

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 特 許 公 報 (B2)

(11) 特許番号

特許第6530409号
(P6530409)

(45) 発行日 令和1年6月12日 (2019.6.12)

(24) 登録日 令和1年5月24日 (2019.5.24)

(51) Int. Cl.

F I

A 6 1 K 39/395 (2006.01)

A 6 1 K 39/395 Z N A N

A 6 1 K 31/4045 (2006.01)

A 6 1 K 31/4045

A 6 1 K 31/7068 (2006.01)

A 6 1 K 31/7068

A 6 1 K 31/17 (2006.01)

A 6 1 K 31/17

A 6 1 K 38/19 (2006.01)

A 6 1 K 38/19

請求項の数 11 (全 100 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2016-542329 (P2016-542329)
 (86) (22) 出願日 平成26年9月15日 (2014.9.15)
 (65) 公表番号 特表2016-536341 (P2016-536341A)
 (43) 公表日 平成28年11月24日 (2016.11.24)
 (86) 国際出願番号 PCT/EP2014/069575
 (87) 国際公開番号 W02015/036583
 (87) 国際公開日 平成27年3月19日 (2015.3.19)
 審査請求日 平成29年8月31日 (2017.8.31)
 (31) 優先権主張番号 61/877, 714
 (32) 優先日 平成25年9月13日 (2013.9.13)
 (33) 優先権主張国 米国 (US)

(73) 特許権者 500049716
 アムジェン・インコーポレーテッド
 アメリカ合衆国 カリフォルニア州 91
 320, サウザンド オークス, ワン ア
 ムジェン センター ドライブ
 (73) 特許権者 512244819
 アムゲン リサーチ (ミュンヘン) ゲ
 ーエムペーハー
 AMGEN Research (Muni
 ch) GmbH
 ドイツ 81477 ミュンヘン シュタ
 ッフェルゼー シュトラーセ 2
 (74) 代理人 100102978
 弁理士 清水 初志

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 骨髄性白血病の治療におけるエピジェネティック因子ならびにCD33およびCD3を標的化する二重特異性化合物の組み合わせ

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

CD33標的化合物および少なくとも1種のエピジェネティック因子を含む、薬学的組成物であって、

(a) 該CD33標的化合物が、CD33に特異的に結合する第一の結合ドメインおよびCD3に特異的に結合する第二の結合ドメインを含む、二重特異性単鎖抗体構築物であり；かつ

(b) 該少なくとも1種のエピジェネティック因子が、ヒストンデアセチラーゼ (HDAC) 阻害剤 パノビノスタット、DNAメチルトランスフェラーゼ (DNMT) I 阻害剤 5-アザシチジン、ヒドロキシ尿素、および顆粒球コロニー刺激因子 (G-CSF) からなる群より選択される、薬学的組成物。

【請求項2】

(a) CD33標的化合物の投与前にエピジェネティック因子が投与されるか；
 (b) CD33標的化合物の投与後にエピジェネティック因子が投与されるか；または
 (c) エピジェネティック因子とCD33標的化合物が同時に投与される、
 請求項1記載の薬学的組成物。

【請求項3】

エピジェネティック因子の第一の用量が、CD33標的化合物の投与の開始前に投与される、請求項1または2記載の薬学的組成物。

【請求項4】

エピジェネティック因子の投与が、CD33標的化合物の投与の間中継続される、請求項

3記載の薬学的組成物。

【請求項 5】

二重特異性単鎖抗体構築物が、ヒトおよびカニクイザルのCD3ならびにヒトおよびカニクイザルのCD33に結合する、請求項1記載の薬学的組成物。

【請求項 6】

二重特異性単鎖抗体構築物が、

・SEQ ID NO:6、24、42、60、78、96、114および132からなる群より選択されるアミノ酸配列を有するVL鎖と、SEQ ID NO:1、19、37、55、73、91、109および127からなる群より選択されるアミノ酸配列を有するVH鎖を含み、かつCD33に特異的に結合する第一の結合ドメイン；ならびに

・SEQ ID NO:154、157、160、163、166、169および172からなる群より選択されるアミノ酸配列を有するVL鎖と、SEQ ID NO:155、158、161、164、167、170および173からなる群より選択されるアミノ酸配列を有するVH鎖を含み、かつCD3に特異的に結合する第二の結合ドメイン

を含む、請求項5記載の薬学的組成物。

【請求項 7】

二重特異性単鎖抗体構築物が、SEQ ID NO:13、15、17、31、33、35、49、51、53、67、69、71、85、87、89、103、105、107、121、123、125、139、141、143、148、150、152、215、217、219、221、223、225および227のいずれかに示されるアミノ酸配列を含む、請求項6記載の薬学的組成物。

【請求項 8】

骨髄性白血病を治療するための請求項1～7のいずれか一項記載の薬学的組成物。

【請求項 9】

骨髄性白血病が、急性骨髄芽球性白血病、慢性好中球性白血病、骨髄樹状細胞白血病、慢性骨髄性白血病移行期、急性骨髄単球性白血病、若年性骨髄単球性白血病、慢性骨髄単球性白血病、急性好塩基球性白血病、急性好酸球性白血病、慢性好酸球性白血病、急性巨核芽球性白血病、本態性血小板増加症、急性赤白血病、真性赤血球増加症、骨髄異形成症候群、急性汎骨髄症、骨髄肉腫、および急性混合性白血病からなる群より選択される、請求項8記載の薬学的組成物。

【請求項 10】

骨髄性白血病の寛解および/または治療剤の製造における、CD33標的化化合物に対する患者の応答性を増加させるエピジェネティック因子の使用であって、

(a) 該CD33標的化化合物が、CD33に特異的に結合する第一の結合ドメインおよびCD3に特異的に結合する第二の結合ドメインを含む、二重特異性単鎖抗体構築物であり；かつ

(b) 少なくとも1種のエピジェネティック因子が、ヒストンデアセチラーゼ (HDAC) 阻害剤パノビノスタット、DNAメチルトランスフェラーゼ (DNMT) I阻害剤5-アザシチジン、ヒドロキシ尿素、および顆粒球コロニー刺激因子 (G-CSF) からなる群より選択される、使用。

【請求項 11】

請求項1～9のいずれか一項記載の薬学的組成物、または請求項10に規定のエピジェネティック因子および二重特異性CD33標的化化合物を含む、骨髄性白血病の寛解および/または治療に使用するためのキットであって、該二重特異性CD33標的化化合物が、CD33に特異的に結合する第一の結合ドメインおよびCD3に特異的に結合する第二の結合ドメインを含む、キット。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

発明の分野

本発明は、骨髄性白血病の治療における、エピジェネティック因子ならびにCD33およびCD3を標的化する二重特異性化合物の組み合わせであって、エピジェネティック因子が、

10

20

30

40

50

ヒストンデアセチラーゼ (HDAC) 阻害剤、DNAメチルトランスフェラーゼ (DNMT) I 阻害剤、ヒドロキシ尿素、顆粒球コロニー刺激因子 (G-CSF)、ヒストンデメチラーゼ阻害剤、および ATRA (全トランス型レチノイン酸) からなる群より選択される、組み合わせを提供する。したがって、本発明は、CD33 標的化化合物および少なくとも 1 種のエピジェネティック因子を含む薬学的組成物、ならびに骨髓性白血病の寛解および/または治療に使用するための、CD33 標的化化合物に対する患者の応答性を増加させるエピジェネティック因子を提供する。さらに、本発明は、CD33 標的化化合物による処置に対する骨髓性白血病患者の応答性を増加させるための少なくとも 1 種のエピジェネティック因子の使用、CD33 標的化化合物および少なくとも 1 種のエピジェネティック因子を、それを必要とする患者に投与することを含む、骨髓性白血病の治療のための方法、ならびに本発明の薬学的組成物、または本発明のエピジェネティック因子および二重特異性 CD33 標的化化合物を含む、キットを提供する。

