяжелой цепи (C_{H1}), содержащая сайт, необходимый для связывания легкой цепи, присутствовала по меньшей мере в одном из гибридов. ДНК, кодирующие гибриды тяжелой цепи иммуноглобулина и, если желательно, легкую цепь иммуноглобулина, вставляют в отдельные векторы экспрессии и совместно трансфицируют в подходящий организм-хозяин. Это обеспечивает большую гибкость в регулировании взаимных пропорций трех полипептидных фрагментов в вариантах осуществления, когда неравные соотношения трех полипептидных цепей, используемых в конструкции, обеспечивают оптимальные выходы. Однако можно вставить кодирующие последовательности для двух или всех трех полипептидных цепей в один вектор экспрессии, когда экспрессия по меньшей мере двух полипептидных цепей в равных соотношениях приводит к высоким выходам или когда соотношения не имеют особого значения.

[321] В предпочтительном варианте этого подхода биспецифические антитела состоят из тяжелой цепи гибридного иммуноглобулина с первой специфичностью

связывания в одном плече и пары тяжелой цепи-легкой цепи гибридного иммуноглобулина (обеспечивающей вторую специфичность связывания) в другом плече. Было обнаружено, что эта асимметричная структура облегчает отделение желаемого биспецифического соединения от нежелательных комбинаций цепей иммуноглобулина, поскольку присутствие легкой цепи иммуноглобулина только в половине биспецифических молекул обеспечивает простой способ разделения. Этот подход описан в WO 94/04690. Для получения дополнительных сведений о создании биспецифических антител см., например, Suresh et al., *Methods in Enzymology* 121: 210 (1986).

[322] Согласно другому подходу, описанному в WO 96/27011 или патенте США № 5731168, граница взаимодействия между парой молекул антител может быть сконструирована так, чтобы максимально увеличить процент гетеродимеров, извлекаемых из культуры рекомбинантных клеток. Предпочтительная поверхность взаимодействия содержит по меньшей мере часть области C_{H3} константного домена антитела. В этом способе одна или более небольших боковых цепей аминокислот на поверхности взаимодействия первой молекулы антитела заменяются более крупными боковыми цепями (*например*, тирозином или триптофаном). Компенсирующие «полости» идентичного или сходного размера с большой боковой цепью(-ями) создаются на границе раздела второй молекулы антитела путем замены больших боковых цепей аминокислот на более мелкие (*например*, аланин или треонин). Это обеспечивает механизм увеличения выхода гетеродимера по сравнению с другими нежелательными конечными продуктами, такими как гомодимеры.

[323] Методы получения биспецифических антител из фрагментов антител описаны в литературе. Например, биспецифические антитела можно получить с использованием химического связывания. Brennan et al., *Science* 229:81 (1985) описывают процедуру, при которой интактные антитела протеолитически расщепляются с образованием фрагментов $F(ab')_2$. Эти фрагменты восстанавливаются в присутствии натрия арсенита, образующего комплекс с дитиолом, для стабилизации вицинальных дитиолов и предотвращения образования межмолекулярных дисульфидов. Затем полученные фрагменты Fab' превращают в производные тионитробензоата (TNB). Затем одно из производных Fab' -TNB снова превращают в производное Fab' -TNB с образованием биспецифического антитела. Полученные биспецифические антитела можно использовать в качестве агентов для селективной иммобилизации ферментов.

[324] Фрагменты Fab' можно непосредственно выделять из *E. coli* и химически связывать для образования биспецифических антител. Shalaby et al., *J. Exp. Med.* 175: 217-225 (1992) описывает получение молекул полностью гуманизированного биспецифического антитела $F(ab')_2$. Каждый фрагмент Fab' отдельно секретируется из *E. coli* и подвергался направленному химическому связыванию *in vitro* с образованием биспецифического антитела. Образованное таким образом биспецифическое антитело было способно связываться с клетками, сверхэкспрессирующими рецептор ErbB2, и нормальными Т-клетками человека, а также запускать литическую активность

цитотоксических лимфоцитов человека против опухолей молочной железы человека.

[325] Также были описаны различные методы получения и выделения фрагментов бивалентных антител непосредственно из культуры рекомбинантных клеток. Например, двухвалентные гетеродимеры были получены с использованием лейциновых молний. Kostelny et al., *J. Immunol.*, 148(5):1547-1553 (1992). Пептиды типа лейциновой молнии из белков Fos и Jun были связаны с Fab' частями двух различных антител путем слияния генов. Гомодимеры антител восстанавливались в шарнирной области с образованием мономеров, а затем повторно окислялись с образованием гетеродимеров антител. Технология «диатела», описанная в Hollinger et al., *Proc. Nat'l Acad. Sci. USA*, 90: 6444-6448 (1993), обеспечила альтернативный механизм получения фрагментов биспецифических/двухвалентных антител. Фрагменты содержат переменный домен тяжелой цепи (V_H), соединенный с переменным доменом легкой цепи (V_L) с помощью линкера, который является слишком коротким, чтобы позволить объединение двух доменов в одной цепи. Соответственно, домены V_H и V_L одного фрагмента вынуждены объединяться с комплементарными доменами V_L и V_H другого фрагмента, тем самым образуя два антигенсвязывающих сайта. Сообщалось также о другой стратегии получения фрагментов биспецифических/бивалентных антител с использованием димеров одноцепочечного Fv (sFv). См. Gruber et al., *J. Immunol.*, 152:5368 (1994).

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

[327] Типичные биспецифические антитела могут связываться с двумя разными эпитопами данной молекулы (например, с белком CD33 по данному изобретению). В качестве альтернативы, плечо, нацеленное на сигнальный компонент CD33, может быть объединено с плечом, которое связывается с триггерной молекулой на лейкоците, такой как молекула рецептора Т-клеток (например, CD2, CD3, CD28 или B7), или Fc-рецепторы для IgG (FcγR), такой как FcγRI (CD64), FcγRII (CD32) и FcγRIII (CD16), чтобы сфокусировать клеточные защитные механизмы на клетке, экспрессирующей конкретный белок. Биспецифические антитела также могут использоваться для локализации цитотоксических агентов в клетках, которые экспрессируют конкретный белок. Такие антитела имеют плечо, связывающее белок, и плечо, которое связывает цитотоксический агент или хелатор радионуклидов, такой как EOTUBE, DPTA, DOTA или TETA. Другое представляющее интерес биспецифическое антитело связывает представляющий интерес белок и дополнительно связывает тканевой фактор (ТФ).

(6) Поливалентные антитела

[328] Поливалентное антитело может быть интернализировано (и/или катаболизировано) клеткой, экспрессирующей антиген, с которым связываются антитела, быстрее, чем бивалентное антитело. Антитела к CD33 по данному изобретению или их фрагменты могут быть поливалентными антителами (которые не относятся к классу IgM) с тремя или более сайтами связывания антигена (например, четырехвалентными

антителами), которые могут быть легко получены путем рекомбинантной экспрессии нуклеиновой кислоты, кодирующей полипептидные цепи антитела. Мультивалентное антитело может содержать домен димеризации и три или более антигенсвязывающих сайтов. Предпочтительный домен димеризации содержит область Fc или шарнирную область. В этом случае антитело будет содержать область Fc и три или более антигенсвязывающих сайтов, расположенных аминокислотами к области Fc. Предпочтительное поливалентное антитело в данном документе содержит от трех до около восьми, но предпочтительно четыре антигенсвязывающих сайта. Поливалентное антитело содержит по меньшей мере одну полипептидную цепь (и предпочтительно две полипептидные цепи), причем полипептидная цепь или цепи содержат два или более переменных домена. 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 области Fc, X1 и X2 представляют собой аминокислоту или полипептид, а n равно 0 или 1. Подобным образом полипептидная цепь или цепи могут содержать VH-CH1-гибкий линкер-VH-CH1-цепь области Fc; или VH-CH1-VH-CH1-цепь области Fc. Поливалентное антитело в данном документе предпочтительно дополнительно содержит по меньшей мере два (а предпочтительно четыре) полипептида переменного домена легкой цепи. Поливалентное антитело в данном документе может, например, содержать от около двух до около восьми полипептидов переменного домена легкой цепи. Рассматриваемые в данном документе полипептиды переменного домена легкой цепи содержат переменный домен легкой цепи и, необязательно дополнительно содержат домен CL. Поливалентные антитела могут распознавать антиген CD33, а также, без ограничения, дополнительные антигены бета-пептида, антиген или антиген белка альфа-синуклаина, или антиген белка тау, или антиген белка TDP-43, или антиген прионного белка, или белковый антиген гентингтин, или RAN, антиген продуктов трансляции, включая дипептидные повторы, (пептиды DPR), состоящие из глицин-аланина (GA), глицин-пролина (GP), глицин-аргинина (GR), пролин-аланина (PA) или пролин-аргинин (PR), рецептор инсулина, рецептор инсулиноподобного фактора роста, рецептор трансферрина или любой другой антиген, который облегчает перенос антител через гематоэнцефалический барьер.

(7) Гетероконъюгатные антитела

[329] Гетероконъюгированные антитела также входят в объем данного изобретения. Гетероконъюгатные антитела состоят из двух ковалентно связанных антител (например, антител к CD33 по данному изобретению или их фрагментов). Например, одно из антител в гетероконъюгате может быть связано с авидином, другое - с биотином. Такие антитела были, например, предложены для нацеливания клеток иммунной системы на нежелательные клетки, патент США № 4676980, и были использованы для лечения ВИЧ-инфекции. Международные публикации WO 91/00360, WO 92/200373 и EP 0308936. Предполагается, что антитела могут быть получены *in vitro* с использованием способов,

известных в химии синтетических белков, включая способы, включающие сшивающие агенты. Например, иммунотоксины могут быть сконструированы с использованием реакции дисульфидного обмена или путем образования тиоэфирной связи. Примеры подходящих реагентов для этой цели включают иминотиолат и метил-4-меркаптобутиримидат, а также те, что описаны, например, в патенте США № 4676980. Гетероконъюгатные антитела можно получить с использованием любых удобных способов сшивания. Подходящие сшивающие агенты хорошо известны в данной области техники и описаны в патенте США № 4 676 980 вместе с рядом методик сшивания.

(8) Модификация эффекторной функции

[330] Также может быть желательно модифицировать антитело к CD33 по данному изобретению для модификации эффекторной функции и/или увеличения периода полужизни антитела в сыворотке. Например, сайт связывания рецептора Fc в константной области может быть модифицирован или мутирован для удаления или уменьшения аффинности связывания с определенными рецепторами Fc, такими как FcγRI, FcγRII и/или FcγRIII. В некоторых вариантах осуществления эффекторная функция нарушается при удалении N-гликозилирования области Fc (*например*, в домене CH 2 IgG) антитела. В некоторых вариантах осуществления эффекторная функция нарушается путем модификации областей, таких как 233-236, 297 и/или 327-331 IgG человека, 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).

[331] Для увеличения периода полужизни антитела в сыворотке можно включить эпитоп, связывающий рецептор спасения, в антитело (особенно во фрагмент антитела), как описано, например, в патенте США 5739277. Используемый в данном документе термин «*эпитоп, связывающий рецептор реутилизации*» относится к эпитопу области Fc молекулы IgG (например, IgG₁, IgG₂, IgG₃, или IgG₄), который отвечает за увеличение *in vivo* времени полужизни в сыворотке молекула IgG.

(9) Другие модификации аминокислотной последовательности

[332] Также рассматриваются модификации аминокислотной последовательности антител к CD33 по данному изобретению или их фрагментов. Например, может быть желательно улучшить аффинность связывания и/или другие биологические свойства антител или фрагментов антител. Варианты аминокислотной последовательности антител или фрагментов антител получают путем внесения соответствующих нуклеотидных изменений в нуклеиновую кислоту, кодирующую антитела или фрагменты антител, или путем пептидного синтеза. Такие модификации включают, например, делеции и/или вставки, и/или замены остатков в аминокислотных последовательностях антитела. Любая комбинация делеции, вставки и замещения производится для получения окончательной конструкции при условии, что конечная конструкция обладает требуемыми характеристиками (*т.е.*, способность связываться или физически взаимодействовать с белком CD33 по данному изобретению). Изменения аминокислот также могут изменять посттрансляционные процессы в антителе, такие как изменение числа или положения

сайтов гликозилирования.

[333] Полезный способ идентификации определенных остатков или областей антитела к CD33, которые являются предпочтительными местами для мутагенеза, называется «аланин-сканирующим мутагенезом», как описано Cunningham и Wells в Science, 244:1081-1085 (1989). В данном документе идентифицируют остаток или группу остатков-мишеней (*например*, заряженных остатков, таких как arg, asp, his, lys и glu) и заменяют нейтральной или отрицательно заряженной аминокислотой (наиболее предпочтительно - аланином или полиаланином), чтобы повлиять на взаимодействие аминокислот в пределах целевого антигена. Те положения аминокислот, которые демонстрируют функциональную чувствительность к замещениям, затем уточняют введением дополнительных или других вариантов на сайтах замещения или около них. Таким образом, хотя сайт для введения вариации аминокислотной последовательности предопределен, природа мутации *как таковая* не должна быть предопределена. Например, для анализа эффективности мутации в данном сайте проводится аланиновое сканирование или случайный мутагенез в целевом кодоне или области, а экспрессируемые варианты антител подвергают скринингу в отношении желаемой активности.

[334] Инсерции аминокислотной последовательности включают amino- («N») и/или карбокси- («C») концевые слияния, имеющие длину в диапазоне от одного остатка до полипептидов, содержащих сто или более остатков, а также вставки внутри последовательности одного или нескольких аминокислотных остатков. Примеры концевых вставок включают антитело с N-концевым остатком метионила или антитело, слитое с цитотоксическим полипептидом. Другие инсерционные варианты молекулы антитела включают слияние N- или C-конца антитела с ферментом или полипептидом, что увеличивает время полужизни антитела в сыворотке.

[335] Другой тип варианта представляет собой вариант с заменой аминокислот. В этих вариантах по меньшей мере один аминокислотный остаток в молекуле антитела заменен другим остатком. Сайты, представляющие наибольший интерес для замещающего мутагенеза, включают гипервариабельные области, но также рассматриваются изменения FR. Консервативные замены показаны в **таблице D** ниже под заголовком «предпочтительные замены». Если такие замены приводят к изменению биологической активности, то могут быть введены более существенные изменения, обозначенные в **таблице D** как «иллюстративные замены», или как дополнительно описано в отношении классов аминокислот, а продукты могут быть подвергнуты скринингу.

Таблица D: Аминокислотные замены

Исходный остаток	Иллюстративные замены	Предпочтительные замещения
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

[336] Существенные модификации биологических свойств антитела осуществляют путем выбора замен, которые существенно отличаются по своему влиянию на сохранение (а) структуры полипептидного остова в области замены, например, в виде складчатой или спиральной конформации, (b) заряда или гидрофобности молекулы в целевом сайте или (с) объема боковой цепи. Встречающиеся в природе остатки возможно разделить на группы, основанные на общих свойствах боковой цепи:

- (1) гидрофобные: норлейцин, met, ala, val, leu, ile;
- (2) нейтральные гидрофильные: cys, ser, thr;
- (3) кислые: asp, glu;
- (4) основные: asn, gln, his, lys, arg;
- (5) остатки, которые влияют на ориентацию цепи: gly, pro; и
- (6) ароматические: trp, tyr, phe.

[337] Неконсервативные замены подразумевают замену представителя одного из этих классов представителем другого класса.

[338] Любой цистеиновый остаток, не участвующий в поддержании надлежащей конформации антитела, также может быть замещен, как правило, серином, для улучшения устойчивости молекулы к окислению и предотвращения аберрантного сшивания. И наоборот, цистеиновые связи могут быть добавлены к антителу для улучшения его

стабильности (в частности, когда антитело является фрагментом антитела, таким как фрагмент Fv).

