



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **112062** (13) **C2**
(51) МПК
C07K 16/28 (2006.01)
A61K 39/395 (2006.01)

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВІНАХІД

(21) Номер заявки: а 2013 05316	(72) Винахідник(и): Конопіцкі Ренате (АТ), Боргес Ерік (DE/АТ), Адам Пол (GB/АТ), Хайдер Карл-Хайнц (DE/АТ)
(22) Дата подання заявки: 04.10.2011	(73) Власник(и): БЬОРІНГЕР ІНГЕЛЬХАЙМ ІНТЕРНАЦІОНАЛЬ ГМБХ, Binger Strasse 173, 55216 Ingelheim am Rhein, Germany (DE)
(24) Дата, з якої є чинними права на винахід: 25.07.2016	(74) Представник: Петров Андрій Володимирович, реєстр. №139
(31) Номер попередньої заявки відповідно до Паризької конвенції: 10186468.4	(56) Перелік документів, взятих до уваги експертизою: Caron P.C. et al. Biological and immunological features of humanized M195 (anti-CD33) monoclonal antibodies. Cancer Res., 15 Dec. 1992, Vol. 52 no. 24, pages 6761-6767 Caron P.C. et al. Murine and humanized constructs of monoclonal antibody M195 (anti- CD33) for the therapy of acute myelogenous leukemia. Cancer., 1 Feb. 1994, Vol. 73 no. 3 Suppl., pages 1049-1056 Caron P.C. et al. Engineered humanized dimeric forms of IgG are more effective antibodies. J Exp Med., 1 Oct. 1992, Vol. 176, no. 4, pages 1191-1195
(32) Дата подання попередньої заявки відповідно до Паризької конвенції: 04.10.2010	
(33) Код держави-учасниці Паризької конвенції, до якої подано попередню заявку: EP	
(41) Публікація відомостей про заявку: 10.09.2013, Бюл.№ 17	
(46) Публікація відомостей про видачу патенту: 25.07.2016, Бюл.№ 14	
(86) Номер та дата подання міжнародної заявки, поданої відповідно до Договору РСТ PCT/EP2011/067339, 04.10.2011	

(54) CD33-ЗВ'ЯЗУВАЛЬНИЙ АГЕНТ**(57) Реферат:**

Винахід належить до CD33-зв'язувального агента, який специфічно зв'язується із епітопом, який має амінокислотну послідовність FFHPIPYDKNSPVHGYW (SEQID NO: 141) людського CD33, фармацевтичної композиції та способу одержання та застосування CD-33-зв'язувального агента.

UA 112062 C2

Галузь техніки, до якої належить винахід

Даний винахід належить до імунотерапій, заснованих на виснаженні мієлоїдних клітин. Зокрема, даний винахід належить до CD33-зв'язуючим агентам, призначеним для застосування в зазначених терапіях, наприклад, для лікування пов'язаних з мієлоїдними клітинами злоякісних захворювань і мієлодиспластичного синдрому (МДС).

Передумови створення винаходу

На початку 1980-их років CD33 був ідентифікований в якості маркера мієлоїдних лейкозів (Andrews та ін., Blood 62, 1983, сс. 24-132). CD33 являє собою присутній на клітинній поверхні антиген, специфічно експресуємий на мієлоїдних клітинах, включаючи мієлоїдні лейкозні клітини. Він є найменшим представником сімейства сіглеків (що зв'язують сіалову кислоту родинні Ig лектини). CD33 експресується на ранніх мультілінійних гематопоетичних клітинах-попередниках і мієломоноцитарних клітинах-попередниках. Він відсутній на плюріпотентних гематопоетичних стволових клітинах (Andrews і ін., Journal of Experimental Medicine 169, 1989, сс. 1721-1731, 1989). Встановлено, що він піддається понижувальній регуляції на зрілих гранулоцитах, але зберігається на макрофагах, моноцитах і дендритних клітинах (Andrews та ін., Blood 62, 1083, сс. 24-132). Встановлено, що CD33 експресується крім мієломоноцитарних клітин також і на людських тучних клітинах і базофілів крові (Valent та ін., Blood 15; 73 (7), 1989, сс. 1778-1785). Моноклональні антитіла до CD33 застосовують для діагностування лейкозу, а також для цілеспрямованої терапії та in vitro для очищення кісткового мозку при аутологічній трансплантації при гострому мієлоїдному лейкозі (ГМЛ) (Duzkale та ін., Biol Blood Marrow Transplant. 9 (6), 2003, сс. 364-372). Перші спроби при створенні цілеспрямованої терапії були сфокусовані на розробці імунотоксинів з використанням антитіла до CD33, кон'югованого з токсином рицину. Підхід, заснований на застосуванні імунотоксинів, був очевидний у зв'язку з швидкою інтерналізацією CD33 при зв'язуванні з антитілом (Audran та ін., J Immunol Methods. 188(1), 1995, сс. 147-154).

CD33 являє собою трансмембранний глікопротеїн з молекулярною масою 67 кДа. Зв'язуючий сіалову кислоту позаклітинний домен CD33 бере участь у адгезії за типом клітина-клітина. Внутрішньоклітинні імунорецепторні тирозинзалежні інгібіторні мотиви (ITIM) передають інгібіторні сигнали клітині, впливаючи на проліферацію і виживання клітини. Фактичні шляхи передачі сигналів CD33 мало вивчені, але ймовірно, вони включають ITIM і ITIM-подібні мотиви і рекрутмент тирозінфосфатаз (von Gunten та ін, Ann. NY Acad. Sci. 1143, 2008, сс. 61-82). Ідентифікований мишачий Ортолог CD33, але його функціональна сумісність з людським CD33 є спірною (Brinkman-Van der Linden та ін, Mol Cell Biol., 23 (12), 2003, сс. 4199-4206). Функціональна роль людського CD33 на здорових і злоякісних лейкоцитах залишається невідомою.

У кількох публікаціях CD33 описаний в якості стабільного маркера клітинної поверхні на первинних ГМЛ-і ХМЛ-клітинах, що експресується у 70-100 % тестованих пацієнтів (Plesa та ін, Cancer 112 (3), 2007, сс. 572-580; Hauswirt та ін, Eur J Clin Invest., январь 2007, сс. 73-82; Scheinberg та ін, Leukemia, т. 3, 1989, сс. 440-445). CD33 експресується на злоякісних мієлоїдних бластних клітинах, які являють собою основні злоякісні клітини в периферичній крові та кістковому мозку пацієнтів які страждають на лейкоз, і на лейкозних стволових клітинах, відносно невеликій групі менш диференційованих клітин у кістковому мозку, які відрізняються притаманною їм здатністю до самовідновлення і підтримці лейкозної клональної ієрархії. Виснаження лейкозних стволових клітин вважається ключовим механізмом забезпечення тривалого вільного від пухлини виживання. Імунотоксин, що надає спрямований вплив на CD33 Mylotarg®, гуманізоване антитіло ізотипу IgG4, кон'югованого з токсином халіцеаміціном, застосовують для лікування страждаючих ГМЛ пацієнтів шляхом доставки цього токсичного "корисного вантажу" до CD33-позитивним ГМЛ-клітинам (Amadori та ін, Cancer Treat Rev. 34 (1), 2008, сс. 49-60). Лінтузумаб (SGN-33, HuM195), "голе" CD33-специфічне гуманізоване моноклональне антитіло, оцінювали на фазі II клінічних випробувань для лікування ГМЛ і МДС, з урахуванням опублікованих початкових даних про клінічних ознаках ефективності, встановлених на фазі I в досліді з зростаючими дозами, і наявності переносимих небажаних явищ (Raza та ін, реферат № 983, 14-ий конгрес ЕНА, 4-7 червня 2009).

Спрямований вплив на клітинні лінії ГМЛ CD33-специфічного HuM195 in vitro призводило до зниження індукованої TNF- α секреції запальних цитокінів типу IL-8, MCP-1 і RANTES (Sutherland та ін, Mabs 1:5, 2009, сс. 481-490). Придатність цього явища для терапії ГМЛ залишається невідомим, але модуляція цитокінового середовища в мікрооточенні пухлини може впливати на терапевтичну ефективність антитіла. Крім того, антитіло індукує антитіло-обумовлену клітинозалежну цитотоксичність (ADCC) і антитіло-обумовлений клітинозалежний фагоцитоз (ADCP) клітинних ліній ГМЛ in vitro (Sutherland та ін, Mabs 1,5, 2009, сс. 481-490). Вважається,

що ADCC є таким, що має вирішальне значення механізмом протипухлинної активності антитіл при гематологічних злоякісних захворюваннях. Дані, отримані при клінічних випробуваннях CD20-специфічного моноклонального антитіла ритуксимабу, продемонстрували важливість опосередковуваних ефекторними клітинами механізмів дії для лікування В-клітинних злоякісних захворювань щодо відповіді на лікування антитілом (Weng і Levy, J Clin Oncol. 21 (21), 2003, сс. 3940-3947).

Таким чином, було встановлено, що антиген CD33 експресується на здорових клітинах мієломоноцитарної клітинної лінії і часто експресується на пухлинних клітинах при мієлоїдних лейкозах. При проведенні фази I випробувань антитіла до CD33 (Лінтузумаба) виявлені перші свідчення ефективності без серйозних небажаних явищ. Проте вивчення в клінічних умовах лінтузумаба було припинено після того, як на фазі II випробувань було встановлено, що при застосуванні лінтузумаба у поєднанні з хіміотерапією не вдалося досягти очікуваного підвищення ефективності. Таким чином, очевидно, що існує потреба в розробці вдосконалених шляхів лікування, мішенню якого є CD33.

З існуючого рівня техніки випливає, що існує потреба в розробці більш ефективної терапії злоякісних захворювань, пов'язаних з мієлоїдними клітинами, і МДС, насамперед гострого мієлоїдного лейкозу.

Зокрема, існує потреба у створенні більш ефективних антагоністичних зв'язуючих CD33 агентів, призначених для лікування раку, насамперед ГМЛ.

Короткий виклад суті винаходу

У даному винаході запропоновані нові CD33-зв'язуючі агенти, які зв'язуються з людським CD33 і які відрізняються тим, що вони:

а) несуть варіабельну область важкого ланцюга, що містить CDR1, CDR2 і CDR3, і варіабельну область легкого ланцюга, що містить CDR4, CDR5 і CDR6, де CDR1 має амінокислотну послідовність, вибрану з SeqID No: 1-14, CDR2 має амінокислотну послідовність, вибрану з SeqID No: 14-28, CDR3 має амінокислотну послідовність, вибрану з SeqID No: 29-42, CDR4 має амінокислотну послідовність, вибрану з SeqID No: 43-56, CDR5 має амінокислотну послідовність, вибрану з SeqID No: 57-70, CDR6 має амінокислотну послідовність, вибрану з SeqID No: 71-84, або

б) розпізнають епітоп, розташований усередині амінокислотної послідовності FFHPIPYDYKNSPVHGYW (SeqID No: 141) людського CD33.

Даний винахід належить і до CD33-зв'язуючих агентів, де кінетика інтерналізації CD33-зв'язуючих агентів є такою, що щонайменше 30 %, переважно щонайменше 40 % початкової кількості антитіла залишається на клітинній поверхні HL60-клітин через 4 години після інкубації.

Даний винахід належить і до CD33-зв'язуючих агентів, варіабельна область важкого ланцюга яких містить амінокислотну послідовність, вибрану з SeqID No: 85-98, і варіабельна область легкого ланцюга яких містить амінокислотну послідовність, вибрану з SeqID No: 99-112.

Даний винахід належить і до CD33-зв'язуючих агентів, важкий ланцюг яких містить амінокислотну послідовність, вибрану з SeqID No: 113-126, і легкий ланцюг яких містить амінокислотну послідовність, вибрану з SeqID No: 127-140.

Даний винахід належить і до CD33-зв'язуючих агентів, які мають мутації в Fc-області, що підвищують ADCC.

Інші переважні варіанти здійснення викладені нижче в описі і формулі винаходу.

Встановлено, що CD33-зв'язуючі агенти, запропоновані в даному винаході, мають високу афінність до людського CD33 і також мають кращу кінетику інтерналізації, що відрізняється тривалою присутністю CD33-зв'язуючих агентів, коли вони пов'язані з CD33 на поверхні клітин-мішеней, що призводить до кращої ADCC-активності.

При створенні винаходу було встановлено також, що CD33-зв'язуючі агенти, запропоновані в даному винаході, зв'язуються з епітопом позаклітинного домену CD33, відмінним від епітопу, з яким зв'язується лінтузумаб. Не вдаючись в яку-небудь конкретну теорію, можна припустити, що це є причиною відмінності кінетики інтерналізації CD33-зв'язуючих агентів, пропонованих в даному винаході, і лінтузумаба.

Опис креслень

На кресленнях показано:

на фіг. 1-3 - дані про інтерналізацію наведених як приклади CD33-зв'язуючих агентів, запропонованих у винаході, в порівнянні з лінтузумабом на HL60-клітинах;

на фіг. 4 - дані про швидкість інтерналізації на HL60-клітинах двох наведених як приклад антитіл, запропонованих у винаході, в порівнянні з лінтузумабом;

на фіг. 5 - дані про ефективність ADCC щодо HL60-клітин двох наведених як приклад антитіл, запропонованих у винаході, в порівнянні з лінтузумабом.

Детальний опис винаходу

CD33-зв'язуючі агенти

Поняття "зв'язуючий агент" в контексті даного опису належить до білка або пептиду, який специфічно зв'язується з антигеном-мішенню. Зв'язуючий агент може представляти собою, наприклад, антитіло, похідне зазначеного антитіла або інший агент, який специфічно зв'язується з антигеном-мішенню. Зв'язуючий агент може представляти собою також білок, що містить Fv-область або її частина (наприклад, VH або VL або CDR антитіла, яке специфічно зв'язується з антигеном-мішенню). У переважному варіанті здійснення винаходу зв'язує агент являє собою антитіло.

Поняття "CD33-зв'язуючий агент" в контексті даного опису відноситься до зв'язуючого агенту, який специфічно зв'язується з CD33, як правило, фрагментом позаклітинного домену людського CD33.

Поняття "антитіло" у контексті даного опису відноситься до (а) імуноглобулінових поліпептидів і імунологічно активним фрагментів імуноглобулінових поліпептидів (тобто поліпептидів сімейства імуноглобулінів або їх фрагментів, які містять антигензв'язуючий центр, імуноспецифічно зв'язується зі специфічним антигеном-мішенню), або (б) консервативно зміщенням похідним зазначених імуноглобулінових поліпептидів або їх фрагментів, які імуноспецифічно зв'язуються з антигеном-мішенню. Антитіла описані в цілому, наприклад, у Harlow і Lane, Antibodies: A Laboratory Manual, вид-во Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1988.

Поняття "антитіло" належить до інтактних моноклональних антитіл, поліклональних антитіл, моносспецифічних антитіл, мультиспецифічних (наприклад, біспецифічних) антитіл і фрагментів антитіл, які мають необхідну біологічну активність (наприклад, здатність зв'язуватися з антигеном). Антитіло може належати до будь-якого типу або класу (наприклад, IgG, IgE, IgM, IgD та IgA) або підкласу (наприклад, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1 і IgA2), переважно IgG-класу, більш переважно IgG1.

"Інтактне" антитіло являє собою антитіло, яке містить антигензв'язуючу варіабельну область, а також константний домен легкого ланцюга і константні домени важкого ланцюга антитіла відповідного класу. Константні домени можуть мати нативну послідовність константних доменів (наприклад, константні домени, які мають людську нативну послідовність) або її амінокислотні варіанти.

"Фрагмент антитіла" містить частину антитіла, включаючи антигензв'язуючу або варіабельну область або її частину. Прикладами фрагментів антитіла є Fab-, Fab'-, F (ab')₂ - і Fv-фрагменти, антигензв'язуючі фрагменти VH і VL, димерні антитіла (діабоді), тримерні антитіла, тетрамерні антитіла, одностанцюгове антитіло, scFv, scFv-Fc, SMIP ("Small Modular Immunopharmaceuticals", малі модульні імунофармацевтичні засоби) і мультиспецифічні антитіла, утворені з фрагмента (ів) антитіл.

"Варіабельна область важкого ланцюга" або "VH" означає частину важкого ланцюга, яка містить CDR1, CDR2 і CDR3 й оточуючі їх каркасні ділянки.

"Варіабельна область легкого ланцюга" або "VL" означає частину легкого ланцюга, яка містить CDR4, CDR5 і CDR6 й оточуючі їх каркасні ділянки.

"CDR" означає гіперваріабельні ділянки важкого і легкого ланцюга, які визначають компліментарність / специфічність зв'язування антитіла або фрагмента антитіла. Порядок розташування CDR, зазначений в цьому описі, повністю відповідає їх числовій нумерації.

"Епітоп" у контексті даного опису означає ділянку антигену, який розпізнається антитілом або фрагментом антитіла. Зокрема, це поняття відноситься до фрагментів CD33, які можуть розпізнаватися антитілом.

"МАт" у контексті даного опису означає моноклональні антитіла.

Антитіло може мати одну або кілька "ефекторних функцій", які означають види біологічної активності, властиві Fc-області (Fc-області, що має нативну послідовність, або варіанту амінокислотної послідовності Fc-області) антитіла. Прикладами ефекторних функцій антитіл є зв'язування C1q; комплементзалежна цитотоксичність (CDC); зв'язування Fc-рецептора; антитіло-обумовлена клітинозалежна цитотоксичність (ADCC); фагоцитоз; понижуюча регуляція рецепторів клітинної поверхні (наприклад, B-клітинного рецептора, BCR) і т.д.

"Одностанцюгові Fv" або "scFv"-фрагменти антитіла представляють собою фрагменти, що містять V_H- і V_L- області антитіла, при цьому області присутні в одного поліпептидного ланцюга. Поліпептид scFv, як правило, додатково містить поліпептидний лінкер, розташований між V_H- і V_L- областями для полегшення утворення структури, необхідної scFv для зв'язування з антигеном (див., наприклад, Pluckthun, в: The Pharmacology of monoclonal Antibodies, т. 113, під ред. Rosenberg і Moore, вид-во Springer-Verlag, New York, 1991, сс. 269-315).

Зв'язуючий агент, такий як антитіло, який "спрямований до", "який зв'язується з" або "специфічно зв'язується" з що становить інтерес антигеном (тобто антигеном-мішенню), являє собою агент, який має здатність зв'язуватися з зазначеним антигеном з достатньою афінністю, такий, щоб зв'язуючий агент можна було застосовувати для спрямованого впливу на клітину, що експресує антиген. Як правило, зв'язування зв'язує агента характеризується афінністю, становить щонайменше приблизно $1 \times 10^7 \text{ M}^{-1}$, та його зв'язування з попередньо визначеним антигеном характеризується афінністю, яка щонайменше в два рази перевищує його афінність зв'язування з неспецифічним антигеном (наприклад, БСА, казеїном), відмінним від попередньо визначеного антигену або близькоспорідненого антигену.

"Похідне антитіла" у контексті даного опису належить до антитіла, як воно визначено вище, модифікованому шляхом ковалентного приєднання гетерологічної молекули, наприклад, шляхом приєднання гетерологічного поліпептиду, або шляхом глікозилювання, деглікозилювання, ацетилювання або фосфорилування або іншої модифікації, яка в нормі не асоційована з антитілом. У деяких варіантах здійснення винаходу гетерологічна молекула не представляє собою терапевтичний засіб. У деяких варіантах здійснення винаходу гетерологічна молекула сама по собі не має цитостатичну або цитотоксичну дію.

В якості ще одного вичерпного посилання, де описані всі поняття і процедури, згадані в цьому описі, слід вказати Sambrook та ін, *Molecular Cloning*, вид-во Cold Spring Harbor Laboratory Press, 3-є вид., 1 січня 2001 р.

CD33-зв'язуючі агенти специфічно зв'язуються з рецептором CD33, який асоційований з даною популяцією клітин-мішеней. CD33 є представником сімейства, володіє здатністю до адгезії сілової кислоти (сілоадгезія), який експресується на клітинах гематопоетичної лінії диференціювання, включаючи мієлоїдні клітини-попередники, моноцити, макрофаги, дендритні клітини і тучні клітини. CD33 експресується також на пухлинних клітинах, асоційованих з мієлопроліферативними або тучноклітинними проліферативними захворюваннями, включаючи гострий мієлоїдний лейкоз і мієлопластичні синдроми, і на лейкозних стоволових клітинах. Антитіла, мішенню яких є CD33, і їх застосування, в цілому, описані (див., наприклад, Pierelli та ін, *Br. J. Haematol.* 84, 1993, сс. 24-30; Matutes та ін, *Hematol. Oncol.* 3, 1985, сс. 179-186; Taussig та ін, *Blood* 106, 2005, сс. 4086-4092; Florian і др., *Leuk. & Lymph.* 47, 2006, сс. 207-222).

У деяких варіантах здійснення винаходу CD33-зв'язуючий агент являє собою антитіло (наприклад, моноклональне антитіло). Придатні моноклональні антитіла можуть являти собою гомогенні популяції антитіл до CD33 (наприклад, позаклітинного домену людського CD33). Моноклональних антитіл (МАт) можна отримувати за допомогою будь-якого методу, відомого в даній області. Вони включають (але, не обмежуючись лише ними) метод на основі гібридом, вперше описаний Köhler і Milstein (*Nature* 256, 1957, сс. 495-497), метод на основі людської В-клітинної гібридоми (Kozbor та ін, *Immunology Today* 4, 1983, с. 72) і метод на основі EBV гібридом (Cole та ін, *Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy*, під ред. Alan R., вид-во Liss, Inc., 1985, сс. 77-96). Зазначені антитіла можуть ставитися до будь-якого класу імуноглобулінів, включаючи IgG, IgM, IgE, IgA і IgD, і будь-якому їх підкласу. Гібридому, що продукує моноклональне антитіло можна культивувати *in vitro* або *in vivo*.

Прийнятними моноклональними антитілами є (але, не обмежуючись лише ними) людські моноклональні антитіла, гуманізовані моноклональні антитіла, химерні моноклональні антитіла і функціонально активні фрагменти будь-якого із зазначених антитіл.

Придатними антитілами до CD33 є антитіла, які можуть надавати терапевтичну дію за допомогою різних механізмів, відомих в даній області, таких як антитіло-обумовлена клітинозалежна цитотоксичність (ADCC), антитіло-обумовлений клітинозалежний фагоцитоз (ADCP) та / або комплементзалежна цитотоксичність (CDC). Наприклад, антитіло може опосередковувати ADCC шляхом взаємодії з імунними ефекторними клітинами, такими як NK-клітини, моноцити і макрофаги.

Рекомбінантні антитіла, такі як химерні і гуманізовані моноклональні антитіла, містять як людські, так і нелюдські ділянки, їх можна створювати з використанням стандартних методів рекомбінантної ДНК (див., наприклад, Cabilly та ін, US 481567; і Boss тощо, US 4816397; зміст обох документів повністю включено в даний опис як посилання). "гуманізовані антитіла" представляють собою молекули антитіл з видів крім людини, які містять один або кілька гіперваріабельних ділянок (CDR) з видів крім людини і каркасну область з молекули людського імуноглобуліну (див., наприклад, Queen, US 5585089, зміст якого повністю включено в даний опис як посилання). Зазначені химерні і гуманізовані моноклональні антитіла можна отримувати за допомогою методів рекомбінантної ДНК, відомих в даній області, наприклад, з використанням методів, описаних у публікації міжнародної заявки на патент WO 87/02671; публікації європейського патенту 0184187; публікації європейського патенту 0171496; публікації

європейського патенту 0173494; публікації міжнародної заявки на патент WO 86/01533; US 4816567; публікації європейського патенту 012023; у Berter та ін, Science 240, 1988, сс. 1041-1043; Liu та ін, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 84, 1987, сс. 3439-3443; Liu та ін, J. Immunol. 139, 1987, сс. 3521-3526; Sun і ін, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 84, 1987, сс. 214-218; Nishimura та ін, Cancer Res. 47, 1987, сс. 999-1005; Wood та ін, Nature 314, 1985, сс. 446-449; Shaw та ін, J. Natl. Cancer Inst. 80, 1988, сс. 1553-1559; Morrison, Science 229, 1985, сс. 1202-1207; Oi та ін, BioTechniques 4, 1986, с. 214; US 5225539; Jones і ін, Nature 321, 1986, сс. 552-525; Verhoeven та ін, Science 239, 1988, с. 1534; та Beidler та ін, J. Immunol. 141, 1988, сс. 4053-4060 (зміст кожного документа повністю включено в даний опис як посилання)

Людські моноклональні антитіла можна створювати за допомогою будь-якого з численних методів, відомих у цій галузі (див., наприклад, Teng та ін, Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 80, 1983, сс. 7308-7312; Kozbor та ін, Immunology Today 4, 1983, сс. 72-79; Olsson та ін, Meth. Enzymol. 92, 1982, сс. 3-16; і US 5939598 та 5770429).

Повністю людські антитіла можна отримувати з використанням трансгенних мишей, які не можуть експресувати ендогенні гени важких і легких ланцюгів імуноглобулінів, але можуть експресувати гени людських важких і легких ланцюгів. Трансгенних мишей імунізують загальноприйнятим чином за допомогою вибраного антигену, наприклад, з використанням повного поліпептиду CD33 або частини. Моноклональні антитіла до антигену можна отримувати з використанням загальноприйнятого методу на основі гібридом. Трансгени людського імуноглобуліну, присутні в організмі трансгенних мишей, піддаються перегруповуванню в процесі В-клітинної диференціювання і в результаті піддаються переключенню класу і соматичної мутації. Таким чином, з використанням зазначеного методу можна отримувати терапевтично прийнятні антитіла типу IgG, IgA, IgM та IgE. Загальні відомості про застосування зазначеного методу для отримання людських антитіл див., наприклад, у Lonberg і Huszar, Int. Rev. Immunol. 13, 1995, сс. 65-93. Детальний обговорення цього методу для отримання людських антитіл і людських моноклональних антитіл і протоколи отримання зазначених антитіл представлені, наприклад, у US 5625126; 5633425; 5569825; 5661016 і 5545806. Інші людські антитіла, які отримують шляхом імунізації мишей, надходять у продаж, наприклад, від фірми Medarex (Прінстон, шт. Нью-Джерсі).