10

【背景技術】

【0002】

発明の背景

多剤従来型化学療法および同種幹細胞移植 (SCT) を含む集中的な治療法の使用による、この数十年を通しての段階的な改善にもかかわらず、急性骨髓性白血病 (AML) に罹患する患者の生存は低いままであり、患者は、治療に関連した病的状態および死亡を経験する高いリスクがある。例えば、SCT は、化学療法抵抗性の白血病細胞の除去を導き得る強力な抗白血病効果を提供することが証明されているが、多数の患者が、多くにおいて最終的には致命的になる著しい移植片対宿主 (GvH) 病を発症する。多くの患者に対して、特にそのような集中的な治療戦略に適していない患者に対して、免疫治療アプローチを含む新規の治療選択肢が早急に求められている。GvH 反応のない有望な免疫治療戦略は、患者の自身の T 細胞をインビボで増員すること、およびそれらを白血病細胞に直接的に再標的化することである。

20

【0003】

このアプローチは、腫瘍細胞上の予め定義された表面抗原に細胞毒性 T リンパ球を向ける、新規クラスの二重特異性単鎖抗体によって可能になる (Baeuerle et al. Curr Opin Mol Ther. 2009;11:22-30 (非特許文献 1))。概念の臨床的証明は、CD19 B 細胞表面抗原と T 細胞受容体複合体の CD3 ϵ 構成要素の両方に向けられた二重特異性抗体、ブリナツモマブ (blinatumomab) によって提供された。その治療的効果は、B 細胞リンパ腫および前駆 B 細胞急性リンパ性白血病 (B precursor acute lymphoblastic leukemia) (ALL) を有する患者に対して示された。

30

【0004】

急性骨髓性白血病 (AML) は、明確に定義された細胞表面抗原と容易な腫瘍接触性のために、モノクローナル抗体の治療的使用に対するパラダイムとなっている。今までのところ最も研究された標的は、多くの患者における AML 芽球、およびおそらく一部は白血病幹細胞に見出される ミエロイド 分化抗原として知られる シアル酸依存性細胞接着分子、CD33 である。インタクトなヒト化 CD33 抗体、リンツズマブは、単剤の第 1 相試験と第 2 相試験において個体患者における完全寛解を誘導したが、3 剤の化学療法レジメンを組み合わせた場合の第 3 相試験において、延命効果は見出されなかった。

40

【先行技術文献】

【非特許文献】

【0005】

【非特許文献 1】Baeuerle et al. Curr Opin Mol Ther. 2009;11:22-30

【発明の概要】

【0006】

本発明は、CD33 標的化化合物および少なくとも 1 種のエピジェネティック因子を含む、薬学的組成物であって、

(a) 該 CD33 標的化化合物が、CD33 に特異的に結合する第一の結合ドメインおよび CD3 に特

50

異的に結合する第二の結合ドメインを含む、二重特異性構築物であり；かつ

(b) 該少なくとも1種のエピジェネティック因子が、ヒストンデアセチラーゼ (HDAC) 阻害剤、DNAメチルトランスフェラーゼ (DNMT) I 阻害剤、ヒドロキシ尿素、顆粒球コロニー刺激因子 (G-CSF)、ヒストンメチルトランスフェラーゼ (HMT) 阻害剤、および ATRA (全トランス型レチノイン酸) からなる群より選択される、
薬学的組成物を提供する。

【0007】

一態様において、本発明の薬学的組成物は、少なくとも1種のエピジェネティック因子が、

(a) パノピノスタット、ボリノスタット、ロミデプシン、N-アセチルジナリン、ベリノスタット、ギビノスタット (givinostat)、エンチノスタット、モセチノスタット、EVP-0334、SRT501、CUDC-101、キシノスタット (Quisinostat)、アベキシノスタット (abexinostat)、LAQ824、およびバルプロ酸からなる群より選択される、ヒストンデアセチラーゼ (HDAC) 阻害剤；

(b) 5-アザシチジン、デシタピン、ヒドララジン、ゼブラリン、プロカインアミド、(-)-エピガロカテキン-3-ガラート、MG98、RG108、および SGI-110 からなる群より選択される、DNAメチルトランスフェラーゼ (DNMT) I 阻害剤；ならびに

(c) LSD1 (KDM1A) デメチラーゼ阻害剤およびケトシン (chaetocin) からなる群より選択される、ヒストンメチルトランスフェラーゼ (HMT) 阻害剤
を含む群から選択されるように、特徴づけられる。

【0008】

本発明はまた、

(a) CD33 標的化化合物の投与前にエピジェネティック因子が投与されるか；

(b) CD33 標的化化合物の投与後にエピジェネティック因子が投与されるか；または

(c) エピジェネティック因子と CD33 標的化化合物が同時に投与される、

薬学的組成物を提供する。

【0009】

本発明はさらに、エピジェネティック因子の第一の用量が、CD33 標的化化合物の投与の開始前に投与される、薬学的組成物を提供する。

【0010】

加えて、本発明はさらに、エピジェネティック因子の投与が、CD33 標的化化合物の投与の間中継続される、薬学的組成物を提供する。

【0011】

一態様において、本発明の薬学的組成物は、二重特異性構築物が、二重特異性抗体構築物であるように、特徴づけられる。

【0012】

本発明の薬学的組成物の好ましい態様において、二重特異性抗体構築物は、二重特異性単鎖抗体構築物である。

【0013】

本発明の薬学的組成物のために、二重特異性抗体構築物が、ヒトおよびカニクイザルの CD3 ならびにヒトおよびカニクイザルの CD33 に結合することも好ましい。

【0014】

本発明の薬学的組成物の好ましい態様において、二重特異性抗体構築物は、

・ SEQ ID NO: 6、24、42、60、78、96、114 および 132 に示されるアミノ酸配列を有する VL 鎖と、SEQ ID NO: 1、19、37、55、73、91、109 および 127 に示されるアミノ酸配列を有する VH 鎖を含み、かつ CD33 に特異的に結合する第一の結合ドメイン；ならびに

・ SEQ ID NO: 154、157、160、163、166、169 および 172 に示されるアミノ酸配列を有する V_L 鎖と、SEQ ID NO: 155、158、161、164、167、170 および 173 に示されるアミノ酸配列を有する VH 鎖を含み、かつ CD3 に特異的に結合する第二の結合ドメイン
を含む。

【 0 0 1 5 】

本発明の薬学的組成物の好ましい態様において、二重特異性抗体構築物は、SEQ ID NO: 13、15、17、31、33、35、49、51、53、67、69、71、85、87、89、103、105、107、121、123、125、139、141、143、148、150、152、215、217、219、221、223、225および227のいずれかに示されるアミノ酸配列を含む。

【 0 0 1 6 】

本発明の薬学的組成物は、CD33を発現する骨髄性白血病の治療に対して想定される。好ましくは、骨髄性白血病は、急性骨髄芽球性白血病、慢性好中球性白血病、骨髄樹状細胞白血病、慢性骨髄性白血病移行期、急性骨髄単球性白血病、若年性骨髄単球性白血病、慢性骨髄単球性白血病、急性好塩基球性白血病、急性好酸球性白血病、慢性好酸球性白血病、急性巨核芽球性白血病、本態性血小板増加症、急性赤白血病、真性赤血球増加症、骨髄異形成症候群、急性汎骨髄症、骨髄肉腫、および急性混合性白血病からなる群より選択される。

10

【 0 0 1 7 】

別の態様において、本発明は、骨髄性白血病の寛解および/または治療に使用するための、CD33標的化化合物に対する患者の応答性を増加させるエピジェネティック因子であって、

(a) 該CD33標的化化合物が、CD33に特異的に結合する第一の結合ドメインおよびCD33に特異的に結合する第二の結合ドメインを含む、二重特異性構築物であり；かつ

(b) 該少なくとも1種のエピジェネティック因子が、ヒストンデアセチラーゼ (HDAC) 阻害剤、DNAメチルトランスフェラーゼ (DNMT) I 阻害剤、ヒドロキシ尿素、顆粒球コロニー刺激因子 (G-CSF)、ヒストンメチルトランスフェラーゼ (HMT) 阻害剤、およびATRA (全トランス型レチノイン酸) からなる群より選択される、
エピジェネティック因子を提供する。

20

【 0 0 1 8 】

本発明のエピジェネティック因子の一態様において、エピジェネティック因子は、

(a) パノピノスタット、ポリノスタット、ロミデプシン、N-アセチルジナリン、ベリノスタット、ギピノスタット、エンチノスタット、モセチノスタット、EVP-0334、SRT501、CUDC-101、キシノスタット、アベキシノスタット、LAQ824、およびバルプロ酸からなる群より選択される、ヒストンデアセチラーゼ (HDAC) 阻害剤；