[339] Особенно предпочтительный тип варианта с заменой включает замену одного или более остатков гипервариабельной области исходного антитела (*например*, гуманизированного или человеческого антитела к CD33). Как правило, полученные варианты, выбранные для дальнейшей разработки, будут иметь улучшенные биологические свойства относительно исходного антитела, из которого они образуются. Удобный способ генерации таких вариантов замещения включает созревание аффинности с использованием фагового дисплея. Вкратце, несколько сайтов гипервариабельной области (*например*, 6-7 сайтов) подвергаются мутации для генерации всех возможных аминокислотных замещений на каждом сайте. Полученные таким образом варианты антител подвергаются дисплею одновалентным способом из филаментных фаговых частиц в виде слияний с продуктом гена Φ M13, упакованным в каждую частицу. Подвергнутые фаговому дисплею варианты затем подвергаются скринингу для оценки биологической активности (*например*, аффинности связывания) в соответствии с приведенным в данном документе описанием. Чтобы идентифицировать потенциальные сайты гипервариабельных регионов для модификации может быть выполнен аланиновый сканирующий мутагенез для идентификации остатков гипервариабельной области, значительно способствующих связыванию антигена. В качестве альтернативы или дополнительно, может быть полезно проанализировать кристаллическую структуру комплекса антиген-антитело для определения точек контакта между антителом и антигеном (*например*, белком CD33 по данному изобретению). Такие контактные остатки и соседние остатки являются кандидатами на замену в соответствии со способами, разработанными в данном документе. Когда такие варианты получены, панель вариантов подвергается скринингу, в соответствии с описанием, предоставленным в данном документе, и антитела с превышающими прочие свойствами в одном или более соответствующих анализах могут быть выбраны для дальнейшей разработки. Аффинное созревание также может быть выполнено с применением методики представления дрожжей, такой как раскрыта, например, в WO2009/036379A2; WO2010105256; WO2012009568; and Xu et al., Protein Eng. Des. Sel., 26(10): 663-70 (2013).

[340] Другой тип аминокислотного варианта антитела изменяет исходный паттерн гликозилирования антитела. Под изменением подразумевается делеция одного или более углеводных фрагментов, обнаруженных в антителе, и/или добавление одного или более сайтов гликозилирования, которые не представлены в антителе.

[341] Гликозилирование антител, как правило, является N-связанным или O-связанным. N-связанное относится к присоединению углеводного фрагмента к боковой цепи аспарагинового остатка. Трипептидные последовательности аспарагин-X-серин и аспарагин-X-треонин, где X представляет собой любую аминокислоту, кроме пролина, являются последовательностями распознавания для ферментативного присоединения углеводного фрагмента к боковой цепи аспарагина. Таким образом, присутствие любой из

этих трипептидных последовательностей в полипептиде создает потенциальный сайт гликозилирования. О-связанное гликозилирование относится к присоединению одного из сахаров N-ацетилгалактозамина, галактозы или ксилозы к гидроксиаминокислоте, чаще всего серину или треонину, хотя также могут быть использованы 5-гидроксипролин или 5-гидроксизин.

[342] Добавление сайтов гликозилирования к антителу обычно осуществляют путем изменения аминокислотной последовательности таким образом, чтобы она содержала одну или несколько описанных выше трипептидных последовательностей (для сайтов N-связанного гликозилирования). Изменение может также быть выполнено путем добавления одного или более остатков серина или треонина в последовательность исходного антитела или замещения ими (для сайтов О-связанного гликозилирования).

[343] Молекулы нуклеиновой кислоты, кодирующие варианты аминокислотной последовательности антитела к IgE, получают с помощью множества способов, известных в данной области техники. Эти методы включают, без ограничения, выделение из природного источника (в случае встречающихся в природе вариантов аминокислотной последовательности) или приготовление с помощью олигонуклеотид-опосредованного (или сайт-направленного) мутагенеза, мутагенеза ПЦР и кассетного мутагенеза более раннего приготовленного варианта или невариантная версия антител (*например*, антитела против CD33 по данному изобретению) или фрагментов антител.

(10) Конъюгаты антитела

[344] Антитела к CD33 по данному изобретению или их фрагменты могут быть конъюгированы с детектируемым маркером, токсином или терапевтическим агентом. Можно использовать любой подходящий способ, известный в данной области техники, для конъюгирования молекул, таких как детектируемый маркер, токсин или терапевтический агент, с антителами.

[345] Например, конъюгация лекарственного средства включает связывание биологически активной цитотоксической (противоопухолевой) полезной нагрузки или лекарственного средства с антителом, которое специфически нацелено на определенный опухолевый маркер (например, белок, который в идеале должен находиться только в опухолевых клетках или на них). Антитела отслеживают эти белки в организме и прикрепляются к поверхности раковых клеток. Биохимическая реакция между антителом и целевым белком (антигеном) запускает сигнал в опухолевой клетке, которая затем поглощает или интернализует антитело вместе с цитотоксином. После того, как ADC усваивается, цитотоксическое лекарственное средство высвобождается и уничтожает рак. Благодаря такому нацеливанию лекарственное средство в идеале имеет меньшие побочные эффекты и дает более широкое терапевтическое окно, чем другие химиотерапевтические агенты. Раскрытые методы конъюгирования антител известны в данной области техники (*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).

[346] В некоторых вариантах осуществления антитело к CD33 по данному изобретению может быть конъюгировано с токсином, выбранным из рицина, А-цепи рицина, доксорубина, даунорубина, майтансиноида, таксола, бромистого этидия, митомицина, этопозиды, тенопозиды, винкристина, винбластина, колхицина, дигидроксиантрациндина, актиномицина, дифтерийного токсина, экзотоксина А *Pseudomonas* (PE), PE40, абрина, цепи А абрина, цепи А модекцина, альфа-сарцина, гелонина, митогеллина, ретстриктоцина, феномицина, эномицина, курицина, кротина, калихеамицина, ингибитора *Saponaria officinalis*, глюкокортикоида, ауристатина, аурамицина, иттрия, висмута, комбрестатина, дуокармицина, доластатина, ccl065 и цисплатина.

(11) Другие модификации антител

[347] Антитела к CD33 по данному изобретению или их фрагменты могут быть дополнительно модифицированы для включения дополнительных небелковых фрагментов, которые известны в данной области техники и легко доступны. Предпочтительно фрагменты, подходящие для дериватизации антитела, представляют собой водорастворимые полимеры. Неограничивающие примеры водорастворимых полимеров включают, но не ограничиваются ими, полиэтиленгликоль (ПЭГ), сополимеры этиленгликоля/пропиленгликоля, карбоксиметилцеллюлозу, декстран, поливиниловый спирт, поливинилпирролидон, поли-1, 3-диоксолан, поли-1,3,6-триоксан, сополимер этилена/малеинового ангидрида, полиаминокислоты (или гомополимеры, или статистические сополимеры), декстран или поли(п-винилпирролидон)полиэтиленгликоль, гомополимеры пропропиленгликоля, сополимеры оксида/этиленоксида, полиоксиэтилированные полиолы (*например*, глицерин), поливиниловый спирт и их смеси. Полиэтиленгликоль пропиональдегид может иметь преимущество при производстве вследствие его стабильности в воде. Указанный полимер может обладать любой молекулярной массой и быть разветвленным или неразветвленным. Количество полимеров, присоединенных к антителу, может изменяться и, в случае присоединения более одного полимера, они могут представлять собой одинаковые или разные молекулы. В целом, количество и/или тип полимеров, используемых для дериватизации, можно определить с учетом факторов, включающих, но не ограничиваются ими, конкретные свойства или функции антитела, подлежащие улучшению, независимо от того, будет ли производное антитела использоваться в терапии при определенных условиях и *тому подобное*. Такие методики и другие подходящие составы раскрыты в Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 20th Ed., Alfonso Gennaro, Ed., Philadelphia College of Pharmacy and Science (2000).

Анализ связывания и другие анализы

[348] Антитела к CD33 по данному изобретению можно тестировать на антигенсвязывающую активность, *например*, известными методами, такими как ИФА, поверхностный плазмонный резонанс (ППР), вестерн-блоттинг и *т.д.*

[349] В некоторых вариантах осуществления конкурентные анализы могут

использоваться для идентификации антитела, которое конкурирует с любым из антител, описанных в данном документе. В некоторых вариантах осуществления конкурентные анализы могут использоваться для идентификации антитела, которое конкурирует с любым из антител, приведенных в **таблицах 1A-1C, 2A-3C, 3, 4, 5A-5D и 6A-6D**, 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 определенных вариантах осуществления такое конкурирующее антитело связывается с одним и тем же эпитопом (например, линейным или конформационным эпитопом), который связывается любым из антител, приведенных в **таблицах 1A-1C, 2A-2C, 3, 4, 5A-5D, и 6A-6D**, 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 иллюстративных способов картирования эпитопа, с которым связывается антитело, представлено в Morris (1996) "Epitope Mapping Protocols," in *Methods in Molecular Biology* vol. 66 (Humana Press, Totowa, NJ).

[350] В иллюстративном конкурентном анализе иммобилизованный CD33 или клетки, экспрессирующие CD33 на клеточной поверхности, инкубируют в растворе, содержащем первое меченое антитело, которое связывается с CD33 (*например*, человека или отличного от человека примата), и второе немеченое антитело, которое исследуют в отношении его способности 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, допускающих связывание первого антитела с CD33, избыток несвязавшегося 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 на то, 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

[351] Антитела к CD33 по данному изобретению могут быть получены с использованием рекомбинантных способов и композиций, *например*, как описано в патенте США № 4 816 567. В некоторых вариантах осуществления представлены выделенные нуклеиновые кислоты, имеющие нуклеотидную последовательность, кодирующую любое из антител к CD33 по данному изобретению. Такие нуклеиновые кислоты могут кодировать аминокислотную последовательность, содержащую VL, и/или аминокислотную последовательность, содержащую VH антитела к CD33 (*например*, легкую и/или тяжелую цепи антитела). В некоторых вариантах осуществления предложены один или более векторов (*например*, векторов экспрессии), содержащих такие нуклеиновые кислоты. В некоторых вариантах осуществления также предложена 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, кодирующую 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 (СНО) или лимфоидной клеткой (*например*, клеткой Y0, NS0, Sp20).

[352] Предоставлены способы получения антитела к CD33 по данному изобретению. В некоторых вариантах осуществления способ включает культивирование клетки-хозяина по данному изобретению, содержащей нуклеиновую кислоту, кодирующую антитело к CD33, в условиях, подходящих для экспрессии антитела. В некоторых вариантах осуществления антитело впоследствии выделяют из клетки-хозяина (или культуральной среды клетки-хозяина).

[353] Для рекомбинантного получения антитела к CD33 по данному изобретению нуклеиновую кислоту, кодирующую антитело к CD33, выделяют и вставляют в один или более векторов для дальнейшего клонирования и/или экспрессии в клетке-хозяине. Такая нуклеиновая кислота может быть легко выделена и секвенирована с использованием общепринятых способов (*например*, с использованием олигонуклеотидных зондов, которые способны специфически связываться с генами, которые кодируют тяжелые и легкие цепи антитела).

[354] Подходящие векторы, содержащие последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующую любое из антител к CD33 по данному изобретению, или их фрагменты, полипептиды (включая антитела), описанные в данном документе, включают, без ограничения, векторы клонирования и векторы экспрессии. Подходящие векторы для клонирования могут быть сконструированы в соответствии со стандартными методами или могут быть выбраны из большого числа векторов клонирования, доступных в данной

области техники. Хотя выбранный вектор клонирования может варьироваться в зависимости от клетки-хозяина, предназначенной для использования, полезные векторы клонирования, как правило, обладают способностью к саморепликации, могут иметь одну мишень для конкретной рестрикционной эндонуклеазы и/или могут нести гены для маркера, который может быть использован при отборе клонов, содержащих вектор. Подходящие примеры включают плазмиды и бактериальные вирусы, например pUC18, pUC19, Bluescript (например, pBS SK+) и его производные, mpl8, mpl9, pBR322, pMB9, ColE1, pCR1, RP4, ДНК фага и челночные векторы, такие как pSA3 и pAT28. Эти и многие другие векторы клонирования доступны от коммерческих поставщиков, таких как BioRad, Strategene и Invitrogen.

[355] Векторы экспрессии, как правило, представляют собой реплицируемые полинуклеотидные конструкции, которые содержат нуклеиновую кислоту по данному изобретению. Вектор экспрессии может реплицироваться в клетках-хозяевах либо в виде эписом, либо в качестве неотъемлемой части хромосомной ДНК. Подходящие векторы экспрессии включают, без ограничения, плазмиды, вирусные векторы, включая аденовирусы, аденоассоциированные вирусы, ретровирусы, космиды и вектор(ы) экспрессии, раскрытые в публикации РСТ № WO 87/04462. Компоненты вектора могут обычно включать, без ограничения, одно или более из следующего: сигнальную последовательность; источник репликации; один или более маркерных генов; подходящие элементы, контролирующие транскрипцию (такие как промоторы, энхансеры и терминатор). Для экспрессии (т.е. трансляции) обычно также требуются один или более элементов, контролирующих трансляцию, таких как сайты связывания рибосом, сайты инициации трансляции и стоп-кодона.

[356] Векторы, содержащие интересующие нуклеиновые кислоты, могут быть введены в клетку-хозяина любым из ряда подходящих методов, включая электропорацию, трансфекцию с использованием хлорида кальция, хлорида рубидия, фосфата кальция, DEAE-декстрана или других веществ; бомбардировки микрочастицами; липофекции; и инфекция (например, когда вектор представляет собой инфекционный агент, такой как вирус осповакцины). Выбор векторов для введения или полинуклеотидов часто зависит от характеристик клетки-хозяина. В некоторых вариантах осуществления вектор содержит нуклеиновую кислоту, содержащую одну или более аминокислотных последовательностей, кодирующих антитело к CD33 по данному изобретению.

[357] Клетки-хозяева, подходящие для клонирования или экспрессии векторов, кодирующих антитело, включают прокариотические или эукариотические клетки. Например, антитела к CD33 могут продуцироваться в бактериях по данному изобретению, в частности, когда гликозилирование и эффекторная функция Fc не нужны. Для экспрессии фрагментов антител и полипептидов в бактериях (*например*, патенты США № 5 648 237, 5 789 199, и 5 840 523; и Charlton, *Methods in Molecular Biology*, Vol. 248 (B.K.C. Lo, ed., Humana Press, Totowa, NJ, 2003), pp. 245-254, в которых описана экспрессия фрагментов антител в *E. coli*). После экспрессии антитело может быть выделено из пасты

бактериальных клеток в растворимой фракции и может быть дополнительно очищено.

[358] В дополнение к прокариотам, эукариотические микроорганизмы, такие как мицелиальные грибы или дрожжи, также являются подходящими хозяевами для клонирования или экспрессии для векторов, кодирующих антитела, включая штаммы грибов и дрожжей, чьи пути гликозилирования были «гуманизированы», что приводит к продукции антител с частичным или полностью человеческим профилем гликозилирования (*например*, Gerngross, Nat. Biotech. 22:1409-1414 (2004); and Li et al., Nat. Biotech. 24:210-215 (2006)).

[359] Клетки-хозяева, подходящие для экспрессии гликозилированного антитела, также можно получать из многоклеточных организмов (беспозвоночных и позвоночных). Примеры клеток беспозвоночных включают клетки растений и насекомых. Были идентифицированы многочисленные бакуловирусные штаммы, которые можно использовать в сочетании с клетками насекомых, особенно для трансфекции клеток *Spodoptera frugiperda*. Культуры растительных клеток также можно использовать в качестве хозяев (*например*, патенты США № 5959177, 6040498, 6420548, 7125978 и 6417429, в которых описана технология PLANTIBODIES™ для получения антител в трансгенных растениях).

[360] В качестве хозяев также можно использовать клетки позвоночных. Например, можно использовать линии клеток млекопитающих, адаптированные для роста в суспензии. Другими примерами применимых линий клеток-хозяев млекопитающих являются линия CV1 почек обезьяны, трансформированная SV40 (COS-7); линия почек эмбриона человека (293 или клетки 293, как описано, *например*, у Graham et al., J. Gen Virol. 36:59 (1977)); клетки почек детенышей хомячка (BHK); клетки Сертоли мыши (клетки TM4, как описано, *например*, у Mather, Biol. Reprod. 23:243-251 (1980)); клетки почки обезьяны (CV1); клетки почки африканской зеленой мартышки (VERO-76); клетки карциномы шейки матки человека (HELA); клетки почки собаки (MDCK; клетки печени крысы линии buffalo (BRL 3A); клетки легкого человека (W138); клетки печени человека (Hep G2); клетки опухоли молочной железы мыши (MMT 060562); клетки TRI, как описано, *например*, у Mather et al., Annals N.Y. Acad. Sci. 383:44-68 (1982); клетки MRC 5 и клетки FS4. Другие полезные 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 линии клеток миеломы, такие как Y0, NS0 и Sp2/0. Для обзора некоторых линий клеток-хозяев млекопитающих, подходящих для продукции антител, см., *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

[361] Антитела к CD33 по данному изобретению могут быть включены в различные составы для терапевтического введения путем объединения антитела к CD33 с соответствующими фармацевтически приемлемыми носителями или разбавителями, и могут быть включены в составы в твердых, полутвердых, жидких или газообразных

формах. Примеры таких составов включают, без ограничения, таблетки, капсулы, порошки, гранулы, мази, растворы, суппозитории, инъекции, ингаляции, гели, микросферы и аэрозоли. Фармацевтические композиции могут включать, в зависимости от желаемого состава, фармацевтически приемлемые нетоксичные носители разбавителей, которые представляют собой носители, как правило, используемые для приготовления фармацевтических композиций для введения животным или человеку. Разбавитель подбирается так, чтобы не влиять на биологическую активность комбинации. Примеры таких разбавителей включают, без ограничения, дистиллированную воду, забуференную воду, физиологический раствор, PBS, раствор Рингера, раствор декстрозы и раствор Хэнка. Фармацевтическая композиция или состав по настоящему описанию может дополнительно содержать другие носители, адъюванты или нетоксичные, нетерапевтические, неиммуногенные стабилизаторы, эксципиенты и тому подобное. Композиции также могут содержать вспомогательные вещества, необходимые для приближения их к физиологическим условиям, такие как регулирующие pH агенты и буферные агенты, регулирующие токсичность агенты, смачивающие агенты и детергенты.