Повністю людські антитіла, які розпізнають вибраний епітоп, можна створювати також за допомогою методу, позначеного як "спрямована селекція". У цьому підході відібране нелюдське моноклональне антитіло, наприклад, мишаче антитіло, застосовують для спрямованої селекції повністю людського антитіла, що розпізнає той же самий епітоп (див., наприклад, Jespers та ін, Biotechnology 12, 1994, сс. 899-903). Людські антитіла можна отримувати також за допомогою різних методів, відомих в даній області, включаючи застосування фагових дисплейних бібліотек (див., наприклад, Hoogenboom і Winter, J. Mol. Biol. 227, 1991, с.381; Marks та ін, J Mol Biol 222, 1991, с. 581; Quan і Carter, The rise of monoclonal antibodies as therapeutics, в: Anti-IgE and Allergic Disease, під ред. Jardieu і Fick Jr., вид-во Marcel Dekker, New York, NY, глава 20, 2002, сс. 427-469).

Придатні фрагменти антитіл являють собою (але, не обмежуючись лише ними) F (ab')₂-фрагменти, Fab'-фрагменти, Fab-фрагменти, Fv, одноланцюгові антитіла (SCA) (наприклад, описані в US 4946778; у Bird, Science 242, 1988, сс. 423-442; Huston та ін, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85, 1988, сс. 5879-5883 і Ward та ін, Nature 334, 1989, сс. 544-554), scFv, scFv-Fc, FvdsFv, Мінітель, димерні антитіла, тримерні антитіла, тетрамерні антитіла, SMIP (див., наприклад, опубліковану заявку на патент США № 2005-0238646) і будь-яку іншу молекулу, яка містить один або кілька CDR, і які володіють такою ж специфічністю, що і антитіло.

В інших варіантах здійснення винаходу антитіло являє собою злитий білок, що містить антитіло або його функціонально активний фрагмент, зчеплений з іншим білком. Наприклад, антитіло або його фрагмент можна зливати за допомогою ковалентного зв'язку (наприклад, пептидного зв'язку) або на N-кінці, або на C-кінці з амінокислотною послідовністю іншого білка (або його ділянкою, як правило, що містить щонайменше 10, 20 або 50 амінокислот білка), який не являє собою антитіло або фрагмент антитіла. У деяких варіантах здійснення винаходу антитіло або його фрагмент можна ковалентно пов'язувати з іншим білком на C-кінці варіабельної області або константної області.

Антитіла можна модифікувати, наприклад, шляхом ковалентного приєднання молекули будь-якого типу, якщо зазначене ковалентне приєднання дозволяє зберігати антитілу його специфічність щодо зв'язування антигену. Наприклад, похідне антитіла може являти собою антитіло, додатково модифіковане, наприклад, шляхом глікозилювання, деглікозилювання, ацетилювання, пегілювання, фосфорилювання, амідування, захисту за допомогою відомих захисних / блокуючих груп, протеолітичного розщеплення, зв'язування з іншим білком і т.д.

Можна здійснювати будь-яку з численних хімічних модифікацій з використанням відомих методів, таких як (але, не обмежуючись лише ними) специфічне хімічне розщеплення, ацетилювання, формілювання, метаболічний синтез у присутності тунікаміцина або т.п. Крім того, похідне може містити одну або кілька не зустрічаються в природних умовах амінокислот.

У конкретних варіантах здійснення винаходу може виявитися бажаним покращувати афінність зв'язування і / або інші біологічні властивості антитіла (див., наприклад, публікації заявок на патент США № 2006-0003412 і 2006-0008882). Варіанти амінокислотних послідовностей антитіл отримують шляхом інтродукції відповідних нуклеотидних замін у нуклеїнову кислоту антитіла або шляхом пептидного синтезу. Зазначені модифікації включають, наприклад, делеції і / або інсерції, та / або заміни залишків у амінокислотних послідовностях антитіла. Будь-яку комбінацію делецій, інсерцій і / або замін здійснюють для отримання кінцевої конструкції, за умови, що кінцева конструкція має необхідні характеристики. Амінокислотні заміни можуть також змінювати пост-трансляційні процеси антитіла, наприклад, змінювати кількість або розташування сайтів глікозилювання.

Придатним методом ідентифікації конкретних залишків або областей у антитілі, які представляють собою переважні сайти для мутагенезу, є так званий "аланін-скануючий мутагенез", описаний у Cunningham і Wells, Science, 244, 1989, сс. 1081-1085. З його допомогою ідентифікують залишок або групу залишків-мішеней (наприклад, заряджені залишки, такі як arg, asp, his, lys і glu) і замінюють на нейтральну чи негативно заряджену амінокислоту (як правило, на аланін або поліаланін) для впливу на взаємодію амінокислот з антигеном. Ті положення амінокислот, для яких продемонстрована функціональна чутливість до замін, потім уточнюють шляхом інтродукції додаткових або інших варіантів в сайти заміни або для сайтів заміни. При цьому, хоча сайт для інтродукції варіації амінокислотної послідовності є наперед визначеним, не є необхідним, щоб природа самої мутації була зумовленою. Наприклад, для аналізу ефективності мутації в розглянутому сайті здійснюють сканування аланіном або неспецифічний мутагенез кодону-мішені або області-мішені і отримані в результаті експресії варіанти антитіла піддають скринінгу щодо необхідної активності.

Інсерції в амінокислотну послідовність можуть включати аміно- та / або карбоксикінцеві злиття різної довжини від одного залишку до поліпептидів, які містять сто або більшу кількість залишків, а також інсерції всередину послідовності одного або декількох амінокислотних залишків. Прикладами кінцевих інсерцій є антитіло з N-кінцевим метіонільним залишком або антитіло, злите з цитотоксичним поліпептидом.

Іншим типом варіанту антитіла є варіант, що включає амінокислотну заміну. У цих варіантах щонайменше один амінокислотний залишок в молекулі антитіла замінений на інший залишок. Представляють найбільший інтерес сайтами для мутагенезу шляхом замін є гіперваріабельні ділянки, але можна здійснювати також зміни в каркасній області.

Для досягнення істотних модифікацій біологічних властивостей антитіла можна відбирати заміни, які суттєво відрізняються за їх впливом на підтримання (а) структури поліпептидного каркаса в області заміни, наприклад, складчастої або спіральної конформації, (б) заряду або гідрофобності молекули в сайті-мішені або (γ) розміру бічних ланцюгів. Такі, що зустрічаються в природних умовах залишки розділяють на групи на основі загальних властивостей бічних ланцюгів:

- (1) гідрофобні: норлейцин, met, ala, val, leu, ile;
- (2) нейтральні гідрофільні: cys, ser, thr;
- (3) кислі: asp, glu;
- (4) основні: asn, gin, his, lys, arg;
- (5) залишки, які впливають на орієнтацію ланцюга: gly, pro; i
- (6) ароматичні: trp, tyr, phe.

Неконсервативні заміни передбачають заміну представника одного з цих класів на представника іншого класу.

Може виявитися бажаним модифікувати антитіло щодо його ефекторної функції, наприклад, для підвищення антитіло-обумовленої клітинозалежної цитотоксичності (ADCC), антитіло-обумовленого клітинозалежного фагоцитозу (ADCP) та / або комплементзалежної цитотоксичності. Зокрема, ADCC-активність можна підвищувати шляхом інтродукції амінокислотних мутацій в константну область антитіла (Lazar та ін, PNAS 103, 11, 2006, сс. 4005-4010). Для цієї мети можна застосовувати інтродукцію однієї або декількох амінокислотних замін в Fc-область антитіла (див. опубліковану заявку на патент США № 2006-0160996). В альтернативному або додатковому варіанті залишок (i) цистеїну можна інтродуціювати в Fc-область антитіла, що призводить до утворення в цій області дисульфідного зв'язку між ланцюгами. Отримане таким шляхом гомодимерне антитіло може мати поліпшену здатність до

інтерналізації та / або підвищену CDC або ADCC (див. Caron та ін, J. Exp. Med., 176, 1992, сс. 1191-1195 і Shopes, J. Immunol., 148, 1992, сс. 2918-2922). Гомодимерні антитіла з підвищеною протипухлинною активністю можна отримувати також з використанням гетеробіфункціональних перехреснозшиваючих лінкерів, згідно з методикою, описаною у Wolff та ін, Cancer Research, 53, 1993, сс. 2560-2565. В іншому варіанті можна сконструювати антитіло, що має подвійну кількість Fc-областей, завдяки чому воно може мати підвищену здатність до залежного від комплекменту лізису і ADCC (див. Stevenson та ін, Anti-Cancer Drug Design, 3, 1989, сс. 219-230).

У даній області, як в наукових публікаціях, так і в патентних документах, описано широке розмаїття модифікацій Fc-області, див., наприклад, EP 0307434, WO 93/04173, WO 97/34631, WO 97/44362, WO 98/05787, WO 99/43713, WO 99/51642, WO 99/58572, WO 02/060919, WO 03/074679, WO 2004/016750, WO 2004/029207, WO 2004/063351, WO 2004/074455, WO 2004/035752, WO 2004/099249, WO 2005/077981, WO 2005/092925, WO 2006/019447, WO 2006/031994, WO 2006/047350, WO 2006/053301, WO 2006/088494 і WO 2007/041635.

У кращих варіантах здійснення винаходу антитіла, пропоновані у винаході, несуть варіанти Fc з амінокислотними замінами в положеннях 332 і / або 239, та / або 236. У кращих варіантах здійснення винаходу антитіла, пропоновані у винаході, мають мутації в Fc-домені, вибрані з групи, що включає

I) одну заміну в положенні 332, бажано I332E;

II) комбінацію замін в положеннях 239 і 332, бажано S239D/I332E;

III) комбінацію замін в положеннях 236 і 332, бажано G236A/I332E;

IV) комбінацію замін в положеннях 236, 239 і 332, бажано G236A/S239D/I332E.

У цьому контексті найбільш переважно інтродуціювати мутації в одне або кілька положень у Fc-домені, вибраному (их) з амінокислот у положеннях 332 і / або 239, та / або 236 згідно нумерації EU за Кеботом. Найбільш бажаними є заміни в положеннях 239 і 332, насамперед S239D/I332E.

Варіанти Fc в антитілах, пропонованих в даному винаході, визначають по вхідних в них амінокислотних модифікаціях. Так, наприклад, I332E являє собою варіант Fc із заміною I332E щодо батьківського поліпептиду Fc. Аналогічно цьому S239D/I332E позначає варіант Fc із замінами S239D і I332E, а S239D/I332E/G236A позначає варіант Fc із замінами S239D, I332E і G236A щодо батьківського поліпептиду Fc.

Для подовження часу напівжиття антитіла в сироватці можна включати епітоп, що зв'язується з рецептором порятунку, в антитіло (насамперед у фрагмент антитіла), наприклад, згідно методу, описаного в US 5739277. У контексті даного опису поняття "епітоп, що зв'язується з рецептором порятунку" відноситься до епітопу в Fc-області молекули IgG (наприклад, IgG₁, IgG₂, IgG₃ або IgG₄), відповідальному за подовження часу напівжиття молекули IgG в сироватці *in vivo*.

Антитіла можна глікозилувати в консервативних положеннях в константних областях (див., наприклад, Jefferis і Lund, Chem. Immunol. 65, 1997, сс. 111-128; Wright і Morrison, TibTECH 15, 1997, сс. 26-32). Олігосахаридні бічні ланцюги імуноглобулінів можуть впливати на функцію білка (див., наприклад, Boyd та ін, Mol. Immunol. 32, 1996, сс. 1311-1318; Wittwe і Howard, Biochem. 29, 1990, сс. 4175-4180) і внутрішньомолекулярна взаємодія між ділянками глікопротеїну, що може впливати на конформацію і презентовану тривимірну поверхню глікопротеїну (див., наприклад, Jefferis і Lund, вище; Wyss і Wagner, Current Opin. Biotech. 7, 1996, сс. 409-416). Олігосахариди можуть служити також для заснованого на специфічних розпізнаваних структурах напрямки даного глікопротеїну до певних молекул. Наприклад, встановлено, що в галактозильованному IgG олігосахаридний залишок "виступає" з інтер-CH2-простору і кінцеві залишки N ацетилглюкозаміну стають доступними для зв'язування зі зв'язуючим манозу білком (див., наприклад, Malhotra та ін, Nature Med. 1, 1995, сс. 237-243). Видалення за допомогою глікопептидаз олігосахаридів з CAMPATH-1H (рекомбінантне гуманізоване мишає моноклональне антитіло типу IgG1, яке розпізнає антиген CDw52 людських лімфоцитів), яке отримано в клітинах яєчника китайського хом'ячка (CHO), призводить до повної елімінації опосередкованого комплекментом лізису (CMCL або CDC) (Boyd та ін, Mol. Immunol. 32, 131, 1996, сс. січня 1318), в той час як вибіркове видалення залишків сілової кислоти за допомогою нейрамінідази не приводить до втрати CMCL. Встановлено також, що глікозилування антитіл впливає на ADCC. Зокрема, встановлено, що CHO-клітини з регульованою тетрацикліном експресією β (1.4)-N-ацетилглюкозамінілтрансферази III (GnTIII), глікозилтрансферази, каталізує утворення двурозсікаючого GlcNAc, мають поліпшену ADCC-активність (див., наприклад, Umana та ін., Nature Biotech. 17, 1999, сс. 176-180).

Глікозилування антитіл зазвичай відбувається за допомогою або N-зв'язування, або O-зв'язування. N-зв'язування передбачає приєднання вуглеводного фрагмента до бічного ланцюга

залишку аспарагіну. Тріпептидні послідовності аспарагін-Х-серин і аспарагін-Х-треонін, де Х означає будь-яку амінокислоту крім проліну, являють собою розпізнавані послідовності, призначені для ферментативного приєднання вуглеводного фрагмента до бічного ланцюга залишку аспарагіну. Так, присутність будь-якої із цих тріпептидних послідовностей в поліпептиді створює потенційний сайт глікозилювання. О-пов'язане глікозилювання передбачає приєднання одного з цукрів, таких як N-ацетилгалактозамін, галактоза або ксилоза, до гідроксиамінокислоти, найбільш часто до серину або треоніну, хоча можна застосовувати також 5-гідроксипролін або 5-гідроксилізін.

Варіанти глікозилювання антитіл являють собою варіанти, в яких змінено схему глікозилювання антитіла. Під зміною увазі делецію одного або декількох вуглеводних фрагментів, присутніх у антитілі, додавання одного або декількох вуглеводних фрагментів до антитіла, зміна складу (композиції) глікозилювання (т.е., схеми глікозилювання), ступеня глікозилювання або т.п.

Додавання сайтів глікозилювання в антитіло, як правило, здійснюють шляхом зміни амінокислотної послідовності таким чином, що вона містить одну або декілька зазначених вище тріпептидних послідовностей (для сайтів N-зв'язаного глікозилювання). Зміна можна здійснювати також шляхом додавання або заміни одного чи декількох залишків серину або треоніну в послідовності вихідного антитіла (для сайтів О-пов'язаного глікозилювання). Аналогічно цьому, видалення сайтів глікозилювання можна здійснювати шляхом зміни амінокислот в нативних сайтах глікозилювання антитіла.

Амінокислотну послідовність, як правило, модифікують шляхом зміни що кодує її нуклеотидної послідовності. Ці методи включають (але, не обмежуючись лише ними) виділення з природного джерела (у разі зустрічаються в природних умовах варіантів амінокислотних послідовностей) або одержання за допомогою мутагенезу з використанням олігонуклеотидів (або сайтнаправленого мутагенезу), ПЛР-мутагенезу або касетного мутагенезу отриманого раніше варіанту або неваріантної версії антитіла.

Глікозилювання (включаючи схему глікозилювання) антитіл можна змінювати також без зміни амінокислотної послідовності або що кодує її нуклеотидної послідовності. Глікозилювання залежить головним чином від клітини-хазяїна, застосовуваної для експресії антитіла. Оскільки тип клітини, застосовуваної для експресії рекомбінантних глікопротеїнів, наприклад, антитіл, в якості потенційних терапевтичних засобів, рідко являє собою нативну клітку, то можна очікувати суттєві варіації в схемі глікозилювання антитіл (див., наприклад, Hse та ін, *Biol. Chem.* 272, 1997, сс. 9062-9070.). Крім вибору клітин-господарів, фактори, які впливають на глікозилювання в процесі рекомбінантного отримання антитіл, включають схему вирощування, склад середовища, щільність культури, оксигенацію, рН, схеми очищення і т.п. Різні методи, запропоновані для зміни схеми глікозилювання в конкретному організмі-хазяїні, включають інтродукцію або надекспресію певних ферментів, що беруть участь у виробництві олігосахаридів (див., наприклад, US 5047335; 5510261 і 5278299). Глікозилювання або певні типи глікозилювання можна ферментативно усувати в глікопротеїн, наприклад, з використанням ендоглікозиди H (Endo H). Крім того, рекомбіновану клітину-хазяїна можна створювати за допомогою методів генетичної інженерії, наприклад, створюючи в ній порушення процесингу певних типів полісахаридів. Ці та аналогічні методи добре відомі в даній галузі.

Структуру глікозилювання антитіл легко можна аналізувати за допомогою загальноприйнятих методів аналізу вуглеводів, включаючи лектинову хроматографію, ЯМР, мас-спектрометрію, РХВР, гелпроникну хроматографію (GPC), аналіз складу моносахаридів, послідовне ферментативне розщеплення, НРАЕС-PAD (аніонообмінна хроматографія високого тиску з імпульсним амперометричним виявленням), в якій застосовують аніонообмінну хроматографію при високому значенні рН для розділення олігосахаридів на основі заряду. Відомі також методи вивільнення олігосахаридів для аналітичних цілей, і вони включають (але, не обмежуючись лише ними) ферментативну обробку (яку, як правило, здійснюють з використанням пептид-N-глікозиди F / енд-β-галактозиди), елімінацію з використанням жорсткого лужного оточення для вивільнення переважно О-пов'язаних структур і хімічні методи, засновані на застосуванні безводного гідразину для вивільнення як N-, так і О-пов'язаних олігосахаридів.

Антитіла можуть також мати модифікації (наприклад, заміни, делеції або додавання) амінокислотних залишків, які взаємодіють з Fc-рецепторами. Зокрема, антитіла можуть мати модифікації амінокислотних залишків, для яких встановлена здатність брати участь у взаємодії між анти-Fc-доменом і FcRn-рецептором (див., наприклад, публікацію міжнародної заявки на патент WO 97/34631).

Найбільш широким об'єктом даного винаходу є CD33-зв'язуючі агенти, які зв'язуються з людським CD33 і які відрізняються тим, що

а) мають варіабельну область важкого ланцюга, яка містить CDR1, CDR2 і CDR3, і варіабельну область легкого ланцюга, яка містить CDR4, CDR5 і CDR6, де CDR1 має амінокислотну послідовність, вибрану з SeqID No: 1-14, CDR2 має амінокислотну послідовність, вибрану з SeqID No: 15-28, CDR3 має амінокислотну послідовність, вибрану з SeqID No: 29-42, CDR4 має амінокислотну послідовність, вибрану з SeqID No: 43-56, CDR5 має амінокислотну послідовність, вибрану з SeqID No: 57-70, CDR6 має амінокислотну послідовність, вибрану з SeqID No: 71-84, або

б) розпізнають епітоп, розташований усередині амінокислотної послідовності FFHPIPYDYDKNSPVHGYW (SeqID No: 141) людського CD33.

Даний винахід належить і до CD33-зв'язуючих агентів, що відрізняється тим, що кінетика інтерналізації CD33-зв'язуючих агентів є такою, що щонайменше 30 %, переважно щонайменше 40 % початкової кількості антитіла залишається на клітинній поверхні HL60-клітин через 4 год. після інкубації.

При створенні винаходу було встановлено, що CD33-зв'язуючі агенти, запропоновані в даному винаході, зв'язуються з епітопом, відмінним від епітопу лінтузумаба, див. приклад 4 в даному описі. Обидва епітопу (SeqID No: 141 і SeqID No: 142) не перекриваються. Ймовірно, присутність різних епітопів позаклітинного домену CD33, які розпізнаються CD33-зв'язуючими агентами, запропонованими в даному винаході, і лінтузумабом, є причиною різної кінетики інтерналізації і ADCC-ефективності CD33-зв'язуючих агентів, пропорованих в даному винаході, і лінтузумаба (пор. приклади 2 і 3 в даному описі).

Згідно з переважним варіантом здійснення винаходу щонайменше 40 % від початкової кількості CD33-зв'язуючих агентів залишається на клітинній поверхні через 4 години після інкубації.

Згідно з переважним варіантом здійснення винаходу варіабельна область важкого ланцюга містить амінокислотну послідовність, вибрану з SeqID No: 85-98, і варіабельна область легкого ланцюга містить амінокислотну послідовність, вибрану з SeqID No: 99-112.

Згідно з переважним варіантом здійснення винаходу CD33-зв'язуючий агент містить важкий ланцюг, що має амінокислотну послідовність, вибрану з SeqID No: 113-126, і легкий ланцюг, що має амінокислотну послідовність, вибрану з SeqID No: 127-140.

Згідно з переважним варіантом здійснення винаходу афінність CD33-зв'язуючого агента як до людського CD33, так і до CD33 мавп ціномолгус (яванський макак-крабодід), характеризується величиною KD, що дорівнює або є нижчою ніж 10нМ.

Згідно з переважним варіантом здійснення винаходу CD33-зв'язуючий агент є гуманізованим.

Згідно з переважним варіантом здійснення винаходу CD33-зв'язуючий агент є повністю людським.

Згідно з переважним варіантом здійснення винаходу CD33-зв'язуючий агент додатково має ефекторну функцію.

Згідно з переважним варіантом здійснення винаходу ефекторна функція опосередковується Fc-доменом.

Згідно з переважним варіантом здійснення винаходу CD33-зв'язуючий агент містить одну або декілька мутацій в Fc-області, яка (і) модулюють функцію Fc-доменом.

Згідно з переважним варіантом здійснення винаходу модуляція функції Fc-домену представляє собою підвищення ADCC щонайменше на 10 %, переважно на 50 % або 100 %.

Найбільш переважні CD33-зв'язуючі агенти, запропоновані в даному винаході, перераховані в таблиці 1:

Таблиця 1

№	Клон/ ID №	SeqID CDR1	SeqID CDR2	SeqID CDR3	SeqID CDR4	SeqID CDR5	SeqID CDR6	SeqID V _H	SeqID V _L	SeqID важкий ланцюг	SeqID легкий ланцюг
1	280-03-08	1	15	29	43	57	71	85	99	113	127
2	280-21-09	2	16	30	44	58	72	86	100	114	128
3	280-29-12	3	17	31	45	59	73	87	101	115	129
4	280-31-01	4	18	32	46	60	74	88	102	116	130
5	280-31-01 (mut)	5	19	33	47	61	75	89	103	117	131

№	Клон/ ID №	SeqID CDR1	SeqID CDR2	SeqID CDR3	SeqID CDR4	SeqID CDR5	SeqID CDR6	SeqID V _H	SeqID V _L	SeqID важкий ланцюг	SeqID легкий ланцюг
6	280-34-02	6	20	34	48	62	76	90	104	118	132
7	280-50-01	7	21	35	49	63	77	91	105	119	133
8	280-50-01 (mut)	8	22	36	50	64	78	92	106	120	134
9	280-61-07	9	23	37	51	65	79	93	107	121	135
10	283-03-03	10	24	38	52	66	80	94	108	122	136
11	283-05-01	11	25	39	53	67	81	95	109	123	137
12	283-07-03	12	26	40	54	68	82	96	110	124	138
13	283-11-03	13	27	41	55	69	83	97	111	125	139
14	283-14-01	14	28	42	56	70	84	98	112	126	140

Лікування раку

- У кількох публікаціях CD33 описаний в якості маркера клітинної поверхні первинних ГМЛ-і ХМЛ-клітин, що експресується на клітинах у 70-100 % пацієнтів (Scheinberg та ін, 1989; Hauswirt та ін, 2007; Plesa та ін, 2007; Webber та ін, 2008). CD33 експресується на злоякісних мієлоїдних бластних клітинах, які представляють собою основну частину злоякісних клітин у периферичній крові та кістковому мозку які страждають на лейкоз пацієнтів, і на лейкозних стоволових клітинах, відносно невеликий групі менш диференційованих клітин у кістковому мозку, які відрізняються притаманною їм здатністю до самовідновлення і підтримці лейкозної клональної ієрархії.
- Можливість в клінічних умовах здійснювати спрямований вплив на CD33 із застосуванням антитіла продемонстрована при використанні Mylotarg® (гемтузумаба озогаміцін), кон'югату антитіло-каліхеаміцином, який дозволений для лікування пацієнтів з рецидивуючим ГМЛ, що не піддаються лікуванню з використанням інших засобів. Альтернативний підхід спрямованого впливу на CD33 пов'язаний із створенням лінтузумаба (SGN-33, HuM195), гуманізованого моноклонального антитіла типу IgG1, для якого отримані початкові дані про клінічних ознаках ефективності, встановлених на фазі I випробувань (Raza та ін, 2009). У цілому, як у доклінічних, так і в клінічних умовах отримані великі дані, які підкреслюють придатність і можливість застосування спрямованого впливу на CD33 при лікуванні ГМЛ та інших CD33-позитивних злоякісних захворювань.
- Гострий мієлоїдний лейкоз (ГМЛ) являє собою злоякісний стан мієлоїдної лінії диференціювання лейкоцитів. Ця гематологічна неоплазія являє собою захворювання крові і кісткового мозку, яке без лікування, як правило, призводить до смерті протягом періоду часу, що складає від декількох тижнів до місяців. Встановлено, що поширеність ГМЛ складає 30000 випадків у США і 47000 випадків у країнах Європейського союзу (дані про поширеність захворювання протягом 10-річного періоду підтверджені Mattson-Jack, 2010). ГМЛ є найбільш поширену форму гострого лейкозу у дорослих (приблизно 90 %), що становить приблизно 33 % від нових випадків лейкозу. Медіанний вік пацієнтів, у яких діагностовано ГМЛ, становить 67 років. На частку ГМЛ припадає приблизно 1,2 % випадків смерті від раку в США.
- ГМЛ характеризується неспецифічними симптомами, такими як втрата ваги, втома, лихоманка і нічна пітливість. ГМЛ діагностується за результатами аналізу крові, обстеження кісткового мозку і за допомогою лабораторних аналізів, які дозволяють визначати підтип ГМЛ і приймати рішення про шляхи лікування.
- Терапія при ГМЛ насамперед залежить від віку та характеристики працездатності пацієнта. Пацієнтів, які можуть переносити інтенсивну індуктивну (а потім консолідуючу і підтримуючу) хіміотерапію, можна лікувати інтенсивно з використанням комбінації цитотоксичних лікарських засобів. Такі пацієнти мають ймовірність досягнення повної відповіді, що становить приблизно 75 %. Для цієї популяції пацієнтів завданням терапевтичного лікування є лікування. При цьому протягом 1 року після досягнення повної відповіді приблизно у половини пацієнтів має місце рецидив ГМЛ. Довготривалі показники лікування становлять близько 30 %.
- Однак більш старший вік у момент діагностування або наявність супутніх хвороб не дозволяє застосовувати інтенсивну індуктивну терапію, тому завданням є паліативне лікування. Таким чином, рівні ремісії різко знижуються у людей похилого віку, які страждають ГМЛ. Медіанний показник виживаності для людей похилого віку з ГМЛ складає менше 6 місяців.
- Відповідно до одного з об'єктів винаходу CD33-зв'язуючі агенти можна застосовувати для лікування раку, наприклад, для уповільнення прогресування раку та / або зменшення

асоційованої з раком кахексії, або попередження або уповільнення рецидиву гематологічного злоякісного захворювання (наприклад, лейкозу) у ссавця, переважно у хворій людини. CD33-зв'язуючий агент можна вводити індивідуально або спільно з іншим терапевтичним засобом. У деяких варіантах здійснення винаходу CD33-зв'язуючий агент вводять спільно зі стандартним лікувальним хіміотерапевтичним засобом. CD33-зв'язуючий агент можна застосовувати в некон'югованій формі (тобто у формі, некон'югованій з цитотоксин) або у вигляді кон'югату.