30

(b) 5-アザシチジン、デシタピン、ヒドララジン、ゼブラリン、プロカインアミド、(-)-エピガロカテキン-3-ガラート、MG98、RG108、およびSGI-110からなる群より選択される、DNAメチルトランスフェラーゼ (DNMT) I 阻害剤；ならびに

(c) LSD1 (KDM1A) デメチラーゼ阻害剤およびケトシンからなる群より選択される、ヒストンメチルトランスフェラーゼ (HMT) 阻害剤
を含む群から選択される。

【 0 0 1 9 】

さらに、本発明のエピジェネティック因子の一態様において、

(a) CD33標的化化合物の投与前にエピジェネティック因子が投与されるか；

(b) CD33標的化化合物の投与後にエピジェネティック因子が投与されるか；または

(c) エピジェネティック因子とCD33標的化化合物が同時に投与される。

40

【 0 0 2 0 】

本発明のエピジェネティック因子のために、エピジェネティック因子の第一の用量が、CD33標的化化合物の投与の開始前に投与されることが好ましい。

【 0 0 2 1 】

好ましくは、本発明のエピジェネティック因子の投与は、CD33標的化化合物の投与の間中継続される。

【 0 0 2 2 】

本発明のエピジェネティック因子のために、二重特異性構築物が、二重特異性抗体構築物であることも好ましい。

50

【 0 0 2 3 】

本発明のエピジェネティック因子の一態様において、二重特異性抗体構築物は、二重特異性単鎖抗体構築物である。

【 0 0 2 4 】

本発明のエピジェネティック因子のために、二重特異性抗体構築物が、ヒトおよびカニクイザルのCD3およびCD33に結合することが好ましい。

【 0 0 2 5 】

また、本発明のエピジェネティック因子のために好ましいことは、二重特異性抗体構築物が、

・SEQ ID NO:6、24、42、60、78、96、114および132に示されるアミノ酸配列を有するVL鎖と、SEQ ID NO:1、19、37、55、73、91、109および127に示されるアミノ酸配列を有するVH鎖を含み、かつCD33に特異的に結合する第一の結合ドメイン；ならびに

・SEQ ID NO:154、157、160、163、166、169および172に示されるアミノ酸配列を有するVL鎖と、SEQ ID NO:155、158、161、164、167、170および173に示されるアミノ酸配列を有するVH鎖を含み、かつCD3に特異的に結合する第二の結合ドメインを含むことである。

【 0 0 2 6 】

さらに、本発明のエピジェネティック因子の一態様において、二重特異性抗体構築物は、SEQ ID NO:13、15、17、31、33、35、49、51、53、67、69、71、85、87、89、103、105、107、121、123、125、139、141、143、148、150、152、215、217、219、221、223、225および227のいずれかに示されるアミノ酸配列を含む。

【 0 0 2 7 】

本発明のエピジェネティック因子の一態様において、骨髄性白血病は、急性骨髄芽球性白血病、慢性好中球性白血病、骨髄樹状細胞白血病、慢性骨髄性白血病移行期、急性骨髄単球性白血病、若年性骨髄単球性白血病、慢性骨髄単球性白血病、急性好塩基球性白血病、急性好酸球性白血病、慢性好酸球性白血病、急性巨核芽球性白血病、本態性血小板増加症、急性赤白血病、真性赤血球増加症、骨髄異形成症候群、急性汎骨髄症、骨髄肉腫、および急性混合性白血病からなる群より選択される。

【 0 0 2 8 】

本発明の別の態様は、CD33標的化合物による処置に対する骨髄性白血病患者の応答性を増加させるための少なくとも1種のエピジェネティック因子の使用であって、

(a) 該CD33標的化合物が、CD33に特異的に結合する第一の結合ドメインおよびCD3に特異的に結合する第二の結合ドメインを含む、二重特異性構築物であり；かつ

(b) 該少なくとも1種のエピジェネティック因子が、ヒストンデアセチラーゼ (HDAC) 阻害剤、DNAメチルトランスフェラーゼ (DNMT) I 阻害剤、ヒドロキシ尿素、顆粒球コロニー刺激因子 (G-CSF)、ヒストンデメチラーゼ阻害剤、およびATRA (全トランス型レチノイン酸) からなる群より選択される、

使用を提供する。

【 0 0 2 9 】

本発明の使用の一態様において、少なくとも1種のエピジェネティック因子は、

(a) パノビノスタット、ポリノスタット、ロミデプシン、N-アセチルジナリン、ベリノスタット、ギピノスタット、エンチノスタット、モセチノスタット、EVP-0334、SRT501、CUDC-101、キシノスタット、アベキシノスタット、LAQ824、およびバルプロ酸からなる群より選択される、ヒストンデアセチラーゼ (HDAC) 阻害剤；

(b) 5-アザシチジン、デシタピン、ヒドララジン、ゼブラリン、プロカインアミド、(-)-エピガロカテキン-3-ガラート、MG98、RG108、およびSGI-110からなる群より選択される、DNAメチルトランスフェラーゼ (DNMT) I 阻害剤；ならびに

(c) LSD1 (KDM1A) デメチラーゼ阻害剤およびケトシンからなる群より選択される、ヒストンメチルトランスフェラーゼ (HMT) 阻害剤

を含む群から選択される。

10

20

30

40

50

【0030】

また、本発明の使用の一態様において、

- (a) CD33標的化合物の投与前にエピジェネティック因子が投与されるか；
- (b) CD33標的化合物の投与後にエピジェネティック因子が投与されるか；または
- (c) エピジェネティック因子とCD33標的化合物が同時に投与される。

【0031】

本発明のいずれかの好ましい使用において、エピジェネティック因子の第一の用量は、CD33標的化合物の投与の開始前に投与される。

【0032】

さらに、本発明の使用の一態様において、エピジェネティック因子の投与は、CD33標的化合物の投与の間中継続される。

10

【0033】

本発明の使用の一態様において、二重特異性構築物は、二重特異性抗体構築物である。

【0034】

本発明の使用の好ましい態様において、二重特異性抗体構築物は、二重特異性単鎖抗体構築物である。

【0035】

本発明の使用の一態様において、二重特異性抗体構築物は、ヒトおよびカニクイザルのCD3およびCD33に結合する。

【0036】

20

本発明の使用の一態様によれば、二重特異性抗体構築物は、

- ・SEQ ID NO:6、24、42、60、78、96、114および132に示されるアミノ酸配列を有するVL鎖と、SEQ ID NO:1、19、37、55、73、91、109および127に示されるアミノ酸配列を有するVH鎖を含み、かつCD33に特異的に結合する第一の結合ドメイン；ならびに
- ・SEQ ID NO:154、157、160、163、166、169および172に示されるアミノ酸配列を有するV鎖と、SEQ ID NO:155、158、161、164、167、170および173に示されるアミノ酸配列を有するVH鎖を含み、かつCD3に特異的に結合する第二の結合ドメインを含む。

【0037】

本発明の使用の好ましい態様において、二重特異性抗体構築物は、SEQ ID NO:13、15、17、31、33、35、49、51、53、67、69、71、85、87、89、103、105、107、121、123、125、139、141、143、148、150、152、215、217、219、221、223、225および227のいずれかに示されるアミノ酸配列を含む。

30

【0038】

さらに、本発明の使用の一態様において、骨髓性白血病は、急性骨髓芽球性白血病、慢性好中球性白血病、骨髓樹状細胞白血病、慢性骨髓性白血病移行期、急性骨髓単球性白血病、若年性骨髓単球性白血病、慢性骨髓単球性白血病、急性好塩基球性白血病、急性好酸球性白血病、慢性好酸球性白血病、急性巨核芽球性白血病、本態性血小板増加症、急性赤白血病、真性赤血球増加症、骨髓異形成症候群、急性汎骨髓症、骨髓肉腫、および急性混合性白血病からなる群より選択される。

40

【0039】

さらに別の態様において、本発明は、CD33標的化合物および少なくとも1種のエピジェネティック因子を、それを必要とする患者に投与することを含む、骨髓性白血病の治療のための方法であって、