[362] Фармацевтическая композиция по данному изобретению может также включать любой из множества стабилизирующих агентов, таких как, например, антиоксидант. Когда фармацевтическая композиция содержит полипептид, то полипептид может образовывать комплекс с различными хорошо известными соединениями, которые повышают стабильность полипептида *in vivo* или иным образом усиливают его фармакологические свойства (*например*, увеличивают время полужизни полипептида, снижают его токсичность, и повышают растворимость или поглощение). Примеры таких модификаций или комплексообразующих агентов включают, без ограничения, сульфат, глюконат, цитрат и фосфат. Полипептиды композиции также могут образовывать комплексы с молекулами, которые усиливают их свойства *in vivo*. Такие молекулы включают, без ограничения, углеводы, полиамины, аминокислоты, другие пептиды, ионы (*например*, натрий, калий, кальций, магний, марганец) и липиды.

[363] Дополнительные примеры составов, подходящих для различных типов введения, можно найти в Remington's Pharmaceutical Sciences, Mace Publishing Company, Philadelphia, PA, 17th ed. (1985). Для краткого обзора методов доставки лекарственных средств см. Langer, Science 249:1527-1533 (1990).

[364] Для перорального введения активный ингредиент можно вводить в твердых лекарственных формах, таких как капсулы, таблетки и порошки, или в жидких лекарственных формах, таких как эликсиры, сиропы и суспензии. Активный компонент(-ы) можно инкапсулировать в желатиновые капсулы вместе с неактивными ингредиентами и порошкообразными носителями, такими как глюкоза, лактоза, сахароза, маннит, крахмал, целлюлоза или производные целлюлозы, магний стеарат, стеариновая кислота, натрий сахарин, тальк, магний карбонат. Примерами дополнительных неактивных ингредиентов, которые могут быть добавлены для обеспечения желаемого цвета, вкуса, стабильности, буферной способности, дисперсии или других известных желательных

свойств, являются красный оксид железа, силикагель, натрий лаурилсульфат, диоксид титана и съедобные белые чернила. Подобные разбавители можно использовать для изготовления прессованных таблеток. И таблетки, и капсулы могут быть изготовлены в виде продуктов с замедленным высвобождением, чтобы обеспечить непрерывное высвобождение лекарства в течение нескольких часов. Прессованные таблетки могут быть покрыты сахаром или пленкой для маскировки любого неприятного вкуса и защиты таблетки от атмосферы, или могут иметь энтеросолюбильное покрытие для селективного распада в желудочно-кишечном тракте. Жидкие дозированные лекарственные формы для перорального введения могут содержать красители и ароматизаторы для улучшения восприятия пациентом.

[365] Составы, подходящие для парентерального введения, включают водные и неводные, изотонические стерильные растворы для инъекций, которые могут содержать антиоксиданты, буферы, бактериостатики и растворенные вещества, которые делают состав изотоничным с кровью предполагаемого реципиента, а также водные и неводные стерильные суспензии, которые могут включать суспендирующие агенты, солюбилизаторы, загустители, стабилизаторы и консерванты.

[366] Компоненты, используемые для составления фармацевтических композиций, предпочтительно имеют высокую чистоту и по сути не содержат потенциально вредных примесей (*например*, по меньшей мере национальную пищевую (NF) степень чистоты, как правило, по меньшей мере аналитическую степень чистоты и более конкретно по меньшей мере фармацевтическую степень чистоты). Более того, композиции, предназначенные для использования *in vivo*, как правило, стерильны. В той степени, в которой данное соединение необходимо синтезировать перед применением, полученный продукт обычно практически не содержит каких-либо потенциально токсичных агентов, в частности любых эндотоксинов, которые могут присутствовать в процессе синтеза или очистки. Композиции для парентерального введения также стерильны, по существу изотоничны и изготавливаются в условиях, соответствующих GMP.

[367] Составы могут быть оптимизированы для удержания и стабилизации в головном мозге или центральной нервной системе. Когда агент вводят в полость черепа, желательно, чтобы агент удерживался в полости, а не диффундировал или иным образом не пересекал гематоэнцефалический барьер. Методы стабилизации включают сшивание, мультимеризацию или связывание с такими группами, как полиэтиленгликоль, полиакриламид, нейтральные белковые носители *и т.д.*, для достижения увеличения молекулярной массы.

[368] Другие стратегии увеличения удерживания включают улавливание антитела, такого как антитело к CD33 по данному изобретению в биоразлагаемый или биоэродируемый имплантат. Скорость высвобождения терапевтически активного агента регулируется скоростью транспорта через полимерную матрицу и биоразложением имплантата. На перенос лекарственного средства через полимерный барьер также будут влиять растворимость соединения, гидрофильность полимера, степень сшивания

полимера, увеличение полимера при поглощении воды, чтобы сделать полимерный барьер более проницаемым для лекарственного средства, геометрия имплантата, и тому подобное. Имплантаты имеют размеры, соразмерные размеру и форме области, выбранной в качестве места имплантации. Имплантаты могут представлять собой частицы, листы, пластыри, пластины, волокна, микрокапсулы и т.п. и могут иметь любой размер или форму, совместимые с выбранным местом введения.

[369] Имплантаты могут быть монолитными, т.е. иметь активный агент, гомогенно распределенным в полимерной матрице, или инкапсулированными, когда резервуар активного агента инкапсулируется полимерной матрицей. Выбор используемой полимерной композиции будет варьироваться в зависимости от места введения, желаемого периода лечения, переносимости пациентом, природы заболевания, подлежащего лечению, и тому подобного. Характеристики полимеров будут включать способность к биологическому разложению в месте имплантации, совместимость с представляющим интерес агентом, легкость инкапсуляции, время полужизни в физиологической среде.

[370] Биоразлагаемые полимерные композиции, которые могут быть использованы, могут быть органическими сложными или простыми эфирами, которые при разложении приводят к физиологически приемлемым продуктам разложения, включая мономеры. Ангидриды, амиды, ортоэфиры и т.п. сами по себе или в комбинации с другими мономерами могут найти применение. Полимеры будут конденсационными полимерами. Полимеры могут быть сшитыми или несшитыми. Особый интерес представляют полимеры гидроксифатических карбоновых кислот, или гомо-, или сополимеры, и полисахариды. В число представляющих интерес сложных полиэфиров входят полимеры D-молочной кислоты, L-молочной кислоты, рацемической молочной кислоты, гликолевой кислоты, поликапролактона и их комбинации. При использовании L-лактата или D-лактата получают медленно биоразлагаемый полимер, в то время как разложение значительно усиливается с помощью рацемата. Особый интерес представляют сополимеры гликолевой и молочной кислоты, где скорость биоразложения регулируется соотношением гликолевой и молочной кислот. Наиболее быстро разлагаемый сополимер имеет примерно равные количества гликолевой и молочной кислоты, причем любой гомополимер более устойчив к разложению. Соотношение гликолевой кислоты и молочной кислоты также влияет на хрупкость имплантата, где более гибкий имплантат желателен для больших геометрических размеров. Среди представляющих интерес полисахаридов - альгинат кальция и функционализированные целлюлозы, в частности сложные эфиры карбоксиметилцеллюлозы, характеризующиеся нерастворимостью в воде, молекулярной массой от около 5 до 500 кДа и т. д. Биоразлагаемые гидрогели также могут быть использованы в имплантатах по настоящему описанию. Гидрогели обычно представляют собой сополимерный материал, характеризующийся способностью впитывать жидкость. Примеры биоразлагаемых гидрогелей, которые можно использовать, описаны в Heller in: *Hydrogels in Medicine and Pharmacy*, N. A. Peppes ed., Vol. III, CRC

Press, Boca Raton, Fla., 1987, pp 137-149.

Фармацевтические дозировки

[371] Фармацевтические композиции по данному изобретению, содержащие антитело к CD33 по данному изобретению можно вводить индивиду, нуждающемуся в лечении с помощью антитело, предпочтительно человека, в соответствии с известными методами, такими как внутривенное введение в виде болюса или путем непрерывной инфузии в течение определенного периода времени, внутримышечно, внутривентально, интрацеребрально, интратекально, перорально, местно или путем ингаляции.

[372] Дозировки и желаемая концентрация лекарственного средства в фармацевтических композициях по данному изобретению могут варьировать в зависимости от предполагаемого конкретного применения. Определение подходящей дозировки или пути введения находится в компетенции специалиста в данной области техники. Эксперименты на животных служат надежным руководством для определения эффективных доз для лечения человека. Межвидовое масштабирование эффективных доз может быть выполнено 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.

[373] Для введения *in vivo* любого из антител к CD33 по данному изобретению нормальные количества доз могут варьировать от около 10 нг/кг до около 100 мг/кг массы тела индивидуума или более в сутки, предпочтительно от около 1 мг/кг/сутки до 10 мг/кг/сутки, в зависимости от пути введения. При повторных введениях в течение нескольких дней или более, в зависимости от степени тяжести заболевания, расстройства или патологического состояния, подлежащего лечению, лечение продолжают до достижения желаемого подавления симптомов.

[374] В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело к CD33 вводят в дозе от около 1,6 мг/кг до около 15 мг/кг приблизительно один раз в двенадцать недель или чаще. В некоторых вариантах осуществления антитело к CD33 вводят в дозе от около 1,6 мг/кг до около 15 мг/кг от приблизительно одного раза в две недели до приблизительно одного раза в двенадцать недель. В некоторых вариантах осуществления антитело к CD33 вводят в дозе около 1,6 мг/кг, около 5 мг/кг, около 7,5 мг/кг, около 10 мг/кг или около 15 мг/кг. В некоторых вариантах осуществления антитело к CD33 вводят один раз в две недели, один раз в четыре недели, один раз в пять недель, один раз в шесть недель, один раз в семь недель, один раз в восемь недель, один раз в девять недель, один раз в десять недель, один раз в одиннадцать недель или один раз в двенадцать недель. В некоторых вариантах осуществления антитело к CD33 вводят один раз в две недели в дозе около 1,6 мг/кг. В некоторых вариантах осуществления антитело к CD33 вводят один раз в четыре недели в дозе около 1,6 мг/кг. В некоторых вариантах осуществления антитело к CD33 вводят один раз в четыре недели в дозе около 15 мг/кг. В некоторых вариантах осуществления антитело к CD33 вводят один раз в пять недель в дозе около 15 мг/кг. В

некоторых вариантах осуществления антитела к CD33 вводят один раз в шесть недель в дозе около 15 мг/кг. В некоторых вариантах осуществления антитело к CD33 вводят один раз в семь недель в дозе около 15 мг/кг. В некоторых вариантах осуществления антитело к CD33 вводят один раз в восемь недель в дозе около 15 мг/кг.

[375] В некоторых вариантах осуществления антитело к CD33 вводят в дозе от около 1,6 мг/кг до около 30 мг/кг (например, в любой из доз около 1,6 мг/кг, около 5 мг/кг, около 7,5 мг/кг, около 10 мг/кг, около 15 мг/кг или около 30 мг/кг) в день 1 периода лечения и далее один раз в двенадцать недель или чаще (например, раз в две недели, раз в три 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, раз в одиннадцать недель или раз в 12 недель). В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело к CD33 вводят в дозе около 1,6 мг/кг в день 1 периода лечения и далее один раз в две недели. В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело к CD33 вводят в дозе около 1,6 мг/кг в день 1 периода лечения и далее один раз в четыре недели. В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело к CD33 вводят в дозе около 15 мг/кг в день 1 периода лечения и далее один раз в четыре недели. В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело к CD33 вводят в дозе около 15 мг/кг в день 1 периода лечения и далее один раз в пять недель. В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело к CD33 вводят в дозе около 15 мг/кг в день 1 периода лечения и далее один раз в шесть недель. В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело к CD33 вводят в дозе около 15 мг/кг в день 1 периода лечения и далее один раз в восемь недель. В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело к CD33 вводят в дозе около 15 мг/кг в день 1 периода лечения и далее один раз в десять недель. В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело к CD33 вводят в дозе около 15 мг/кг в день 1 периода лечения и далее один раз в двенадцать недель.

[376] Могут быть полезны другие режимы дозирования, в зависимости от модели фармакокинетического распада, которого желает достичь врач. Например, в данном документе предполагается введение от одной до двадцати одной дозы в неделю для индивидуума. В определенных вариантах осуществления дозировка находится в диапазоне от около 3 мкг/кг до около 2 мг/кг (например, около 3 мкг/кг, около 10 мкг/кг, около 30 мкг/кг, около 100 мкг/кг, около 300 мкг/кг, около 1 мг/кг и около 2 мг/кг). В определенных вариантах осуществления частота дозирования составляет три раза в сутки, два раза в сутки, один раз в сутки, один раз каждые двое суток, один раз в неделю, один раз в две недели, один раз в четыре недели, один раз в пять недель, один раз в шесть недель, один раз в семь недель, один раз в восемь недель, один раз в девять недель, один раз в десять недель или один раз в месяц, один раз в два месяца, один раз в три месяца или более. Прогресс лечения легко контролировать с помощью традиционных методик и анализов. Режим дозирования, включая вводимое антитело к CD33, может изменяться с течением времени независимо от используемой дозы.

[377] Дозы для конкретного антитела к CD33 могут быть определены эмпирически

у индивидуумов, которые получили одно или более введений антитела к CD33. Индивидуумам вводят возрастающие дозы антитела к CD33. Для оценки эффективности антитела к CD33 можно проводить мониторинг клинических симптомов любого из заболеваний, нарушений или патологических состояний по данному изобретению (*например*, лобно-височной деменции, болезни Альцгеймера, сосудистой деменции, судорог, дистрофии сетчатки, черепно-мозговой травмы, поражения спинного мозга, длительной депрессии, атеросклеротических сосудистых заболеваний и нежелательных симптомов нормального старения).

[378] Введение антитела к CD33 по данному изобретению может быть непрерывным или периодическим, в зависимости, например, от физиологического состояния реципиента, независимо от того, является ли цель введения терапевтической или профилактической, и других факторов, известные опытным практикам. Введение агента антитела к CD33, может быть по существу непрерывным в течение заранее выбранного периода времени или может производиться серией разнесенных доз.

[379] Рекомендации относительно конкретных дозировок и способов доставки представлены в литературе, см., например, патенты США № 4657760, 5206344; или 5225212. В рамках настоящего описания, различные составы будут эффективны для разных видов лечения и различных расстройств, и что введение, предназначенное для лечения конкретного органа или ткани, может потребовать доставки способом, отличным от способа доставки в другой орган или ткань. Более того, дозы можно вводить одним или более отдельными введениями или непрерывной инфузией. При повторных введениях в течение нескольких дней или дольше, в зависимости от состояния, лечение продолжают до тех пор, пока не произойдет желаемое подавление симптомов заболевания. Однако, могут быть полезными другие схемы приема лекарственного средства. Прогресс этой терапии легко контролировать с помощью обычных способов и анализов.

Наборы/изделия

[380] В данном изобретении также предложены наборы и/или промышленные изделия, содержащие антитело к CD33, описанное в данном документе, или его функциональный фрагмент. Наборы и/или промышленные изделия по данному изобретению могут содержать один или более контейнеров, содержащих очищенное антитело по данному изобретению. В некоторых вариантах осуществления наборы и/или промышленные изделия дополнительно включают инструкции по применению в соответствии со способами по данному изобретению.