У цьому підрозділі під поняттям "пацієнт" мається на увазі людина або інший ссавець, якого / яку піддають лікуванню або у якого діагностовано рак.

Згідно з деякими варіантами здійснення винаходу CD33-зв'язуючі агенти можна застосовувати для уповільнення прогресування раку та / або зменшення асоційованої з раком кахексії у пацієнта шляхом введення пацієнтові, який потребує цього, CD33-зв'язуючого агента в ефективній дозі. Не вдаючись у будь-який конкретний механізм, прийнято, що CD33-зв'язуючий агент зв'язується з ефекторними або А-клітинами (клітини, що здійснюють кооперативну взаємодію з Т-і В-лімфоцитами) мієлоїдної або моноцитарній лінії диференціювання (наприклад, моноцити, макрофаги, дендритні клітини і нейтрофіли), інгібуючи тим самим або знижуючи виробництво різних цитокінів, хемокинів і факторів росту ефекторними або А-клітинами і / або пухлинними клітинами. Зазначені цитокіни, хемокини і фактори росту, які можуть прискорювати ріст і проліферацію пухлинних клітин і / або беруть участь у розвитку асоційованої раком кахексії, включають (але, не обмежуючись лише ними) інтерлейкін-1 β (IL-1 β), фактор некрозу пухлини- α (TNF- α), інтерлейкін-6 (IL-6), інтерлейкін-8 (IL-8), інтерферон- γ (IFN- γ), судинний ендотеліальний фактор росту (VEGF), фактор, що інгібує лейкоз (LIF), моноцитарний хемоаттрактантний білок-1 (MCP-1), RANTES, інтерлейкін-10 (IL-10), інтерлейкін-12 (IL-12), матричну металлопротеїназу 2 (MMP2), IP-10 і / або запальний білок макрофагів-1 α (MIP1 α). CD33-зв'язуючі агенти можуть також знижувати міграцію макрофагів в область ракових клітин.

У деяких варіантах здійснення винаходу введення пацієнтові в ефективній дозі CD33-зв'язуючого агента знижує рівень щонайменше одного цитокіну, Хемокини або фактора росту, де цитокін, хемокини або фактор росту може прискорювати зростання і проліферацію пухлинних клітин, прискорювати міграцію незлоякісних ефекторних клітин, таких як асоційовані з пухлиною макрофаги (TAMS), в околицю області пухлини та / або брати участь у розвитку асоційованої раком кахексії. У конкретних варіантах здійснення винаходу цитокін, хемокін або фактор зростання являє собою, наприклад, інтерлейкін-1 β (IL-1 β), фактор росту пухлини- α (TNF- α), інтерлейкін-6 (IL-6), інтерлейкін-8 (IL-8), інтерферон- γ (IFN- γ), судинний ендотеліальний фактор росту (VEGF), фактор, що інгібує лейкоз (LIF), моноцитарний хемоаттрактантний білок -1 (MCP-1), RANTES, інтерлейкін-10 (IL-10), інтерлейкін-12 (IL-12), матричну металлопротеїназу 2 (MMP2), IP-10 і / або запальний білок макрофагів-1 α (MIP1 α).

Іншим варіантом здійснення винаходу є спосіб уповільнення прогресування раку, що полягає в тому, що вводять пацієнтові в ефективному режимі CD33-зв'язуючий агент, який має здатність специфічно зв'язуватися з CD33. У результаті введення CD33-зв'язуючого агента сповільнюється прогресування раку, наприклад, сповільнюється зростання або проліферація пухлинних клітин, зменшуються метастази, знижується рівень щонайменше одного цитокіну, хемокіну або фактора росту, знижується рівень незлоякісних ефекторних клітин біля пухлинних клітин або т.п.

Іншим варіантом здійснення винаходу є спосіб зменшення пухлинного навантаження у пацієнта, що полягає в тому, що вводять пацієнтові в ефективному режимі CD33-зв'язуючий агент, який має здатність специфічно зв'язуватися з CD33. У результаті введення CD33-зв'язуючого агента пухлинне навантаження в організмі пацієнта залишається на тому ж рівні або знижується, наприклад, в результаті зменшення розміру або маси пухлини, зниження рівня щонайменше одного цитокіну, хемокіну або фактора росту, зниження рівня незлоякісних ефекторних клітин в околиці пухлинних клітин, інгібування міграції макрофагів в околицю пухлинних клітин, зменшення кількості незлоякісних ефекторних клітин (наприклад, TAMS або макрофагів) у пухлини або т.п.

Іншим варіантом здійснення винаходу є спосіб зменшення пухлинного навантаження або сповільнення прогресування раку у пацієнта, що полягає в тому, що вводять пацієнтові в ефективному режимі CD33-зв'язуючий агент, який має здатність специфічно зв'язуватися з CD33. У результаті введення CD33-зв'язуючого агента пухлинне навантаження в організмі пацієнта залишається на тому ж рівні або знижується, наприклад, в результаті рекрутменту імунних ефекторних клітин типу NK-клітин або макрофагів, або моноцитів, які можуть руйнувати пухлинні клітини за допомогою опосередковуваних імунною системою механізмів.

Антитіло-обумовлена клітинозалежна цитотоксичність (ADCC) являє собою опосередковуваний імунними ефекторними клітинами механізм, який може приймати участь у протипухлинній активності моноклональних антитіл (Weiner GJ, Monoclonal antibody mechanisms of action in cancer. Immunol Res., 39 (1-3), 2007, сс. 271-278). Роль ADCC в протипухлинній ефективності була продемонстрована на моделях в доклінічних дослідженнях, наприклад, на мишачих моделях пухлин (див., наприклад, Clynes RA, Towers TL, Presta LG, Ravetch JV, Inhibitory Fc receptors modulate in vivo cytotoxicity against tumor targets. Nat Med., 6 (4), квітень 2000 р., сс. 443-446). Дані клінічних випробувань підтверджують роль ADCC в прояві ефективності терапевтичних антитіл в клінічних умовах (див., наприклад, Weng WK, Levy R., Two immunoglobulin G fragment C receptor polymorphisms independently predict response to rituximab in patients with follicular lymphoma. J Clin Oncol., 1, 21 (21), листопад 2003 р., сс. 3940-3947. Електронна публікація від 15 вересня 2003). Взаємодія моноклональних антитіл з Fc-рецептором на імунних клітинах бере участь у ADCC. Fc-область антитіл можна модифікувати для того, щоб отримувати підвищену афінність до Fc-рецепторів (див., наприклад, Presta LG, Engineering of therapeutic antibodies to minimize immunogenicity and optimize function. Adv Drug Deliv Rev., 7, 58 (5-6), серпень 2006 р., сс. 640-656. Електронна публікація від 23 травня 2006 р.). Зазначена підвищена афінність до Fc-рецепторів призводить до підвищеної ADCC-активності, що може призводити до підвищеної протипухлинної ефективності для пацієнтів.

У різних варіантах здійснення винаходу, описаних у цьому розділі, CD33-зв'язуючий агент можна застосовувати для лікування CD33-позитивного раку (тобто раку, що включає ракові клітини, на поверхні яких відбувається надекспресія CD33, або в яких відбувається експресія CD33 в кількостях, які вважаються прийнятними для терапії з використанням антитіл до CD33). CD33-зв'язуючий агент можна застосовувати також для лікування раку, при якому не відбувається надекспресія CD33 на незлоякісних ефекторних клітинах порівняно зі здоровою тканиною такого ж типу. Рак може являти собою, наприклад, негематологічне або гематологічне злоякісне захворювання. У конкретних прикладах гематологічне злоякісне захворювання може являти собою CD33-позитивне захворювання і може являти собою, наприклад, гострий лімфоїдний лейкоз, гострий мієлоїдний лейкоз, хронічний мієломоноцитарний лейкоз і еритроцитарний лейкоз, гострий мегакаріобластний лейкоз, гістоцитарну лімфому, мієлоїдну саркому, проліферативне порушення тучних клітин або мієлодиспластичний синдром (МДС). У деяких варіантах здійснення винаходу гематологічне злоякісне захворювання являє собою CD33-позитивне злоякісне захворювання, таке як гострий мієлоїдний лейкоз або мієлодиспластичний синдром (МДС).

У різних варіантах здійснення винаходу, описаних у цьому розділі, CD33-зв'язуючий агент може представляти собою некон'юговане антитіло до CD33. Наприклад, антитіло може являти собою повністю людське, гуманізоване або химерне антитіло, таке як химерне або гуманізоване антитіло M 195. Антитіло може являти собою також інше антитіло, яке конкурує з антитілом M 195 за специфічне зв'язування з CD33. Антитіло може також зв'язуватися з тим же епітопом, що й антитіло M 195, або з іншим епітопом.

В інших варіантах здійснення винаходу CD33-зв'язуючий агент може бути пов'язаний (тобто кон'югований) з цитотоксином. Цитотоксин може являти собою, наприклад, пептидний токсин, такий як сапорін, рицин, хлоротоксин, екзотоксин *Pseudomonas*, ендотоксин *Pseudomonas* або дифтерійний токсин. Цитотоксин може являти собою також хімічний (тобто який не має пептидну основу) токсин, такий як каліхеаміцин, доксорубіцин, камптотецин, даунорубіцин або інші ДНК-зв'язуючі агенти. Цитотоксин може являти собою також аурістатін, майтансіноід, доластатін або інші блокуючі мікротрубочки агенти.

CD33-зв'язуючий агент, який представляє собою антитіло до CD33, можна вводити пацієнту внутрішньовенно або підшкірно в дозі від 0,1-менш до приблизно 25 мг / кг, переважно від 1,0 до приблизно 10 мг / кг. CD33-зв'язуючий агент, який представляє собою фрагмент антитіла до CD33 або інший CD33-зв'язуючий білок, можна вводити в дозі, еквівалентній дозі від 0,1 до приблизно 25 мг / кг, від 1,0 до приблизно 10 мг / кг інтактного антитіла. CD33-зв'язуючий агент можна вводити пацієнту внутрішньовенно або підшкірно згідно, наприклад, такою схемою: щодня, щотижня, через два тижні, через три тижні (тобто кожні три тижні) або щомісяця, або застосовувати комбінацію зазначених схем введення. CD33-зв'язуючий агент можна вводити протягом періоду, що становить щонайменше один місяць, щонайменше два місяці, щонайменше три місяці, щонайменше чотири місяці, щонайменше п'ять місяців, щонайменше шість місяців або при необхідності протягом більш тривалого терміну. У деяких варіантах здійснення винаходу за фазою лікування (див. вище) за допомогою CD33-зв'язуючого агента слідує підтримуюча фаза, під час якої дози CD33-зв'язуючого агента вводять рідше, ніж під час фази лікування. Наприклад, підтримуючі дози можна вводити щотижня, через два тижні, через

три тижні або щомісяця протягом 1-6 місяців. Під час підтримуючої фази можна застосовувати такі ж дози, що і при здійсненні фази лікування.

Лікування гематологічного злоякісного захворювання на стадії ремісії

Іншим об'єктом винаходу є способи попередження або уповільнення виникнення рецидиву гематологічного злоякісного захворювання (наприклад, лейкозу) у пацієнта, які полягають в тому, що пацієнтові на стадії ремісії гематологічного злоякісного захворювання вводять в ефективній дозі CD33-зв'язуючий агент, що призводить до попередження або уповільнення виникнення рецидиву зазначеного гематологічного злоякісного захворювання. CD33-зв'язуючий агент специфічно зв'язується з CD33 на поверхні гематологічних злоякісних (тобто лейкозних) клітин і / або незлоякісних ефektorних клітин.

У контексті даного опису поняття "пацієнт", як правило, належить до людини, яку піддають лікуванню з приводу гематологічного злоякісного захворювання або у якої діагностовано зазначене захворювання. У деяких варіантах здійснення винаходу гематологічне злоякісне захворювання являє собою CD33-позитивне гематологічне злоякісне захворювання. Гематологічні злоякісні захворювання включають (але не обмежуючись лише ними) лейкози (наприклад, гострий лімфобластний лейкоз (ГЛЛ), гострий мієлоїдний (мієлогенний) лейкоз (ГМЛ), хронічний мієлоїдний (мієлогенний) лейкоз (ХМЛ), хронічний мієломоноцитарний лейкоз, волосковоклітинний лейкоз). Споріднені хвороби крові включають (але, не обмежуючись лише ними) мієлодиспластичний синдром (МДС), мієлофіброзу, мієлопроліферативне захворювання (наприклад, поліцитемія справжня (PV, PCV або PRV), ідіопатичний тромбоцитоз (есенціальна тромбоцитемія) (ЕТ)) і амілоїд, пов'язаний з хворобою легких ланцюгів.

Поняття "CD33-позитивне гематологічне злоякісне захворювання" відноситься до гематологічного злоякісного захворювання, що відрізняється експресією CD33 на поверхні злоякісної клітини. CD33-позитивні гематологічні злоякісні захворювання включають (але не обмежуючись лише ними) гострий мієлоїдний лейкоз (ГМЛ), хронічний мієлоїдний лейкоз (ХМЛ), хронічний мієломоноцитарний лейкоз, тромбоцитарний лейкоз, мієлодиспластичний синдром, мієлопроліферативне порушення, рефрактерну анемію, передлейкозний синдром, лімфоїдний лейкоз або недиференційований лейкоз.

У деяких варіантах здійснення винаходу способи полягають у тому, що пацієнтові на стадії ремісії CD33-позитивного гематологічного злоякісного захворювання вводять в ефективному режимі CD33-зв'язуючий агент, завдяки чому рецидив гематологічного злоякісного захворювання попереджається або його виникнення сповільнюється. У деяких варіантах здійснення винаходу у пацієнта відсутні здатні до виявлення клітини, характерні для гематологічного злоякісного захворювання. У контексті даного опису "відсутність здатних до виявлення клітин" визначають за допомогою стандартних діагностичних або прогностичних методів. Для пацієнта на стадії ремісії ГМЛ, як правило, характерно усунення аномальних клінічних ознак, повернення в норму гемограми і наявність нормального гематопоезу в кістковому мозку з формуванням <5 % бластних клітин, нейтрофілів у кількості >1000-1500, тромбоцитів у кількості > 100000, і зникненням лейкоемічного клона (див., наприклад, The Merck Manual, розділ 11, гл. 138 (17-е вид., 1997): Estey, Cancer 92(5), 2001, сс. 1059-1073).

CD33-зв'язуючий агент може представляти собою, наприклад, антитіло, яке специфічно зв'язується з CD33, а гематологічне злоякісне порушення може представляти собою гострий мієлоїдний лейкоз (ГМЛ), хронічний мієлоїдний лейкоз (ХМЛ), хронічний мієломоноцитарний лейкоз, пов'язаний з тімоїдом (що нагадує тимус лімфо-епітеліальна структура) лейкоз, мієлодиспластичний синдром, мієлопроліферативне порушення, рефрактерну анемію, передлейкозний синдром, лімфоїдний лейкоз або недиференційований лейкоз.

У деяких варіантах здійснення винаходу пацієнт на стадії ремісії гематологічного злоякісного захворювання піддавався трансплантації кісткового мозку. В інших варіантах здійснення винаходу пацієнт на стадії ремісії гематологічного злоякісного захворювання піддавався трансплантації кісткового мозку. Трансплантат може являти собою або аутоотрансплантат, або алотрансплантат кісткового мозку.

Наведені нижче типи раку найбільш придатні для лікування за допомогою антитіл, пропонує в даному винаході:

типи раку кроветворного походження, включаючи (але, не обмежуючись лише ними): гострий лімфобластний лейкоз ("ГЛЛ"), гострий лімфобластний В-клітинний лейкоз, гострий лімфобластний Т-клітинний лейкоз, гострий мієлобластний лейкоз ("ГМЛ"), гострий лейкоз промієлоцитарний ("ГПЛ"), гострий монобластний лейкоз, гострий еритролейкозний лейкоз, гострий мегакаріобластний лейкоз, гострий мієломоноцитарний лейкоз, нелімфоцитарний лейкоз, гострий недиференційований лейкоз, хронічний мієлоцитарний лейкоз ("ХМЛ"), хронічний лімфоцитарний лейкоз ("ХЛЛ"), волосковоклітинний лейкоз, множинну мієлому.

Гострі та хронічні лейкози, які можна лікувати за допомогою CD33-зв'язуючих агентів, включають: лімфобластний, мієлогенний, лімфоцитарний, мієлоцитарний лейкози і тромбоцитарний лейкоз. Крім того, за допомогою CD33-зв'язуючих агентів можна лікувати мієлодиспластичний синдром, мієлопроліферативне порушення, рефрактерну анемію, передлейкозний синдром, лімфоїдний лейкоз або недиференційований лейкоз.

Комбінації з іншими активними субстанціями

Залежно від того, що підлягає лікуванню порушення CD33-зв'язуючі агенти, пропоновані у винаході, можна застосовувати індивідуально або в поєднанні з одним або декількома додатковими терапевтичними засобами, зокрема вибраними з числа викликаючих пошкодження ДНК, деметилування ДНК або тубулінзв'язуючих агентів, або терапевтичними діючими речовинами, які інгібують ангиогенез, шляхи трансдукції сигналів або чекпойнту мітозу в ракових клітинах або що мають імуномодулюючу функцію (речовини класу IMiDs®).

Додатковий терапевтичний засіб можна вводити одночасно, необов'язково у вигляді компонента одного і того ж фармацевтичного препарату, або до або після введення CD33-зв'язуючого агента.

У деяких варіантах здійснення винаходу додатковий терапевтичний засіб може являти собою (але, не обмежуючись лише ними) один або кілька інгібіторів, вибраних з групи інгібіторів сімейства EGFR, сімейства VEGFR, IGF-1R, рецепторів інсуліну, кіназ AuroraA, AuroraB, PLK і PI3, FGFR, PDGFR, Raf, KSP або PDK1.

Іншими прикладами додаткових терапевтичних засобів є інгібітори CDK, Akt, Src, Bcr Abl, cKit, cMet / HGF, c-Myc, Flt3, HSP90, антагоністи білка hedgehog, інгібітори JAK / STAT, Mek, mTor, NFκB, протеосоми, Rho, інгібітор шляхи передачі сигналу Wnt або шляхи передачі сигналу Notch або інгібітор шляху убіквітінації.

Іншими прикладами додаткових терапевтичних засобів є інгібітори ДНК-полімерази, топоізомерази II, мультитаргетні (багатоцільові) інгібітори тирозинкіназ, антагоністи CXCR4, інгібітори IL3RA, антагоністи RAR, інгібітори KIR, імунотерапевтичні вакцини, інгібітори TUB, індуктори Hsp70, інгібітори сімейства IAP, інгібітори ДНК-метилтрансферази, інгібітори TNF, інгібітори рецепторної тирозинкінази ErbB1, мультитаргетні інгібітори кіназ, інгібітори JAK2, інгібітори RR, індуктори апоптозу, інгібітори HGPRTази, антагоністи H2-рецепторів гістаміну і агоністи CD25-рецепторів.

Прикладами інгібіторів Aurora-кінази є (але, не обмежуючись лише ними) PHA-739358, AZD-1152, AT 9283, CYC-116, R-763, VX-667, MLN-8045, PF-3814735, SNS 314, VX 689, GSK 1070916, TTP-607, PHA-680626, MLN-8237, BI847325 і ENMD-2076.

Прикладами інгібіторів PLK є GSK-461364, BI2536 і BI6727.

Прикладами інгібіторів raf є BAY-73-4506 (є також інгібітором VEGFR), PLX 4032, RAF-265 (є також інгібітором VEGFR), сорафеніб (є також інгібітором VEGFR), XL 281 і невавар (Nevavar) (є також інгібітором VEGFR) і PLX4032.

Прикладами інгібіторів KSP є іспінесіб, ARRY-520, AZD-4877, CK 1122697, GSK 246053A, GSK-923295, MK-0731, SB-743921, LY 2523355 і EMD-534085.

Прикладами інгібіторів src і / або bcr-abl є дасатиніб, AZD-0530, босутиніб, XL 228 (є також інгібітором IGF-1R), нілотиніб (є також інгібітором PDGFR і cKit), іматиніб (є також інгібітором cKit), NS-187, KX2-391, AP-24534 (є також інгібітором EGFR, FGFR, Tie2, Flt3), KM-80 і LS-104 (є також інгібітором Flt3, Jak2).

Прикладом інгібітору PDK1 є AR-12.

Прикладом інгібітору Rho є BA-210.

Прикладами інгібіторів PI3-кинази є PX-866, PX-867, BEZ-235 (є також інгібітором mTor), XL-147 і XL-765 (є також інгібітором mTor), BGT-226, CDC-0941.

Прикладами інгібіторів cMet або HGF є XL-184 (є також інгібітором VEGFR, cKit, Flt3), PF-2341066, MK-2461, XL-880 (є також інгібітором VEGFR), MGCD-265 (є також інгібітором VEGFR, Ron, Tie2), SU-11274, PHA-665752, AMG-102, AV-299, ARQ-197, MetMAb, CGEN-241, BMS-777607, JNJ 38877605, PF-4217903, SGX-126, CEP-17940, AMG-458, INCB 028060 і E-7050.

Прикладом інгібітору c-Myc є CX-3543.

Прикладами інгібіторів Flt3 є AC-220 (є також інгібітором cKit і PDGFR), KW 2449, LS-104 (є також інгібітором bcr-abl і Jak2), MC-2002, SB-1317, лестауртиніб (є також інгібітором VEGFR, PDGFR, PKC), TG-101348 (є також інгібітором JAK2), XL 999 (є також інгібітором cKit, FGFR, PDGFR і VEGFR), сунітиніб (є також інгібітором PDGFR, VEGFR і cKit) і тандутиніб (є також інгібітором PDGFR і cKit).

Прикладами інгібіторів HSP90 є танеспіміцин, алвеспіміцин, IPI 504, STA 9090, MEDI-561, AU-922, CNF 2024 і SNX-5422.

Прикладами інгібіторів JAK / STAT є CYT-997 (взаємодіє також з тубуліну), TG 101 348 (є також інгібітором Flt3) і XL-019.

Прикладами інгібіторів Мек є ARRY-142886, AS-703 026, PD-325901, AZD 8330, ARRY-704, RDEA-119 і XL-518.

5 Прикладами інгібіторів mTor є темсіролімус, дефоролімус (є також інгібітором VEGFr), еверолімус (є також інгібітором VEGF), XL-765 (є також інгібітором PI3-кінази) і BEZ-235 (є також інгібітором PI3-кінази).

Прикладами інгібіторів Akt є перифозін, GSK-690693, RX-0201 і трицірибін.

10 Прикладами інгібіторів cKit є масітініб, OSI-930 (є також інгібітором VEGFR), AC-220 (є також інгібітором Flt3 і PDGFR), тандутініб (є також інгібітором Flt3 і PDGFR), аксітініб (є також інгібітором VEGFR і PDGFR), сунітініб (є також інгібітором Flt3, PDGFR, VEGFR) і XL-820 (є також інгібітором VEGFR і PDGFR), іматиніб (є також інгібітором bcr-abl), нілотиніб (є також інгібітором bcr-abl і PDGFR).

Прикладами антагоністів білка hedgehog є IPI-609, CUR-61414, GDC-0449, IPI 926 і XL-139.

15 Прикладами інгібіторів CDK є селіцікліб, AT-7519, P-276, ZK-CDK (є також інгібітором VEGFR2 і PDGFR), PD-332991, R-547, SNS-032, PHA-690509, PHA-848125 і SCH-727965.

Прикладами інгібіторів протеосоми є бортезоміб, карфілзоміб і NPI-0052 (є також інгібітором NFκappaB).

20 Прикладами інгібіторів протеосоми / інгібіторів шляху NFκappaB є бортезоміб, карфілзоміб, NPI-0052, CEP-18770, MLN 2238, PR-047, PR-957, AVE-8680 і SPC-839.

Прикладом інгібітора шляху убіквітіназації є HBX-41108.

Прикладами агентів що деметилюється є 5-азацитидін і децитабін.