- (a) 該CD33標的化合物が、CD33に特異的に結合する第一の結合ドメインおよびCD3に特異的に結合する第二の結合ドメインを含む、二重特異性構築物であり；かつ
- (b) 該少なくとも1種のエピジェネティック因子が、ヒストンデアセチラーゼ (HDAC) 阻害剤、DNAメチルトランスフェラーゼ (DNMT) I阻害剤、ヒドロキシ尿素、顆粒球コロニー刺激因子 (G-CSF)、ヒストンメチルトランスフェラーゼ (HMT) 阻害剤、およびATRA (全トランス型レチノイン酸) からなる群より選択される、

50

方法を提供する。

【0040】

本発明の方法の一態様において、少なくとも1種のエピジェネティック因子は、
(a) パノピノスタット、ポリノスタット、ロミデプシン、N-アセチルジナリン、ペリノスタット、ギピノスタット、エンチノスタット、モセチノスタット、EVP-0334、SRT501、CUDC-101、キシノスタット、アベキシノスタット、LAQ824、およびバルプロ酸からなる群より選択される、ヒストンデアセチラーゼ (HDAC) 阻害剤；
(b) 5-アザシチジン、デシタピン、ヒドララジン、ゼブラリン、プロカインアミド、(-)-エピガロカテキン-3-ガラート、MG98、RG108、およびSGI-110からなる群より選択される、DNAメチルトランスフェラーゼ (DNMT) 阻害剤；ならびに
(c) LSD1 (KDM1A) デメチラーゼ阻害剤およびケトシンからなる群より選択される、ヒストンメチルトランスフェラーゼ (HMT) 阻害剤を含む群から選択される。

10

【0041】

また、本発明の方法の一態様において、
(a) CD33標的化化合物の投与前にエピジェネティック因子が投与されるか；
(b) CD33標的化化合物の投与後にエピジェネティック因子が投与されるか；または
(c) エピジェネティック因子とCD33標的化化合物が同時に投与される。

【0042】

本発明の方法の好ましい態様において、エピジェネティック因子の第一の用量は、CD33標的化化合物の投与の開始前に投与される。

20

【0043】

本発明の方法のために、エピジェネティック因子の投与が、CD33標的化化合物の投与の間中継続されることも好ましい。

【0044】

本発明の方法の一態様において、二重特異性構築物は、二重特異性抗体構築物である。

【0045】

本発明の方法のために、二重特異性抗体構築物は、二重特異性単鎖抗体構築物であることが好ましい。

【0046】

本発明の方法のために、二重特異性抗体構築物は、ヒトおよびカニクイザルのCD3およびCD33に結合することがより好ましい。

30

【0047】

本発明の方法の一態様において、二重特異性抗体構築物は、
・ SEQ ID NO:6、24、42、60、78、96、114および132に示されるアミノ酸配列を有するVL鎖と、SEQ ID NO:1、19、37、55、73、91、109および127に示されるアミノ酸配列を有するVH鎖を含み、かつCD33に特異的に結合する第一の結合ドメイン；ならびに
・ SEQ ID NO:154、157、160、163、166、169および172に示されるアミノ酸配列を有するVL鎖と、SEQ ID NO:155、158、161、164、167、170および173に示されるアミノ酸配列を有するVH鎖を含み、かつCD3に特異的に結合する第二の結合ドメインを含む。

40

【0048】

また、本発明の方法の一態様において、二重特異性抗体構築物は、SEQ ID NO:13、15、17、31、33、35、49、51、53、67、69、71、85、87、89、103、105、107、121、123、125、139、141、143、148、150、152、215、217、219、221、223、225および227のいずれかに示されるアミノ酸配列を含む。

【0049】

さらに、本発明の方法の一態様において、骨髄性白血病は、急性骨髄芽球性白血病、慢性好中球性白血病、骨髄樹状細胞白血病、慢性骨髄性白血病移行期、急性骨髄単球性白血病、若年性骨髄単球性白血病、慢性骨髄単球性白血病、急性好塩基球性白血病、急性好酸

50

球性白血病、慢性好酸球性白血病、急性巨核芽球性白血病、本態性血小板増加症、急性赤白血病、真性赤血球増加症、骨髓異形成症候群、急性汎骨髓症、骨髓肉腫、および急性混合性白血病からなる群より選択される。

【 0 0 5 0 】

本発明のさらに別の態様は、本発明の薬学的組成物、または本発明のエピジェネティック因子および二重特異性CD33標的化化合物を含む、骨髓性白血病の寛解および/または治療に使用するためのキットであって、該二重特異性CD33標的化化合物が、CD33に特異的に結合する第一の結合ドメインおよびCD3に特異的に結合する第二の結合ドメインを含む、キットを提供する。

[本発明1001]

CD33標的化化合物および少なくとも1種のエピジェネティック因子を含む、薬学的組成物であって、

(a) 該CD33標的化化合物が、CD33に特異的に結合する第一の結合ドメインおよびCD3に特異的に結合する第二の結合ドメインを含む、二重特異性構築物であり；かつ

(b) 該少なくとも1種のエピジェネティック因子が、ヒストンデアセチラーゼ (HDAC) 阻害剤、DNAメチルトランスフェラーゼ (DNMT) I 阻害剤、ヒドロキシ尿素、顆粒球コロニー刺激因子 (G-CSF)、ヒストンメチルトランスフェラーゼ (HMT) 阻害剤、およびATRA (全トランス型レチノイン酸) からなる群より選択される、

薬学的組成物。

[本発明1002]

少なくとも1種のエピジェネティック因子が、

(a) パノビノスタット、ボリノスタット、ロミデプシン、N-アセチルジナリン、ベリノスタット、ギビノスタット (givinostat)、エンチノスタット、モセチノスタット、EVP-0334、SRT501、CUDC-101、キシノスタット (Quisinostat)、アベキシノスタット (abexinostat)、LAQ824、およびバルプロ酸からなる群より選択される、ヒストンデアセチラーゼ (HDAC) 阻害剤；

(b) 5-アザシチジン、デシタピン、ヒドララジン、ゼブラリン、プロカインアミド、(-)-エピガロカテキン-3-ガラート、MG98、RG108、およびSGI-110からなる群より選択される、DNAメチルトランスフェラーゼ (DNMT) I 阻害剤；ならびに

(c) LSD1 (KDM1A) デメチラーゼ阻害剤およびケトシン (chaetocin) からなる群より選択される、ヒストンメチルトランスフェラーゼ (HMT) 阻害剤を含む群から選択される、本発明1001の薬学的組成物。

[本発明1003]

(a) CD33標的化化合物の投与前にエピジェネティック因子が投与されるか；

(b) CD33標的化化合物の投与後にエピジェネティック因子が投与されるか；または

(c) エピジェネティック因子とCD33標的化化合物が同時に投与される、

本発明1001または1002の薬学的組成物。

[本発明1004]

エピジェネティック因子の第一の用量が、CD33標的化化合物の投与の開始前に投与される、本発明1001～1003のいずれかの薬学的組成物。

[本発明1005]

エピジェネティック因子の投与が、CD33標的化化合物の投与の間中継続される、本発明1004の薬学的組成物。

[本発明1006]

二重特異性構築物が、二重特異性抗体構築物である、本発明1001～1005のいずれかの薬学的組成物。

[本発明1007]

二重特異性抗体構築物が、二重特異性単鎖抗体構築物である、本発明1006の薬学的組成物。

[本発明1008]

10

20

30

40

50

二重特異性抗体構築物が、ヒトおよびカニクイザルのCD3ならびにヒトおよびカニクイザルのCD33に結合する、本発明1006または1007の薬学的組成物。

[本発明1009]

二重特異性抗体構築物が、

・SEQ ID NO:6、24、42、60、78、96、114および132に示されるアミノ酸配列を有するVL鎖と、SEQ ID NO:1、19、37、55、73、91、109および127に示されるアミノ酸配列を有するVH鎖を含み、かつCD33に特異的に結合する第一の結合ドメイン；ならびに

・SEQ ID NO:154、157、160、163、166、169および172に示されるアミノ酸配列を有するV鎖と、SEQ ID NO:155、158、161、164、167、170および173に示されるアミノ酸配列を有するVH鎖を含み、かつCD3に特異的に結合する第二の結合ドメイン

を含む、本発明1006～1008のいずれかの薬学的組成物。

10

[本発明1010]