[381] В некоторых вариантах осуществления эти инструкции содержат описание введения антитела к CD33, описанного в данном документе, для предотвращения, снижения риска возникновения или лечения индивидуума, имеющего заболевание, нарушение или поражение, выбранное из деменции, лобно-височной деменции, болезни Альцгеймера, сосудистой деменции, смешанной деменции, болезни Крейтцфельда - Якоба, нормотензивной гидроцефалии, бокового амиотрофического склероза, болезни Хантингтона, таупатии, болезни Насу - Хакола, инсульта, острой травмы, хронической

травмы, волчанки, острого и хронического колита, ревматоидного артрита, заживления ран, болезни Крона, воспалительного заболевания кишечника, язвенного колита, ожирения, малярии, эссенциального тремора, волчанки центральной нервной системы, болезни Бехчета, болезни Паркинсона, деменции с тельцами Леви, множественной системной атрофии, синдрома Шая - Дрейджера, прогрессирующего надъядерного паралича, кортикобазальной дегенерации, острого рассеянного энцефаломиелита, гранулематозного заболевания, саркоидоза, возрастных заболеваний, судорожных приступов, травм спинного мозга, черепно-мозговых травм, возрастной макулярной дегенерации, глаукомы, пигментного ретинита, дегенерации сетчатки, инфекции дыхательных путей, сепсиса, глазных инфекций, системных инфекций, волчанки, артрита, рассеянного склероза, низкой плотности костей, остеопороза, остеогенеза, связанного с остеопорозом заболевания, костной болезни Педжета, рака, включая рак мочевого пузыря, рак головного мозга, рак молочной железы, рак толстой кишки, рак прямой кишки, рак эндометрия, рак почки, почечноклеточный рак, рак почечной лоханки, лейкоз, рак легкого, меланому, неходжкинскую лимфому, рак поджелудочной железы, рак предстательной железы, рак яичников, фибросаркому, острый лимфобластный лейкоз (ОЛЛ), острый миелоидный лейкоз (ОМЛ), хронический лимфоцитарный лейкоз (ХЛЛ), хронический миелоидный лейкоз (ХМЛ), множественную миелому, истинную полицитемию, эссенциальный тромбоцитоз, первичный или идиопатический миелофиброз, первичный или идиопатический миелосклероз, миелоидные опухоли, опухоли, экспрессирующие CD33, рак щитовидной железы; инфекций, герпеса ЦНС, паразитарных инфекций, инфекции, вызванной *Trypanosoma*, инфекции, вызванной *Trypanosoma cruzi*, инфекции, вызванной *Pseudomonas aeruginosa*, инфекции, вызванной *Leishmania donovani*, инфекции, вызванной *Streptococcus* группы В, инфекции, вызванной *Campylobacter jejuni*, инфекции, вызванной *Neisseria meningitidis*, ВИЧ-инфекции I типа и инфекции, вызванной *Haemophilus influenzae*, в соответствии с любыми способами по данному изобретению.

[382] В некоторых вариантах осуществления инструкции содержат описание того, как обнаружить белок CD33, например, у индивидуума, в образце ткани или в клетке. Набор и/или промышленное изделие могут дополнительно содержать описание выбора индивидуума, подходящего для лечения, на основании определения того, имеет ли этот индивидуум заболевание, и стадию заболевания.

[383] В некоторых вариантах осуществления наборы и/или изделия могут дополнительно содержать другое антитело по данному изобретению (например, по меньшей мере одно антитело, которое специфически связывается с молекулой ингибирующей контрольной точки, по меньшей мере одно антитело, которое специфически связывается с ингибирующим цитокином, и/или по меньшей мере одно антитело-агонист, которое специфически связывается со стимулирующим белком контрольной точки) и/или по меньшей мере с одним стимулирующим цитокином. В некоторых вариантах осуществления наборы и/или промышленные изделия могут

дополнительно содержать инструкции по применению антитела и/или стимулирующего цитокина в комбинации с антителом к CD33, описанным в данном документе, инструкции по применению антитела к CD33, описанного в данном документе, в комбинации с антителом и/или стимулирующим цитокином, или инструкциями по применению антитела к CD33, описанного в данном документе, и антитела и/или стимулирующего цитокина, в соответствии с любыми способами по данному изобретению.

[384] Инструкции, как правило, включают информацию о дозировке, схеме применения препарата и способе введения для предполагаемого лечения. Контейнеры могут быть стандартными дозами, многодозовыми упаковками (*например*, многодозовыми контейнерами) или частичными дозами. Инструкции, поставляемые в наборах и/или изделиях по настоящему описанию, обычно представляют собой письменные инструкции на этикетке или листке-вкладыше (*например*, лист бумаги, входящий в набор), но также приемлемы машиночитаемые инструкции (*например*, инструкции, хранящиеся на магнитном или оптическом диске).

[385] Этикетка или вкладыше в упаковке указывает, что композиция используется для лечения, например, заболевания по данному изобретению. Могут быть предложены инструкции по применению любого из описанных в данном документе способов.

[386] Наборы и/или изделия по данному изобретению находятся в подходящей упаковке. Подходящая упаковка включает, но не ограничивается ими, флаконы, бутылки, банки, гибкую упаковку (*например*, герметичные майларовые или пластиковые пакеты) и тому подобное. Также предусмотрены упаковки для применения в комбинации с конкретным устройством, таким как ингалятор, устройство для назального введения (*например*, распылитель) или устройство для инфузии, такое как мининасос. Набор и/или промышленное изделие может иметь стерильный порт доступа (*например*, контейнер может представлять собой пакет с раствором для внутривенного введения или флакон с пробкой, которую можно проткнуть иглой для подкожных инъекций). Контейнер может также иметь стерильный порт доступа (*например*, контейнер может представлять собой пакет с раствором для внутривенного введения или флакон с пробкой, которую можно проткнуть иглой для подкожных инъекций). По меньшей мере один активный агент в композиции представляет собой антитело к CD33, описанное в данном документе. Контейнер может дополнительно содержать второй фармацевтически активный агент.

[387] Наборы и/или изделия могут необязательно предоставлять дополнительные компоненты, такие как буферы и интерпретирующая информация. Как правило, набор содержит контейнер и этикетку или инструкцию по применению на контейнере или связанную с ним.

[388] Данное изобретение будет более полно понято со ссылкой на следующие примеры. Однако их не следует рассматривать как ограничивающие объем данного изобретения. Все цитаты во всем описании включены в данный документ посредством ссылки.

ПРИМЕРЫ

Пример 1: Фармакокинетика антитела к CD33 у здоровых добровольцев

[389] В данном примере описано исследование фазы Ia в соответствии с протоколом, описанным в примере 3, в котором изучалась фармакокинетика (ФК) антитела к CD33 АВ-64.1.2, вводимого внутривенно, у людей.

Материалы и способы

[390] Здоровым добровольцам-людям вводили однократную дозу антитела к CD33 АВ-64.1.2 (или плацебо-контроль) в виде внутривенной инфузии в течение около одного часа. Уровни доз антитела АВ-64.1.2, использованные для этих исследований, составляли 1,6 мг/кг, 5 мг/кг, 15 мг/кг и 30 мг/кг. В каждую когорту доз АВ-64.1.2 входило 6 испытуемых.

[391] У испытуемых проводили забор крови в нескольких временных точках для получения концентрации антитела к CD33 в сыворотке для измерения фармакокинетики. Концентрации антител к CD33 определялись до 84 дней после введения дозы для всех когорт до 5 мг/кг включительно; до 56 дней после введения дозы для когорты 15 мг/кг; и до 29 дней после введения дозы для когорты 30 мг/кг. Концентрации антител к CD33 в сыворотке крови определяли с помощью анализа ИФА.

Результаты

[392] Данные о ФК в сыворотке крови для антител к CD33 АВ-64.1.2 у здоровых добровольцев из каждой когорты доз представлены в **таблице Е**.

Таблица Е. Данные о ФК в сыворотке крови для антитела к CD33 АВ-64.1.2.

Уровень дозы	$C_{\max}$ (мкг/мл) (CV%)	V_z (мл/кг) (CV%)	AUC_{inf} (ч*мкг/мл) (CV%)	CL (мл/ч/кг) (CV%)	$T_{1/2}$ (ч) (CV%)
1,6 мг/кг	28,5 (18,2)	80,7 (30,3)	3276,5 (20,9)	0,508 (23,3)	113,5 (33,0)
5 мг/кг	86,2 (12,7)	92,2 (34,4)	13 731,1 (20,7)	0,375 (17,2)	180,0 (46,2)
15 мг/кг	386,5 (14,8)	92,9 (16,3)	57 706,9 (13,4)	0,264 (12,9)	246,4 (18,2)
30 мг/кг	773,1 (19,0)	86,8 (24,1)	106 670,6 (14,1)	0,286 (14,0)	217,4 (34,4)
$C_{\max}$: максимальная концентрация; V_z : кажущийся объем распределения; AUC_{inf} : AUC от момента времени 0, экстраполированного до бесконечности; CL: клиренс; $T_{1/2}$: конечный период полужизни; KB: коэффициент вариации.					

[393] Как показано в **таблице Е**, введение антитела к CD33 АВ-64.1.2 здоровым добровольцам продемонстрировало приблизительно пропорциональную дозе $C_{\max}$. Данные также показали, что конечный период полужизни антитела к CD33 АВ-64.1.2 в плазме был коротким при применении всех исследуемых доз: от 113,5 часов (4,73 дня) при

применении дозы 1,6 мг/кг до 246,4 часов (10,27 дней) при применении дозы 15 мг/кг.

Выводы

[394] Результаты, представленные в данном примере, показали, что в исследуемых дозах антитело к CD33 АВ-64.1.2 выводилось быстрее, чем другие терапевтические антитела аналогичного класса, таким образом, что неожиданно продемонстрировало, что у антитела к CD33 АВ-64.1.2 наблюдается короткий конечный период полужизни по сравнению с другими антителами аналогичного класса (Ovacik, M and Lin, L, (2018) Clin Transl Sci 11, 540-552). Короткий конечный период полужизни АВ-64.1.2 позволил предположить, что антитело не может быть применимо в терапевтических целях.

Пример 2: Влияние антитела к CD33 АВ-64.1.2 на уровень CD33 в моноцитах у здоровых добровольцев

[395] В данном примере описано исследование фазы 1a в соответствии с протоколом, описанным в примере 3, в котором изучалось влияние антитела к CD33 АВ-64.1.2 на уровень экспрессии CD33 в моноцитах у людей.

Материалы и способы

[396] Здоровым добровольцам внутривенно вводили однократную дозу антитела к CD33 АВ-64.1.2 в дозе 1,6 мг/кг или 15 мг/кг. Шести индивидуумам вводили антитело к CD33 в каждой дозе, а 2 индивидуумам вводили плацебо-контрольное антитело в каждой дозе.

[397] Забор проб цельной крови у каждого индивидуума проводили в дни 1, 4, 7, 12, 17, 29, 42, 56 и 84 после введения антитела к CD33.

[398] Изменения уровней экспрессии CD33 на моноцитах определяли с помощью проточной цитометрии. Поскольку средняя интенсивность флуоресценции (MFI) может быть отличаться в зависимости от приборов или измерений, выполненных на одном и том же приборе с течением времени, в качестве стандартизированной единицы интенсивности флуоресценции использовали молекулы эквивалентного растворимого флуорохрома (MESF). MESF учитывает изменчивость, наблюдаемую в средней интенсивности флуоресценции (например, гашение, сдвиги спектров, коэффициенты экстинкции), и позволяет количественно сравнивать измерения, полученные методом проточной цитометрии, с течением времени и на разных приборах (см. Schwartz et al., 2004, Cytometry Part B (Clinical Cytometry), 57B:1-6.) В анализах методом проточной цитометрии, представленных в этом примере, отбирали гейты моноцитов как CD11b+ CD14+ CD16-HLA-DR+ и отбирали как отдельные жизнеспособные клетки. Отбирали гейты гранулоцитов как CD11b+ CD16+ CD66+. Проточную цитометрию образцов крови проводили в лаборатории 360BioLabs (Мельбурн, Австралия).

Результаты

[399] Процентное изменение уровня CD33 в моноцитах по сравнению с исходным уровнем с дня 1 по день 84 после введения антитела к CD33 здоровым добровольцам измеряли по образцам цельной крови. Как показано на **фиг. 1**, уровень CD33 в моноцитах быстро снижался после введения антитела к CD33 в дозе 1,6 мг/кг или 15 мг/кг.

[400] В частности, уровень CD33 в моноцитах снизился приблизительно на 70% к дню 1 после введения по сравнению с исходным уровнем у испытуемых, получивших однократную дозу антитела, составляющую 1,6 мг/кг. Снижение уровня CD33 в моноцитах оставалось приблизительно на 70-75% ниже исходного уровня в течение по меньшей мере 17 дней после введения однократной дозы, составляющей 1,6 мг/кг. Кроме того, у здоровых испытуемых, получивших однократную дозу антитела к CD33 АВ-64.1.2 в количестве 15 мг/кг, наблюдалось снижение уровня CD33 в моноцитах на приблизительно 80-90% ниже исходного уровня в течение по меньшей мере 56 дней после введения. Общее число моноцитов в образцах цельной крови не уменьшилось, что указывает на то, что наблюдаемое снижение уровня CD33 не было вызвано уменьшением числа моноцитов, например, в результате гибели моноцитов.

Выводы

[401] Результаты, представленные в данном примере, показывают, что антитело к CD33 АВ-64.1.2 вызывает дозозависимое и длительное снижение уровня CD33 в моноцитах периферической крови.

[402] Учитывая короткий конечный период полужизни антитела к CD33 АВ-64.1.2, составляющий приблизительно 113,5 часов (4,73 дня) после введения однократной дозы 1,6 мг/кг или приблизительно 246,6 часов (10,27 дней) после введения однократной дозы 15 мг/кг (см. пример 1 и **таблицу Е**), длительное снижение уровня CD33 в моноцитах приблизительно на 70-90% ниже исходного уровня после введения однократной дозы АВ-64.1.2 здоровым испытуемым было неожиданным и вызвало удивление.

Пример 3: Исследование фазы 1 по оценке безопасности, переносимости, фармакокинетики, фармакодинамики и иммуногенности однократной и многократной доз антитела к CD33 АВ-64.1.2 у здоровых участников и у участников с болезнью Альцгеймера легкой и средней степени тяжести

[403] В данном примере описано многоцентровое, рандомизированное, двойное слепое, плацебо-контролируемое исследование с повышением дозы у здоровых взрослых и у пациентов с болезнью Альцгеймера легкой и средней степени тяжести. Целью исследования является систематическая оценка безопасности (включая иммуногенность) и переносимости, фармакокинетики (ФК) и фармакодинамики (ФД) антитела к CD33 АВ-64.1.2 при применении в виде однократных возрастающих доз у здоровых участников и в виде многократных доз у пациентов с болезнью Альцгеймера легкой и средней степени тяжести..

Первичная цель

[404] Первичная цель исследования заключается в оценке безопасности, переносимости, фармакокинетики и фармакодинамики антитела к CD33 АВ-64.1.2, вводимого в однократной возрастающей дозе у здоровых участников и в многократных дозах у пациентов с болезнью Альцгеймера легкой и средней степени тяжести.

Дизайн исследования

[405] Исследование проводится в 2 фазы, как описано ниже.

Фаза однократного введение в возрастающих дозах

[406] В фазу однократного введения в возрастающих дозах (SAD) последовательно было включено до 49 здоровых взрослых участников в 8 заранее определенных когорт (когорты от А до Н). В трех начальных когортах принимают участие 1-3 здоровых добровольца (все получают активный препарат, *т.е.* антитело к CD33 АВ-64.1.2), затем в каждой последующей когорте принимают участие 8 здоровых добровольцев (6 в группе активного препарата: 2 в группе плацебо). Для дальнейшей оценки безопасности, переносимости и эффектов ФД в спинномозговой жидкости (СМЖ) в разные моменты времени будут добавлены дополнительные когорты открытого лечения с числом участников до 8 человек в каждой когорте.

[407] Режим дозирования для когорты SAD представлен в **таблице F**.

Таблица F. Режим дозирования для когорт А-Н однократного введение в возрастающих дозах (SAD).

Когорта SAD*	Доза (мг/кг)	Количество участников	
		Активный препарат (антитело к CD33 АВ-64.1.2)	Плацебо
A	0,05	1-3	0
B	0,2	1-3	0
C	0,6	1-3	0
D	1,6	6	2
E	5	6	2
F	15	6	2
G	30	6	2
H	60	6	2
* Для дополнительной оценки безопасности и переносимости добавляют дополнительные когорты открытого лечения, до 8 участников в каждой когорте.			

[408] Фаза исследования здоровых добровольцев с SAD состоит из периода скрининга, периода исследования (лечения), визитов в рамках периода последующего наблюдения и заключительного визита в рамках периода последующего наблюдения/завершения исследования. Скрининг проводят в течение 4 недель до включения в исследование, а первую дозу исследуемого препарата вводят в день 1. За всеми участниками SAD осуществляют наблюдение в течение 12 недель после инфузии. Участникам из определенной когорты спинномозговой жидкости (СМЖ) (т.е. когорты SAD E, F, G и H) проводят люмбальную пункцию во время скрининга, в день 8 и в день 18 (± 1 день) или в день, определенный по данным ФК и ФД предыдущих когорт с разовой дозой, если это применимо.