25 Прикладами антиангіогенних засобів є інгібітори FGFR, PDGFR і VEGF (R) і талідомід, вказані засоби вибирають з групи включає (але, не обмежуючись лише ними) бевацизумаб, мотесаніб, CDP-791, SU-14813, телатініб, KRN-951, ZK-CDK (є також інгібітором CDK), ABT-869, BMS-690514, RAF-265, IMC-KDR, IMC-18F1, IMiDs, талідомід, CC-4047, леналідомід, ENMD 0995, IMC-D11, Ki 23057, бріваніб, цедіраніб, 1B3, CP 868 596, IMC 3G3, R-1530 (є також інгібітором Flt3), сунітініб (є також інгібітором cKit і Flt3), аксітініб (є також інгібітором cKit), лестауртініб (є також інгібітором Flt3 і PKC), ваталаніб, тандутініб (є також інгібітором Flt3 і cKit), пазопаніб, PF-337210, афліберцепт, E-7080, CHIR 258, сорафеніба тозілат (є також інгібітором Raf), вандетаніб, CP-547632, OSI-930, AEE-788 (є також інгібітором EGFR і Her2), BAY-57-9352 (є також інгібітором Raf), BAY-73-4506 (є також інгібітором Raf), XL 880 (є також інгібітором cMet), XL 647 (є також інгібітором EGFR і EphB4), XL 820 (є також інгібітором cKit), нілотиніб (є також інгібітором cKit і bcr-abl), CYT-116, PTC-299, BMS 584622, CEP-11981, довітініб, CY-2401401, ENMD-2976 і BIBF1120.

30 Додатковий терапевтичний агент можна вибирати також з інгібіторів EGFR, він може представляти собою низькомолекулярний інгібітор EGFR або антитіло до EGFR. Прикладами антитіл до EGFR є (але не обмежуючись лише ними) цетуксимаб, панітумумаб, німотузумаб, залутумумаб; прикладами низькомолекулярних інгібіторів EGFR є гефітініб, ерлотиніб, вандетаніб (є також інгібітором VEGFR) і афатиніб (є також інгібітором Her2). Іншим прикладом модулятора EGFR є злитий з токсином EGF.

35 Іншими інгібіторами EGFR і / або Her2, які можна застосовувати в поєднанні з CD33-зв'язуючим агентом, запропонованим у винаході, є лапатиніб, трастузумаб, пертузумаб, XL 647, нератиніб, BMS-599626 ARRY-334543, AV 412, MAT B-806, BMS 690514, JNJ-26483327, AEE-788 (є також інгібітором VEGFR), AZD-8931, ARRY-380 ARRY-333786, IMC-11F8, земаб, TAK-285, AZD-4769 і афатиніб (подвійний інгібітор Her2 і EGFR).

Інгібітори ДНК-полімерази, які можна застосовувати в поєднанні з CD33-зв'язуючим агентом, що пропонується у винаході, являють собою Ага-С/цитарабін, клолар (Clolar) / клофарабін.

40 Інгібітор ДНК-метилтрансферази, який можна застосовувати в поєднанні з CD33-зв'язуючим агентом, що пропонується у винаході, являє собою вайдазу (Vidaza) / азацитидін.

Індуктор апоптозу, який можна застосовувати в поєднанні з CD33-зв'язуючим агентом, що пропонується у винаході, являє собою трісенокс (Trisepox) / триоксид миш'яку.

Інгібітори топоізомерази II, які можна застосовувати в поєднанні з CD33-зв'язуючим агентом, що пропонується у винаході, являють собою ідарубіцин, даунорубіцин і мітоксантрон.

55 Антагоніст RAR, який можна застосовувати в поєднанні з CD33-зв'язуючим агентом, що пропонується у винаході, являє собою Весаноїд (Vesanoïd) / третиноїн.

Інгібітор HGPRTази, який можна застосовувати в поєднанні з CD33-зв'язуючим агентом, що пропонується у винаході, являє собою Мерсарто / меркаптопурин.

Антагоніст H2-рецептора гістаміну, який можна застосовувати в поєднанні з CD33-зв'язуючим агентом, що пропонується у винаході, являє собою цеплен (Ceplene) / гістаміну дигідрохлорид.

Агоніст CD25-рецептора, який можна застосовувати в поєднанні з CD33-зв'язуючим агентом, що пропонується у винаході, являє собою IL-2.

Додатковий лікарський засіб можна вибирати також з агентів, мішенню яких є IGF 1R та шляхи інсулінового рецептора. До таких агентів відносяться антитіла, які зв'язуються з IGF 1R (наприклад, CP-751871, AMG-479, IMC-A12, MK 0646, AVE 1642, R 1507, BIIB 022, SCH 717454, rhu Mat IGFR і нові хімічні субстанції, мішенню яких є кіназного домен IGF1-R (наприклад, OSI-906 або BMS-554417, XL-228, BMS-754807).

Інші агенти, які доцільно об'єднувати з терапією CD33-зв'язуючим агентом, запропонованим у винаході, є молекули, мішенню яких є CD20, в тому числі специфічні для CD20 антитіла, такі як ритуксимаб, LY-2469298, окрелізумаб, MEDI-552, IMMU-106, GA-101 (тобто R7159), XmAb-0367, офатумумаб, мічені радіоактивним ізотопом антитіла до CD20 типу тосітумумабу і ібрітумумабу тіуксетана або інші білки, мішенню яких є CD20, типу SMIP Tru015, PRO-131921, FBT A05, велтузумаба, R-7159.

CD33-зв'язуючі агенти можна об'єднувати з інгібіторами інших розташованих на поверхні антигенів, які експресуються на лейкоцитах, зокрема антитілами або що нагадують антитіла молекулами, наприклад, з антитілом до CD2 (сіплізумаб), антитілом до CD4 (заноліумаб), антитілом до CD19 (MT 103, MDX 1342, SAR-3419, XmAb-5574), антитілом до CD22 (епратузумаб), антитілом до CD23 (луміліксімаб), антитілом до CD30 (іратумумаб), антитілом до CD32B (MGA-321), антитілом до CD38 (HuMax-CD38), антитілом до CD40 (SGN40), антитілом до CD52 (алемтузумаб), антитілом до CD80 (галіксімаб).

Інші агенти, які можна об'єднувати з CD33-зв'язуючими агентами, являють собою імунотоксинів, такі як BL 22 (імунотоксин до CD22), інотузумабу озогаміцин (кон'югат антитіло до CD23 - каліхеаміцин), RFT5.dgA (кон'югат А ланцюг токсину рицину - антитіло до CD25), SGN-35 (кон'югат антитіло до CD30 - аурістатін Е) і гемтузумаба озогаміцин (кон'югат антитіло до CD33 - каліхеаміцин), MDX-1411 (кон'югат антитіла до CD70) або мічені радіоактивним ізотопом антитіла типу 90Y-епратузумаб (радіоімунокон'югат антитіла до CD22).

Крім того, CD33-зв'язуючі агенти можна об'єднувати з імуномодуляторами, агентами, наприклад, антитілами, що індукують апоптоз або модифікують шляхи трансдукції сигналів, такими як модулятори TRAIL-рецептора, наприклад, мапатумумаб (агоніст TRAIL-1-рецептора), лексатумумаб (агоніст TRAIL-2-рецептора), тігатузумаб, апомаб, AMG-951 і AMG-655; антитіло до HLA-DR (типу 1D09C3), антитіло до CD74, інгібітор ліганда фактора диференціювання остеокластів (типу деносумаба), антагоніст BAFF (типу AMG-623a) або агоніст Toll-подібного рецептора (наприклад, TLR 4 або TLR-9).

Інші лікарські засоби, які можна застосовувати в поєднанні з CD33-зв'язуючими агентами, запропонованими в даному винаході, вибирають з групи, що включає (але не обмежуючись лише ними) гормони, аналоги гормонів і антигормональні засоби (наприклад, тамоксифен, тореміфен, ралоксифен, фулвестрант, мегестрола ацетат, флутамід, нілутамід, бікалутамід, ципротерону ацетат, фінастерід, бусереліну ацетат, флудрокортисон, флуоксиместерон, медроксипрогестерон, гідроксипрогестерону капроат, діетілстілбестрол, тестостерону пропіонат, флуоксиместерон / його еквіваленти, остреотід, арзоксифен, пасіреотід, вапреотід, адренкортикостероїдами / їх антагоністи, преднізон, дексаметазон, аміноглутетимід), інгібітори ароматази (наприклад, анастрозол, летрозол, ліарозол, ексеместан, атаместан, форместан), агоністи і антагоністи LHRH (наприклад, гoserелін ацетат, леупролід, абарелікс, церторелікс, деслорелін, гістрелін, трипторелін), антиметаболіти (наприклад, антифолатів типу метотрексату, триметрексату, пеметрекседу, аналоги піримідину типу 5 фторурацилу, флуорозедоксіурідина, капецитабіну, децітабіна, неларабіну, 5-азацитідина і гемцитабіну, аналоги пурину і аденозину, такі як меркаптопурин, тіогуанін, азатіоприн, кладрибін і пентостатином, цитарабін, флударабін, клофарабін); протипухлинні антибіотики (наприклад, антрацикліни, такі як доксорубіцин, даунорубіцин, епірубіцин та ідарубіцин, мітоміцин-С, блеоміцину дактіноміцин, плікаміцин, актиноміцин D, мітоксантрон, мітоксантронідарубіцин, піксантрон, стрептозоцином, афідіколін); похідні платини (наприклад, цисплатин, оксаліплатин, карбоплатин, лобоплатин, сатраплатин); алкілюючі засоби (наприклад, естрамустин, семустин, мехлоретамін, мелфалан, хлорамбуцил, бусульфан, дакарбазін, циклофосфамід, іфосфамід, гідроксисечовина, темозоломід, нітрозосечовини, такі як кармустин і ломустин, тіотепа); антимиіотичні засоби (наприклад, алкалоїди барвінку типу вінбластину, віндесіна, винорелбіна, вінфлуїна і вінкрістину; і таксани, такі як паклітаксел, доцетаксел і їх препаративні форми, ларотаксел; сімотаксел і епотілоні типу іксабепілона, патупілона, ZK-EPO); інгібітори топоізомерази (наприклад,

епіподофіллотоксини, такі як етопосід і етопофос, теніпосід, амсакрин, топотекан, іринотекан, баноксантрон, камптотексин) і хіміотерапевтичні агенти різного типу, такі як похідні ретиноевої кислоти, аміфостин, анагрелід, інтерферон альфа, інтерферон бета, інтерферон гамма, інтерлейкін-2, прокарбазін, N-метилгідразін, мітотан і порфімер, бексаротен, целекоксиб, етиленимін / метілмеламін, тріетіленмеламін, тріетілентіофосфорамід, гексаметілмеламін, і ферменти, такі як L аспарагіназа, L-аргіназа, і метронідазол, місонідазол, десметілмісонідазол, пімонідазол, етанідазол, німоразол, RSU 1069, EO9, RB 6145, SR4233, нікотинамід, 5-бромдезоксіурідина, 5-йоддезоксіурідін, бромдезоксіцитидін, еритрогідроксіноніладенін, антраценедіон, GRN 163L (конкурентний антагоніст матриці теломерази), SDX-101 (агоніст PPAR), талабостат (інгібітор DPP), фородезін (інгібітор PNP), атаціцепт (розчинний рецептор представників сімейства TNF BLyS і APRIL), агенти, нейтралізуючі TNF-альфа (енбрел, хуміра, ремікад), XL-844 (інгібітор CHK1 / 2), VNP-40101M (ДНК-алкілюючий агент), SPC-2996 (антисмисловий інгібітор bcl2), обатоклакс (інгібітор bcl2), ензастаурін (модулятор PKC-бета), воріністат (інгібітор HDAC), ромідепсін (інгібітор HDAC), AT-101 (інгібітор Bcl-2/Bcl-xL), плітидепсин (багатофункціональний депсипептід), SL-11047 (модулятори метаболізму поліамінів).

CD33-зв'язуючі агенти, пропоновані у винаході, можна застосовувати також у поєднанні з іншими шляхами лікування, включаючи хірургію, трансплантацію стоволових клітин, променеву терапію, ендокринну терапію, лікування за допомогою модифікаторів біологічної відповіді, гіпертермію і кріотерапію, і з лікуванням за допомогою таких засобів, призначених для зниження яких побічних дій (наприклад, нудоти кошти), G-CSF, GM-CSF, фотосенсибілізуючі засоби, такі як похідні гематопорфірину, протофрін (Photofrin), похідні бензопорфірину, Нреб, етіопорфірін олова, феоборід-а, бактеріохлорофіл-а, нафталоціаніни, фталоціанін, фталоціанін цинку.

Фармацевтичні композиції і методи введення

CD33-зв'язуючі агенти можуть перебувати у будь-якій формі, що забезпечує введення композиції пацієнтові. Наприклад, композиція може знаходитися у твердій або рідкій формі. Переважним шляхом введення є парентеральний, здійснюваний за допомогою інфузії або ін'єкції (внутрішньовенної, внутрішньом'язової, підшкірної, внутрішньоочеревинної, внутрішньошкірної), однак можна застосовувати також інші шляхи введення, наприклад, за допомогою інгаляції, трансдермальний, інтраназальний, транбуккальний, оральний шлях введення та введення в пухлину. Парентеральне введення включає підшкірні ін'єкції, методи внутрішньовенної, внутрішньом'язової, надчеревної ін'єкції або інфузії. Відповідно до одного з об'єктів винаходу композиції вводять парентерально. Згідно іншому об'єкту винаходу композиції вводять внутрішньовенно.

Фармацевтичні композиції можна готувати у вигляді таких форм, які забезпечують біодоступність сполуки при введенні композиції пацієнтові. Композиції можуть мати форму однієї або декількох стандартних доз, як, наприклад, в тому випадку, коли сполука в аерозольній формі знаходиться в контейнері, який може містити велику кількість стандартних доз.

Продукти, вживані для приготування фармацевтичної композиції, можуть бути нетоксичними в застосовуваних кількостях. Як має бути очевидно звичайному фахівцеві в даній галузі, оптимальна доза діючої речовини / діючих речовин у фармацевтичній композиції повинна залежати від ряду факторів. Відповідні чинники включають (але не обмежуючись лише ними) тип пацієнта (наприклад, чоловік), конкретну форму сполуки, шлях введення і застосовувану композицію.

Фармацевтично прийнятний носій або наповнювач може складатися з (мікро) часток, в результаті чого композиції знаходяться, наприклад, у порошкоподібній формі. Носій (ї) може (уть) бути рідким (и), в результаті чого композиції являють собою, наприклад, призначену для ін'єкції рідину. Композиція може перебувати у формі рідини, наприклад, для парентеральної ін'єкції. У композицію, призначену для введення шляхом ін'єкції, можна включати також одну / один або кілька поверхнево-активних речовин, консервантів, змочувальних агентів, диспергуючих агентів, суспендуючих агентів, буферів, стабілізаторів і агентів що забезпечують ізотонічність.

Рідкі композиції у вигляді розчинів, суспензій або інших подібних форм можуть включати також одну або декілька таких речовин: стерильні розріджувачі, такі як вода для ін'єкцій, соляний розчин, переважно фізіологічний соляний розчин, розчин Рінгера, ізотонічний хлорид натрію, нелеткі олії, такі як синтетичні моно-або дигліцериди, які можуть служити в якості розчинника або суспендуючого середовища, поліетиленгліколі, гліцерин, циклодекстрин, пропіленгліколь або інші розчинники; стабілізатори, такі як амінокислоти; поверхнево-активні речовини, такі як полісорбати; антибактеріальні агенти, такі як бензиловий спирт або

метилпарабен; антиоксиданти, такі як аскорбінова кислота або бісульфіт натрію; хелатуючі агенти, такі як етилендіамінтетраоцтова кислоти; буфери, такі як ацетати, цитрати або фосфати; та агенти для регулювання тоничності, такі як хлорид натрію або декстроза. Парентеральну композицію можна укласти в ампулу, одноразовий шприц або мультидозовий флакон зі скла, пластику або іншого матеріалу. Прикладом ад'юванта є фізіологічний соляний розчин. Призначена для ін'єкцій композиція переважно є стерильною.

CD33-зв'язуючі агенти можуть перебувати також у висушеній формі (наприклад, отриманої за допомогою сушіння виморожуванням, сушіння розпиленням, комбінованого процесу сушіння розпиленням та сушіння виморожуванням, сушіння за допомогою околоритичних або суперкритичних газів, вакуумного сушіння, повітряної сушки), обложеної або кристалізованої або включеної в мікрокапсули формі, які отримують, наприклад, з використанням методів коацервації або міжфазної полімеризації з використанням, наприклад, гідроксиметилцелюлоза або желатину та полі (метилметакрилату) відповідно, в колоїдних системах для введення лікарських засобів (наприклад, ліпосоми, альбумінові мікросфери, мікроемульсії, наночастинки і нанокансули), у формі макроемульсій або обложеної або іммобілізованої формі на носіях або поверхнях, наприклад, отриманої за допомогою rsmc-технології (покрита білком мікрокристали protein coated microcrystals). Зазначені методи описані в: Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 21-е вид., Під ред. Hendrickson R.

Кількість композиції, що є ефективним щодо лікування конкретного порушення або стану, має залежати від природи порушення або стану, і його можна визначати за допомогою стандартних клінічних методик. Крім того, для полегшення визначення оптимальних діапазонів доз, необов'язково можна застосовувати аналізи *in vitro* або *in vivo*. Точна доза, в якій слід застосовувати композиції, повинна залежати також від шляху введення і серйозності захворювання або порушення, і рішення про її застосування повинно залежати від рекомендації практикуючого спеціаліста та обставин, пов'язаних з особливостями кожного пацієнта.

Композиції містять в ефективній кількості лікарський (і) засіб (а) або агент (и), що дозволяють отримувати прийнятну дозу. Як правило, вказану кількість становить щонайменше приблизно 0,01 % лікарського засобу або агента в перерахунку на масу композиції. Коли композиція призначена для орального введення, то ця кількість може варіюватися в діапазоні від приблизно 0,1 % до приблизно 80 % у перерахунку на масу композиції. В одному з об'єктів винаходу оральні композиції можуть містити сполуку у кількості від приблизно 4 % до приблизно 50 % у перерахунку на масу композиції. Згідно іншому об'єкту винаходу композиції, запропоновані в даному винаході, готують таким чином, що парентеральна стандартна доза лікарського засобу містить сполуку у кількості від приблизно 0,01 до приблизно 2 мас. %.

Призначена для внутрішньовенного введення композиція може містити від приблизно 1 до приблизно 50 мг лікарського засобу або агента на 1 кг ваги тіла пацієнта. В одному з об'єктів винаходу композиція може включати від приблизно 1, 1,5 або 2,5 до приблизно 50 мг лікарського засобу або агента на 1 кг ваги тіла пацієнта. У іншому об'єкті винаходу кількість, що вводиться, повинна знаходитися в діапазоні від приблизно 1, 1,5 або 2,5 до приблизно 25 мг лікарського засобу або агента / кг ваги тіла.

У деяких варіантах здійснення винаходу доза, що вводиться пацієнтові, становить від менш ніж 0,1 мг / кг до приблизно 50 мг / кг ваги тіла пацієнта (для перетворення на мг/мм² можна приймати, що BSA (область поверхні тіла) становить 1,8 м² і вага тіла становить 80 кг).

Як зазначено в даному описі, CD33-зв'язуючий агент можна вводити пацієнту внутрішньовенно або підшкірно згідно з графіком, який передбачає, наприклад, введення пацієнту щодня, щотижня, один раз на два тижні, один раз на три тижні або щомісяця. Наприклад, CD33-зв'язуючий агент можна вводити щотижня протягом 2-10 тижнів, як правило, 3-6 тижнів. У деяких варіантах здійснення винаходу схема застосування CD33-зв'язуючого агента забезпечує підтримання концентрації антитіла в сироватці крові, становить щонайменше 5 мкг / мл або щонайменше 10 мкг / мл протягом циклу введення доз. CD33-зв'язуючий агент можна вводити, наприклад, протягом 1-8 або більшої кількості циклів. У деяких варіантах здійснення винаходу CD33-зв'язуючий агент вводять індивідууму постійно.

Наприклад, винахід включає спосіб лікування раку, такого як мієлоїдний лейкоз, що полягає в тому, що щотижня вводять в кількості від 0,1 до 50 мг / кг, наприклад, приблизно 1,5 8 або 2,5-8 мг / кг, антитіла до CD33, пропонованого у винаході. Таке лікування можна, як правило, можна продовжувати протягом приблизно 1-3 місяців, як правило, приблизно двох місяців. В одному з варіантів здійснення винаходу схему застосування лікарського засобу зберігають аж до виявлення зменшеного рівня бластних клітин. Наприклад, дозування можна продовжувати аж до приблизно 6 місяців. Після зазначеного лікування можна використовувати схему з менш частим дозуванням, яка включає, наприклад, введення один раз на 2 тижні (або двічі на місяць).

Таку схему застосування можна підтримувати протягом 1, 2, 3, 4, 5, 6 місяців або більше для підтримки зниження кількості бластних клітин і / або ремісії.

У деяких варіантах здійснення винаходу для мінімізації інфузійних реакцій можна застосовувати профілактичний засіб у поєднанні з CD33-зв'язуючим агентом. Прийнятні профілактичні засоби включають, наприклад, метилпреднізолон, діфенілдрамін, ацетамінофен або інший прийнятний засіб. Профілактичний засіб можна вводити до або приблизно одночасно з CD33-зв'язуючим агентом.

Лікарський (і) засіб (и) або агент (и), або композиції можна вводити будь-яким загальноприйнятим шляхом, наприклад, за допомогою інфузії або болюсної ін'єкції, за допомогою абсорбції через епітеліальні або слизово-шкірні вистилки (наприклад, через слизову порожнину рота, слизову прямої кишки і кишечника тощо). Введення може бути системним або місцевим. Відомі різні системи для введення, наприклад, капсуляція в ліпосоми, мікрочастинки, мікрокапсули, капсули і т.д., і їх можна застосовувати для введення сполуки. У деяких варіантах здійснення винаходу пацієнту можна вводити більше одного лікарського засобу або агента або більше однієї композиції.

Може виявитися бажаним застосовувати більше одного лікарського засобу або агента або більше однієї композиції місцево шляхом введення в область, що підлягає лікуванню, якщо це можливо для лікарського засобу або агента. Цієї мети можна досягати, наприклад (але не обмежуючись лише ними), за допомогою місцевої інфузії в процесі хірургічного втручання; місцевого нанесення, наприклад, у поєднанні з перев'язування рани після хірургічного втручання; шляхом ін'єкції; за допомогою катетера; за допомогою супозиторія; або з допомогою імплантату, при цьому імплантат може бути виготовлений з пористого, непористого або гелеподібного матеріалу, включаючи мембрани, такі як сіаластичні мембрани або волокна. В одному з варіантів здійснення винаходу введення можна здійснювати шляхом безпосередньої ін'єкції в область (або колишню область) раку, пухлини або в неопластичних або перед-неопластичну тканину.

Лікарський (і) засіб (и) або агент (и), або композиції можна вводити за допомогою системи з контрольованим вивільненням, такий як насос або різні полімерні матеріали. Згідно ще одному варіанту здійснення винаходу систему з контрольованим вивільненням можна поміщати в околиці мішені лікарського (их) засобу (ів) або агента (ів), або композицій, для чого потрібно використовувати тільки частина системної дози (див., наприклад, Goodson, в: Medical Applications of Controlled Release, т. 2, 1984, сс. 115138). Можна застосовувати інші системи з контрольованим вивільненням, обговорення яких представлено в огляді Langer (Science 249, 1990, сс. 1527-1533).

Лікарські засоби або агенти включають в препаративні форми відповідно до загальноприйнятих процедур з отриманням фармацевтичної композиції, адаптованої для внутрішньовенного введення тваринам, перш за все людині, придатної для лікарського засобу або агента. Як правило, носії або наповнювачі для внутрішньовенного введення являють собою стерильні ізотонічні водні буферні розчини. При необхідності композиції можуть включати також солюбілізуючий агент. Композиції для внутрішньовенного введення можуть необов'язково містити місцевий анестетик, такий як лігнокаїн, для зменшення болю в області ін'єкції. Як правило, інгредієнти застосовують або окремо, або їх змішують разом в стандартній лікарській формі, наприклад, у вигляді сухого порошку або безводного концентрату в герметично закритому контейнері, такому як ампула або саше, вказуючи кількість діючої речовини. Коли лікарський засіб або агент підлягає введенню шляхом інфузії, його можна поміщати, наприклад, в інфузійний флакон, що містить стерильну воду або соляний розчин фармацевтичного ступеня чистоти. Коли лікарський засіб або агент вводять шляхом ін'єкції, то можна застосовувати ампулу зі стерильною водою для ін'єкцій або соляним розчином, з якими можна змішувати інгредієнти перед введенням.

Композиції терапевтичних агентів можна застосовувати також у вигляді прийнятних лікарських форм, наприклад, у вигляді таблеток, коржиків, водних або масляних суспензій, гранул, порошоків, емульсій, капсул, сиропів або еліксирів. Композиції, що підлягають оральному введенню можуть містити один або кілька необов'язкових агентів, наприклад, підсолоджувальних речовин, таких як фруктоза, аспартам або сахарин; коргієнтів, таких як олія м'яти перцевої, олія грушанки або вишневу отдушку; барвників та консервантів для отримання фармацевтичного препарату, що має приємний смак. Крім того, на композицію, якщо вона має форму таблетки або пігулки, можна наносити покриття для уповільнення руйнування і абсорбції в шлунково-кишковому тракті, що забезпечує тривалу дію протягом подовженого періоду часу. Для впроваджуваних оральним шляхом лікарських засобів або агентів можна застосовувати також такі, що володіють виборчою проникністю мембрани, що оточують осмотично активну

таку, що забезпечує введення, сполуку. У цих зазначених останніх платформах рідина з середовища, що оточує капсулу, всмоктується сполукою, що забезпечує введення, що набухає, витісняючи агент або включає агент композицію з отвору. Ці платформи для введення можуть забезпечувати практично нульовий профіль введення на відміну від гострих профілів, характерних для препаративних форм, з яких відбувається негайне вивільнення. Можна застосовувати також уповільнюючий вивільнення матеріал, такий як гліцеролмоностеарат або гліцеролстеарат.