二重特異性抗体構築物が、SEQ ID NO:13、15、17、31、33、35、49、51、53、67、69、71、85、87、89、103、105、107、121、123、125、139、141、143、148、150、152、215、217、219、221、223、225および227のいずれかに示されるアミノ酸配列を含む、本発明1009の薬学的組成物。

[本発明1011]

骨髄性白血病を治療するための本発明1001～1010のいずれかの薬学的組成物。

[本発明1012]

骨髄性白血病が、急性骨髄芽球性白血病、慢性好中球性白血病、骨髄樹状細胞白血病、慢性骨髄性白血病移行期、急性骨髄単球性白血病、若年性骨髄単球性白血病、慢性骨髄単球性白血病、急性好塩基球性白血病、急性好酸球性白血病、慢性好酸球性白血病、急性巨核芽球性白血病、本態性血小板増加症、急性赤白血病、真性赤血球増加症、骨髄異形成症候群、急性汎骨髄症、骨髄肉腫、および急性混合性白血病からなる群より選択される、本発明1011の薬学的組成物。

20

[本発明1013]

骨髄性白血病の寛解および/または治療に使用するための、CD33標的化化合物に対する患者の応答性を増加させるエピジェネティック因子であって、

(a) 該CD33標的化化合物が、CD33に特異的に結合する第一の結合ドメインおよびCD3に特異的に結合する第二の結合ドメインを含む、二重特異性構築物であり；かつ

30

(b) 少なくとも1種のエピジェネティック因子が、ヒストンデアセチラーゼ (HDAC) 阻害剤、DNAメチルトランスフェラーゼ (DNMT) I 阻害剤、ヒドロキシ尿素、顆粒球コロニー刺激因子 (G-CSF)、ヒストンメチルトランスフェラーゼ (HMT) 阻害剤、およびATRA (全トランス型レチノイン酸) からなる群より選択される、
エピジェネティック因子。

[本発明1014]

(a) パノピノスタット、ボリノスタット、ロミデプシン、N-アセチルジナリン、ベリノスタット、ギビノスタット、エンチノスタット、モセチノスタット、EVP-0334、SRT501、CUDC-101、キシノスタット、アベキシノスタット、LAQ824、およびバルプロ酸からなる群より選択される、ヒストンデアセチラーゼ (HDAC) 阻害剤；

40

(b) 5-アザシチジン、デシタビン、ヒドララジン、ゼブラリン、プロカインアミド、(-)-エピガロカテキン-3-ガラート、MG98、RG108、およびSGI-110からなる群より選択される、DNAメチルトランスフェラーゼ (DNMT) I 阻害剤；ならびに

(c) LSD1 (KDM1A) デメチラーゼ阻害剤およびケトシンからなる群より選択される、ヒストンメチルトランスフェラーゼ (HMT) 阻害剤

を含む群から選択される、本発明1013のエピジェネティック因子。

[本発明1015]

(a) CD33標的化化合物の投与前にエピジェネティック因子が投与されるか；

(b) CD33標的化化合物の投与後にエピジェネティック因子が投与されるか；または

(c) エピジェネティック因子とCD33標的化化合物が同時に投与される、

50

本発明1013または1014のエピジェネティック因子。

[本発明1016]

エピジェネティック因子の第一の用量が、CD33標的化合物の投与の開始前に投与される、本発明1013～1015のいずれかのエピジェネティック因子。

[本発明1017]

エピジェネティック因子の投与が、CD33標的化合物の投与の間中継続される、本発明1016のエピジェネティック因子。

[本発明1018]

二重特異性構築物が、二重特異性抗体構築物である、本発明1013～1017のいずれかのエピジェネティック因子。

[本発明1019]

二重特異性抗体構築物が、二重特異性単鎖抗体構築物である、本発明1018のエピジェネティック因子。

[本発明1020]

二重特異性抗体構築物が、ヒトおよびカニクイザルのCD3およびCD33に結合する、本発明1018または1019のエピジェネティック因子。

[本発明1021]

二重特異性抗体構築物が、
・SEQ ID NO:6、24、42、60、78、96、114および132に示されるアミノ酸配列を有するVL鎖と、SEQ ID NO:1、19、37、55、73、91、109および127に示されるアミノ酸配列を有するVH鎖を含み、かつCD33に特異的に結合する第一の結合ドメイン；ならびに
・SEQ ID NO:154、157、160、163、166、169および172に示されるアミノ酸配列を有するV鎖と、SEQ ID NO:155、158、161、164、167、170および173に示されるアミノ酸配列を有するVH鎖を含み、かつCD3に特異的に結合する第二の結合ドメイン
を含む、本発明1018～1020のいずれかのエピジェネティック因子。

[本発明1022]

二重特異性抗体構築物が、SEQ ID NO:13、15、17、31、33、35、49、51、53、67、69、71、85、87、89、103、105、107、121、123、125、139、141、143、148、150、152、215、217、219、221、223、225および227のいずれかに示されるアミノ酸配列を含む、本発明1021のエピジェネティック因子。

[本発明1023]

骨髄性白血病が、急性骨髄芽球性白血病、慢性好中球性白血病、骨髄樹状細胞白血病、慢性骨髄性白血病移行期、急性骨髄単球性白血病、若年性骨髄単球性白血病、慢性骨髄単球性白血病、急性好塩基球性白血病、急性好酸球性白血病、慢性好酸球性白血病、急性巨核芽球性白血病、本態性血小板増加症、急性赤白血病、真性赤血球増加症、骨髄異形成症候群、急性汎骨髄症、骨髄肉腫、および急性混合性白血病からなる群より選択される、本発明1013～1022のいずれかのエピジェネティック因子。

[本発明1024]

CD33標的化合物による処置に対する骨髄性白血病患者の応答性を増加させるための少なくとも1種のエピジェネティック因子の使用であって、

(a) 該CD33標的化合物が、CD33に特異的に結合する第一の結合ドメインおよびCD3に特異的に結合する第二の結合ドメインを含む、二重特異性構築物であり；かつ

(b) 該少なくとも1種のエピジェネティック因子が、ヒストンデアセチラーゼ (HDAC) 阻害剤、DNAメチルトランスフェラーゼ (DNMT) 阻害剤、ヒドロキシ尿素、顆粒球コロニー刺激因子 (G-CSF)、ヒストンメチルトランスフェラーゼ (HMT) 阻害剤、およびATRA (全トランス型レチノイン酸) からなる群より選択される、

使用。

[本発明1025]

少なくとも1種のエピジェネティック因子が、

(a) パノピノスタット、ポリノスタット、ロミデプシン、N-アセチルジナリン、ベリノ

10

20

30

40

50

スタット、ギビノスタット、エンチノスタット、モセチノスタット、EVP-0334、SRT501、CUDC-101、キシノスタット、アベキシノスタット、LAQ824、およびバルプロ酸からなる群より選択される、ヒストンデアセチラーゼ (HDAC) 阻害剤；

(b) 5-アザシチジン、デシタピン、ヒドララジン、ゼブラリン、プロカインアミド、(-)-エピガロカテキン-3-ガラート、MG98、RG108、およびSGI-110からなる群より選択される、DNAメチルトランスフェラーゼ (DNMT) 阻害剤；ならびに

(c) LSD1 (KDM1A) デメチラーゼ阻害剤およびケトシンからなる群より選択される、ヒストンメチルトランスフェラーゼ (HMT) 阻害剤を含む群から選択される、本発明1024の使用。

[本発明1026]

(a) CD33標的化化合物の投与前にエピジェネティック因子が投与されるか；

(b) CD33標的化化合物の投与後にエピジェネティック因子が投与されるか；または

(c) エピジェネティック因子とCD33標的化化合物が同時に投与される、

本発明1024または1025の使用。

[本発明1027]

エピジェネティック因子の第一の用量が、CD33標的化化合物の投与の開始前に投与される、本発明1024～1026のいずれかの使用。

[本発明1028]

エピジェネティック因子の投与が、CD33標的化化合物の投与の間中継続される、本発明1027の使用。

[本発明1029]

二重特異性構築物が、二重特異性抗体構築物である、本発明1024～1028のいずれかの使用。

[本発明1030]

二重特異性抗体構築物が、二重特異性単鎖抗体構築物である、本発明1029の使用。

[本発明1031]

二重特異性抗体構築物が、ヒトおよびカニクイザルのCD3およびCD33に結合する、本発明1029または1030の使用。

[本発明1032]