[409] Дополнительные когорты с введением однократной дозы добавляют как когорты открытого лечения, включающие до 8 участников на когарту с уровнями доз, не

превышающих 15 мг/кг. Участникам этих когорт проводят люмбальную пункцию во время скрининга (по меньшей мере за 4 дня до инфузии исследуемого препарата), в день 8 и день 18 (± 1 день) или в день, определяемый по предварительным данным исследования ФК и ФД из предыдущих когорт применения однократной дозы, если применимо.

Фаза применения многократных доз

[410] В фазе применения многократных доз (MD) проводят набор приблизительно 12 пациентов с болезнью Альцгеймера легкой и средней степени тяжести и рандомизируют в 1 когорту (когорта I; 10 в группу активного препарата; 2 в группу плацебо).

[411] Исследование в когорте MD начинается только после оценки безопасности и переносимости вплоть до визита в день 13 для последнего участника фазы SAD. Антитело к CD33 AB-64.1.2 вводят посредством внутривенной инфузии в двух дозах с интервалом в 4 недели (1 раз в четыре недели, 2 введения). Уровень дозы, используемый для 2 инфузий составляет 15 мг/кг, что считается переносимым и, как ожидается, не превысит минимальное воздействие, наблюдаемое в когорте HV с дозой 30 мг/кг (когорта G).

[412] Фаза MD исследования у пациентов с болезнью Альцгеймера легкой и средней степени тяжести состоит из периода скрининга, периода исследования (лечения), визитов в рамках периода последующего наблюдения и заключительного визита для в рамках последующего наблюдения/завершения исследования.

[413] Скрининг проводится в течение 6 недель до включения в исследование и введения первой дозы исследуемого препарата в день 1.

[414] Пациенты проходят оценивание по Краткой шкале оценки психического статуса (MMSE), оценки по шкале Повторяемой батареи тестов по оценке нейропсихологического состояния (RBANS) и по шкале оценки клинической деменции (CDR), а также MPT-исследование головного мозга (включая, помимо прочего, с применением последовательностей в режиме инверсионного восстановления с подавлением сигнала от жидкости [FLAIR] и в режиме градиентного эхо (GRE) с получением T2*-взвешенных изображений). Скрининговая MPT проводится как можно ближе к началу скринингового периода и не менее чем за 10 дней до рандомизации в день 1.

[415] Выполняется люмбальная пункция для получения образца СМЖ на исходном уровне.

[416] Всем участникам проводят позитронно-эмиссионную томографию (ПЭТ) головного мозга на выявление амилоида. Участники также могут принять участие в дополнительной поисковой оценке изменений в головном мозге, измеренных с помощью ПЭТ-визуализации транслокаторного белка (TSPO).

[417] После первой внутривенной инфузии исследуемого препарата в день 1 и выписки в день 2 участники возвращаются в исследовательский центр в качестве амбулаторных пациентов в дни 8, 15 и 22 (± 2 дня) для оценки безопасности в рамках периода последующего наблюдения и в день 29 (± 1 день) для введения второй дозы

исследуемого препарата.

[418] Люмбальную пункцию для получения СМЖ проводят в дни 50 и 64 (± 2 дня) или в день, определенный по данным исследования ФК и ФД от предыдущих когорт с введением однократной дозы. За участниками осуществляют наблюдение в течение 16 недель после дня проведения последней инфузии.

[419] ПЭТ-визуализацию на выявление амилоида проводят всем участникам в день 106 день (-2 дня; + 14 дней). ПЭТ-визуализации TSPO может быть выполнена в качестве дополнительной оценки в день 36 (+10 дней). МРТ головного мозга запланирована для всех участников в день 43 (± 2 дня).

Критерии приемлемости

Критерии включения

[420] Субъектов, отвечающих следующим критериям, включают в фазу SAD этого исследования:

Пациенты в когортах SAD являются здоровыми взрослыми в возрасте 18-65 лет.

[421] Субъектов, отвечающих следующим критериям, включают в фазу MD этого исследования:

Взрослые в возрасте 50-85 лет.

Клинический диагноз вероятной деменции, связанной с болезнью Альцгеймера, основанный на критериях Ассоциации по борьбе с болезнью Альцгеймера Национального института по проблемам старения.

Скрининговая оценка по шкале MMSE от 16 до 28 баллов включительно.

Общий балл по шкале клинической оценки тяжести деменции (CDR-GS) составляет 0,5, 1,0 или 2,0.

Положительный результат ПЭТ-сканирования на амилоид по качественному показателю, как это определено в паспорте ПЭТ-визуализации.

Если вы уже принимаете ингибитор холинэстеразы и/или проходите терапию мемантином для лечения болезни Альцгеймера, в стабильной дозе в течение по меньшей мере 4 недель до скрининга, и у вас не было намерения принять участие, вам следует прекратить прохождение терапии или изменить дозу любого препарата для лечения болезни Альцгеймера на время проведения исследования.

Критерии невключения

[422] Субъекты исключаются из участия в данном исследовании, если они соответствуют любому из следующих критериев:

Носители двух копий минорного аллеля rs12459419T.

Данные в анамнезе или наличие заболеваний ЦНС или системных аутоиммунных заболеваний, включая, помимо прочего, ревматоидный артрит, рассеянный склероз, красную волчанку, антифосфолипидный синдром, болезнь Бехчета.

Деменция вследствие состояния, отличного от болезни Альцгеймера, включая, помимо прочего, лобно-височную деменцию, болезнь Паркинсона, деменцию с тельцами Леви, болезнь Хантингтона или сосудистую деменцию.

Данные в анамнезе или наличие клинически подтвержденных сосудистых заболеваний, потенциально поражающих головной мозг (например, клинически значимый стеноз или бляшка сонных или позвоночных артерий, аневризма аорты, внутричерепная аневризма, кровоизлияние в мозг, артериовенозная мальформация), которые потенциально могут повлиять на когнитивную функцию.

Данные в анамнезе или наличие инсульта в течение последних 2 лет или документированная в анамнезе транзиторная ишемическая атака в течение последних 12 месяцев.

Тяжелая, клинически значимая травма ЦНС (стойкий неврологический дефицит или структурное повреждение головного мозга) в анамнезе (например, ушиб головного мозга).

Данные МРТ, свидетельствующие о перенесенных

более двух лакунарных инфарктов;

Любого территориального инфаркта $> 1 \text{ см}^3$; или же

Значительные гиперинтенсивные поражения в режиме FLAIR в белом веществе головного мозга, которые могут способствовать когнитивной дисфункции.

Продолжительность исследования

[423] Продолжительность участия в исследовании для каждого участника когорты SAD составляет около 16 недель, включая до 4 недель скрининга, однократное лечение в день 1 и период последующего наблюдения, завершающийся последним визитом для завершения исследования в день 85 (± 5 дней).

[424] Продолжительность участия в исследовании для каждого участника в когорте MD составляет около 26 недель, включая до 6 недель скрининга, многократное лечение (две дозы вводятся с интервалом 4 недели [1 раз в четыре недели, 2 введения]) и период последующего наблюдения, завершающийся последним визитом для завершения исследования в день 141 (± 5 дней).

Введение исследуемого препарата

[425] Антитело к CD33 АВ-64.1.2 вводят путем внутривенной (в/в) инфузии в течение около 60 минут. Скорость инфузии корректируется в случае возникновения реакции, связанной с инфузией. Плацебо для в/в инфузии представляет собой коммерчески доступный физиологический раствор.

Оценка результатов исследования

Результаты исследования фармакокинетики

[426] Показатели результатов фармакокинетических исследований включают:

Концентрация антитела к CD33 АВ-64.1.2 в сыворотке в определенные моменты времени.

Взаимосвязь между концентрацией в сыворотке или параметрами ФК для антитела к CD33 АВ-64.1.2 и конечными точками безопасности.

Взаимосвязь между концентрацией в сыворотке, СМЖ или параметрами ФК для антитела к CD33 АВ-64.1.2 и конечными точками активности или ФД (взаимосвязь с

активностью является конечной точкой только для когорты MD, т. е. пациентов с болезнью Альцгеймера).

Клинические исходы

[427] Исследовательские показатели клинических исходов (только для когорты MD, т. е. пациентов с болезнью Альцгеймера) включают:

Общий балл по шкале оценки клинической деменции (CDR) по сумме ячеек (CDR-SB) (изменение после введения дозы по сравнению с исходным уровнем).

Показатель по Краткой шкале оценки психического статуса (MMSE) (изменение после введения дозы по сравнению с исходным уровнем).

Показатель по шкале Повторяемой батареи тестов по оценке нейропсихологического состояния (RBANS) (изменение после введения дозы по сравнению с исходным уровнем).

[428] CDR Вашингтонского университета - это глобальный инструмент оценки, который позволяет получить общий балл (например, CDR-GS). Показатель по сумме ячеек (т. е. CDR-SB) представляет собой подробный количественный общий показатель, который предоставляет больше информации, чем CDR-GS, у пациентов с деменцией легкой степени тяжести (O'Bryant et al., (2010) Arch Neurol, 67(6):746-49). CDR характеризует 6 доменов когнитивных и функциональных характеристик, применимых к болезни Альцгеймера и связанным с ней деменциям: память, ориентация, суждение и решение проблем, общественные дела, дом и хобби, уход за собой. Необходимая информация для составления каждого рейтинга получается посредством полуструктурированного интервью пациента и надежного информатора или дополнительного источника (например, лица, осуществляющего уход).

[429] MMSE представляет собой это краткий тест, используемый для выявления когнитивных нарушений. Он обычно используется для оценки тяжести когнитивных нарушений и отслеживания когнитивных изменений у индивидуума с течением времени. MMSE оценивает ориентацию (время и место), регистрацию, внимание и счет, кратковременную память, речь (называние, понимание и повторение) и конструктивную практику (копирование фигуры). Максимальный общий балл составляет 30, причем более высокий балл указывает на лучшую когнитивную функцию.

[430] RBANS представляет собой набор из 12 подтестов, представляющих 5 нейрокогнитивных доменов: немедленная память, зрительно-пространственная/конструкционная память, речь, внимание и отложенная память. Необработанные баллы по каждому подтесту в домене преобразуются в итоговый балл или индексный балл для домена путем сверки с таблицами нормативных данных. RBANS также предоставляет общий балл индекса, который обобщает общий уровень исполнения пациента по этому показателю.

Результаты исследования фармакодинамики

[431] Оцениваются фармакодинамические биомаркеры, в том числе следующие:

Биомаркеры на основе крови:

Экспрессия CD33 на поверхности клеток.

Растворимый CD33 (sCD33) в плазме.

Маркеры нейровоспаления в крови.

Экспрессия соответствующих биомаркеров/антигенов на поверхности клеток.

Биомаркеры на основе СМЖ:

sCD33.

Биомаркеры СМЖ, относящиеся к болезни Альцгеймера, например, Абета, Тау, р-Тау, легкая цепь нейрофиламента [NF-L], нейрогранин и YKL-40).

Другие соответствующие маркеры нейровоспаления.

Генетические маркеры, относящиеся к признакам наличия заболевания, включая следующее:

ApoE4.

Варианты TREM2, варианты CD33, варианты TMEM106b, варианты CLUSTERIN.

Биомаркеры визуализации (только для когорты MD, т. е. пациентов с болезнью Альцгеймера):

Магнитно-резонансная томография (МРТ).

Позитронно-эмиссионная томография (ПЭТ) на выявление амилоида (у всех пациентов с болезнью Альцгеймера).

ПЭТ-визуализации транслокаторного белка (TSPO).

Анализ конечных точек поискового биомаркера для исследования включает:

Изменения уровней экспрессии CD33 на поверхности клеток.

Изменения уровней sCD33 в плазме и СМЖ после введения дозы по сравнению с концентрацией на исходном уровне.

Изменения экспрессии антигенов на поверхности клеток.

Взаимосвязь между биомаркерами на исходном уровне, включая распространенные и редкие генетические варианты, идентифицированные с помощью полногеномного секвенирования (WGS), выполненного на дезоксирибонуклеиновой кислоте (ДНК), выделенной из крови, и конечными точками безопасности, фармакокинетики, активности, иммуногенности или других биомаркеров (взаимосвязь с активностью является конечной точкой только для когорты пациентов MD, то есть пациентов с болезнью Альцгеймера).

Изменения амилоидной нагрузки в головном мозге по оценке ПЭТ-визуализации на амилоид только в когорте пациентов MD, то есть у пациентов с болезнью Альцгеймера.

Изменения в воспалении головного мозга по оценке ПЭТ-визуализации транслокаторного белка (TSPO).

Изменения маркеров нейровоспаления и патологического процесса в СМЖ и плазме.

Биомаркеры, проанализированные с помощью полногеномного секвенирования, включают следующее:

Аполипопротеин E4 (ApoE4).

Варианты TREM2, варианты CD33, варианты TMEM106b, варианты CLUSTERIN.

Безопасность и переносимость

[432] Конечные точки безопасности и переносимости этого исследования включают следующие:

Частота, характер и тяжесть серьезных нежелательных явлений (СНЯ)

Частота дозолимитирующих нежелательных явлений (ДЛНЯ).

Частота нежелательных явлений (НЯ), представляющих особый интерес (НЯОИ), включая следующие:

Новый или прогрессирующий отек головного мозга.

Новые микрокровоизлияния в головной мозг.

НЯ степени 2 или выше считаются потенциально CD33-опосредованными.

Частота прекращения лечения по причине НЯ.

Частота случаев снижения дозы по причине НЯ.

Средние изменения в показателях клинических лабораторных анализов по сравнению с исходным уровнем с течением времени; частота возникающих после лечения отклонений от нормы в лабораторных показателях и отклонения от нормы в лабораторных показателях, зарегистрированные как НЯ.

Отклонения при проведении физикального и неврологического обследования.

Среднее изменение показателей жизненно важных функций по сравнению с исходным уровнем с течением времени и частота выявления отклонений в показателях жизненно важных функций.

Суицидальные мысли, суицидальное поведение и самотравмирующее поведение без суицидальных намерений, как определено с помощью шкалы Sheehan-STs (шкала Шихана для оценки степени инвалидизации) (только для когорты пациентов MD).

Частота выявления антител к лекарственным средствам (ADA) во время исследования по сравнению с преобладанием ADA на исходном уровне (в когортах здоровых взрослых участников SAD и в когорте пациентов MD).

Статистические методы

Анализируемые популяции

[433] Популяции статистического анализа включают следующие:

[434] Популяция получавших лечение: Популяция получавших лечение включает всех рандомизированных участников и основывается на полученном лечении/уровне дозы.

[435] Популяция для оценки безопасности: Популяция для оценки безопасности включает всех рандомизированных участников, получивших любое количество исследуемого препарата (антитела к CD33 АВ-64.1.2 или плацебо), и основывается на фактически полученном лечении/дозе, если они отличаются от тех, на получение которых участник был рандомизирован.

[436] Популяция для исследования ФК: Популяция для исследования ФК включает всех рандомизированных участников, получающих любое количество активного исследуемого препарата (антитело к CD33 АВ-64.1.2) с достаточным количеством данных

о зависимости концентрации от времени в плазме для определения по меньшей мере одного параметра ФК. Участников, получавших только плацебо, не включают в популяцию для исследования ФК.

[437] Популяция для исследования ФД: Популяция для исследования ФД включает всех рандомизированных участников, которые получают любое количество исследуемого препарата (антитело к CD33 АВ-64.1.2 или плацебо), с результатами по сравнению с исходным уровнем и по меньшей мере одной оценкой ФК после исходного уровня, и основана на фактически полученном лечении/уровне дозы, если они отличаются от тех, на получение которых участник был рандомизирован.

Фармакокинетика

[438] Индивидуальные и средние данные о концентрации антитела к CD33 АВ-64.1.2 в сыворотке крови и времени сведены в таблицу и нанесены на график по когорте/дозе. Параметры ФК рассчитываются на основе индивидуальных концентраций антитела к CD33 АВ-64.1.2 в сыворотке крови с использованием некомпартментного подхода. Оцениваемые параметры ФК включают следующие:

Максимальная концентрация препарата ($C_{\max}$).

Время для достижения $C_{\max}$ ($T_{\max}$).

Площадь под кривой зависимости концентрации лекарственного препарата от времени от нуля до последней измеряемой концентрации ($AUC_{(0-\text{last})}$).

Площадь под кривой зависимости концентрации лекарственного препарата от времени, от нуля до бесконечности ($AUC_{(0-\text{inf})}$) рассчитывается как сумма $AUC_{(0-\text{last})}$ плюс последняя измеримая концентрация в плазме, разделенная на константу скорости выведения (k_{el}).

Площади под кривой зависимости концентрации лекарственного препарата от времени в интервале между введениями доз (AUC_{tau}), где tau представляет собой время в интервале между введениями доз. Рассчитывается только для когорты MD.

Кажущаяся константа конечной скорости выведения (k_{el}), рассчитанная путем линейной регрессии конечной линейной части логарифмической кривой зависимости концентрации от времени.