Композиція може включати різні матеріали, які модифікують фізичну форму твердої або рідкої стандартної дози. Наприклад, композиція може включати матеріали, які формують покриваючу оболонку навколо діючих речовин. Матеріали, які утворюють покриваючу оболонку, як правило, є інертними і їх можна вибирати, наприклад, з цукру, шелаку та інших агентів для ентросолубільних покриттів. В альтернативному варіанті діючі речовини можна включати в желатинову капсулу.

Композиції можна вводити пацієнту, який потребує цього, з частотою або протягом періоду часу, який визначається лікуючим лікарем. Композиції можна вводити протягом періоду, що становить 1 день, 2 дні, 3 дні, 5 днів, 7 днів, 10 днів, 14 днів, 21 день, 28 днів, один місяць, два місяці або протягом більш тривалих періодів часу. Повинно бути очевидно, що композиції можна вводити протягом будь-якого періоду часу, тривалістю від 1 дня і до двох або більше місяців.

Отримання антитіл

Антитіла можна отримувати за допомогою будь-якого методу, придатного для синтезу антитіл, такого, зокрема, як рекомбінантна експресія або хімічний синтез.

Рекомбінантна експресія антитіл або їх фрагментів або похідних, як правило, включає конструювання нуклеїнових кислот, які кодують антитіло. Якщо нуклеотидна послідовність є відомою, то нуклеїнову кислоту, що кодує антитіло або його поліпептид, можна збирати з хімічно синтезованих олігонуклеотидів (наприклад, згідно з методом, описаним у Kutmeier та ін, *BioTechniques* 17, 1994, с. 242), що включає синтез перекривних олігонуклеотидів, що містять ділянки послідовності, що кодує антитіло, "віджиг" і лігування цих олігонуклеотидів і подальшу ампліфікацію лігованих олігонуклеотидів, наприклад, за допомогою ПЛР.

В альтернативному варіанті молекулу нуклеїнової кислоти, що кодує антитіло або його поліпептид, можна отримувати з прийнятного джерела. Якщо клон, що містить нуклеїнову кислоту, що кодує конкретне антитіло, не є доступним, але послідовність антитіла є відомою, то нуклеїнову кислоту, що кодує антитіло, можна отримувати з прийнятного джерела (наприклад, бібліотеки кДНК антитіла або бібліотеки кДНК, створеної з будь-яких тканин або клітин, експресуючих імуноглобулін) за допомогою, наприклад, ПЛР-ампліфікації з використанням синтетичних праймерів, які можуть гібридизуватися з 3'-і 5'-кінцями послідовності, або шляхом клонування з використанням олігонуклеотидного зонда, специфічного щодо конкретної генної послідовності.

Якщо антитіло, яке специфічно розпізнає конкретний антиген, не надходить у продаж (або не доступне джерело кДНК-бібліотеки, призначеної для клонування нуклеїнової кислоти, що кодує зазначений імуноглобулін), то антитіла, специфічні щодо конкретної антигену, можна створювати за допомогою будь-якого методу, відомого в даній області, наприклад, шляхом імунізації пацієнта або з використанням прийнятної тваринної моделі, такої як кролик або миша, для створення поліклональних антитіл, або більш переважно шляхом створення моноклональних антитіл, наприклад, згідно з методом, описаним у Kohler і Milstein (*Nature* 256, 1975, сс. 495-497), або описаному у Kozbor та ін, (*Immunology Today* 4, 1983, с. 72), або у Cole та ін, (в: *Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy*, вид-во Alan R. Liss, Inc., 1985, сс. 77-96). В альтернативному варіанті клон, який кодує щонайменше Fab-фрагмент антитіла, можна отримувати шляхом скринінгу експресуючих Fab бібліотек (наприклад, згідно з методом, описаним у Huse та ін, *Science* 246, 1989, сс. 1275-1281) щодо клонів Fab-фрагментів, які зв'язуються зі специфічним антигеном, або шляхом скринінгу бібліотек антитіл (див., наприклад, Clackson та ін, *Nature* 352, 1991, с. 624; Hane та ін., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 94, 1997, с. 4937).

Після того, як отримана послідовність нуклеїнової кислоти, що кодує щонайменше варіабельний домен антитіла, її можна інтродуціювати в вектор, що містить нуклеотидну послідовність, що кодує константні області антитіла (див., наприклад, публікації міжнародних заявок на патент WO 86/05807; WO 89 / 01036 і US 5122464). Вектори, що містять повний легкий або важкий ланцюг, які забезпечують експресію повної молекули антитіла, є доступними. Потім нуклеїнову кислоту, що кодує антитіло, можна застосовувати для інтродукції нуклеотидної (их) заміни (н) або делеції (ий), необхідних для заміни (або делеції) одного або декількох залишків цистеїну варіабельної області, який (і) приймає (ють) участь в утворенні всередині ланцюга

дисульфідного містка між амінокислотним залишком, який не містить сульфгідрильні групи. Такі модифікації можна здійснювати за допомогою будь-якого відомого в даній області методу інтродукції специфічних мутацій або делецій в нуклеотидну послідовність, такого, наприклад, як (але не обмежуючись лише ними) хімічний мутагенез і сайтнаправлений мутагенез *in vitro* (див., наприклад, Hutchinson та ін., J. Biol. Chem. 253, 1978, с. 6551).

Крім того, розроблено методики для отримання "химерних антитіл" (див., наприклад, Morrison та ін, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 81, 1984, сс. 851855; Neuberger та ін, Nature 312, 1984, сс. 604-608; Takeda та ін, Nature 314, 1985, сс. 452-454). Химерне антитіло являє собою молекулу, в якій різні ділянки виводять з різних видів тварин, наприклад, воно має варіабельну область, виведену з мишачого моноклонального антитіла, і константну область людського імуноглобуліну, наприклад, являє собою гуманізоване антитіло.

Після того, як отримана послідовність нуклеїнової кислоти, що кодує антитіло, можна отримувати вектор для виробництва антитіла за допомогою технології рекомбінантної ДНК з використанням методик, відомих в даній області. Для конструювання експресійних векторів, що містять кодують послідовності антитіла і відповідні контролюючі транскрипцію і трансляцію сигнали, можна застосовувати методи, відомі фахівцям в даній області. Ці методи включають, наприклад, технології рекомбінантної ДНК *in vitro*, методи синтезу і генетичну рекомбінацію *in vivo* (див., наприклад, методи, описані у Sambrook та ін, Molecular Cloning, A Laboratory Manual. 2-е вид., Вид-во Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, NY, 1990; та Sambrook та ін, Molecular Cloning, A Laboratory Manual, 3-е вид., Вид-во Cold Spring Harbor Publish., Cold Spring Harbor, NY, 2001; і в: Current Protocols in Molecular Biology, під ред. Ausubel та ін, вид-во John Wiley & Sons, N.Y., 1993-2006).

Експресійний вектор, що містить нуклеотидну послідовність антитіла, або нуклеотидну послідовність антитіла можна переносити в клітину-хазяїна за допомогою загальноприйнятих методів (наприклад, шляхом електропорації, ліпосомної трансфекції, осадження фосфатом кальцію або трансдукції), і що утворилися клітини потім культивувати загальноприйнятими методами для отримання антитіл. У конкретних варіантах здійснення винаходу експресію антитіла регулюють з використанням конститутивного, індукційного або тканиноспецифічного промотора.

Клітини-господарі, застосовувані для експресії рекомбінантного антитіла, можуть являти собою або бактеріальні клітини, такі як *Escherichia coli*, або переважно еукаріотичні клітини, насамперед для експресії рекомбінантних молекул імуноглобулінів. Зокрема, клітини ссавців, такі як клітини яєчника китайського хом'ячка (CHO), у поєднанні з вектором, що містить основний проміжний ранній генний промотор людського цитомегаловірусу, являють собою ефективну експресійну систему для імуноглобулінів (див., наприклад, Foecking та ін, Gene 45, 1986, с.101; Cockett та ін, BioTechnology 8, 1990, с. 2). Клітинна лінія CHO може являти собою, наприклад, DG44 або CHO-S. Іншим прикладом системи, за допомогою якої можна експресувати антитіло, є система CHEF (див., наприклад, U.S. 5888809.)

Для експресії антитіл можна застосовувати ряд інших систем господар-експресійний вектор. Зазначені системи господар-експресійний вектор представляють собою носії, за допомогою яких кодують послідовності антитіла можна отримувати і потім очищати, але вони являють собою також клітини, які можуть після трансформації або трансфекції відповідними нуклеотидними такими, що кодують послідовностями, експресувати *in situ* молекулу антитіла у вигляді конкретного імуноглобуліну. Вони включають (але не обмежуючись лише ними) мікроорганізми, такі як бактерії (наприклад, *E. coli* і *B. subtilis*), трансформовані експресійними векторами на основі рекомбінантного ДНК-бактеріофагу, плазмідної ДНК або космідної ДНК, які містять кодуючі послідовності імуноглобулінів; дріжджі (наприклад, *Saccharomyces pichia*), трансформовані рекомбінантними дріжджовими експресійними векторами, несучими кодуючі послідовності антитіл; системи на основі клітин комах, інфікованих вірусними експресійними векторами (наприклад, бакуловірусної), що містять кодуючі послідовності імуноглобулінів; системи на основі клітин рослин, інфікованих рекомбінантними вірусними експресійними векторами (наприклад, на основі вірусу мозаїки кольорової капусти (CaMV) і вірусу мозаїки тютюну (TMV)), або трансформовані рекомбінантними плазмідними експресійними векторами (наприклад, на основі Ti-плазмід), що містять кодуючі послідовності антитіл; або системи на основі клітин ссавців (наприклад, клітин COS, CHO, CHO-S, BH, 293, 293T або 3T3), несучих рекомбінантні експресійної конструкції, які містять промотори, виведені з генома клітин ссавців (наприклад, промотор металотіонеїну) або з вірусів ссавців (наприклад, пізній промотор аденовірусу; 7,5 К-промотор вірусу коров'ячої віспи).

Для застосування в бактеріальних системах можна вибирати цілий ряд бажаних експресійних векторів залежно від передбачуваного застосування експресуемого антитіла.

Наприклад, коли потрібно отримувати велику кількість зазначеного білка, то може виявитися бажаним застосовувати вектори, які забезпечують високі рівні експресії злитих білкових продуктів, що легко піддаються очищенню. Такі вектори включають (але не обмежуючись лише ними) експресійний вектор *E. coli* pUR278 (Ruther та ін, EMBO J. 2, 1983, сс. 1791-1794), в яких кодуюча послідовність антитіла можна індивідуально вбудовувати шляхом лігування у вектор в рамці зчитування із кодуючою областю *lac Z* з отриманням злитого білка; вектори pIN (Inouye і Inouye, Nucleic Acids Res. 13, 1985, сс. 3101-3109; Van Heeke і Schuster, J. Biol. Chem. 24, 1989, сс. 5503-5509) і т.п. Можна застосовувати також вектори pGEX для експресії чужорідних поліпептидів у вигляді білків, злитих з глутатіон-S-трансферази (GST). У цілому, зазначені злиті білки є розчинними і їх легко можна очищати з лізованих клітин шляхом адсорбції та зв'язування з агарозним гранулами з глутатіоновим матриксом з подальшою елюцією у присутності вільного глутатіону. Вектори pGEX створюють так, щоб вони включали сайти протеазного розщеплення тромбіну або фактору Ха, так, щоб клонований цільовий генний продукт можна було вивільняти з GST-фрагмента.

У системах на основі комах в якості вектора для експресії чужорідних генів можна застосовувати вірус ядерного поліедрома каліфорнійської совки *Autographa californica* (AcNPV) або аналогічний вірус з *Drosophila melanogaster*. Вірус вирощують в клітинах *Spodopiera frugiperla*. Кодуючу послідовність антитіла можна клонувати індивідуально в таких, що не мають вирішального значення областях (наприклад, в гені поліедрину) вірусу і поміщати під контроль промотору AcNPV (наприклад, промотора поліедрину).

У клітинах-господарях ссавців можна застосовувати ряд експресійних систем на основі вірусів. У випадках, коли в якості експресійного вектора застосовують аденовірус, що представляє інтерес кодуючу послідовність антитіла можна вбудовувати шляхом лігування в аденовірусний контролюючий транскрипцію / трансляцію комплекс, наприклад, пізній промотор і троїсту лідерну послідовність. Цей химерний ген потім можна вбудовувати в геном аденовірусу за допомогою рекомбінації *in vitro* або *in vivo*. Вбудовування в таку, що не має вирішального значення область вірусного генома (наприклад, E1 або E3) призводить до створення рекомбінантного вірусу, який є життєздатним і має здатність експресувати молекулу імуноглобуліну в інфікованих господарях (див., наприклад, Logan і Shenk, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 81, 1984, сс. 355-359). Для ефективної трансляції вбудованих кодуючих послідовностей антитіл можуть вимагатися також специфічні ініціюючі сигнали. Ці сигнали включають кодон ініціації ATG і примикаючі послідовності. Крім того, кодон ініціації функціонально пов'язують з рамкою зчитування необхідної послідовності, що кодує для гарантії трансляції повної вставки. Ці екзогенні контролюючі трансляцію сигнали і кодони ініціації можуть мати різне походження, являти собою як такі, що зустрічаються в природних умовах, так і синтетичні елементи. Ефективність експресії можна підвищувати шляхом включення відповідних елементів, що представляють собою енхансери транскрипції, термінатори транскрипції і т.д. (див., наприклад, Bittner та ін., Methods in Enzymol. 153, 1987, сс. 51-544).

Крім того, можна вибирати штам клітин-хазяїв так, щоб модулювати експресію вбудованих послідовностей або модифікувати та процесувати генний продукт конкретним потрібним чином. Зазначені модифікації (наприклад, глікозилювання) і процесинг (наприклад, розщеплення) білкових продуктів може бути важливим для функції білка. Різні клітини-господарі мають характеристики і специфічні механізми для пост-трансляційного процесингу і модифікації білків і генних продуктів. Відповідні клітинні лінії або системи-господарі можна вибрати для гарантії правильної модифікації і процесингу чужорідного експресуємого білка. Для цієї мети можна використовувати еукаріотичні клітини-господарі, які мають клітинний механізм для необхідного процесингу первинного транскрипту, глікозилювання і фосфорилування генного продукту. Зазначені клітини-хазяї ссавців включають (але не обмежуючись лише ними) CHO (наприклад, DG44 або CHO-S), VERY, BH, HeLa, COS, MDCK, 293, 293T, 3T3, WI38, BT483, Hs578T, HTB2, BT20 and T47D, CRL7030 і Hs578Bst.

Для довготривалого виробництва з високим виходом рекомбінантних білків кращою є стабільна експресія. Наприклад, можна створювати клітинні лінії, які стабільно експресують антитіло. Замість застосування експресійних векторів, які містять вірусні сайти ініціації реплікації, можна використовувати клітини-хазяї, які трансформують ДНК під контролем відповідних контролюючих експресію елементів (наприклад, промоторні, енхансерні послідовності, термінатори транскрипції, сайти поліаденілювання і т.д.), і використовувати селектуємий маркер. Після інтродукції чужорідної ДНК сконструйованим клітинам можна давати рости протягом 1-2 днів у збагачених середовищах, а потім пересівати в селективні середовища. Селектуємий маркер в рекомбінантній плазміді надає стійкість до фактору селекції і дозволяє клітинам стабільно інтегрувати плазмиду в їх хромосоми і рости з утворенням

осередків, які, у свою чергу, можна клонувати і розмножувати з отриманням клітинних ліній. Цей метод можна з успіхом застосовувати для створення клітинних ліній, що експресують антитіло. Зазначені сконструйовані клітинні лінії можуть бути особливо цінними для скринінгу і оцінки пухлинних антигенів, які взаємодіють безпосередньо чи опосередковано з антитілом.

5 Для селекції можна застосовувати цілий ряд систем. Наприклад, можна застосовувати гени тимідинкінази вірусу герпесу простого (див., наприклад, Wigler та ін, Cell 11, 1977, с. 223), гипоксантингуанинфосфорибозилтрансферазы (див., наприклад, Szybalska і Szybalski, Proc. Natl Acad. Sci. USA 48, 1992, с. 202) і аденинфосфорибозилтрансферазы (див., наприклад, Lowy та ін, Cell 22, 1980, с. 817) у tk⁻, hprt⁻ або aprt⁻ клітинах відповідно. Крім того, можна
10 використовувати стійкість до метаболітам в якості основи для селекції наступних генів: DHFR, який надає стійкість до метотрексату (див., наприклад, Wigler та ін., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 77, 1980, сс. 3567-3570; O'Hare та ін., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 78, 1981, сс. 1527-1531); gpt, який надає стійкість до мікофенолової кислоти (див., наприклад, Mulligan і Berg, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 78, 1981, сс. 2072-2076); нео, який надає стійкість до аміноглікозидів G-418 (див.,
15 наприклад, Clinical Pharmacy 12, сс. 488-505; Wu і Wu, Biotherapy 3, 1991, сс. 87-95; Tolstoshev, Arm. Rev. Pharmacol. Toxicol. 32, 1993, сс. 573-596; Mulligan, Science 260, 1993, сс. 926-932; Morgan і Anderson, Ann. Rev. Biochem. 62, 1993, сс. 191217; та May, TIB TECH 11 (5), 1993, сс. 155-215) і hyg^r, який надає стійкість до гігromіцину (див., наприклад, Santerre та ін, Gene 30, 1984, сс. 147-150). Загальноприйняті в даній галузі методи на основі технології рекомбінантної
20 ДНК, які можна використовувати, описані в: Current Protocols in Molecular Biology, під ред. Ausubel та ін, вид-во John Wiley & Sons, NY, 1993-2006; у Kriegler, Gene Transfer and Expression. A laboratory Manual, вид-во Stockton Press, NY, 1990 і в главах 12 і 13 в: Current Protocols in Human Genetics, під ред. Dracopoli та ін, вид-во, John Wiley & Sons, NY, 1994, і у Colberre-Garapin та ін, Mol. Biol. 150, 7, 1981, сс. 1-14).

25 Рівні експресії антитіла можна підвищувати шляхом ампліфікації вектора (див. огляд Bebbington і Hentschel, "The use of vectors based on gene amplification for the expression of cloned genes in mammalian cells in DNA cloning", т. 3., Вид-во Academic Press, New York, 1987). Коли маркер у векторній системі, що експресує антитіло, є ампліфікованим, то підвищення рівня інгібітора, присутнього в культурі клітини-хазяїна, повинно приводити до збільшення числа копій
30 маркерного гена. Оскільки область що ампліфікується асоційована з нуклеотидною послідовністю антитіла, то виробництво антитіла також має збільшуватися (див., наприклад, Crouse та ін., Mol. Cell. Biol. 3, 1983, сс. 257-266).

Клітину-хазяїна можна контрастфектувати двома експресійними векторами, при цьому перший вектор кодує виведений з важкого ланцюга поліпептид, а другий вектор кодує
35 виведений з легкого ланцюга поліпептид. Два вектора можуть містити однакові або різні маркери що селектуються, які дають можливість експресувати в еквівалентних кількостях поліпептиди важкого і легкого ланцюгів. В альтернативному варіанті можна застосовувати один вектор, для того, щоб кодувати поліпептиди важкого і легкого ланцюгів. У таких ситуаціях легкий ланцюг, як правило, поміщають перед важким ланцюгом для того, щоб уникнути надмірної
40 токсичності вільної важкого ланцюга (див., наприклад, Proudfoot, Nature 322, 1986, сс. 562-565; Kohler, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 77, 1980, сс. 2197-2199). Кодуючі послідовності важкого і легкого ланцюгів можуть містити кДНК або геномну ДНК.

Після рекомбінантної експресії антитіла його можна очищати за допомогою будь-якого прийнятного методу очищення антитіла, наприклад, шляхом хроматографії (наприклад, іонообмінної, афінної, зокрема на основі афінності до специфічного антигену після здійснення
45 іммобілізації на білку А і колонкової гель-фільтрації), центрифугування, на основі різної розчинності або за допомогою будь-якої іншої стандартної методики очищення білків.

Вичерпний опис всіх стадій, застосовуваних для отримання моноклональних антитіл, пропонується в даному винаході, представлено у Yokoyama та ін, "Production of Monoclonal
50 Antibodies", Current Protocols in Immunology, частина 2.5, 2006.

Приклади

Приклад 1: Афінність до CD33

Афінності CD33-зв'язуючих агентів як до CD33 людини, так і CD33 мавп ціномолгус, характеризуються величинами KD, складовими 10нМ або менш, на клітинних лініях HL60 і
55 HEK293-ціномолгус CD33 відповідно.

Чотирнадцять CD33-зв'язуючих агентів (повністю людські моноклональні антитіла, перераховані в таблиці під № № 1-14 відповідно) до CD33 людини і мавп ціномолгус оцінювали з використанням аналізу Скетчарда для обробки результатів, отриманих за допомогою FACS, згідно з методом, який описаний у Brockhoff і ін, Cytometry, 17 (1) 1 вересня 1994 р., сс. 75-83),
60 на експресуючих CD33 клітинах (виведена з ГМЛ клітинна лінія HL60, рекомбінантна клітинна

лінія HEK293-ціномолгусCD33). У цілому, метод полягав у наступному: наготовлювали розведення CD33-зв'язуючого агента для дослідження в 96-лунковому планшеті, починаючи з концентрації 100-400нм в першій лунці (80 мкл), після чого здійснювали наступні 11 стадій розведення (1:2, 40+40 мкл). У пробірки для FACS-аналізу додавали по 50 мкл розведень CD33-зв'язуючого агента, в кожну пробірку для FACS-аналізу додавали по 150 мкл клітин ($0,8 \times 10^6 / \text{мл} = 1,2 \times 10^5$ клітин/пробірку). Клітини обережно перемішували і інкубували протягом 1 год. на льоду. Потім додавали 50 мкл кон'югованого з ФІТЦ вторинного антитіла (концентрація 15 мкг / мл; мишає МАт до людського IgG), перемішували і інкубували протягом 30 хв на льоду. Потім додавали 4 мл ЗФР, рН 7,2, що містить 0,02 % кислоти, клітини пеллетували і ресуспендували в 300 мкл ЗФР, рН 7,2, після чого піддавали FACS-аналізу з використанням пристрою BD FACS Canto. Всі стадії експериментів здійснювали на вологому льоду, всі розведення CD33-зв'язуючих агентів наготовлювали в ЗФР / 0,5 % BCA + 0,02 % кислоти. Для калібрування FACS використовували гранули Quantum FITC MESF (Premix) (фірма Bangs Laboratories). Кількісну оцінку всіх зразків здійснювали з використанням однакових параметрів FACS. Співвідношення пов'язаного IgG і вільного IgG розраховували на основі величин MFI (середня інтенсивність флуоресценції) при різних концентраціях CD33-зв'язуючих агентів і представляли у вигляді графіка Скетчарда. На основі отриманих даних будували лінію регресії, кут нахилу цієї лінії відповідав від'ємному значенню константи асоціації. Результати представлені в таблиці 2.

Таблиця 2

№	Клон ID №	Людський CD33 K _D (нМ)	CD33 мавпа цинномолгус K _D (нМ)
1	280-03-08	0,3	0,03
2	280-21-09	0,4	0,3
3	280-29-12	0,5	0,6
4	280-31-01	0,4	0,3
5	280-31-01(mut)	1	0,5
6	280-34-02	0,3	0,5
7	280-50-01	0,3	0,5
8	280-50-01(mut)	0,4	1,7
9	280-61-07	0,3	0,4
10	283-03-03	0,3	1,9
11	283-05-01	0,2	1,1
12	283-07-03	0,3	2,1
13	283-11-03	0,3	0,6
14	283-14-01	3,2	2,3

Приклад 2: Кінетика інтерналізації

Поняття "інтерналізація" антитіла належить до зниження кількості комплексів антитіло / антиген на клітинній поверхні клітини-мішені після інкубації з антитілом. Аналізи інтерналізації здійснювали з використанням що експресує CD33 клітинної лінії HL60. Клітини інкубували з фіксованою кількістю CD33-зв'язуючого агента (10 мкг / мл повністю людських моноклональних антитіл, перерахованих у таблиці 1 під № № 1-14), протягом певних періодів часу (0 год., 1 год., 4 год., 24 год.) при 37° С, даючи здійснитися інтерналізації комплексу антитіло / антиген. У зазначені моменти часу в інкубаційну суміш додавали кислоту для запобігання подальшій інтерналізації. Після цього додавали фіксовану кількість CD33-зв'язуючого агента для насичення всіх антигенних сайтів CD33 на клітинній поверхні. Загальну кількість CD33-зв'язуючого агента, пов'язаного з клітинною поверхнею, визначали за допомогою FACS-аналізу, використовуючи кон'юговане з ФІТЦ вторинне антитіло до людського IgG. Момент часу 0 год. використовували для визначення початкового рівня комплексів антитіло до CD33/антиген і приймали його за 100 %. Результати представлені на фіг. 3 та проілюстровані на фіг. 1-3.

Таблиця 3

№	Клон ID №	Такі, що залишилися на поверхні клітин комплекси антитіло до CD33/антиген після інкубації з антитілом протягом 4 год. (%)
1	280-03-08	49
2	280-21-09	41
3	280-29-12	49
4	280-31-01	44
5	280-31-01(mut)	52
6	280-34-02	44
7	280-50-01	53
8	280-50-01(mut)	55
9	280-61-07	47
10	283-03-03	45
11	283-05-01	51
12	283-07-03	48
13	283-11-03	46
14	283-14-01	47

Лінтузумаб застосовували в якості референс-антитіла. Комплекси лінтузумаб/CD33 швидко інтерналізувались після зв'язування лінтузумаба, що відповідало опублікованими даними. Після 4-годинного періоду інкубації на клітинній поверхні залишалося тільки приблизно 20 % початкової кількості комплексів CD33/лінтузумаб. При створенні винаходу неочікувано було встановлено, що інтерналізація всіх 14 CD33-зв'язуючих агентів, пропонованих в даному винаході, виявилася сповільненою порівняно з лінтузумабом.