二重特異性抗体構築物が、

・SEQ ID NO:6、24、42、60、78、96、114および132に示されるアミノ酸配列を有するVL鎖と、SEQ ID NO:1、19、37、55、73、91、109および127に示されるアミノ酸配列を有するVH鎖を含み、かつCD33に特異的に結合する第一の結合ドメイン；ならびに

・SEQ ID NO:154、157、160、163、166、169および172に示されるアミノ酸配列を有するVL鎖と、SEQ ID NO:155、158、161、164、167、170および173に示されるアミノ酸配列を有するVH鎖を含み、かつCD3に特異的に結合する第二の結合ドメイン

を含む、本発明1029～1031のいずれかの使用。

[本発明1033]

二重特異性抗体構築物が、SEQ ID NO:13、15、17、31、33、35、49、51、53、67、69、71、85、87、89、103、105、107、121、123、125、139、141、143、148、150、152、215、217、219、221、223、225および227のいずれかに示されるアミノ酸配列を含む、本発明1032の使用。

[本発明1034]

骨髄性白血病が、急性骨髄芽球性白血病、慢性好中球性白血病、骨髄樹状細胞白血病、慢性骨髄性白血病移行期、急性骨髄単球性白血病、若年性骨髄単球性白血病、慢性骨髄単球性白血病、急性好塩基球性白血病、急性好酸球性白血病、慢性好酸球性白血病、急性巨核芽球性白血病、本態性血小板増加症、急性赤白血病、真性赤血球増加症、骨髄異形成症候群、急性汎骨髄症、骨髄肉腫、および急性混合性白血病からなる群より選択される、本発明1024～1033のいずれかの使用。

[本発明1035]

10

20

30

40

50

CD33標的化化合物および少なくとも1種のエピジェネティック因子を、それを必要とする患者に投与することを含む、骨髄性白血病の治療のための方法であって、

(a) 該CD33標的化化合物が、CD33に特異的に結合する第一の結合ドメインおよびCD3に特異的に結合する第二の結合ドメインを含む、二重特異性構築物であり；かつ

(b) 該少なくとも1種のエピジェネティック因子が、ヒストンデアセチラーゼ (HDAC) 阻害剤、DNAメチルトランスフェラーゼ (DNMT) I 阻害剤、ヒドロキシ尿素、顆粒球コロニー刺激因子 (G-CSF)、ヒストンメチルトランスフェラーゼ (HMT) 阻害剤、およびATRA (全トランス型レチノイン酸) からなる群より選択される、
方法。

[本発明1036]

少なくとも1種のエピジェネティック因子が、

(a) パノビノスタット、ボリノスタット、ロミデプシン、N-アセチルジナリン、ベリノスタット、ギビノスタット、エンチノスタット、モセチノスタット、EVP-0334、SRT501、CUDC-101、キシノスタット、アベキシノスタット、LAQ824、およびバルブロ酸からなる群より選択される、ヒストンデアセチラーゼ (HDAC) 阻害剤；

(b) 5-アザシチジン、デシタピン、ヒドララジン、ゼブラリン、プロカインアミド、(-)-エピガロカテキン-3-ガラート、MG98、RG108、およびSGI-110からなる群より選択される、DNAメチルトランスフェラーゼ (DNMT) I 阻害剤；ならびに

(c) LSD1 (KDM1A) デメチラーゼ阻害剤およびケトシンからなる群より選択される、ヒストンメチルトランスフェラーゼ (HMT) 阻害剤
を含む群から選択される、本発明1035の方法。

[本発明1037]

(a) CD33標的化化合物の投与前にエピジェネティック因子が投与されるか；

(b) CD33標的化化合物の投与後にエピジェネティック因子が投与されるか；または

(c) エピジェネティック因子とCD33標的化化合物が同時に投与される、
本発明1035または1036の方法。

[本発明1038]

エピジェネティック因子の第一の用量が、CD33標的化化合物の投与の開始前に投与される、本発明1035～1037のいずれかの方法。

[本発明1039]

エピジェネティック因子の投与が、CD33標的化化合物の投与の間中継続される、本発明1038の方法。

[本発明1040]

二重特異性構築物が、二重特異性抗体構築物である、本発明1035～1039のいずれかの方法。

[本発明1041]

二重特異性抗体構築物が、二重特異性単鎖抗体構築物である、本発明1040の方法。

[本発明1042]

二重特異性抗体構築物が、ヒトおよびカニクイザルのCD3およびCD33に結合する、本発明1040または1041の方法。

[本発明1043]

二重特異性抗体構築物が、

・SEQ ID NO:6、24、42、60、78、96、114および132に示されるアミノ酸配列を有するVL鎖と、SEQ ID NO:1、19、37、55、73、91、109および127に示されるアミノ酸配列を有するVH鎖を含み、かつCD33に特異的に結合する第一の結合ドメイン；ならびに

・SEQ ID NO:154、157、160、163、166、169および172に示されるアミノ酸配列を有するVL鎖と、SEQ ID NO:155、158、161、164、167、170および173に示されるアミノ酸配列を有するVH鎖を含み、かつCD3に特異的に結合する第二の結合ドメイン
を含む、本発明1040～1042のいずれかの方法。

[本発明1044]

10

20

30

40

50

二重特異性抗体構築物が、SEQ ID NO:13、15、17、31、33、35、49、51、53、67、69、71、85、87、89、103、105、107、121、123、125、139、141、143、148、150、152、215、217、219、221、223、225および227のいずれかに示されるアミノ酸配列を含む、本発明1043の方法。

[本発明1045]

骨髄性白血病が、急性骨髄芽球性白血病、慢性好中球性白血病、骨髄樹状細胞白血病、慢性骨髄性白血病移行期、急性骨髄単球性白血病、若年性骨髄単球性白血病、慢性骨髄単球性白血病、急性好塩基球性白血病、急性好酸球性白血病、慢性好酸球性白血病、急性巨核芽球性白血病、本態性血小板増加症、急性赤白血病、真性赤血球増加症、骨髄異形成症候群、急性汎骨髄症、骨髄肉腫、および急性混合性白血病からなる群より選択される、本発明1035～1044のいずれかの方法。

10

[本発明1046]

本発明1001～1012のいずれかの薬学的組成物、または本発明1013～1023のいずれかのエピジェネティック因子および二重特異性CD33標的化合物を含む、骨髄性白血病の寛解および/または治療に使用するためのキットであって、該二重特異性CD33標的化合物が、CD33に特異的に結合する第一の結合ドメインおよびCD3に特異的に結合する第二の結合ドメインを含む、キット。

【図面の簡単な説明】

【 0 0 5 1 】

20

【図1】CD33の発現およびAMG 330誘導性細胞毒性に対するパノピノスタット前処理の効果。親OCI-AML3およびKG-1a細胞を、未処理で放置、または72時間のパノピノスタットでの前処理のいずれかとした。その後、CD33の発現を定量し、細胞を、AMG 330 (0～250 pg/mL) 有り/無しで、健常ドナーT細胞を使用した様々なエフェクター細胞：標的細胞 (E:T) 割合で処理した。48時間後、細胞数を決定し、薬物特異的な細胞毒性を定量するために、DAPI染色により細胞毒性を評価した。結果を、外因性T細胞のための供給源として単一の健常ドナーを用いた二つ組のウェルで行われた3つの独立した実験からの平均±SEMとして示す。

【図2】CD33の発現およびAMG 330誘導性細胞毒性に対するアザシチジン前処理の効果。親KG-1a細胞を、未処理で放置、または72時間のアザシチジンでの前処理のいずれかとした。その後、CD33の発現を定量し、細胞を、AMG 330 (0～250 pg/mL) 有り/無しで、健常ドナーT細胞を使用した様々なエフェクター細胞：標的細胞 (E:T) 割合で処理した。48時間後、細胞数を決定し、薬物特異的な細胞毒性を定量するために、DAPI染色により細胞毒性を評価した。結果を、外因性T細胞のための供給源として単一の健常ドナーを用いた二つ組のウェルで行われた3つの独立した実験からの平均±SEMとして示す。