Кажущийся конечный период полужизни ($t_{1/2}$).

Кажущийся общий клиренс после внесосудистого введения (когорты SAD: CL; когорты MD CLss), рассчитанный как доза/ $AUC_{0-\text{inf}}$ для однократной/первой дозы и доза/ AUC_{tau} после многократного введения дозы.

Кажущийся общий объем распределения в конечной фазе после внесосудистого введения (когорты SAD: Vz; когорты MD: Vzss), рассчитанный как доза/ $(k_{el} \times AUC_{0-\text{inf}})$ после однократной/первой дозы и доза/ $(k_{el} \times AUC_{\text{tau}})$ после многократного введения дозы.

[439] Значения для k_{el} , $t_{1/2}$, $AUC_{0-\text{inf}}$, CL или Vz не приводятся для случаев, в которых не наблюдается конечная логарифмически-линейная фаза в профиле зависимости концентрации от времени.

[440] Оценки параметров ФК сведены в таблицы и обобщены с помощью

описательной статистики (среднее значение, стандартное отклонение [CO], медиана, минимальное и максимальное значение, коэффициент вариации [KB%], геометрическое среднее и 90% доверительный интервал [ДИ], а также геометрический KB%).

[441] Индивидуальные и средние данные по зависимости концентрации антитела к CD33 АВ-64.1.2 в СМЖ от времени представлены в виде таблицы по когортам/уровню дозы.

[442] Изучаются потенциальные корреляции соответствующих параметров ФК с дозой, демографическими характеристиками, безопасностью (включая изменения QT) и показателями ЧСС. Для характеристики этих корреляций проводится дополнительное моделирование, включая популяционный анализ ФК.

Поисковые клинические исходы

[443] Отдельные поисковые показатели клинических исходов для CDR-SB, MMSE и RBANS представлены в списке данных для всех участников (только для когорты MD, т.е. пациентов с болезнью Альцгеймера). Данные CDR-SB, MMSE и RBANS обобщены по временным точкам и группам лечения (активный препарат или плацебо), а также представлены сводные данные об изменениях по сравнению с исходным уровнем в зависимости от группы лечения.

Фармакодинамика и поисковые биомаркеры

[444] Все индивидуальные данные биомаркеров ФД представлены в списках данных и обобщены по номинальным временным точкам отбора проб, группам лечения и когортам с описательной статистикой (например, количество не пропущенных наблюдений, среднее арифметическое, CO, медиана, минимальное значение, максимальное значение и %KB). Представлено количество значений ниже предела количественного определения (BLQ). Наблюдаемые изменения по сравнению с исходным уровнем и процентные изменения по сравнению с исходным уровнем параметров биомаркеров ФД обобщены отдельно для когорт однократного введения дозы и когорт многократного введения дозы.

[445] Поисковые анализы биомаркеров проводятся для оценки эффекта антитела к CD33 АВ-64.1.2 на поисковые биомаркеры. Кроме того, поисковые биомаркеры анализируют до и после введения дозы антитела к CD33 АВ-64.1.2 для определения взаимосвязи между воздействием ФК и уровнями биомаркеров.

Таблица 1А: Последовательности HVR H1 тяжелой цепи антител к CD33 согласно EU или Kabat

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;	GYTFTDYNLH	105

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		
AB-14.1	GATFTDYNFH	106
AB-14.2	GATFTDYNH	107
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-63.15; AB-63.16; AB-63.17; AB-64.5; AB-64.6; AB-64.7; и AB-64.8	GYTFTDYNH	108
AB-63.5	GYTFTDYNH	109
AB-63.8	GVTFTDYNH	110
AB-63.9	GYAFTDYNLH	111
AB-63.10	GYTETDYNLH	112
AB-63.11 и AB-63.12	GYTFTDYNFH	113
AB-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, E, или H X_4 представляет собой L, F, Y или N	152

Таблица 1B: Последовательности HVR H2 тяжелой цепи антител к CD33 согласно EU или Kabat

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;	FIYPSNGITG	115

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		
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 1С: Последовательности HVR H3 тяжелой цепи антител к CD33 согласно EU или Kabat

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 AB-64.2	STVDYFDY	121
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 2А: Последовательности HVR L1 легкой цепи антител к CD33 согласно EU или Kabat

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; 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	RASQDVSTSTYSYMH	130
AB-63.14	KASQDVSTSTYSYMH	131
AB-63.16	RASQSVHTSTYSYMH	132
AB-63.17	RGSQSVSTSTYSYMH	133
AB-64.2	RVSQDVSTSTYSYMH	134
Формула IV	$X_1X_2SQX_3VX_4X_5STYSYMH$ 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	155

	X ₅ представляет собой T или A	
--	---	--

Таблица 2В: Последовательности HVR L2 легкой цепи антител к CD33 согласно EU или Kabat

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 ₁ X ₂ X ₃ X ₄ X ₅ S X ₁ представляет собой A, V или E X ₂ представляет собой S, V или F X ₃ представляет собой N, Y, A или F X ₄ представляет собой L или V X ₅ представляет собой E, G	156

	или N	
--	-------	--

Таблица 2С: Последовательности HVR L3 легкой цепи антител к CD33 согласно EU или Kabat

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 3: Последовательности вариабельной области тяжелой цепи антител к CD33 согласно EU или Kabat

Антитела	HCVR	SEQ ID NO:
----------	------	------------

AB-14.1	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGATFTDYNF HWVRQAPGQGLEWIGFIYPSNGITGYAQDFQGRVT MTVDTSTSTVYMELSSLRSEDNAVYYCARSDVDY FDYWGQGTLVTVSS	34
AB-14.2	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGATFTDYN HWVRQAPGQGLEWIGFIYPSNGITGYAQKFQDRVT MTVDTSTSTVYMELSSLRSEDNAVYYCARSFVDYF DYWGQGTLVTVSS	35
AB-14.3	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDYN HWVRQAPGQGLEWIGFIYPSNGITGSAQKFQGRVT MTVDTSTSTVYMELSSLRSEDNAVYYCARSDVDY FDYWGQGTLVTVSS	36
AB-14.4	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDYN HWVRQAPGQGLEWIGFIYPSNGITGYAQKFQGRVT MTVDTSTSTVYMELSSLRSEDNAVYYCADSTVDYF DYWGQGTLVTVSS	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	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDYN HWVRQAPGQGLEWIGFIYPSNGITGYAQKFQGRVT MTVDTSTSTVYMELSSLRSEDNAVYYCARSDVDY FDYWGQGTLVTVSS	38
AB-14.11	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDYN HWVRQAPGQGLEWIGFIYPSNGITGYAQKFQGRVT MTVDTSTSTVYMELSSLRSEDNAVYYCARSSVDYF DYWGQGTLVTVSS	39
AB-63.4	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDYN HWVRQAPGQGLEWIGFIYPSNGITGYAQKFQGRVT MTVDTSTSTVYMELSSLRSEDNAVYYCARSTVDYF DYWGQGTLVTVSS	40
AB-63.5	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDYN HWVRQAPGQGLEWIGFIYPSNGITGYAQKFQGRVT MTVDTSTSTVYMELSSLRSEDNAVYYCARSDVDY FDYWGQGTLVTVSS	41

AB-H14; AB-H63; AB-63.6; AB-63.7; и AB-H2	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDYNL HWVRQAPGQGLEWIGFIYPSNGITGYAQKFQGRVT MTVDTSTSTVYMELSSLRSED AVYYCARSTVDYF DYWGQGTLVTVSS	42
AB-63.8	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGVTFTDYN HWVRQAPGQGLEWIGFIYPSNGITGYAQKFQDRVT MTVDTSTSTVYMELSSLRSED AVYYCARSTVDYF DYWGQGTLVTVSS	43
AB-63.9	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYAFTDYNL HWVRQAPGQGLEWIGFIYPSNGITGYAQKFQGRVT MTVDTSTSTVYMELSSLRSED AVYYCARSDVDY FDYWGQGTLVTVSS	44
AB-63.10	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTETDYNL HWVRQAPGQGLEWIGFIYPSNGITGYAQKFQGRVT MTVDTSTSTVYMELSSLRSED AVYYCARSDVDY FDYWGQGTLVTVSS	45
AB-63.11	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDYNF HWVRQAPGQGLEWIGFIYPANGITGYAQKDQGRV TMTVDTSTSTVYMELSSLRSED AVYYCARSDVD YFDYWGQGTLVTVSS	46
AB-63.12	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDYNF HWVRQAPGQGLEWIGFIYPSNGITGYAQKFTGRVT MTVDTSTSTVYMELSSLRSED AVYYCARSTVDYF DDWGQGTLVTVSS	47
AB-63.13	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDYNL HWVRQAPGQGLEWIGFIYPSNGIRGYAQKFQGRVT MTVDTSTSTVYMELSSLRSED AVYYCARSDVDY FDYWGQGTLVTVSS	48
AB-63.14	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFTDYNL HWVRQAPGQGLEWIGFIYPSNGITGYAQKFQGRVT MTVDTSTSTVYMELSSLRSED AVYYCARSDVDY FDYWGQGTLVTVSS	49
AB-63.15	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDYN HWVRQAPGQGLEWIGFIYPSNGITGYAQKFQGRVT	50

	MTVDTSTSTVYMELSSLRSEDТАVYYCARSДVDY FDLWGQGTLLTVSS	
AB-63.18	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTHTDYNL HWVRQAPGQGLEWIGFIYPSNGITGYAQKFQGRVT MTVDTSTSTVYMELSSLRSEDТАVYYCARSДVDY FDYWGQGTLLTVSS	51
AB-64.1; AB-64.4	QVQLVQSGAEVKKPGASVKISCKASGYTFTDYNL HWVRQAPGQGLEWIGFIYPSNGITGYAQKFQGRAT LTVDNSTSTAYMELSSLRSEDТАVYYCARSДVDYF DYWGQGTLLTVSS	52
AB-H64 и AB-64.2	QVQLVQSGAEVKKPGASVKISCKASGYTFTDYNL HWVRQAPGQGLEWIGFIYPSNGITGYAQKFQGRAT LTVDNSTSTAYMELSSLRSEDТАVYYCARSTVDYF DYWGQGTLLTVSS	53
AB-64.3	QVQLVQSGAEVKKPGASVKISCKASGYTFTDYNL HWVRQAPGQGLEWIGFIYPSNGITGYAEKFEGRAT LTVDNSTSTAYMELSSLRSEDТАVYYCARSFVDYF DYWGQGTLLTVSS	54
AB-64.5	QVQLVQSGAEVKKPGASVKISCKASGYTFTDYNL HWVRQAPGQGLEWIGFIYPSNGITGYAQKFFGRAT LTVDNSTSTAYMELSSLRSEDТАVYYCARSДVDYF DYWGQGTLLTVSS	55
AB-64.6 и AB-64.7	QVQLVQSGAEVKKPGASVKISCKASGYTFTDYNL HWVRQAPGQGLEWIGFIYPSNGITGYAQKFQGRAT LTVDNSTSTAYMELSSLRSEDТАVYYCARSДVDYF DYWGQGTLLTVSS	56
AB-64.8	QVQLVQSGAEVKKPGASVKISCKASGYTFTDYNL HWVRQAPGQGLEWIGFIYPSNGITGYAQKFQHRAT LTVDNSTSTAYMELSSLRSEDТАVYYCARSДVDYF DYWGQGTLLTVSS	57
AB-64.1.1	QVQLVQSGAEVKKPGASVKISCKASGYTFTDYNL HWVRQAPGQGLEWIGFIYPSNQITGYAQKFQGRAT LTVDNSTSTAYMELSSLRSEDТАVYYCARSДVDYF DYWGQGTLLTVSS	58

AB-64.1.2	QVQLVQSGAEVKKPGASVKISCKASGYTFTDYNL HWVRQAPGQGLEWIGFIYPSNRITGYAQKFQGRAT LTVDNSTSTAYMELSSLRSEDVAVYYCARSDVDYF DYWGQGTLLTVSS	59
AB-64.1.3	QVQLVQSGAEVKKPGASVKISCKASGYTFTDYNL HWVRQAPGQGLEWIGFIYPSNVITGYAQKFQGRAT LTVDNSTSTAYMELSSLRSEDVAVYYCARSDVDYF DYWGQGTLLTVSS	60
AB-64.1.4	QVQLVQSGAEVKKPGASVKISCKASGYTFTDYNL HWVRQAPGQGLEWIGFIYPSNGITGYAQKFQGRAT LTVDTSTSTAYMELSSLRSEDVAVYYCARSDVDYF DYWGQGTLLTVSS	61
AB-64.1.5	QVQLVQSGAEVKKPGASVKISCKASGYTFTDYNL HWVRQAPGQGLEWIGFIYPSNGITGYAQKFQGRAT LTVDQSTSTAYMELSSLRSEDVAVYYCARSDVDYF DYWGQGTLLTVSS	62
AB-64.1.6	QVQLVQSGAEVKKPGASVKISCKASGYTFTDYNL HWVRQAPGQGLEWIGFIYPSNGITGYAQKFQGRAT LTVDNSASTAYMELSSLRSEDVAVYYCARSDVDYF DYWGQGTLLTVSS	63
AB-64.1.7	QVQLVQSGAEVKKPGASVKISCKASGYTFTDYNL HWVRQAPGQGLEWIGFIYPSNGITGYAQKFQGRAT LTVDNPTSTAYMELSSLRSEDVAVYYCARSDVDYF DYWGQGTLLTVSS	64
AB-64.1.8	QVQLVQSGAEVKKPGASVKISCKASGYTFTDYNL HWVRQAPGQGLEWIGFIYPSNQITGYAQKFQGRAT LTVDNSASTAYMELSSLRSEDVAVYYCARSDVDYF DYWGQGTLLTVSS	65
AB-64.1.9	QVQLVQSGAEVKKPGASVKISCKASGYTFTDYNL HWVRQAPGQGLEWIGFIYPSNQITGYAQKFQGRAT LTVDNPTSTAYMELSSLRSEDVAVYYCARSDVDYF DYWGQGTLLTVSS	66
AB-64.1.10	QVQLVQSGAEVKKPGASVKISCKASGYTFTDYNL HWVRQAPGQGLEWIGFIYPSNRITGYAQKFQGRAT	67

	LTVDTSTSTAYMELSSLRSEDТАVYYCARSDVDYF DYWGQGTLLTVSS	
AB-64.1.11	QVQLVQSGAEVKKPGASVKISCKASGYTFTDYNL HWVRQAPGQGLEWIGFIYPSNRITGYAQKFQGRAT LTVDQSTSTAYMELSSLRSEDТАVYYCARSDVDYF DYWGQGTLLTVSS	68
AB-64.1.12	QVQLVQSGAEVKKPGASVKISCKASGYTFTDYNL HWVRQAPGQGLEWIGFIYPSNRITGYAQKFQGRAT LTVDNSASTAYMELSSLRSEDТАVYYCARSDVDYF DYWGQGTLLTVSS	69
AB-64.1.13	QVQLVQSGAEVKKPGASVKISCKASGYTFTDYNL HWVRQAPGQGLEWIGFIYPSNVITGYAQKFQGRAT LTVDTSTSTAYMELSSLRSEDТАVYYCARSDVDYF DYWGQGTLLTVSS	70
AB-64.1.14	QVQLVQSGAEVKKPGASVKISCKASGYTFTDYNL HWVRQAPGQGLEWIGFIYPSNVITGYAQKFQGRAT LTVDQSTSTAYMELSSLRSEDТАVYYCARSDVDYF DYWGQGTLLTVSS	71
AB-64.1.15	QVQLVQSGAEVKKPGASVKISCKASGYTFTDYNL HWVRQAPGQGLEWIGFIYPSNVITGYAQKFQGRAT LTVDNSASTAYMELSSLRSEDТАVYYCARSDVDYF DYWGQGTLLTVSS	72
AB-H9 и AB-H71	QVQLVQSGAELKKPGASVKVSKASGYTFTDYNL HWVRQAPGQRLEWIGFIYPSNGITGYSQKFQGKAT LTVDTASTAYMELSSLRSEDТАVYYCARSTVDYF DYWGQGTTVTVSS	73
AB-H3 и AB-H15	QVQLVQSGAEVKKPGASVKISCKASGYTFTDYNL HWVRQAPGQGLEWIGFIYPSNGITGYAQKFQGRAT LTVDTSTSTAYMELSSLRSEDТАVYYCARSTVDYF DYWGQGTLLTVSS	74
AB-H65	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTDYNL HWVRQAPGQGLEWMGFIYPSNGITGYAQKFQGRV TMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDТАVYYCARSTVDY FDYWGQGTTVTVSS	75