Приклад 3: ADCC-активність

Уповільнена швидкість інтерналізації обумовлює підвищену ADCC-активність *in vitro*. Для оцінки впливу сповільненої інтерналізації на ADCC-активність CD33-зв'язуючих агентів (повністю людських моноклональних антитіл, перерахованих у таблиці 1 під № № 14 січня) клітини-мішені (HL60) інкубували з CD33-зв'язуючим агентів протягом 0, 1, 4 і 24 г. Потім здійснювали аналіз ADCC-активності з використанням стимульованих IL-2 PBMC в якості ефektorних клітин і сенсibilізованих антитілом HL60-клітин в якості клітин-мішеней. У всіх експериментах застосовували МАт в концентрації 30 мкг / мл. Спільне культивування ефektorних клітин і клітин-мішеней у присутності CD33-зв'язуючого агента здійснювали в чотирьох або трьох повторно в 96-лункових круглодонних титраційних мікропланшетах, використовуючи кінцевий об'єм 200 мкл / лунку середовища аналізу, що містить 10 % людської сироватки і 1 % БСА в RPMI в співвідношенні 1:1. Спочатку висівали ефektorні клітини (свіжовиділені PBMC-клітини в 100 мкл 10 % людської сироватки в RPMI на лунку), після чого вносили клітини-мішені і розчин CD33-зв'язуючого агента (розведений в 50 мкл 1 % БСА в RPMI). В якості контролю ефektorні клітини культивували тільки в середовищі для аналізу (контроль ефektorних клітин), а клітини-мішені культивували або тільки в середовищі для аналізу (спонтанний лізис), або в середовищі для аналізу, доповненому 1 % Тритон X-100 (максимальний лізис). Спільну культуру інкубували при 37° С у вологому CO₂-інкубаторі протягом 3 г. Наприкінці періоду інкубації клітини видаляли із культурального середовища шляхом центрифугування (200 × g, тобто 1000 об / хв; 10 хв) при кімнатній температурі. Безклітинні супернатанти (100 мкл / лунку) переносили у відповідні лунки 96-лункового плоскодонного планшета. Для визначення LDH-активності (лактатдегідрогеназної активності) у ці супернатанти додавали по 100 мкл реакційної суміші (свіжоперемішаний розчин, що містить 250 мкл каталізатору і 11,25 мл барвника) у кожен лунку і інкубували протягом 30 хв при кімнатній температурі в темряві. Потім вимірювали абсорбцію відповідно до описаного нижче методу.

Для вимірювання ADCC-активності застосовували набір для визначення цитотоксичності (Cytotoxicity Detection Kit) (LDH; фірма Roche, 11644793001). Виявлення цитотоксичності засноване на вимірюванні активності ферменту LDH, вивільненого з клітин з ушкодженою плазматичною мембраною. Вивільнена в клітинні супернатанти LDH відновлювала сіль тетразолію з набору з утворенням формагану. Вимірювали максимальну абсорбцію формаганового барвника при 490 нм відносно абсорбції при довжині референс-хвилі 650 нм з використанням планшет-рідери для ELISA. Для визначення відсотка клітинозалежної

токсичності розраховували середню абсорбцію для чотирьох або трьох повторностей і вчитали фоновий рівень. Ці скориговані величини підставляли в наступне рівняння для розрахунку ADCC (%): (суміш ефektorних клітин / клітин-мішеней - контроль ефektorних клітин - спонтанне вивільнення), поділений на (максимальне вивільнення - спонтанне вивільнення).

5 ADCC-активність в момент часу 0 год. (без попередньої інкубації клітин-мішеней з антитілом) приймали за 100 % ADCC-активності. ADCC-активність в різні моменти часу після попередньої інкубації з антитілом розраховували щодо активності в момент часу 0 год. і виражали в вигляді відносної цитотоксичності (%).

10 Уповільнена інтерналізація CD33-зв'язуючих агентів в порівнянні з лінтузумабом приводила до підвищеної ADCC-активності в порівнянні з лінтузумабом. Зроблено висновок про те, що уповільнена інтерналізація призводить до підвищеної ADCC-активності. Інтерналізація описаних CD33-зв'язуючих агентів перебувала в зворотній кореляції з ADCC-активністю CD33-зв'язуючих агентів, що свідчить про переваги зазначених CD33-зв'язуючих агентів з точки зору клінічної активності. На фіг. 4 продемонстровані результати цих експериментів, що стосуються кінетики
15 інтерналізації, а на фіг. 5 - що стосуються ADCC-активності.

Приклад 4: Епітопне картування

Зв'язування з епітопами CD33-зв'язуючих агентів, представлених у даному описі, у порівнянні з епітопом лінтузумаба визначали за допомогою мас-спектрометрії дейтерію-водневого обміну (HXMS).

20 Цей метод дозволяє визначати чутливість воднів амідного каркаса білку CD33 до заміни на D₂O. Експерименти проводили з використанням тільки рекомбінантного білка CD33 і білка CD33 з доданим CD33-зв'язуючим агентом / лінтузумабом (нижче в цьому прикладі варіант позначений як "антитіло / антитіла"). При цьому продемонстрований виражений захист областей білку CD33 від обміну в результаті зв'язування з антитілом. Роздільна здатність методу
25 визначалася з пептидів, що утворилися в результаті розщеплення пепсином, наприклад, утворена амінокислотна послідовність може бути крупніше, ніж фактичний епітоп антитіла. Зазначені що утворилися з CD33 пептиди ідентифікували за допомогою додаткових контрольних експериментів з які не мають заміни зразками, застосовуючи стандартні точні мас-спектрометричні і PXBP MC / MC-технології.

30 У разі зразка, що містить білок + антитіло, білок CD33 і антитіло інкубували протягом 15 хв при кімнатній температурі. Кінцеве молярне співвідношення антитіло/CD33 становило 2:1. При використанні автоматичної системи (автосемплер) LEAP (планшет для обміну підтримували при 25 °C, планшет для зразка / реакції "гасіння" підтримували при 4 °C) додавали 8 мкл зразка до 80 мкл буфера для обміну (10мМ NaH₂PO₄ в D₂O, pH=7 або 10мМ NaH₂PO₄ в H₂O, pH=7),
35 перемішували і давали пройти обміну протягом різних проміжків часу (15, 60, 120, 240 і 600 с) при 25 °C. Потім 80 мкл цього розчину перенесли в 80 мкл буфера для припинення реакції (буфер для "гасіння") (1М сечовина, 0,1 М TCEP-HCl) при 4 °C і перемішували. Потім 90 мкл цього розчину перенесли в 10 мкл пепсину (4 мг / мл) при 4 °C і перемішували. Через 2 хв 60 мкл цього розчину ін'єктували в картридж що уловлює Michrom C18. Картридж промивали
40 H₂O+0,1 % ТФК протягом 2 хв зі швидкістю 100 мкл / хв. Потім клапан перемикали і вміст картриджа елюювали на колонці Phenomenex Jupiter C5, 1,0 × 50 мм, 5 мкм, 300Å. Рухома фаза А являла собою воду / ацетонітрил / ТФК (99/0, 95/0, 05), а рухлива фаза Б представляла собою ацетонітрил / воду / ТФК (95/4, 95/0, 05). Швидкість потоку становила 100 мкл / хв. Використовували наступний градієнт: 0 хв (0 % Б), 6 хв (40 % Б), 7 хв (40 % Б), 8 хв (90 % Б), 10
45 хв (90 % Б), 11 хв (0 % Б). В системі LEAP відбувалося попереднє охолодження рухомої фази до 4 °C і підтримувалася також температура уловлюючої колонки та аналітичної колонки на рівні 4 °C. Для MC-експериментів (які застосовуються для кількісної оцінки обміну з D₂O-буфером) застосовували метод отримання одного відсканованого зображення при 300-2000 протягом 14 хв при дозволі 60000. Для MC / MC експериментів (застосовуються для ID з H₂O-буфером для обміну) застосовували метод отримання 7 сканованих зображень протягом 14 хв.
50 Перше відскановане зображення являло собою відскановане зображення в повному діапазоні від 300-2000 при вирішенні 30000. Наступні скановані зображення представляли собою CID-скановані зображення 6 іонів, що характеризуються найбільшою інтенсивністю, отриманих на сканованому зображенні № 1. Ширина виділення становила 1,5 а.е.м., енергія зіткнення складала 35 В, тривалість активації становила 30 мс. Отримані після розщеплення пепсином пептиди ідентифікували з використанням даних про фрагментацію та програмне забезпечення Proteome Discoverer (фірма Thermo). Ідентифіковані пептиди аналізували з використанням програми, яка є власністю фірми, що дозволяла розраховувати середню масу несучих заміни пептидів.

Всі CD33-зв'язуючі агенти захищали ідентичний пептидний фрагмент, що має амінокислотну послідовність FFHPIPYDKNSPVHGYW (SeqID No: 141) (таблиця 4). Послідовність CD33, що захищається CD33-зв'язуючими агентами, представленими в даному описі, відрізнялася і не перекривала пептидну послідовність CD33, що захищалася при зв'язуванні лінтузумаба (MDPNFWLQVQE, SeqID No: 142). Використання методу комп'ютерного моделювання ("in silico") із застосуванням кристалічної структури SIGLEC-5, гомологічного CD33 представника сімейства SIGLEC, дозволило виявити зв'язуючі епітопи всіх антитіл в найближчому домені білку, при цьому епітоп, з яким зв'язується лінтузумаб, відрізнявся від епітопів CD33-зв'язуються агентів, представлених у даному описі. Таким чином, CD33-зв'язуючі агенти, описані в даній заявці на патент, зв'язуються з епітопом, відмінним від епітопу лінтузумабу.

Таблиця 4

№	Клон ID №	Епітоп CD33
1	280-03-08	FFHPIPYDKNSPVHGYW
2	280-21-09	FFHPIPYDKNSPVHGYW
3	280-29-12	FFHPIPYDKNSPVHGYW
4	280-31-01	FFHPIPYDKNSPVHGYW
5	280-31-01 (mut)	FFHPIPYDKNSPVHGYW
6	280-34-02	FFHPIPYDKNSPVHGYW
7	280-50-01	FFHPIPYDKNSPVHGYW
8	280-50-01 (mut)	FFHPIPYDKNSPVHGYW
9	280-61-07	FFHPIPYDKNSPVHGYW
10	283-03-03	FFHPIPYDKNSPVHGYW
11	283-05-01	FFHPIPYDKNSPVHGYW
12	283-07-03	FFHPIPYDKNSPVHGYW
13	283-11-03	FFHPIPYDKNSPVHGYW
14	283-14-01	FFHPIPYDKNSPVHGYW
15	лінтузумаб	MDPNFWLQVQE

<110> Бьорінгер Інтельхайм Інтернаціональ ГмбХ

<120> CD33-зв'язуючі агенти

<130> 12-0321-PCT

<160> 142

<170> PatentIn, версія .3

<210> 1

<211> 8

<212> PRT

<213> Штучна

<220>

<223> CDR

<400> 1

Asn Trp Ala Asp Ala Phe Asp Ile
1 5

<210> 2

<211> 8

<212> PRT

<213> Штучна

<220>

<223> CDR

<400> 2

Asn Trp Ala Asp Ala Phe Asp Ile
1 5

<210> 3

<211> 8

<212> PRT

<213> Штучна

<220>

<223> CDR

<400> 3

His Trp Leu Asp Ala Phe Asp Ile
1 5

<210> 4

<211> 8

<212> PRT

<213> Штучна

<220>

<223> CDR

<400> 4

Asn Trp Ala Asp Ala Phe Asp Ile
1 5

<210> 5

<211> 8

<212> PRT

<213> Штучна

<220>

<223> CDR

<400> 5

Asn Trp Ala Asp Ala Phe Asp Ile
1 5

<210> 6

<211> 8

<212> PRT

<213> Штучна

<220>

<223> CDR

<400> 6

Asn Trp Ala Asp Ala Phe Asp Ile
1 5

<210> 7
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Штучна

<220>
 <223> CDR

<400> 7

Asn Trp Ala Asp Ala Phe Asp Ile
 1 5

<210> 8
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Штучна

<220>
 <223> CDR

<400> 8

Asn Trp Ala Asp Ala Phe Asp Ile
 1 5

<210> 9
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Штучна

<220>
 <223> CDR

<400> 9

Asn Trp Ala Asp Ala Phe Asp Ile
 1 5

<210> 10
 <211> 10
 <212> PRT

<213> Штучна

<220>

<223> CDR

<400> 10

Glu	Gly	Gly	Val	Asp	Trp	Tyr	Phe	Asp	Leu
1				5					10

<210> 11

<211> 10

<212> PRT

<213> Штучна

<220>

<223> CDR

<400> 11

Glu	Gly	Gly	Val	Asp	Trp	Tyr	Phe	Asp	Leu
1				5					10

<210> 12

<211> 10

<212> PRT

<213> Штучна

<220>

<223> CDR

<400> 12

Glu	Gly	Gly	Val	Asp	Trp	Tyr	Phe	Asp	Leu
1				5					10

<210> 13

<211> 10

<212> PRT

<213> Штучна

<220>

<223> CDR

<400> 13

Glu Gly Gly Val Asp Trp Tyr Phe Asp Leu
1 5 10

<210> 14

<211> 10

<212> PRT

<213> Штучна

<220>

<223> CDR

<400> 14

Glu Gly Gly Val Asp Trp Tyr Phe Asp Leu
1 5 10

<210> 15

<211> 17

<212> PRT

<213> Штучна

<220>

<223> CDR

<400> 15

Arg Ile Ile Pro Ile Leu Gly Val Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe Gln
1 5 10 15

Gly

<210> 16

<211> 17

<212> PRT

<213> Штучна

<220>

<223> CDR

<400> 16

Arg Ile Ile Pro Ile Ile Asn Ile Ala Ser Tyr Ala Gln Asn Phe Gln
1 5 10 15

Gly

<210> 17
<211> 17
<212> PRT
<213> Штучна

<220>
<223> CDR

<400> 17

Arg Ile Ile Pro Ile Ile Gly Ile Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe Gln
1 5 10 15

Gly

<210> 18
<211> 17
<212> PRT
<213> Штучна

<220>
<223> CDR

<400> 18

Arg Ile Ile Pro Ile Leu Gly Val Ala Asp Tyr Ala Gln Lys Phe Gln
1 5 10 15

Gly

<210> 19
<211> 17

<212> PRT
<213> Штучна

<220>
<223> CDR

<400> 19

Arg	Ile	Ile	Pro	Ile	Leu	Gly	Val	Ala	Asp	Tyr	Ala	Gln	Lys	Phe	Gln
1				5					10					15	

Gly

<210> 20
<211> 17
<212> PRT
<213> Штучна

<220>
<223> CDR

<400> 20

Arg	Ile	Ile	Pro	Ile	Val	Gly	Ile	Val	Asn	Tyr	Ala	Glu	Lys	Phe	Gln
1				5					10					15	

Gly

<210> 21
<211> 17
<212> PRT
<213> Штучна

<220>
<223> CDR

<400> 21

Arg	Val	Ile	Pro	Ile	Ile	Gly	Ile	Ala	Ser	Tyr	Ala	Gln	Asn	Phe	Gln
1				5					10					15	

Gly

<210> 22
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Штучна

<220>
 <223> CDR

<400> 22

Arg	Val	Ile	Pro	Ile	Ile	Gly	Ile	Ala	Ser	Tyr	Ala	Gln	Asn	Phe	Gln
1				5					10					15	

Gly

<210> 23
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Штучна

<220>
 <223> CDR

<400> 23

Arg	Val	Ile	Pro	Ile	Ile	Gly	Ile	Ala	Ser	Tyr	Ala	Gln	Asn	Phe	Glu
1				5					10					15	

Gly

<210> 24
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Штучна

<220>

<223> CDR

<400> 24

Arg	Ile	Ile	Pro	Ile	Leu	Asp	Met	Ala	Asn	Tyr	Ala	Gln	Lys	Phe	Gln
1				5					10					15	

Gly

<210> 25

<211> 17

<212> PRT

<213> Штучна

<220>

<223> CDR

<400> 25

Arg	Ile	Ile	Pro	Ile	Ile	Gly	Ile	Val	Asn	Tyr	Ala	Gln	Lys	Phe	Gln
1				5					10					15	

Gly

<210> 26

<211> 17

<212> PRT

<213> Штучна

<220>

<223> CDR

<400> 26

Arg	Ile	Ile	Pro	Ile	Leu	Gly	Met	Ala	Asn	Tyr	Ala	Gln	Lys	Phe	Gln
1				5					10					15	

Gly

<210> 27
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Штучна

<220>
 <223> CDR

<400> 27

Arg Ile Ile Pro Ile Ile Gly Ile Val Asn Tyr Ala Gln Lys Phe Gln
 1 5 10 15

Gly

<210> 28
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Штучна

<220>
 <223> CDR

<400> 28

Arg Ile Ile Pro Ile Leu Gly Ile Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe Gln
 1 5 10 15

Gly

<210> 29
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Штучна

<220>
 <223> CDR

<400> 29

Asp Tyr Ala Ile Ser
1 5

<210> 30
<211> 5
<212> PRT
<213> Штучна

<220>
<223> CDR

<400> 30

Ser Tyr Ala Ile Ser
1 5

<210> 31
<211> 5
<212> PRT
<213> Штучна

<220>
<223> CDR

<400> 31

Ser Tyr Ala Ile Ser
1 5

<210> 32
<211> 5
<212> PRT
<213> Штучна

<220>
<223> CDR

<400> 32

Asp Tyr Ala Ile Ser
1 5

<210> 33

<211> 5
 <212> PRT
 <213> Штучна

<220>
 <223> CDR

<400> 33

Asp Tyr Ala Ile Ser
 1 5

<210> 34
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Штучна

<220>
 <223> CDR

<400> 34

Ser Tyr Ala Ile Ser
 1 5

<210> 35
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Штучна

<220>
 <223> CDR

<400> 35

Ser Tyr Ala Ile Ser
 1 5

<210> 36
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Штучна

<220>

<223> CDR

<400> 36

Ser Tyr Ala Ile Ser
1 5

<210> 37

<211> 5

<212> PRT

<213> Штучна

<220>

<223> CDR

<400> 37

Ser Tyr Ala Ile Ser
1 5

<210> 38

<211> 5

<212> PRT

<213> Штучна

<220>

<223> CDR

<400> 38

Ser Tyr Ala Ile Ser
1 5

<210> 39

<211> 5

<212> PRT

<213> Штучна

<220>

<223> CDR

<400> 39

Ser Tyr Ala Ile Ser

1 5

<210> 40
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Штучна

<220>
 <223> CDR

<400> 40

Ser Tyr Ala Ile Ser
 1 5

<210> 41
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Штучна

<220>
 <223> CDR

<400> 41

Ser Tyr Ala Ile Ser
 1 5

<210> 42
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Штучна

<220>
 <223> CDR

<400> 42

Ser Tyr Ala Ile Ser
 1 5

<210> 43
 <211> 8

<212> PRT
<213> Штучна

<220>
<223> CDR

<400> 43

Gln Gln Phe Asn Ser Ser Ile Thr
1 5

<210> 44
<211> 8
<212> PRT
<213> Штучна

<220>
<223> CDR

<400> 44

Gln Gln Phe Asn Ser Ser Ile Thr
1 5

<210> 45
<211> 8
<212> PRT
<213> Штучна

<220>
<223> CDR

<400> 45

Gln Gln Phe Asn Ser Ser Ile Thr
1 5

<210> 46
<211> 8
<212> PRT
<213> Штучна

<220>
<223> CDR

<400> 46

Gln Gln Phe Asn Ser Ser Ile Thr
1 5

<210> 47

<211> 8

<212> PRT

<213> Штучна

<220>

<223> CDR

<400> 47

Gln Gln Phe Asp Ser Ser Ile Thr
1 5

<210> 48

<211> 8

<212> PRT

<213> Штучна

<220>

<223> CDR

<400> 48

Gln Gln Phe Asn Ser Ser Tyr Thr
1 5

<210> 49

<211> 8

<212> PRT

<213> Штучна

<220>

<223> CDR

<400> 49

Gln Gln Phe Asn Ser Ser Ile Thr
1 5

<210> 50
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Штучна

<220>
 <223> CDR

<400> 50

Gln Gln Phe Asp Ser Ser Ile Thr
 1 5

<210> 51
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Штучна

<220>
 <223> CDR

<400> 51

Gln Gln Phe Asn Ser Ser Ile Thr
 1 5

<210> 52
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Штучна

<220>
 <223> CDR

<400> 52

Gln Gln Phe Asn Ser Ser Ile Thr
 1 5

<210> 53
 <211> 8
 <212> PRT

<213> Штучна

<220>

<223> CDR

<400> 53

Gln Gln Phe Asn Ser Ser Ile Thr
1 5

<210> 54

<211> 8

<212> PRT

<213> Штучна

<220>

<223> CDR

<400> 54

Gln Gln Phe Asn Ser Ser Ile Thr
1 5

<210> 55

<211> 8

<212> PRT

<213> Штучна

<220>

<223> CDR

<400> 55

Gln Gln Phe Asn Ser Ser Ile Thr
1 5

<210> 56

<211> 8

<212> PRT

<213> Штучна

<220>

<223> CDR

<400> 56

Gln Gln Phe Asn Ser Ser Ile Thr
1 5

<210> 57

<211> 7

<212> PRT

<213> Штучна

<220>

<223> CDR

<400> 57

Asp Ala Ser Ser Leu Glu Ser
1 5

<210> 58

<211> 7

<212> PRT

<213> Штучна

<220>

<223> CDR

<400> 58

Asp Ala Ser Ser Leu Glu Ser
1 5

<210> 59

<211> 7

<212> PRT

<213> Штучна

<220>

<223> CDR

<400> 59

Asp Ala Ser Ser Leu Glu Ser
1 5

<210> 60
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Штучна

<220>
 <223> CDR

<400> 60

Asp Ala Ser Ser Leu Glu Ser
 1 5

<210> 61
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Штучна

<220>
 <223> CDR

<400> 61

Asp Ala Ser Ser Leu Glu Ser
 1 5

<210> 62
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Штучна

<220>
 <223> CDR

<400> 62

Asp Ala Ser Arg Leu Glu Ser
 1 5

<210> 63
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Штучна

<220>

<223> CDR

<400> 63

Ala Ala Ser Ser Leu Glu Ser

1 5

<210> 64

<211> 7

<212> PRT

<213> Штучна

<220>

<223> CDR

<400> 64

Ala Ala Ser Ser Leu Glu Ser

1 5

<210> 65

<211> 7

<212> PRT

<213> Штучна

<220>

<223> CDR

<400> 65

Ala Ala Ser Ser Leu Glu Ser

1 5

<210> 66

<211> 7

<212> PRT

<213> Штучна

<220>

<223> CDR

<400> 66

Asp Ala Ser Ser Leu Glu Ser
1 5

<210> 67
<211> 7
<212> PRT
<213> Штучна

<220>
<223> CDR

<400> 67

Asp Ala Ser Ser Leu Glu Ser
1 5

<210> 68
<211> 7
<212> PRT
<213> Штучна

<220>
<223> CDR

<400> 68

Asp Ala Ser Ser Leu Glu Ser
1 5

<210> 69
<211> 7
<212> PRT
<213> Штучна

<220>
<223> CDR

<400> 69

Asp Ala Ser Ser Leu Glu Ser
1 5

<210> 70
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Штучна

<220>
 <223> CDR

<400> 70

Asp Ala Ser Ser Leu Glu Ser
 1 5

<210> 71
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Штучна

<220>
 <223> CDR

<400> 71

Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Val Leu Ala
 1 5 10

<210> 72
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Штучна

<220>
 <223> CDR

<400> 72

Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Ala Leu Ala
 1 5 10

<210> 73
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Штучна

<220>

<223> CDR

<400> 73

Arg	Ala	Ser	Gln	Gly	Ile	Ser	Ser	Ala	Leu	Ala
1				5					10	

<210> 74

<211> 11

<212> PRT

<213> Штучна

<220>

<223> CDR

<400> 74

Arg	Ala	Ser	Gln	Gly	Ile	Ser	Ser	Val	Leu	Ala
1				5					10	

<210> 75

<211> 11

<212> PRT

<213> Штучна

<220>

<223> CDR

<400> 75

Arg	Ala	Ser	Gln	Gly	Ile	Ser	Ser	Val	Leu	Ala
1				5					10	

<210> 76

<211> 11

<212> PRT

<213> Штучна

<220>

<223> CDR

<400> 76

Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Ala Leu Ala
1 5 10

<210> 77
<211> 11
<212> PRT
<213> Штучна

<220>
<223> CDR

<400> 77

Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Val Leu Ala
1 5 10

<210> 78
<211> 11
<212> PRT
<213> Штучна

<220>
<223> CDR

<400> 78

Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Val Leu Ala
1 5 10

<210> 79
<211> 11
<212> PRT
<213> Штучна

<220>
<223> CDR

<400> 79

Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Val Leu Ala
1 5 10

<210> 80

<211> 11
 <212> PRT
 <213> Штучна

<220>
 <223> CDR

<400> 80

Arg	Ala	Ser	Gln	Gly	Ile	Ser	Ser	Ala	Leu	Ala
1				5					10	

<210> 81
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Штучна

<220>
 <223> CDR

<400> 81

Arg	Ala	Ser	Gln	Gly	Ile	Ser	Ser	Ala	Leu	Ala
1				5					10	

<210> 82
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Штучна

<220>
 <223> CDR

<400> 82

Arg	Ala	Ser	Gln	Gly	Ile	Ser	Ser	Ala	Leu	Ala
1				5					10	

<210> 83
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Штучна

<220>

<223> CDR

<400> 83

Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Ala Leu Ala
1 5 10

<210> 84

<211> 11

<212> PRT

<213> Штучна

<220>

<223> CDR

<400> 84

Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Ala Leu Ala
1 5 10

<210> 85

<211> 117

<212> PRT

<213> Штучна

<220>

<223> VH

<400> 85

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Asp Tyr
20 25 30

Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Arg Ile Ile Pro Ile Leu Gly Val Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Arg Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