30

【図3】A) HL-60およびB) PL21 AML細胞におけるヒドロキシ尿素濃度依存的なCD33の上方調節。

【図4】患者2由来の初代AML細胞におけるヒドロキシ尿素依存的なCD33の上方調節。

【図5】インキュベーション10日後のKG1α AML細胞におけるG-CSF依存的なCD33の上方調節。

40

【図6】インキュベーション10日後の患者1由来の初代AML細胞におけるG-CSF依存的なCD33の上方調節。

【発明を実施するための形態】

【 0 0 5 2 】

発明の詳細な説明

定義：

本明細書で使用される場合、単数形 (「1つの」、「ある」および「その」) は、文脈が明らかにそうでないことを示していない限り、複数の参照を含むことに留意されなければならない。したがって、例えば、「1つの試薬」は、1つまたは複数のそのような異なる試薬を含み、「その方法」に対する言及は、本明細書に記載される方法を修正または置

50

換することができる当業者に公知の等価な工程および方法に対する言及を含む。

【0053】

そうでないことが示されない限り、要素の系列の前に置かれる「少なくとも」という用語は、この系列のあらゆる要素に言及していると理解されるべきである。当業者は、慣用的以上の実験を用いずとも、本明細書に記載される本発明の具体的態様の多くの等価物を認識するまたは確認することができる。そのような等価物は、本発明に含まれることが意図されている。

【0054】

「および（ならびに）／または（もしくは）」という用語は、本明細書のいずれの場所で使用される場合でも、「および（ならびに）」、「または（もしくは）」および「この用語によって接続される要素のすべてまたは任意の他の組み合わせ」の意味を含んでいる。

10

【0055】

本明細書で使用される「約」または「およそ」という用語は、示された値または範囲の $\pm 20\%$ 以内、好ましくは $\pm 15\%$ 以内、より好ましくは $\pm 10\%$ 以内、最も好ましくは $\pm 5\%$ 以内を意味する。

【0056】

本明細書および添付の特許請求の範囲を通して、文脈がそうでないことを必要としない限り、「含む」という単語および「含んでいる」等の派生語は、言及されている整数値もしくは工程または整数値もしくは工程のグループを含むが、任意のその他の整数値もしくは工程または整数値もしくは工程のグループを排除しないことを暗に示すものと理解されるべきである。本明細書で使用される場合、「含む（comprising）」という用語は、「含む（containing）」もしくは「含む（including）」で、または本明細書で使用される場合「有する（having）」で置き換えられることもある。

20

【0057】

本願で使用される場合、「からなる」は、請求項発明の要素の中で指定されていない任意の要素、工程または成分を排除する。本明細書で使用される場合、「から本質的になる」は、その請求項発明の基本的かつ新規の特徴に実質的に影響しない物質または工程を排除しない。

【0058】

本明細書の各例において、「含む」、「から本質的になる」および「からなる」という用語はいずれも、他の2つの用語のいずれかと置き換えられ得る。

30

【0059】

「CD33標的化合物」という用語は、本発明の文脈において、細胞表面分子CD33の細胞外ドメインに特異的に結合できる結合分子を定義する。上記のように、CD33、シアル酸依存性細胞接着分子は、多くの患者におけるAML芽球に見出されるミエロイド分化抗原として知られる。本発明の態様の記載から明らかなように、本発明の意味でのCD33標的化合物は、細胞表面分子CD33の細胞外ドメインとT細胞上で発現される分子CD3の細胞外ドメインとに対する、少なくとも1つの結合ドメインを含む、二重特異性化合物である。本発明の意味で、CD33標的化合物は、少なくともCD33とCD3に対する結合ドメインを含み、かつ三重特異性または多重特異性化合物を生じる他の標的構造に対する1つもしくは複数の追加の結合ドメインを含んでもよいことが強調される。言い換えれば、「CD33標的化合物」という用語は、本発明の意味で、標的細胞の表面上の標的分子CD33、およびT細胞の表面上のCD3と（特異的に）結合するか、相互作用するか、または認識することが可能な任意の分子を示す。そのような分子または構築物は、タンパク質部分または非タンパク質部分（例えば、化学リンカー、またはグルタルアルデヒド等の化学架橋剤）を含んでもよい。

40

【0060】

本開示の意味で、「結合分子」という用語は、標的分子と（特異的に）結合するか、相互作用するか、または認識することが可能な任意の分子を示す。

50

【0061】

結合分子は、いわば、標的細胞上の表面分子およびT細胞上のCD3受容体複合体と結合／相互作用し得るような1つまたは複数の結合ドメインに対する足場を提供する。例えば、そのような足場は、プロテインAによって提供され得、特に、そのZドメイン（アフィボディ（affibody））、Imme7（免疫タンパク質）、BPTI/APPI（クニッツ（Kunitz）ドメイン）、Ras結合タンパク質AF-6（PDZドメイン）、カリブドトキシシン（サソリトキシシン）、CTLA-4、Min-23（ノッチン）、リボカリン（アンチカリン（anticalin））、ネオカルチノスタチン、フィブロネクチンドメイン、アンキリンコンセンサスリピートドメイン（Stumpp et al., Curr Opin Drug Discov Devel. 10(2), 153-159 (2007)）、またはチオレドキシシン（Skerra, Curr. Opin. Biotechnol. 18, 295-304 (2005); Hosse et al., Protein Sci. 15, 14-27 (2006); Nicaise et al., Protein Sci. 13, 1882-1891 (2004); Nygren and Uhlen, Curr. Opin. Struc. Biol. 7, 463-469 (1997)）である。好ましい結合分子は抗体であり、より好ましくは二重特異性抗体である。

10

【0062】

「単鎖結合分子」という用語は、本発明に関して、最も単純な形態の記載された結合分子がモノマーであることを定義する。分子または構築物は、タンパク質部分または非タンパク質部分（例えば、化学リンカー、またはグルタルアルデヒド等の化学架橋剤）を含んでもよい。したがって、単鎖結合分子は、本発明に従って、好ましくは少なくとも2つの結合ドメインを結合するための非ペプチドリinkerを含んでもよい。また、本発明に沿って、本明細書に定義されたペプチドリinkerでもある。

20

【0063】

「抗体」という用語の定義は、モノクローナル、キメラ、単鎖、ヒト化およびヒト抗体、ならびに、特にFabフラグメントのような抗体フラグメント等の態様を含む。抗体フラグメントまたは誘導体はさらに、 $F(ab')_2$ 、Fv、scFvフラグメントまたは単一ドメイン抗体、例えばドメイン抗体またはナノボディ、他のV領域またはドメインから独立して抗原またはエピトープに特異的に結合するVHH、VHまたはVLであり得る唯一の可変ドメインを含む単一可変ドメイン抗体または免疫グロブリン単一可変ドメインを含む；例えば、Harlow and Lane (1988) and (1999), loc. cit.; Kontermann and Dubel, Antibody Engineering, Springer, 2nd ed. 2010およびLittle, Recombinant Antibodies for Immunotherapy, Cambridge University Press 2009を参照のこと。そのような免疫グロブリン単一可変ドメインは、単離された抗体単一可変ドメインポリペプチドだけでなく、抗体単一可変ドメインポリペプチド配列の1つまたは複数の単量体を含むより大きなポリペプチドも含む。

30

【0064】

上述の定義に沿う一価抗体フラグメントは、本発明に関して、結合ドメインの態様を表す。そのような一価抗体フラグメントは特定の抗原に結合し、「抗原結合ドメイン」、「抗原結合フラグメント」または「抗体結合領域」とも称され得る。

【0065】

この定義の下、抗体という用語についての上記態様の全ては、「抗体構築物」という用語に包含され得る。この用語はまた、ダイアボディ（diabodies）またはDual-Affinity Re-Targeting（DART）抗体を含む。さらに、（二重特異性）単鎖ダイアボディ、タンデムダイアボディ（Tandab's）、以下の構造： $(VH-VL-CH3)_2$ 、 $(scFv-CH3)_2$ または $(scFv-CH3-scFv)_2$ によって例示される「ミニボディ」、「Fc DART」抗体および「IgG DART」抗体、ならびにマルチボディ、例えばトリアボディ（triabodies）が想定されている。免疫グロブリン単一可変ドメインは、単離された抗体単一可変ドメインポリペプチドだけでなく、抗体単一可変ドメインポリペプチド配列の1つまたは複数の単量体を含むより大きなポリペプチドも含む。