AB-H66	QVQLVQSGAEVKKPGASVKISCKASGYTFTDYNL HWVRQAPGQGLEWIGFIYPSNGITGYAQKFQGRAT LTVDTSTSTAYMELSSLRSEDТАVYYCARSTVDYF DYWGQGTTTVTVSS	76
AB-H1	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCASGYTFTDYNL HWVRQAPGQGLEWMGFIYPSNGITGYAQKFQGRV TMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDТАVYYCARSTVDY FDYWGQGTЛTVTVSS	170
AB-H6	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCASGYTFTDYNL HWVRQAPGQGLEWMGFIYPSNGITGYAQKFQGRV TMTVDTSTSTAYMELSSLRSEDТАVYYCARSTVDY FDYWGQGTTTVTVSS	171
AB-H11	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCASGYTFTDYNL HWVRQAPGQSLEWIGFIYPSNGITGYSQKFQGKAT LTVDTASTAYMELSSLRSEDТАVYYCARSTVDYF DYWGQGTTTVTVSS	172
AB-H22	QVQLVQSGAEVKKPGASVKISCKASGYTFTDYNL HWVRQAPGQRLEWIGFIYPSNGITGYNQKFKNKAT LTVDTASTAYMELSSLRSEDТАVYYCARSTVDYF DYWGQGTTTVTVSS	173
AB-H24	QVQLVQSGAEVKKPGASVKISCKASGYTFTDYNL HWVRQAPGQRLEWIGFIYPSNGITGYSQKFQGKAT LTVDTASTAYMELSSLRSEDТАVYYCARSTVDYF DYWGQGTTTVTVSS	174
AB-H26	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCASGYTFTDYNL HWVRQAPGQRLEWIGFIYPSNGITGYSQKFQGRAT LTVDTASTAYMELSSLRSEDТАVYYCARSTVDYF DYWGQGTTTVTVSS	175

Таблица 4: Последовательности варибельной области легкой цепи антител к CD33 согласно EU или Kabat

Антитела	LCVR	SEQ ID NO:
AB-H14; AB-14.1; AB-H15; AB-22; AB-24; и AB-26	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQS VSTSTYSYMHWYQQKPGKAPKLLIKYA SNLESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQP EDFATYYCQHSWEIPLTFGQGTKLEIK	77

AB-14.2	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCRASQD VSTSTYSYMHYQQKPGKAPKLLIKYA SNLESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQP EDFATYYCQHSWEIPLTFGQGTKLEIK	78
AB-14.3; AB-14.4; и AB-14.11	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCRASQD VSTSTYSYMHYQQKPGKAPKLLIKYV SNLESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQP EDFATYYCQHSWEIPLTFGQGTKLEIK	79
AB-14.5	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCRASQD VSTSTYSYMHYQQRKPGKAPKLLIKYA SNLESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQP EDFATYYCQHSWEIPLTFGQGTKLEIK	80
AB-14.6	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCRASQS VGTSTYSYMHYQQKPGKAPKLLIKY ASALESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQ PEDFATYYCQHSWEIPLTFGQGTKLEIK	81
AB-14.7	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCRASQS VGTSTYSYMHYQQKPGKAPKLLIKY ASNLESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQ PEDFATYYCQHSWEIPLTFGQGTKLEIK	82
AB-14.8	DIQMTQSPSSLPASVGDRVITITCRASQS VGTSTYSYMHYQQKPGKAPKLLIKY ASNLGSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQ PEDFATYYCQHSWEIPLTFGQGTKLEIK	83
AB-14.9	GIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCRASQS VGTSTYSYMHYQQKPGKAPKLLIKY AVNLESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQ PEDFATYYCQHSWEIPLTFGQGTKLEIK	84
AB-14.10	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCRASQS VSASTYSYMHYQQKPGKAPKLLIKYA SNLESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQP EDLATYYCQHSWEIPLTFGQGTKLEIK	85
AB-H63; AB-63.4; AB-63.5;	DIVLTQSPDSLAVSLGERATINCRASQSV	86

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	STSTYSYMHWYQQKPGQPPKLLIKYAS NLESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAE DVAVYYCQHSWEIPLTFGQGTKLEIK	
AB-63.6; AB-63.8; AB-63.11; и AB-64.8	DIVLTQSPDRLAVSLGERATINCRASQD VSTSTYSYMHWYQQKPGQPPKLLIKYA SNLESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQA EDVAVYYCQHSWEIPLTFGQGTKLEIK	87
AB-63.7	DIVLTQSPDRLAVSLGERATINCRASQD VSTSTYSYMHWYQQKPGQPPKLLIKYA FNLESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQA EDVAVYYCQHSWEIPLEFGQGTKLEIK	88
AB-63.9; AB-64.3; и AB-64.4	DIVLTQSPDRLAVSLGERATINCRASQD VSTSTYSYMHWYQQKPGQPPKLLIKYA SYLESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQA EDVAVYYCEHSWEIPLTFGQGTKLEIK	89
AB-63.10	DIVLTQSPDRLAVSLGERATINCRASQD VSTSTYSYMHWYQQKPGQPPKLLIKYA SNLESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQA EDVAVYYCQHSWELPLTFGQGTKLEIK	90
AB-63.12	DIVLTQSPDRLAVSLGERATINCRASQD VSTSTYSYMHWYQQKPGQPPKLLIKYA SNVESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQA EDVAVYYCQHSAIPLTFGQGTKLEIK	91
AB-63.13	DIVLTQSPDRLAVSLGERATINCRASQSV STSTYSYMHWYQQKPGQPPKLLIKYAS NLESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAE DVAVYYCQHSEEIPLTFGQGTKLEIK	92
AB-63.14	DIVLTQSPDRLAVSLGERATIDCKASQD	93

	VSTSTYSYMHYQQKPGQPPKLLIKYA SNLESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQA EDVAVYYCQHSWEIPLTFGQGTKLEIK	
AB-63.15	DIVLTQSPDSLAVSLGERATINCRASQD VSTSTYSYMHYQQKPGQPPKLLIKYA SNVESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQA EDVAVYYCQHSWEIPLTFGQGTKLEIE	94
AB-63.16	DIVLTQSPDSLAVSLGERATINCRASQSV HTSTYSYMHYQQKPGQPPKLLIKYAS NLESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAE DVAVYYCQHSWEIPLTFGQGTKLEIK	95
AB-63.17	DIVLTQSPDSLAVSLGERATINCRGSQSV STSTYSYMHYQQKPGQPPKLLIKYES NLESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAE DVAVYYCQHSWEIPLTFGQGTKLEIK	96
AB-63.18	DIVLTQSPDSLAVSLGERATINCRASQSV STSTYSYMHYQQKPGQPPKLLIKYES NLESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAE DVAVYYCQHSWEIPLTFGQGTKLEIK	97
AB-64.2	DIVLTQSPDSLAVSLGERATINCRVSQD VSTSTYSYMHYQQKPGQPPKLLIKYA SNLESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQA EDVAVYYCQHSWEIPLTFGQGTKLEIK	98
AB-64.5	DIVLTQSPDSLAVSLGERATINCRASQSV GTSTYSYMHYQQKPGQPPKLLIKYAS NLESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAE DVAVYYCQHSWEIPLTFGQGTKLEIK	99
AB-64.6	DIVLTQSPDSLAVSLGERATINCRASQD VSTSTYSYMHYQQKPGQPPKLLIKYA SFLESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQA EDVAVYYCQHSWEIPLTFGQGTKLEIK	100
AB-64.7	DIVLTQSPDSLAVSLGERATINCRASQSV	101

	GTSTYSYMHWYQQKPGQPPKLLIKYAS NLNSGVPDRFSGSGSGTDFTLTISLQAE DVAVYYCQHSEEIPLTFGQGTKLEIK	
AB-H1; AB-H2; AB-H3; AB-H6; AB-H9; и AB-H11	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQS VSTSTYSYMHWYQQKPGKAPKLLIYYA SNLESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQP EDFATYYCQHSWEIPLTFGQGTKLEIK	102

Таблица 5А: Последовательности каркаса 1 тяжелой цепи антител к CD33 согласно EU или Kabat

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 5В: Последовательности каркаса 2 тяжелой цепи антител к CD33 согласно EU или Kabat

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;	WVRQAPGQGLE WIG	5

Антитела	VH FR2	SEQ ID NO:
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		

Таблица 5С: Последовательности каркаса 3 тяжелой цепи антител к CD33 согласно EU или Kabat

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; 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	YAQKFQGRVTMTVDTSTSTV YMESSLRSEDТАVYYCAR	6
AB-14.1	YAQDFQGRVTMTVDTSTSTV YMESSLRSEDТАVYYCAR	7
AB-14.2 и AB-63.8	YAQKFQDRVTMTVDTSTSTV YMESSLRSEDТАVYYCAR	8
AB-14.3	SAQKFQGRVTMTVDTSTSTV YMESSLRSEDТАVYYCAR	9
AB-63.11	YAQKDQGRVTMTVDTSTSTV YMESSLRSEDТАVYYCAR	10
AB-63.12	YAQKFTGRVTMTVDTSTSTV YMESSLRSEDТАVYYCAR	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	YAQKFQGRATLTVDNSTSTA YMESSLRSEDТАVYYCAR	12
AB-64.3	YAEKFEGRATLTVDNSTSTAY MESSLRSEDТАVYYCAR	13
AB-64.5	YAQKFFGRATLTVDNSTSTAY	14

	MELSSLRSED TAVYYCAR	
AB-64.8	YAQKFQHRATLTVDNSTSTA YMELSSLRSED TAVYYCAR	15
AB-64.1.4; AB-64.1.10; и AB-64.1.13	YAQKFQGRATLTVDNSTSTAY MELSSLRSED TAVYYCAR	16
AB-64.1.5; AB-64.1.11; и AB-64.1.14	YAQKFQGRATLTVDQSTSTA YMELSSLRSED TAVYYCAR	17
AB-64.1.6; AB-64.1.8; AB-64.1.12; и AB-64.1.15	YAQKFQGRATLTVDNSASTA YMELSSLRSED TAVYYCAR	18
AB-64.1.7 и AB-64.1.9	YAQKFQGRATLTVDNPTSTA YMELSSLRSED TAVYYCAR	19
Формула VIII	$X_1AX_2X_3X_4X_5X_6RX_7TX_8TVDX_9$ $X_{10}X_{11}STX_{12}YMELSSLRSED TAVYYCAR$ 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 5D: Последовательности каркаса 4 тяжелой цепи антител к CD33 согласно EU или Kabat

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-	WGQGT LVT VSS	20

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; 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 TVSS X_1 представляет собой V или L	160

Таблица 6А: Последовательности каркаса 1 легкой цепи антител к CD33 согласно EU или Kabat

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	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITIC	22
AB-14.8	DIQMTQSPSSLPASVGDRVITIC	23
AB-14.9	GIQMTQSPSSLSASVGDRVITIC	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-64.1.14; и AB-64.1.15	DIVLTQSPDSLAVSLGERATINC	25
AB-63.14	DIVLTQSPDSLAVSLGERATIDC	26
Формула X	$X_1IX_2X_3TQSPX_4SLX_5X_6SX_7GX_8R$ $X_9TIX_{10}C$	161

	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	
--	---	--

Таблица 6В: Последовательности каркаса 2 легкой цепи антител к CD33 согласно EU или Kabat

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 ₁ X ₂ PKLLIK X_1 представляет собой K или Q X_2 представляет собой A или P	162
Формула XIV	WYQX ₁ KPGX ₂ X ₃ PKLLIK X_1 представляет собой Q или R	169

	X ₂ представляет собой К или Q X ₃ представляет собой А или Р	

Таблица 6С: Последовательности каркаса 3 тяжелой цепи антител к CD33 согласно EU или Kabat

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	GVPSRFSGSGSGTDFTLTISL QPEDFATYYC	29
AB-14.10	GVPSRFSGSGSGTDFTLTISL QPEDLATYYC	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-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	GVPDRFSGSGSGTDFTLTISL QAEDVAVYYC	31
Формула XII	GVPX ₁ RFSGSGSGTDFTLTISL LQX ₂ EDX ₃ AX ₄ YYC X ₁ представляет собой S или D X ₂ представляет собой Р или А X ₃ представляет собой F, L или V X ₄ представляет собой Т или V	163

Таблица 6D: Последовательности каркаса 4 легкой цепи антител к CD33 согласно EU или Kabat

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;	FGQGTKLEIK	32

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		
AB-63.15	FGQGTKLEIE	33
Формула XIII	FGQGTKLEIX ₁ X ₁ представляет собой К или Е	164

ПЕРЕЧЕНЬ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ

Все полипептидные последовательности представлены от N-конца до С-конца, 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
ASNLESGVPARFSGSGSGTDFTLNHPVEEEDTATYYCQHSWEIPLTFGAGTKLELK
(SEQ ID NO: 104)

Мотив рецептора:
D/E_{x0}-2Y_{xx}L/IX6-8Y_{xx}L/I (SEQ ID NO: 165)
CH1 и шарнирная область IGg2:
ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPA
VLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTKVERKCCVECPPCP (SEQ
ID NO: 166)

Последовательность полноразмерного антитела AB-64.1 huIgG1:
Тяжелая цепь:
QVQLVQSGAEVKKPGASVKISCKASGYTFTDYNLHWVRQAPGQGLEWIGFIYPS
NGITGYAQKFQGRATLTVDNSTSTAYMELSSLRSEDVAVYYCARSDVDYFDYWGQGT
LTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPA
VLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAP
ELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP
REEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVY

TLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSK
LTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 176)

QVQLVQSGAEVKKPGASVKISCKASGYTFTDYNLHWVRQAPGQGLEWIGFIYPS
NGITGYAQKFQGRATLTVDNSTSTAYMELSSLRSEDVAVYYCARSDVDYFDYWGGQTL
LTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPA
VLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAP
ELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP
REEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVY
TLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSK
LTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG (SEQ ID NO: 197)

Легкая цепь:

DIVLTQSPDSLAVSLGERATINCRASQSVSTSTYSYMHYQQKPGQPPKLLIKYA
SNLESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQHSWEIPLTFGQGTKLEIKRTVA
APSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKD
STYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 185)

Последовательность полноразмерного антитела AB-64.1.2 huIgG1

Тяжелая цепь:

QVQLVQSGAEVKKPGASVKISCKASGYTFTDYNLHWVRQAPGQGLEWIGFIYPS
NRITGYAQKFQGRATLTVDNSTSTAYMELSSLRSEDVAVYYCARSDVDYFDYWGGQTL
LTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPA
VLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAP
ELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP
REEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVY
TLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSK
LTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 177)

QVQLVQSGAEVKKPGASVKISCKASGYTFTDYNLHWVRQAPGQGLEWIGFIYPS
NRITGYAQKFQGRATLTVDNSTSTAYMELSSLRSEDVAVYYCARSDVDYFDYWGGQTL
LTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPA
VLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAP
ELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP
REEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVY
TLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSK
LTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG (SEQ ID NO: 198)

Легкая цепь:

DIVLTQSPDSLAVSLGERATINCRASQSVSTSTYSYMHYQQKPGQPPKLLIKYA
SNLESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQHSWEIPLTFGQGTKLEIKRTVA
APSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKD
STYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 185)

Последовательность полноразмерного антитела AB-64.1.8 huIgG1

Тяжелая цепь:

QVQLVQSGAEVKKPGASVKISCKASGYTFTDYNLHWVRQAPGQGLEWIGFIYPS
 NQITGYAQKFQGRATLTVDNSASTAYMELSSLRSEDVAVYYCARSDVDYFDYWGQGT
 LLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFP
 AVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPA
 PELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTK
 PREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQV
 YTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYS
 KLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 178)

QVQLVQSGAEVKKPGASVKISCKASGYTFTDYNLHWVRQAPGQGLEWIGFIYPS
 NQITGYAQKFQGRATLTVDNSASTAYMELSSLRSEDVAVYYCARSDVDYFDYWGQGT
 LLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFP
 AVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPA
 PELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTK
 PREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQV
 YTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYS
 KLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPG (SEQ ID NO: 199)

Легкая цепь:

DIVLTQSPDSLAVSLGERATINCRASQSVSTSTYSYMHWYQQKPGQPPKLLIKYA
 SNLESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQHSWEIPLTFGQGTKLEIKRTVA
 APSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKD
 STYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 185)

Последовательность полноразмерного антитела AB-64.1 huIgG2:

Тяжелая цепь:

QVQLVQSGAEVKKPGASVKISCKASGYTFTDYNLHWVRQAPGQGLEWIGFIYPS
 NGITGYAQKFQGRATLTVDNSTSTAYMELSSLRSEDVAVYYCARSDVDYFDYWGQGT
 LTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPA
 VLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVRKCCVECPPCPAPPV
 AGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREE
 QFNSTFRVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPP
 SREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPMLDSDGSFFLYSKLTV
 DKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 179)