Ala Arg Asn Trp Ala Asp Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 86
<211> 117
<212> PRT
<213> Штучна

<220>
<223> VH

<400> 86

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Asp Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

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

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Asn Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

Ala Arg Asn Trp Ala Asp Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 87
<211> 117
<212> PRT
<213> Штучна

<220>
<223> VH

<400> 87

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Thr Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Val Ser Gly Asp Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Arg Ile Ile Pro Ile Ile Gly Ile Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

Ala Arg His Trp Leu Asp Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met

```

100                               105                               110

Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 88
<211> 117
<212> PRT
<213> Штычка

<220>
<223> VH

<400> 88

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
1                               5                               10                               15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Asp Tyr
20                               25                               30

Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35                               40                               45

Gly Arg Ile Ile Pro Ile Leu Gly Val Ala Asp Tyr Ala Gln Lys Phe
50                               55                               60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Arg Thr Ala Tyr
65                               70                               75                               80

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

Ala Arg Asn Trp Ala Asp Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met
100                              105                              110

Val Thr Val Ser Ser
115

```

<210> 89

<211> 117

<212> PRT

<213> Штучна

<220>

<223> VH

<400> 89

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Asp Tyr
20 25 30

Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Arg Ile Ile Pro Ile Leu Gly Val Ala Asp Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Arg Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

Ala Arg Asn Trp Ala Asp Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 90

<211> 117

<212> PRT

<213> Штучна

<220>

<223> VH

<400> 90

Gln Val Glu Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Gln Lys Pro Gly Ser
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Asp Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Arg Ile Ile Pro Ile Val Gly Ile Val Asn Tyr Ala Glu Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Met Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

Ala Arg Asn Trp Ala Asp Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 91

<211> 117

<212> PRT

<213> Штучна

<220>

<223> VH

<400> 91

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ala Cys Lys Ala Ser Gly Asp Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

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

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Arg Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

Ala Arg Asn Trp Ala Asp Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 92

<211> 117

<212> PRT

<213> Штучна

<220>

<223> VH

<400> 92

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ala Cys Lys Ala Ser Gly Asp Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

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

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Arg Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

Ala Arg Asn Trp Ala Asp Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 93
<211> 117
<212> PRT
<213> Штучна

<220>
<223> VH

<400> 93

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ala Cys Lys Ala Ser Gly Asp Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

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

Glu Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Arg Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

Ala Arg Asn Trp Ala Asp Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 94
<211> 119
<212> PRT
<213> Штучна

<220>
<223> VH

<400> 94

Gln Val Glu Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Arg Ile Ile Pro Ile Leu Asp Met Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe

50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Tyr Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

Ala Arg Glu Gly Gly Val Asp Trp Tyr Phe Asp Leu Trp Gly Arg Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 95
<211> 119
<212> PRT
<213> MRYUNA

<220>
<223> VH

<400> 95

Gln Val Glu Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Glu Asp Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Arg Ile Ile Pro Ile Ile Gly Ile Val Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Tyr Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

Ala Arg Glu Gly Gly Val Asp Trp Tyr Phe Asp Leu Trp Gly Arg Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 96
<211> 119
<212> PRT
<213> Штучна

<220>
<223> VH

<400> 96

Gln Val Glu Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Arg Ile Ile Pro Ile Leu Gly Met Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Tyr Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

Ala Arg Glu Gly Gly Val Asp Trp Tyr Phe Asp Leu Trp Gly Arg Gly
 100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115

<210> 97
 <211> 119
 <212> PRT
 <213> Штучна

<220>
 <223> VH

<400> 97

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
 1 5 10 15

Ser Met Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Glu Asp Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30

Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45

Gly Arg Ile Ile Pro Ile Ile Gly Ile Val Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
 50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Cys Thr Ala Tyr
 65 70 75 80

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

Ala Arg Glu Gly Gly Val Asp Trp Tyr Phe Asp Leu Trp Gly Arg Gly
 100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 98

<211> 119

<212> PRT

<213> Штычна

<220>

<223> VH

<400> 98

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

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

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Tyr Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

Ala Arg Glu Gly Gly Val Asp Trp Tyr Phe Asp Leu Trp Gly Arg Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 99

<211> 107
 <212> PRT
 <213> Штычна

<220>
 <223> VL

<400> 99

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

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

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

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

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

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

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

<210> 100
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> Штычна

<220>
 <223> VL

<400> 100

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

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

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

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

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

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

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

<210> 101

<211> 107

<212> PRT

<213> Штыча

<220>

<223> VL

<400> 101

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

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

Leu Ala Trp Ser Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile

35

40

45

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

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

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

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

<210> 102

<211> 107

<212> PRT

<213> Штучна

<220>

<223> VL

<400> 102

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

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

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

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

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

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

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

<210> 103
<211> 107
<212> PRT
<213> Штучна

<220>
<223> VL

<400> 103

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

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

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

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

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

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

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

<210> 104
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> Шту́ча

<220>
 <223> VL

<400> 104

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

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

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

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

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

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

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

<210> 105
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> Шту́ча

<220>
 <223> VL

<400> 105

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

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

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

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

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

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

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

<210> 106

<211> 107

<212> PRT

<213> Штучна

<220>

<223> VL

<400> 106

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

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

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

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

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

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

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

<210> 107

<211> 107

<212> PRT

<213> МТГЧУНА

<220>

<223> VL

<400> 107

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

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

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

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

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

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

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

<210> 108
<211> 107
<212> PRT
<213> Штучна

<220>
<223> VL

<400> 108

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

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

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

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

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

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

Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg

100

105

<210> 109
<211> 107
<212> PRT
<213> Штучна

<220>
<223> VL

<400> 109

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

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

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

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

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

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

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

<210> 110
<211> 107
<212> PRT
<213> Штучна

<220>

<223> VL

<400> 110

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

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

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

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

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

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

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

<210> 111

<211> 107

<212> PRT

<213> Штучна

<220>

<223> VL

<400> 111

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Ala

20	25	30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Phe Met Ile		
35	40	45
Tyr Asp Ala Ser Ser Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly		
50	55	60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro		
65	70	75
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Phe Asn Ser Ser Ile Thr		
85	90	95
Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg		
100	105	
<210> 112		
<211> 107		
<212> PRT		
<213> Штучна		
<220>		
<223> VL		
<400> 112		
Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly		
1	5	10
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Ala		
20	25	30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Phe Met Ile		
35	40	45
Tyr Asp Ala Ser Ser Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly		
50	55	60

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

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

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

<210> 113
<211> 447
<212> PRT
<213> Штучна

<220>
<223> VH

<400> 113

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Asp Tyr
20 25 30

Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Arg Ile Ile Pro Ile Leu Gly Val Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Arg Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

Ala Arg Asn Trp Ala Asp Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu
115 120 125

Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys
130 135 140

Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser
145 150 155 160

Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser
165 170 175

Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser
180 185 190

Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn
195 200 205

Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His
210 215 220

Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val
225 230 235 240

Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr
245 250 255

Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu
260 265 270

Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys
275 280 285

Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser
290 295 300

Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys
305 310 315 320

Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile
325 330 335

Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro
340 345 350

Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu
355 360 365

Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn
370 375 380

Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser
385 390 395 400

Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
405 410 415

Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu
420 425 430

His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
435 440 445

<210> 114

<211> 447

<212> PRT

<213> Штучна

<220>

<223> VH

<400> 114

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Asp Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

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

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Asn Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

Ala Arg Asn Trp Ala Asp Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu
115 120 125

Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys
130 135 140

Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser
145 150 155 160

Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser
165 170 175

355

360

365

Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn
370 375 380

Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser
385 390 395 400

Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
405 410 415

Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu
420 425 430

His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
435 440 445

<210> 115
<211> 447
<212> PRT
<213> Штучна

<220>
<223> VH

<400> 115

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Thr Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Val Ser Gly Asp Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Arg Ile Ile Pro Ile Ile Gly Ile Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

355

360

365

Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn
370 375 380

Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser
385 390 395 400

Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
405 410 415

Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu
420 425 430

His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
435 440 445

<210> 115

<211> 447

<212> PRT

<213> Штучна

<220>

<223> VH

<400> 115

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Thr Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Val Ser Gly Asp Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Arg Ile Ile Pro Ile Ile Gly Ile Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

Ala Arg His Trp Leu Asp Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu
115 120 125

Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys
130 135 140

Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser
145 150 155 160

Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser
165 170 175

Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser
180 185 190

Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn
195 200 205

Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His
210 215 220

Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val
225 230 235 240

Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr

	245		250		255
Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu					
	260		265		270
Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys					
	275		280		285
Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser					
	290		295		300
Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys					
305		310		315	320
Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile					
	325		330		335
Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro					
	340		345		350
Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu					
	355		360		365
Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn					
	370		375		380
Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser					
385		390		395	400
Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg					
	405		410		415
Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu					
	420		425		430

His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 435 440 445

<210> 116
 <211> 447
 <212> PRT
 <213> Штучна

<220>
 <223> VH

<400> 116

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
 1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Asp Tyr
 20 25 30

Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45

Gly Arg Ile Ile Pro Ile Leu Gly Val Ala Asp Tyr Ala Gln Lys Phe
 50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Arg Thr Ala Tyr
 65 70 75 80

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

Ala Arg Asn Trp Ala Asp Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met
 100 105 110

Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu
 115 120 125

Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys

130		135		140
Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser				
145		150		155
				160
Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser				
	165		170	175
Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser				
	180		185	190
Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn				
	195		200	205
Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His				
	210		215	220
Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val				
225		230		235
				240
Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr				
	245		250	255
Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu				
	260		265	270
Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys				
	275		280	285
Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser				
	290		295	300
Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys				
305		310		315
				320

Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile
325 330 335

Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro
340 345 350

Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu
355 360 365

Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn
370 375 380

Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser
385 390 395 400

Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
405 410 415

Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu
420 425 430

His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
435 440 445

<210> 117
<211> 447
<212> PRT
<213> Штучна

<220>
<223> VH

<400> 117

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Asp Tyr

20	25	30
Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met		
35	40	45
Gly Arg Ile Ile Pro Ile Leu Gly Val Ala Asp Tyr Ala Gln Lys Phe		
50	55	60
Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Arg Thr Ala Tyr		
65	70	75 80
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys		
85	90	95
Ala Arg Asn Trp Ala Asp Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met		
100	105	110
Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu		
115	120	125
Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys		
130	135	140
Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser		
145	150	155 160
Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser		
165	170	175
Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser		
180	185	190
Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn		
195	200	205

Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His
 210 215 220

Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val
 225 230 235 240

Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr
 245 250 255

Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu
 260 265 270

Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys
 275 280 285

Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser
 290 295 300

Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys
 305 310 315 320

Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile
 325 330 335

Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro
 340 345 350

Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu
 355 360 365

Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn
 370 375 380

Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser
 385 390 395 400

Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
 405 410 415

Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu
 420 425 430

His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 435 440 445

<210> 118
 <211> 447
 <212> PRT
 <213> Штука

<220>
 <223> VH

<400> 118

Gln Val Glu Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Gln Lys Pro Gly Ser
 1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Asp Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30

Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45

Gly Arg Ile Ile Pro Ile Val Gly Ile Val Asn Tyr Ala Glu Lys Phe
 50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Met Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80

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

Ala Arg Asn Trp Ala Asp Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu
115 120 125

Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys
130 135 140

Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser
145 150 155 160

Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser
165 170 175

Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser
180 185 190

Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn
195 200 205

Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His
210 215 220

Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val
225 230 235 240

Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr
245 250 255

Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu
260 265 270

Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys
275 280 285

Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser
290 295 300

Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys
305 310 315 320

Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile
325 330 335

Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro
340 345 350

Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu
355 360 365

Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn
370 375 380

Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser
385 390 395 400

Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
405 410 415

Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu
420 425 430

His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
435 440 445

<210> 119

<211> 447

<212> PRT

<213> Штучна

<220>

<223> VH

<400> 119

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ala Cys Lys Ala Ser Gly Asp Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

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

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Arg Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

Ala Arg Asn Trp Ala Asp Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu
115 120 125

Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys
130 135 140

Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser
145 150 155 160

Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser
165 170 175

Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser
180 185 190

Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn
195 200 205

Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His
210 215 220

Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val
225 230 235 240

Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr
245 250 255

Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu
260 265 270

Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys
275 280 285

Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser
290 295 300

Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys
305 310 315 320

Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile
325 330 335

Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro
340 345 350

Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu
355 360 365

Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn
370 375 380

Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser
385 390 395 400

Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
405 410 415

Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu
420 425 430

His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
435 440 445

<210> 120
<211> 447
<212> PRT
<213> Штучна

<220>
<223> VH

<400> 120

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ala Cys Lys Ala Ser Gly Asp Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

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

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Arg Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

Ala Arg Asn Trp Ala Asp Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu
115 120 125

Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys
130 135 140

Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser
145 150 155 160

Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser
165 170 175

Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser
180 185 190

Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn
195 200 205

Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His
210 215 220

Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val
225 230 235 240

Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr
245 250 255

Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu
260 265 270

Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys
275 280 285

Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser
290 295 300

Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys
305 310 315 320

Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile
325 330 335

Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro
340 345 350

Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu
355 360 365

Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn
370 375 380

Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser
385 390 395 400

Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
405 410 415

Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu
420 425 430

His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

435

440

445

<210> 121
<211> 447
<212> PRT
<213> Штучна

<220>
<223> VH

<400> 121

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ala Cys Lys Ala Ser Gly Asp Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

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

Glu Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Arg Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

Ala Arg Asn Trp Ala Asp Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu
115 120 125

Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys
130 135 140

Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser
145 150 155 160

Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser
165 170 175

Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser
180 185 190

Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn
195 200 205

Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His
210 215 220

Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val
225 230 235 240

Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr
245 250 255

Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu
260 265 270

Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys
275 280 285

Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser
290 295 300

Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys
305 310 315 320

Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile

	325		330		335
Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro					
	340		345		350
Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu					
	355		360		365
Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn					
	370		375		380
Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser					
	385		390		395
					400
Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg					
	405		410		415
Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu					
	420		425		430
His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys					
	435		440		445
<210> 122					
<211> 449					
<212> PRT					
<213> Штучна					
<220>					
<223> VH					
<400> 122					
Gln Val Glu Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser					
1	5		10		15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr					
	20		25		30

Ala	Ile	Ser	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Gln	Gly	Leu	Glu	Trp	Met			
		35					40					45						
Gly	Arg	Ile	Ile	Pro	Ile	Leu	Asp	Met	Ala	Asn	Tyr	Ala	Gln	Lys	Phe			
		50				55					60							
Gln	Gly	Arg	Val	Thr	Ile	Thr	Ala	Asp	Lys	Ser	Thr	Tyr	Thr	Ala	Tyr			
65					70					75					80			
Met	Glu	Leu	Ser	Ser	Leu	Arg	Ser	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys			
				85					90					95				
Ala	Arg	Glu	Gly	Gly	Val	Asp	Trp	Tyr	Phe	Asp	Leu	Trp	Gly	Arg	Gly			
			100					105					110					
Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe			
		115					120					125						
Pro	Leu	Ala	Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr	Ala	Ala	Leu			
	130					135					140							
Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp			
145					150					155					160			
Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu			
				165					170					175				
Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser			
			180					185					190					
Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys	Pro			
		195					200					205						
Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Arg	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	Lys			

210	215	220
Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro		
225	230	235 240
Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser		
	245	250 255
Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp		
	260	265 270
Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn		
	275	280 285
Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val		
	290	295 300
Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu		
305	310	315 320
Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys		
	325	330 335
Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr		
	340	345 350
Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr		
	355	360 365
Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu		
	370	375 380
Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu		
385	390	395 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
 405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
 420 425 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 435 440 445

Lys

<210> 123
 <211> 449
 <212> PRT
 <213> Штучна

<220>
 <223> VH

<400> 123

Gln Val Glu Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
 1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Glu Asp Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30

Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45

Gly Arg Ile Ile Pro Ile Ile Gly Ile Val Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
 50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Tyr Thr Ala Tyr
 65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

[illegible]

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
275 280 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
290 295 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305 310 315 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
325 330 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
340 345 350

Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
355 360 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
370 375 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385 390 395 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
435 440 445

Lys

<210> 124
 <211> 449
 <212> PRT
 <213> Штучна

<220>
 <223> VH

<400> 124

Gln Val Glu Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
 1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30

Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45

Gly Arg Ile Ile Pro Ile Leu Gly Met Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
 50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Tyr Thr Ala Tyr
 65 70 75 80

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

Ala Arg Glu Gly Gly Val Asp Trp Tyr Phe Asp Leu Trp Gly Arg Gly
 100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
 115 120 125

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
 130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
165 170 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
180 185 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
195 200 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
210 215 220

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
225 230 235 240

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
245 250 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
260 265 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
275 280 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
290 295 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305 310 315 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
325 330 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
340 345 350

Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
355 360 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
370 375 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385 390 395 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
435 440 445

Lys

<210> 125

<211> 449

<212> PRT

<213> Штучна

<220>

<223> VH

<400> 125

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
1 5 10 15

Ser Met Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Glu Asp Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Arg Ile Ile Pro Ile Ile Gly Ile Val Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Cys Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

Ala Arg Glu Gly Gly Val Asp Trp Tyr Phe Asp Leu Trp Gly Arg Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
115 120 125

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
165 170 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
180 185 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
195 200 205

Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Arg	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	Lys	210	215	220
Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Gly	Gly	Pro	225	230	235 240
Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	245	250	255
Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	260	265	270
Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	275	280	285
Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	290	295	300
Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	305	310	315 320
Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	325	330	335
Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	340	345	350
Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Glu	Glu	Met	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	355	360	365
Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	370	375	380
Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	385	390	395 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
435 440 445

Lys

<210> 126
<211> 449
<212> PRT
<213> Штучна

<220>
<223> VH

<400> 126

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

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

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Tyr Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

Ala Arg Glu Gly Gly Val Asp Trp Tyr Phe Asp Leu Trp Gly Arg Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
115 120 125

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
165 170 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
180 185 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
195 200 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
210 215 220

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
225 230 235 240

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
245 250 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
260 265 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
275 280 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
290 295 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305 310 315 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
325 330 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
340 345 350

Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
355 360 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
370 375 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385 390 395 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
435 440 445

Lys

<210> 127
 <211> 213
 <212> PRT
 <213> Штучна

<220>
 <223> VL

<400> 127

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

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

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

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

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

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

Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro
 100 105 110

Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr
 115 120 125

Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys
 130 135 140

Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu
145 150 155 160

Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser
165 170 175

Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala
180 185 190

Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe
195 200 205

Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 128
<211> 213
<212> PRT
<213> Штучна

<220>
<223> VL

<400> 128

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

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

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

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

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

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

Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro
100 105 110

Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr
115 120 125

Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys
130 135 140

Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu
145 150 155 160

Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser
165 170 175

Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala
180 185 190

Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe
195 200 205

Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 129

<211> 213

<212> PRT

<213> Штучна

<220>

<223> VL

<400> 129

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

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

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

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

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

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

Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro
100 105 110

Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr
115 120 125

Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys
130 135 140

Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu
145 150 155 160

Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser
165 170 175

Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala
180 185 190

Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe
195 200 205

Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 130
<211> 213
<212> PRT
<213> Штучна

<220>
<223> VL

<400> 130

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

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

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

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

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

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

Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro
 100 105 110

Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr
 115 120 125

Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys
 130 135 140

Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu
 145 150 155 160

Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser
 165 170 175

Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala
 180 185 190

Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe
 195 200 205

Asn Arg Gly Glu Cys
 210

<210> 131
 <211> 213
 <212> PRT
 <213> Штучна

<220>
 <223> VL

<400> 131

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Val

	20		25		30
Leu	Ala	Trp	Tyr	Gln	Gln
	35			Lys	Pro
				Gly	Lys
				Ala	Pro
				Lys	Leu
				Leu	Ile
Tyr	Asp	Ala	Ser	Ser	Leu
	50			Glu	Ser
				Gly	Val
				Pro	Ser
				Arg	Phe
				Ser	Gly
Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp
	65			Phe	Thr
				Leu	Thr
				Ile	Ser
				Ser	Leu
				Gln	Pro
Glu	Asp	Phe	Ala	Thr	Tyr
				Tyr	Cys
				Gln	Gln
				Phe	Asp
				Ser	Ser
				Ile	Thr
Phe	Gly	Gln	Gly	Thr	Lys
	100			Leu	Glu
				Ile	Lys
				Arg	Thr
				Val	Ala
				Ala	Pro
Ser	Val	Phe	Ile	Phe	Pro
	115			Pro	Ser
				Asp	Glu
				Gln	Leu
				Lys	Ser
				Gly	Thr
Ala	Ser	Val	Val	Cys	Leu
	130			Leu	Asn
				Asn	Phe
				Tyr	Pro
				Arg	Glu
				Ala	Lys
Val	Gln	Trp	Lys	Val	Asp
	145			Asn	Ala
				Leu	Gln
				Ser	Gly
				Asn	Ser
				Gln	Glu
Ser	Val	Thr	Glu	Gln	Asp
				Ser	Lys
				Asp	Ser
				Thr	Tyr
				Ser	Leu
				Ser	Ser
Thr	Leu	Thr	Leu	Ser	Lys
	180			Ala	Asp
				Tyr	Glu
				Lys	His
				Lys	Val
				Tyr	Ala
Cys	Glu	Val	Thr	His	Gln
	195			Gly	Leu
				Ser	Ser
				Pro	Val
				Thr	Lys
				Ser	Phe

Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 132
<211> 213
<212> PRT
<213> Штучна

<220>
<223> VL

<400> 132

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

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

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

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

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

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

Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro
100 105 110

Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr
115 120 125

Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys

130	135	140
Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu		
145	150	155 160
Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser		
	165	170 175
Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala		
	180	185 190
Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe		
	195	200 205
Asn Arg Gly Glu Cys		
210		
<210> 133		
<211> 213		
<212> PRT		
<213> Штучна		
<220>		
<223> VL		
<400> 133		
Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly		
1	5	10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Val		
	20	25 30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile		
	35	40 45
Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly		
50	55	60

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

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

Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro
100 105 110

Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr
115 120 125

Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys
130 135 140

Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu
145 150 155 160

Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser
165 170 175

Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala
180 185 190

Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe
195 200 205

Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 134

<211> 213

<212> PRT

<213> Штучна

<220>

<223> VL

<400> 134

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

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

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

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

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

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

Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro
100 105 110

Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr
115 120 125

Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys
130 135 140

Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu
145 150 155 160

Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser
165 170 175

Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala
180 185 190

Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe
195 200 205

Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 135
<211> 213
<212> PRT
<213> Штучна

<220>
<223> VL

<400> 135

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

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

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

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

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

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

Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro
100 105 110

Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr
115 120 125

Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys
130 135 140

Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu
145 150 155 160

Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser
165 170 175

Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala
180 185 190

Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe
195 200 205

Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 136
<211> 213
<212> PRT
<213> Мгучна

<220>
<223> VL

<400> 136

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

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

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

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

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

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

Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro
100 105 110

Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr
115 120 125

Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys
130 135 140

Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu
145 150 155 160

Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser
165 170 175

Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala
180 185 190

Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe
195 200 205

Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 137
<211> 213
<212> PRT
<213> Штучна

<220>
<223> VL

<400> 137

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

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

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

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

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

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

Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro
100 105 110

Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr
115 120 125

Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys
130 135 140

Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu
145 150 155 160

Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser
165 170 175

Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala
180 185 190

Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe
195 200 205

Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 138
<211> 213
<212> PRT
<213> Штучна

<220>
<223> VL

<400> 138

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

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

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

Tyr Asp Ala Ser Ser Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50	55	60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro		
65	70	75 80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Phe Asn Ser Ser Ile Thr		
	85 90	95
Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro		
	100 105	110
Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr		
	115 120	125
Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys		
	130 135	140
Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu		
145	150 155	160
Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser		
	165 170	175
Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala		
	180 185	190
Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe		
	195 200	205
Asn Arg Gly Glu Cys		
210		
<210> 139		
<211> 213		
<212> PRT		
<213> Штучна		

<220>

<223> VL

<400> 139

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

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

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

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

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

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

Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro
100 105 110

Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr
115 120 125

Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys
130 135 140

Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu
145 150 155 160

Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser

	165		170		175										
Thr	Leu	Thr	Leu	Ser	Lys	Ala	Asp	Tyr	Glu	Lys	His	Lys	Val	Tyr	Ala
			180					185					190		
Cys	Glu	Val	Thr	His	Gln	Gly	Leu	Ser	Ser	Pro	Val	Thr	Lys	Ser	Phe
		195					200					205			
Asn	Arg	Gly	Glu	Cys											
	210														
<210>	140														
<211>	213														
<212>	PRT														
<213>	Штучна														
<220>															
<223>	VL														
<400>	140														
Asp	Ile	Gln	Leu	Thr	Gln	Ser	Pro	Ser	Ser	Leu	Ser	Ala	Ser	Val	Gly
1				5				10						15	
Asp	Arg	Val	Thr	Ile	Thr	Cys	Arg	Ala	Ser	Gln	Gly	Ile	Ser	Ser	Ala
		20						25					30		
Leu	Ala	Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Lys	Ala	Pro	Lys	Phe	Met	Ile
	35						40					45			
Tyr	Asp	Ala	Ser	Ser	Leu	Glu	Ser	Gly	Val	Pro	Ser	Arg	Phe	Ser	Gly
	50					55				60					
Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	Phe	Thr	Leu	Thr	Ile	Ser	Ser	Leu	Gln	Pro
65					70					75				80	
Glu	Asp	Phe	Ala	Thr	Tyr	Tyr	Cys	Gln	Gln	Phe	Asn	Ser	Ser	Ile	Thr
				85					90					95	

Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro
 100 105 110

Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr
 115 120 125

Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys
 130 135 140

Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu
 145 150 155 160

Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser
 165 170 175

Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala
 180 185 190

Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe
 195 200 205

Asn Arg Gly Glu Cys
 210

<210> 141

<211> 18

<212> PRT

<213> Штучна

<220>

<223> Епітопна область

<400> 141

Phe Phe His Pro Ile Pro Tyr Tyr Asp Lys Asn Ser Pro Val His Gly
 1 5 10 15

Tyr Trp

<210> 142

<211> 11

<212> PRT

<213> Штучна

<220>

<223> Епітопна область

<400> 142

Met Asp Pro Asn Phe Trp Leu Gln Val Gln Glu

1

5

10

ФОРМУЛА ВИНАХОДУ

- 5 1. CD33-зв'язувальний агент, який специфічно зв'язується із епітопом, який має амінокислотну послідовність FFHPIPYDKNSPVHGYW (SEQ ID NO: 141) людського CD33, і який вибирають із:
- антитіла, яке містить CDR1, що має SEQ ID NO: 1, CDR2, що має SEQ ID NO: 15, CDR3, що має SEQ ID NO: 29, CDR4, що має SEQ ID NO: 43, CDR5, що має SEQ ID NO: 57 і CDR6, що має
- 10 SEQ ID NO: 71,
- антитіла, яке містить CDR1, що має SEQ ID NO: 2, CDR2, що має SEQ ID NO: 16, CDR3, що має SEQ ID NO: 30, CDR4, що має SEQ ID NO: 44, CDR5, що має SEQ ID NO: 58 і CDR6, що має SEQ ID NO: 72,
- антитіла, яке містить CDR1, що має SEQ ID NO: 3, CDR2, що має SEQ ID NO: 17, CDR3, що має
- 15 SEQ ID NO: 31, CDR4, що має SEQ ID NO: 45, CDR5, що має SEQ ID NO: 59 і CDR6, що має SEQ ID NO: 73,
- антитіла, яке містить CDR1, що має SEQ ID NO: 4, CDR2, що має SEQ ID NO: 18, CDR3, що має SEQ ID NO: 32, CDR4, що має SEQ ID NO: 46, CDR5, що має SEQ ID NO: 60 і CDR6, що має SEQ ID NO: 74,
- 20 антитіла, яке містить CDR1, що має SEQ ID NO: 5, CDR2, що має SEQ ID NO: 19, CDR3, що має SEQ ID NO: 33, CDR4, що має SEQ ID NO: 47, CDR5, що має SEQ ID NO: 61 і CDR6, що має SEQ ID NO: 75,
- антитіла, яке містить CDR1, що має SEQ ID NO: 6, CDR2, що має SEQ ID NO: 20, CDR3, що має SEQ ID NO: 34, CDR4, що має SEQ ID NO: 48, CDR5, що має SEQ ID NO: 62 і CDR6, що має
- 25 SEQ ID NO: 76,
- антитіла, яке містить CDR1, що має SEQ ID NO: 7, CDR2, що має SEQ ID NO: 21, CDR3, що має SEQ ID NO: 35, CDR4, що має SEQ ID NO: 49, CDR5, що має SEQ ID NO: 63 і CDR6, що має SEQ ID NO: 77,
- антитіла, яке містить CDR1, що має SEQ ID NO: 8, CDR2, що має SEQ ID NO: 22, CDR3, що має
- 30 SEQ ID NO: 36, CDR4, що має SEQ ID NO: 50, CDR5, що має SEQ ID NO: 64 і CDR6, що має SEQ ID NO: 78,
- антитіла, яке містить CDR1, що має SEQ ID NO: 9, CDR2, що має SEQ ID NO: 23, CDR3, що має SEQ ID NO: 37, CDR4, що має SEQ ID NO: 51, CDR5, що має SEQ ID NO: 65 і CDR6, що має SEQ ID NO: 79,
- 35 антитіла, яке містить CDR1, що має SEQ ID NO: 10, CDR2, що має SEQ ID NO: 24, CDR3, що має SEQ ID NO: 38, CDR4, що має SEQ ID NO: 52, CDR5, що має SEQ ID NO: 66 і CDR6, що має SEQ ID NO: 80,

антитіла, яке містить CDR1, що має SEQ ID NO: 11, CDR2, що має SEQ ID NO: 25, CDR3, що має SEQ ID NO: 39, CDR4, що має SEQ ID NO: 53, CDR5, що має SEQ ID NO: 67 і CDR6, що має SEQ ID NO: 81,

5 антитіла, яке містить CDR1, що має SEQ ID NO: 12, CDR2, що має SEQ ID NO: 26, CDR3, що має SEQ ID NO: 40, CDR4, що має SEQ ID NO: 54, CDR5, що має SEQ ID NO: 68 і CDR6, що має SEQ ID NO: 82,

антитіла, яке містить CDR1, що має SEQ ID NO: 13, CDR2, що має SEQ ID NO: 27, CDR3, що має SEQ ID NO: 41, CDR4, що має SEQ ID NO: 55, CDR5, що має SEQ ID NO: 69 і CDR6, що має SEQ ID NO: 83,

10 антитіла, яке містить CDR1, що має SEQ ID NO: 14, CDR2, що має SEQ ID NO: 28, CDR3, що має SEQ ID NO: 42, CDR4, що має SEQ ID NO: 56, CDR5, що має SEQ ID NO: 70 і CDR6, що має SEQ ID NO: 84.

2. CD33-зв'язувальний агент, який специфічно зв'язується із епітопом, який має амінокислотну послідовність FFHPIPYDKNSPVHGYW (SEQ ID NO: 141) людського CD33, і який

15 вибирають із:

антитіла, яке містить варіабельну область важкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 85, і варіабельну область легкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 99,

антитіла, яке містить варіабельну область важкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 86, і варіабельну область легкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 100,

20 антитіла, яке містить варіабельну область важкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 87, і варіабельну область легкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 101,

антитіла, яке містить варіабельну область важкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 88, і варіабельну область легкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 102,

25 антитіла, яке містить варіабельну область важкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 89, і варіабельну область легкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 103,

антитіла, яке містить варіабельну область важкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 90, і варіабельну область легкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 104,

антитіла, яке містить варіабельну область важкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 91, і варіабельну область легкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 105,

30 антитіла, яке містить варіабельну область важкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 92, і варіабельну область легкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 106,

антитіла, яке містить варіабельну область важкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 93, і варіабельну область легкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 107,

35 антитіла, яке містить варіабельну область важкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 94, і варіабельну область легкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 108,

антитіла, яке містить варіабельну область важкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 95, і варіабельну область легкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 109,

антитіла, яке містить варіабельну область важкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 96, і варіабельну область легкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 110,

40 антитіла, яке містить варіабельну область важкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 97, і варіабельну область легкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 111,

антитіла, яке містить варіабельну область важкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 98, і варіабельну область легкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 112,

45 3. CD33-зв'язувальний агент, який специфічно зв'язується із епітопом, який має амінокислотну послідовність FFHPIPYDKNSPVHGYW (SEQ ID NO: 141) людського CD33, і який вибирають із:

антитіла, яке містить важкий ланцюг, що має SEQ ID NO: 113, і легкий ланцюг, що має SEQ ID NO: 127,

50 антитіла, яке містить важкий ланцюг, що має SEQ ID NO: 114, і легкий ланцюг, що має SEQ ID NO: 128,

антитіла, яке містить важкий ланцюг, що має SEQ ID NO: 115, і легкий ланцюг, що має SEQ ID NO: 129,

антитіла, яке містить важкий ланцюг, що має SEQ ID NO: 116, і легкий ланцюг, що має SEQ ID NO: 130,

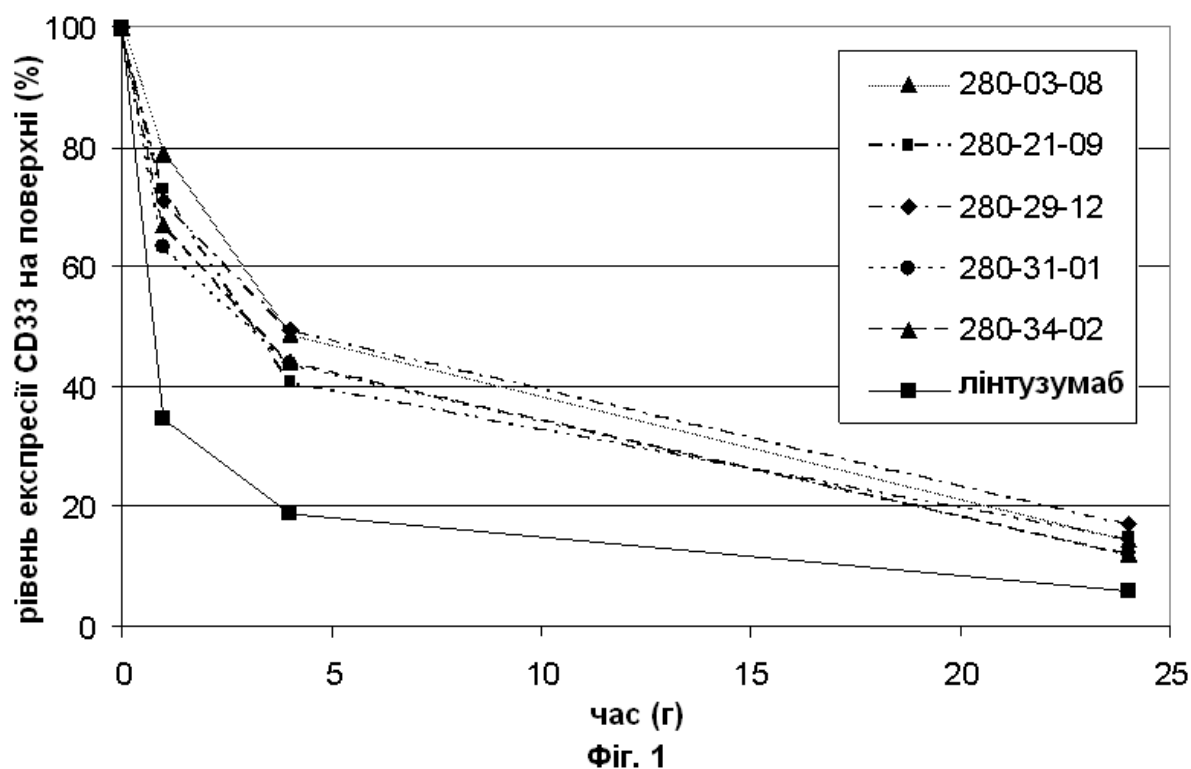
55 антитіла, яке містить важкий ланцюг, що має SEQ ID NO: 117, і легкий ланцюг, що має SEQ ID NO: 131,

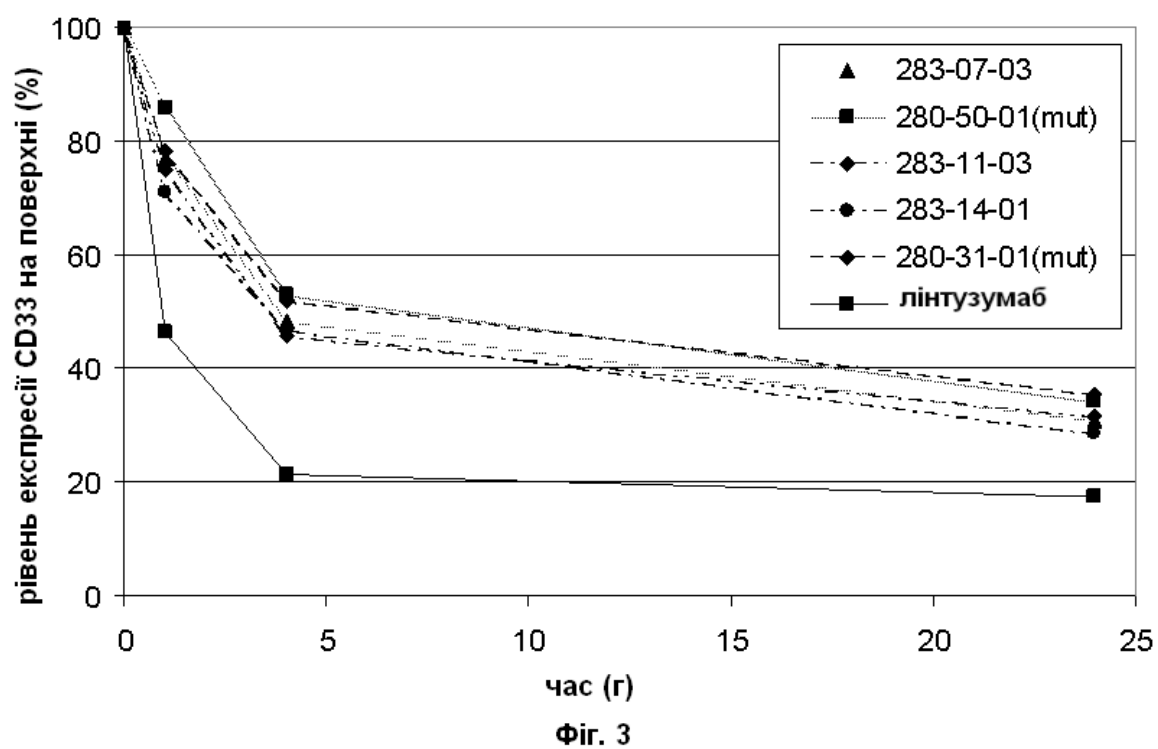
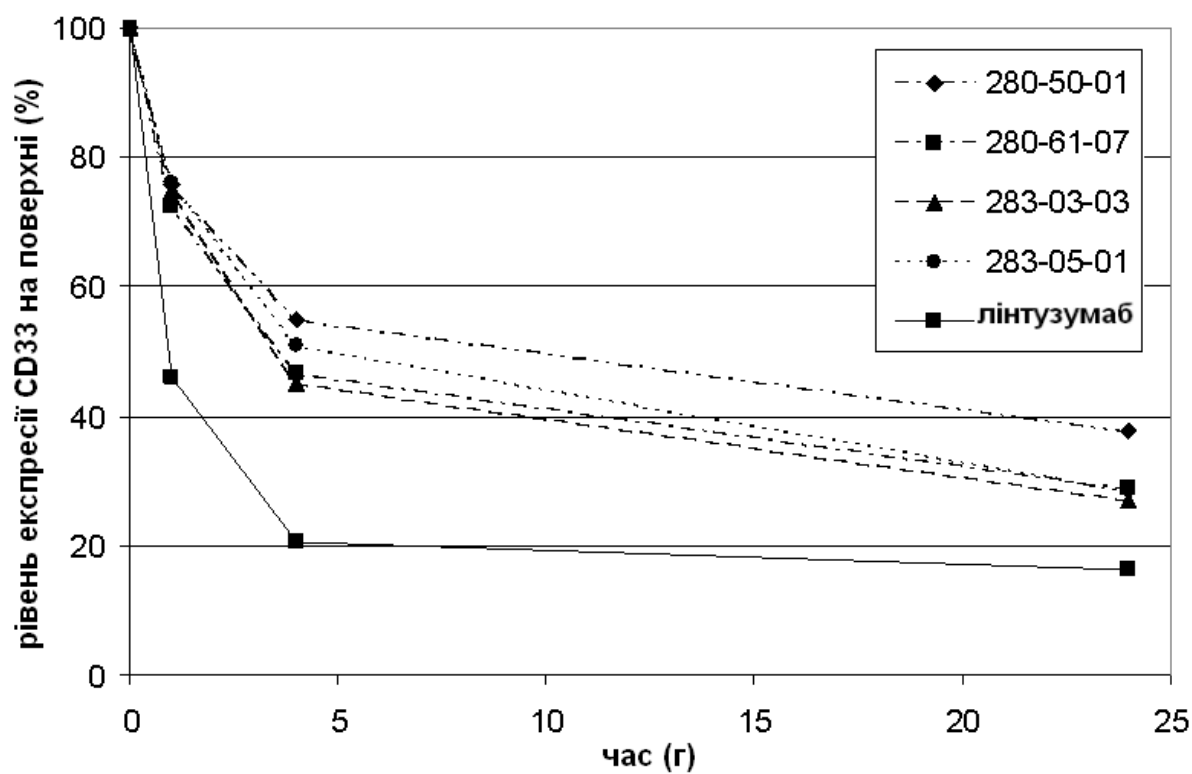
антитіла, яке містить важкий ланцюг, що має SEQ ID NO: 118, і легкий ланцюг, що має SEQ ID NO: 132,

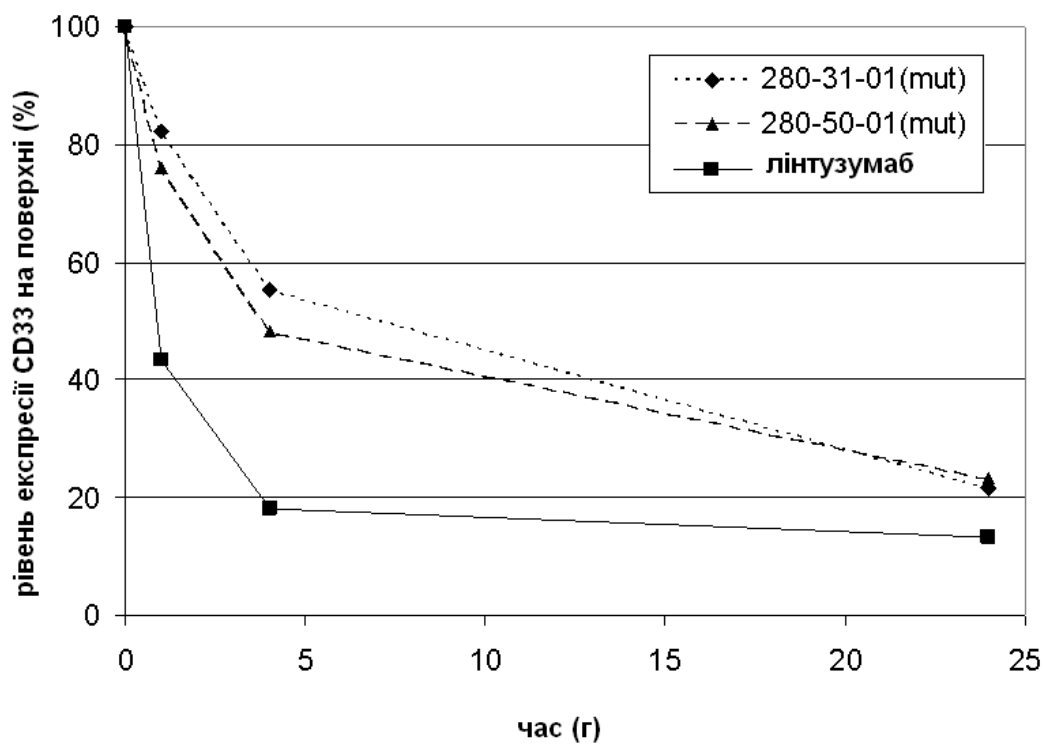
60 антитіла, яке містить важкий ланцюг, що має SEQ ID NO: 119, і легкий ланцюг, що має SEQ ID NO: 133,

- антитіла, яке містить важкий ланцюг, що має SEQ ID NO: 120, і легкий ланцюг, що має SEQ ID NO: 134,
 антитіла, яке містить важкий ланцюг, що має SEQ ID NO: 121, і легкий ланцюг, що має SEQ ID NO: 135,
 5 антитіла, яке містить важкий ланцюг, що має SEQ ID NO: 122, і легкий ланцюг, що має SEQ ID NO: 136,
 антитіла, яке містить важкий ланцюг, що має SEQ ID NO: 123, і легкий ланцюг, що має SEQ ID NO: 137,
 антитіла, яке містить важкий ланцюг, що має SEQ ID NO: 124, і легкий ланцюг, що має SEQ ID
 10 NO: 138,
 антитіла, яке містить важкий ланцюг, що має SEQ ID NO: 125, і легкий ланцюг, що має SEQ ID NO: 139,
 антитіла, яке містить важкий ланцюг, що має SEQ ID NO: 126, і легкий ланцюг, що має SEQ ID NO: 140.
- 15 4. CD33-зв'язувальний агент за одним з попередніх пунктів, де кінетика інтерналізації CD33-зв'язувального агента є такою, що щонайменше 30 % початкової кількості CD33-зв'язувального агента зберігається на клітинній поверхні HL60 клітин через 4 години після інкубації.
5. CD33-зв'язувальний агент за одним з попередніх пунктів, де кінетика інтерналізації CD33-зв'язувальних агентів є такою, що щонайменше 40 % початкової кількості CD33-зв'язувальних агентів зберігається на клітинній поверхні через 4 години після інкубації.
- 20 6. CD33-зв'язувальний агент за одним з попередніх пунктів, де CD33-зв'язувальний агент має афінність як до людського CD33, так і до CD33 мавп-ціномолгус, при цьому величина K_D дорівнює або нижче ніж 10 нМ.
7. CD33-зв'язувальний агент за одним з попередніх пунктів, де CD33-зв'язувальний агент є гуманізованим.
- 25 8. CD33-зв'язувальний агент за одним з попередніх пунктів, де CD33-зв'язувальний агент є повністю людським.
9. CD33-зв'язувальний агент за одним з попередніх пунктів, де CD33-зв'язувальний агент додатково має ефекторну функцію.
- 30 10. CD33-зв'язувальний агент за п. 9, де ефекторна функція опосередковується F_c -доменом.
11. CD33-зв'язувальний агент за п. 9 або п. 10, де CD33-зв'язувальний агент містить одну або декілька мутацій в F_c -домені, яка модулює(ють) функцію F_c -домену.
12. CD33-зв'язувальний агент за п. 11, де модуляція функції F_c -домену являє собою підвищення ADCC щонайменше на 10 %.
- 35 13. CD33-зв'язувальний агент за одним з пп. 11-12, де мутації в F_c -домені локалізовані в одному або декількох положеннях, вибраних з амінокислот у положеннях 332 і/або 239, і/або 236, згідно із EU-нумерацією за Кеботом.
14. CD33-зв'язувальний агент за одним з пп. 11-13, де мутації в F_c -домені являють собою комбінацію замін в положеннях 239 і 332.
- 40 15. CD33-зв'язувальний агент за п. 14, де вказана мутація в F_c -домені являє собою комбінацію мутацій S239D і I332E.
16. Молекула ДНК, що містить область, що кодує варіабельну область важкого ланцюга CD33-зв'язувального агента за одним з попередніх пунктів.
- 45 17. Молекула ДНК, що містить область, що кодує варіабельну область легкого ланцюга CD33-зв'язувального агента за одним з пп. 1-15.
18. Експресійний вектор, що містить молекулу ДНК за п. 16 або п. 17.
19. Клітина-хазяїн, яке несе молекулу ДНК за п. 16 і молекулу за п. 17.
20. Спосіб одержання CD33-зв'язувального агента за одним з пп. 1-15, що включає трансфекцію клітини-хазяїна одним або більше векторами за п. 18, культивування клітини-хазяїна і виділення та очистку молекули антитіла.
- 50 21. Фармацевтична композиція, що містить як діючу речовину один або декілька CD33-зв'язувальних агентів за одним з пп. 1-15, і щонайменше фізіологічно прийнятний носій.
22. Фармацевтична композиція за п. 21, що містить також один або більше додаткових терапевтичних засобів.
- 55 23. Фармацевтична композиція за одним з пп. 21 і 22, призначена для виснаження клітин, які експресують CD33 на їх поверхні.
24. Фармацевтична композиція за одним з пп. 21 і 22, призначена для лікування злоякісних захворювань, пов'язаних з мієлоїдними клітинами, і мієлодиспластичного синдрому
- 60 (МДС).

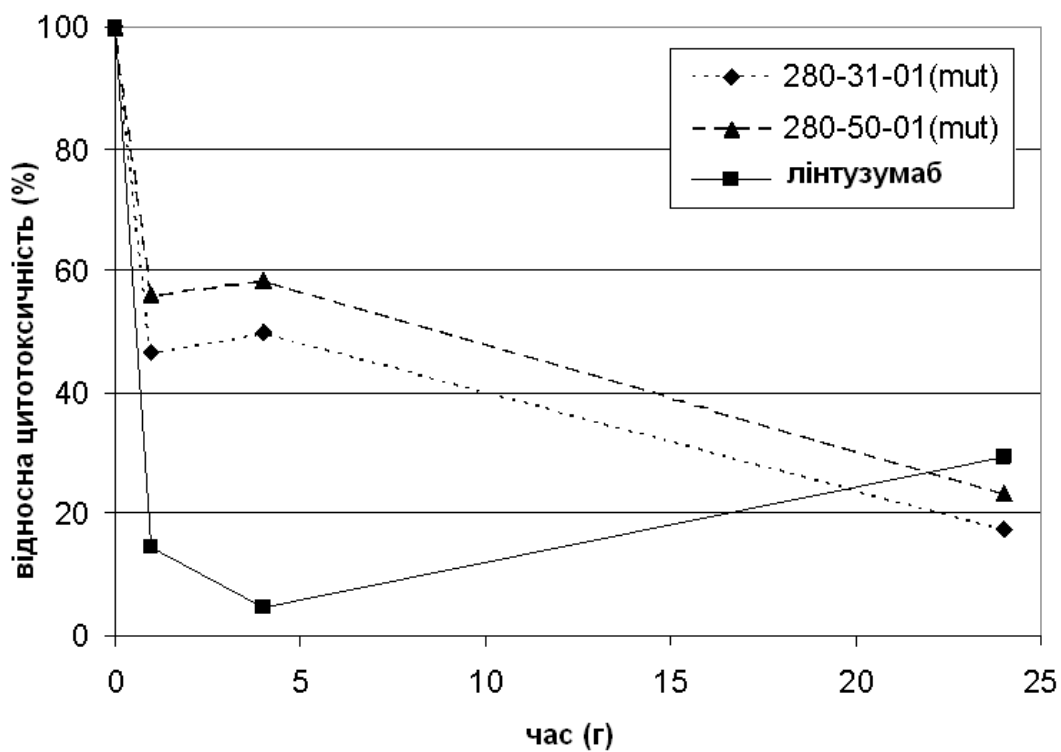
25. Фармацевтична композиція за п. 24, де вказане злоякісне захворювання, пов'язане з мієлоїдними клітинами, вибрано з гострого мієлоїдного лейкозу і хронічного мієлоїдного лейкозу.
26. Фармацевтична композиція за одним з пп. 21 і 22, призначена для лікування аутоімунних і запальних захворювань, в патології яких беруть участь мієлоїдні клітини.
- 5 27. Спосіб виснаження експресуючих CD33 мієлоїдних клітин у пацієнта, що включає введення вказаному пацієнтові одного або більше CD33-зв'язувальних агентів за одним з пп. 1-15 або фармацевтичної композиції за одним з пп. 21 і 22.







Фіг. 4



Фіг. 5

Комп'ютерна верстка Л. Ціхановська

Державна служба інтелектуальної власності України, вул. Василя Липківського, 45, м. Київ, МСП, 03680, Україна

ДП "Український інститут інтелектуальної власності", вул. Глазунова, 1, м. Київ – 42, 01601