QVQLVQSGAEVKKPGASVKISCKASGYTFTDYNLHWVRQAPGQGLEWIGFIYPS
 NGITGYAQKFQGRATLTVDNSTSTAYMELSSLRSEDVAVYYCARSDVDYFDYWGQGT
 LTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPA
 VLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVRKCCVECPPCPAPPV
 AGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREE
 QFNSTFRVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPP
 SREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPMLDSDGSFFLYSKLTV
 DKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPG (SEQ ID NO: 200)

Легкая цепь:

DIVLTQSPDSLAVSLGERATINCRASQSVSTSTYSYMHYQKPGQPPKLLIKYA
 SNLESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISLQAEDVAVYYCQHSWEIPLTFGQGKLEIKRTVA
 APSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKD
 STYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 185)

Последовательность полноразмерного антитела AB-64.1.2 huIgG2

Тяжелая цепь:

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

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

Легкая цепь:

DIVLTQSPDSLAVSLGERATINCRASQSVSTSTYSYMHYQKPGQPPKLLIKYA
 SNLESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISLQAEDVAVYYCQHSWEIPLTFGQGKLEIKRTVA
 APSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKD
 STYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 185)

Последовательность полноразмерного антитела AB-64.1.8 huIgG2

Тяжелая цепь:

QVQLVQSGAEVKKPGASVKISCKASGYTFTDYNLHWVRQAPGQGLEWIGFIYPS
 NQITGYAQKFQGRATLTVDNSASTAYMELSSLRSEDVAVYYCARSDVDYFDYWGQGT
 LLTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFP
 AVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTKVERKCCVECPPCPAPP
 VAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPR
 EEQFNSTFRVVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTL
 PPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPMLDSDGSFFLYSKL
 TVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 181)

QVQLVQSGAEVKKPGASVKISCKASGYTFTDYNLHWVRQAPGQGLEWIGFIYPS
 NQITGYAQKFQGRATLTVDNSASTAYMELSSLRSEDVAVYYCARSDVDYFDYWGQGT
 LLTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFP

AVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDPKPSNTKVDKTVKCCVECPPCPAPP
VAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR
EEQFNSTFRVVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTL
PPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPMLDSGDSFFLYSKL
TVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG (SEQ ID NO: 202)

Легкая цепь:

DIVLTQSPDLSAVSLGERATINCRASQSVSTSTYSYMHYQKPGQPPKLLIKYA
SNLESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQHSWEIPLTFGQGTKLEIKRTVA
APSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKD
STYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 185)

Последовательность полноразмерного антитела AB-64.1 huIgG1 LALAPS

Тяжелая цепь:

QVQLVQSGAEVKKPGASVKISCKASGYTFTDYNLHWVRQAPGQGLEWIGFIYPS
NGITGYAQKFQGRATLTVDNSTSTAYMELSSLRSEDVAVYYCARSDVDYFDYWGGTGL
LTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPA
VLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAP
EAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTK
PREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPASIEKTISKAKGQPREPQV
YTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYS
KLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 182)

QVQLVQSGAEVKKPGASVKISCKASGYTFTDYNLHWVRQAPGQGLEWIGFIYPS
NGITGYAQKFQGRATLTVDNSTSTAYMELSSLRSEDVAVYYCARSDVDYFDYWGGTGL
LTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPA
VLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAP
EAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTK
PREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPASIEKTISKAKGQPREPQV
YTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYS
KLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG (SEQ ID NO: 203)

Легкая цепь:

DIVLTQSPDLSAVSLGERATINCRASQSVSTSTYSYMHYQKPGQPPKLLIKYA
SNLESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQHSWEIPLTFGQGTKLEIKRTVA
APSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKD
STYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 185)

Последовательность полноразмерного антитела AB-64.1.2 huIgG1 LALAPS

Тяжелая цепь:

QVQLVQSGAEVKKPGASVKISCKASGYTFTDYNLHWVRQAPGQGLEWIGFIYPS
NRITGYAQKFQGRATLTVDNSTSTAYMELSSLRSEDVAVYYCARSDVDYFDYWGGTGL
LTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPA
VLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAP
ELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP

REEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVY
 TLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSK
 LTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 183)

QVQLVQSGAEVKKPGASVKISCKASGYTFTDYNLHWVRQAPGQGLEWIGFIYPS
 NRITGYAQKFQGRATLTVDNSTSTAYMELSSLRSEDVAVYYCARSDVDYFDYWGQGT
 LTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPA
 VLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAP
 EAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTK
 PREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPASIEKTISKAKGQPREPQV
 YTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYS
 KLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG (SEQ ID NO: 204)

Легкая цепь:

DIVLTQSPDSLAVSLGERATINCRASQSVSTSTYSYMHYQQKPGQPPKLLIKYA
 SNLESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQHSWEIPLTFGQGTKLEIKRTVA
 APSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKD
 STYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 185)

Последовательность полноразмерного антитела AB-64.1.8 huIgG1 LALAPS

Тяжелая цепь:

QVQLVQSGAEVKKPGASVKISCKASGYTFTDYNLHWVRQAPGQGLEWIGFIYPS
 NQITGYAQKFQGRATLTVDNSASTAYMELSSLRSEDVAVYYCARSDVDYFDYWGQGT
 LLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFP
 AVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPA
 PELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTK
 PREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQV
 YTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYS
 KLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 184)

QVQLVQSGAEVKKPGASVKISCKASGYTFTDYNLHWVRQAPGQGLEWIGFIYPS
 NQITGYAQKFQGRATLTVDNSASTAYMELSSLRSEDVAVYYCARSDVDYFDYWGQGT
 LLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFP
 AVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPA
 PEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKT
 KPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPASIEKTISKAKGQPREPQ
 VYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLY
 SKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG (SEQ ID NO: 205)

Легкая цепь:

DIVLTQSPDSLAVSLGERATINCRASQSVSTSTYSYMHYQQKPGQPPKLLIKYA
 SNLESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQHSWEIPLTFGQGTKLEIKRTVA
 APSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKD
 STYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 185)

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Способ лечения и/или задержки прогрессирования заболевания или поражения у индивидуума, включающий введение индивидууму антитела к CD33 внутривенно в дозе по меньшей мере около 1,6 мг/кг,

при этом антитело вводят приблизительно один раз в двенадцать недель или чаще;
и

при этом антитело содержит: вариабельную область тяжелой цепи, которая содержит

HVR-H1, содержащую аминокислотную последовательность GYTFTDYNLH (SEQ ID NO: 105),

HVR-H2, содержащую аминокислотную последовательность FIYPSNRITG (SEQ ID NO: 119), и HVR-H3, содержащую аминокислотную последовательность SDVDYFDY (SEQ ID NO: 122); и

вариабельную область легкой цепи, которая содержит

HVR-L1, содержащую аминокислотную последовательность RASQSVSTSTYSYMH (SEQ ID NO: 127),

HVR-L2, содержащую аминокислотную последовательность YASNLES (SEQ ID NO: 135), и

HVR-L3, содержащую аминокислотную последовательность QHSWEIPLT (SEQ ID NO: 146).

2. Способ по п. 1, в котором антитело к CD33 вводят в дозе от около 1,6 мг/кг до около 15 мг/кг.

3. Способ по пп. 1 или 2, в котором антитело к CD33 вводят в дозе около 1,6 мг/кг, около 5 мг/кг, около 7,5 мг/кг, около 10 мг/кг или около 15 мг/кг.

4. Способ по любому из пп. 1-3, в котором антитело к CD33 вводят один раз в две недели, один раз в четыре недели, один раз в пять недель, один раз в шесть недель, один раз в семь недель, один раз в восемь недель, один раз в девять недель, один раз в десять недель, один раз в одиннадцать недель или один раз в двенадцать недель.

5. Способ по любому из пп. 1-4, в котором антитело к CD33 вводят один раз в две недели в дозе около 1,6 мг/кг.

6. Способ по любому из пп. 1-4, в котором антитело к CD33 вводят один раз в четыре недели в дозе около 1,6 мг/кг.

7. Способ по любому из пп. 1-4, в котором антитело к CD33 вводят один раз в четыре недели в дозе около 15 мг/кг.

8. Способ по любому из пп. 1-4, в котором антитело к CD33 вводят один раз в пять недель в дозе около 15 мг/кг.

9. Способ по любому из пп. 1-4, в котором антитело к CD33 вводят один раз в шесть недель в дозе около 15 мг/кг.

10. Способ по любому из пп. 1-4, в котором антитело к CD33 вводят один раз в семь недель в дозе около 15 мг/кг.

11. Способ по любому из пп. 1-4, в котором антитело к CD33 вводят один раз в восемь недель в дозе около 15 мг/кг.

12. Способ по любому из пп. 1-11, в котором уровень CD33 на поверхности клеток снижается по меньшей мере на около 70% по сравнению с уровнем CD33 на поверхности клеток до введения антитела к CD33.

13. Способ по любому из пп. 1-12, в котором уровень CD33 на поверхности клеток снижается по меньшей мере на около 80% по сравнению с уровнем CD33 на поверхности клеток до введения антитела к CD33.

14. Способ по любому из пп. 1-13, в котором уровень CD33 на поверхности клеток снижается по меньшей мере на около 85% по сравнению с уровнем CD33 на поверхности клеток до введения антитела к CD33.

15. Способ по любому из пп. 1-14, в котором уровень CD33 на поверхности клеток снижается по меньшей мере на около 90% по сравнению с уровнем CD33 на поверхности клеток до введения антитела к CD33.

16. Способ по любому из пп. 12-15, в котором снижение уровня CD33 на поверхности клеток наблюдается в течение по меньшей мере около 12 дней после введения антитела к CD33.

17. Способ по любому из пп. 12-16, в котором снижение уровня CD33 на поверхности клеток наблюдается в течение по меньшей мере около 17 дней после введения антитела к CD33.

18. Способ по любому из пп. 12-17, в котором снижение уровня CD33 на поверхности клеток наблюдается в течение по меньшей мере около 29 дней после введения антитела к CD33.

19. Способ по любому из пп. 12-18, в котором снижение уровня CD33 на поверхности клеток наблюдается в течение по меньшей мере около 42 дней после введения антитела к CD33.

20. Способ по любому из пп. 12-19, в котором снижение уровня CD33 на поверхности клеток наблюдается в течение по меньшей мере около 56 дней после введения антитела к CD33.

21. Способ по любому из пп. 12-20, снижение уровня CD33 на поверхности клеток включает снижение уровня CD33 на клеточной поверхности моноцитов периферической крови индивидуума.

22. Способ по любому из пп. 1-21, в котором антитело содержит переменную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 59 и переменную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 86.

23. Способ по любому из пп. 1-22, в котором антитело имеет изотип IgG2.

24. Способ по любому из пп. 1-23, в котором антитело содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 180 или SEQ ID NO: 201, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 185.

25. Способ по любому из пп. 1-24,, в котором конечный период полужизни антитела к CD33 в плазме составляет около 4 дней, около 5 дней, около 6 дней, около 7 дней, около 8 дней, около 9 дней, около 10 дней, около 11 дней или около 12 дней.

26. Способ по любому из пп. 1-25, в котором конечный период полужизни антитела к CD33 в плазме составляет около 10 дней.

27. Способ по любому из пп. 1-26, в котором заболевание или поражение выбрано из группы, состоящей из деменции, лобно-височной деменции, болезни Альцгеймера, сосудистой деменции, смешанной деменции, таупатии, инфекции и рака.

28. Способ по любому из пп. 1-26, в котором заболевание или поражение представляет собой болезнь Альцгеймера.

29. Способ по любому из пп. 1-28, в котором у индивидуума диагностирована болезнь Альцгеймера или имеется клинический диагноз деменции, вероятно связанной с болезнью Альцгеймера.

30. Способ по любому из пп. 1-29, в котором у индивидуума показатель по Краткой шкале оценки психического статуса (MMSE) составляет от около 16 баллов до около 28 баллов.

31. Способ по любому из пп. 1-30, в котором общий балл по Шкале клинической оценки тяжести деменции (CDR-GS) у индивидуума составляет около 0,5, около 1,0 или около 2,0.

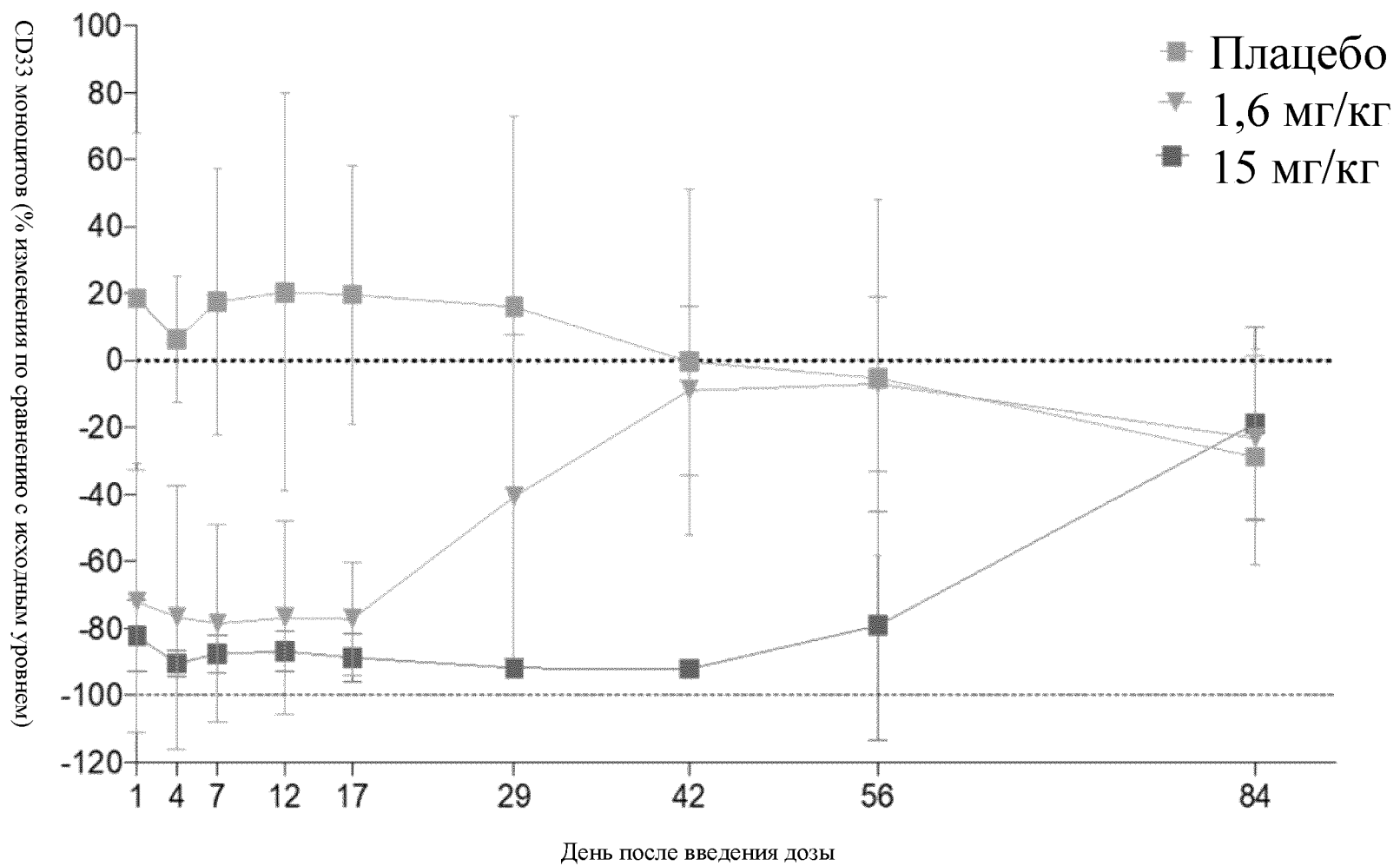
32. Способ по любому из пп. 1-31, в котором у индивидуума положительный результат ПЭТ-сканирования на выявление амилоида.

33. Способ по любому из пп. 1-32, в котором индивидуум принимает стабильную дозу ингибитора холинэстеразы и/или проходит терапию мемантином для лечения болезни Альцгеймера.

34. Способ по любому из пп. 1-33, в котором индивидуум не является носителем двух копий аллеля rs12459419^T.

35. Способ по любому из пп. 1-34, в котором заболевание или поражение представляет собой болезнь Альцгеймера, и при этом лечение и/или замедление прогрессирования болезни Альцгеймера оценивают с использованием одного или более инструментов клинической оценки, выбранных из Краткой шкалы оценки психического состояния (MMSE), Повторяемой батареи тестов по оценке нейропсихологического состояния (RBANS), Шкалы клинической оценки деменции (CDR), позитронно-эмиссионной томографии (ПЭТ) головного мозга на выявление амилоида, ПЭТ-визуализации транслокаторного белка (TSPO) и любой их комбинации.

По доверенности



Фиг. 1