40

【0066】

そのような抗体構築物（抗体および／またはフラグメント）の製造に関しては様々な手法が当技術分野で公知であり、かつ使用され得る。したがって、（抗体）誘導体は、ペプ

50

チド模倣体によって製造され得る。さらに、単鎖抗体の製造に関して記載された技術（特に、米国特許第4,946,778号、Kontermann and Dubel (2010), loc. cit. およびLittle (2009), loc. cit.を参照のこと）を、選択されたポリペプチドに特異的な単鎖抗体を製造するために適合させることができる。また、トランスジェニック動物が、本発明のポリペプチドおよび融合タンパク質に特異的なヒト化抗体を発現させるために使用され得る。モノクローナル抗体の調製については、継続的な細胞株の培養によって産生される抗体を提供する任意の技術が使用され得る。そのような技術の例は、ハイブリドーマ技術（Kohler and Milstein Nature 256 (1975), 495-497）、トリオーマ技術、ヒトB細胞ハイブリドーマ技術（Kozbor, Immunology Today 4 (1983), 72）およびヒトモノクローナル抗体を製造するEBVハイブリドーマ技術（Cole et al., Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy, Alan R. Liss, Inc. (1985), 77-96）を含む。BIAcoreシステムで用いられる表面プラズモン共鳴は、標的ポリペプチド、例えばCD3イプシロンのエピトープに結合するファージ抗体の効率を高めるために使用され得る（Schier, Human Antibodies Hybridomas 7 (1996), 97-105; Malmborg, J. Immunol. Methods 183 (1995), 7-13）。本発明との関係で、「抗体」という用語は、本明細書の以下に記載される宿主において発現され得る抗体構築物、例えば、特にウイルスまたはプラスミドベクターを通じてトランスフェクトおよび/または形質導入され得る抗体構築物を含むことも想定されている。

【0067】

さらに、本明細書で用いられる「抗体」という用語はまた、記載されている抗体と同じ特異性を示す本明細書に記載される抗体の誘導体または変種に関する。「抗体変種」の例として、非ヒト抗体のヒト化変種、「親和性成熟」抗体（例えば、Hawkins et al. J. Mol. Biol. 254, 889-896 (1992)およびLowman et al., Biochemistry 30, 10832-10837 (1991)を参照）、および改変されたエフェクター機能を有する抗体変異体（例えば、米国特許第5,648,260号、Kontermann and Dubel (2010)、前掲、およびLittle(2009)、前掲を参照）が挙げられる。

【0068】

「抗原結合ドメイン」、「抗原結合フラグメント」および「抗体結合領域」という用語は、本明細書で使用される場合、抗体と抗原の間の特異的結合を担うアミノ酸を含む抗体分子の一部分を表す。抗体によって特異的に認識および結合される抗原の一部分は、本明細書上記のように「エピトープ」と称される。上記のように、抗原結合ドメインは、典型的に、抗体軽鎖可変領域（VL）および抗体重鎖可変領域（VH）を含み得るが；両方を含んでいなければならないわけではない。例えば、Fdフラグメントは、2つのVH領域を有し、多くの場合、インタクトな抗原結合ドメインの抗原結合機能のある程度保持している。抗体の抗原結合フラグメントの例は、（1）VL、VH、CLおよびCH1ドメインを有する1価のフラグメントである、Fabフラグメント；（2）ヒンジ領域におけるジスルフィド架橋によって連結されている2つのFabフラグメントを有する2価のフラグメントである、F(ab')₂フラグメント；（3）2つのVHおよびCH1ドメインを有する、Fdフラグメント；（4）抗体の1つのアームのVLおよびVHドメインを有する、Fvフラグメント、（5）VHドメインを有する、dAbフラグメント（Ward et al., (1989) Nature 341: 544-546）；（6）単離された相補性決定領域（CDR）、ならびに（7）単鎖Fv（scFv）を含む。Fvフラグメントの2つのドメインであるVLおよびVHは別個の遺伝子によってコードされるが、それらは、組み換え法を用いて合成リンカーによって接続し、VLおよびVH領域が対になり1価分子を形成する単一のタンパク質鎖（単鎖Fv（scFv））として公知；例えば、Huston et al. (1988) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85: 5879-5883を参照のこと）として生成することができる。これらの抗体フラグメントは、当業者に公知の従来技術を用いて取得され、そしてそのフラグメントはインタクトな抗体と同じ様式で機能について評価される。

【0069】

（合成）リンカーが使用される場合、このリンカーは、好ましくは、第1および第2のドメインの各々が互いに独立してそれらの異なる結合特異性を保持することができることを保証するのに十分な長さおよび配列のものである。最も好ましくはおよび付属の実施例で

実証されているように、本発明の抗体構築物は「二重特異性単鎖抗体構築物」、より好ましくは二重特異性単鎖Fv (scFv) である。二重特異性単鎖分子は当技術分野で公知であり、WO 99/54440、Mack, J. Immunol. (1997), 158, 3965-3970、Mack, PNAS, (1995), 92, 7021-7025、Kufer, Cancer Immunol. Immunother., (1997), 45, 193-197、Loffler, Blood, (2000), 95, 6, 2098-2103、Bruhl, Immunol., (2001), 166, 2420-2426、Kipriyanov, J. Mol. Biol., (1999), 293, 41-56に記載されている。本発明に関して、二重特異性単鎖分子であるCD33標的化合物の一例は、添付の実施例においても用いられている、AMG330である。

【0070】

本明細書に記載される抗体構築物に含まれる可変ドメインは、追加のリンカー配列によって連結され得る。「ペプチドリンカー」という用語は、本発明にしたがい、本発明の抗体構築物の第1のドメインおよび第2のドメインのアミノ酸配列を相互に連結するアミノ酸配列を定義する。そのようなペプチドリンカーの必須の技術的特徴は、このペプチドリンカーがいかなる重合活性も含まないということである。ペプチドリンカーに好ましいアミノ酸残基はGly、Ser、およびThrを含み、5~25アミノ酸残基長によって特徴づけられる。特に適当なペプチドリンカーは、米国特許第4,751,180号および同第4,935,233号またはWO 88/09344に記載されるものである。ペプチドリンカーの好ましい態様は、アミノ酸配列Gly-Gly-Gly-Gly-Ser、すなわちGly₄Ser、またはそのポリマー、すなわち(Gly₄Ser)_xによって特徴づけられ、ここでxは1またはそれより大きい整数である。2次構造の促進の非存在を含むペプチドリンカーの特徴は当技術分野で公知であり、例えばDall'Acqua et al. (Biochem. (1998) 37, 9266-9273)、Cheadle et al. (Mol Immunol (1992) 29, 21-30)およびRaag and Whitlow (FASEB (1995) 9(1), 73-80)に記載されている。いかなる2次構造も促進しないペプチドリンカーが好ましい。ドメインの相互に対する連結は、例えば、実施例に記載されるような遺伝子工学によって提供され得る。融合され機能的に連結された二重特異性単鎖構築物を調製しそれらを哺乳動物細胞または細菌において発現させる方法は、当技術分野で周知である(例えば、WO 99/54440またはSambrook et al., Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, New York, 2001)。

【0071】

本発明の抗体構築物において少なくとも2つの結合ドメインを連結するペプチドリンカーの場合、数個のアミノ酸残基、例えば12アミノ酸残基またはそれ未満しか含まないペプチドリンカーが好ましい。したがって、12、11、10、9、8、7、6または5アミノ酸残基のペプチドリンカーが好ましい。5アミノ酸未満を有する想定されるペプチドリンカーは、4、3、2または1アミノ酸を含み、Glyリッチリンカーが好ましい。「ペプチドリンカー」との関係で言う特定の好ましい「単一」のアミノ酸は、Glyである。したがって、ペプチドリンカーは、単一のアミノ酸Glyからなり得る。

【0072】

本明細書で使用される「モノクローナル抗体」という用語は、実質的に均質な抗体の集団から得られる抗体を表す、すなわち、その集団を構成している個々の抗体が、微量で存在し得る潜在的な自然変異および/または翻訳後修飾(例えば、異性化、アミド化)を除いて同一である。モノクローナル抗体は、高度に特異的であり、単一の抗原部位に対して向けられている。さらに、典型的に異なる決定基(エпитープ)に対して向けられた異なる抗体を含む従前の(ポリクローナル)抗体調製物と対照的に、各モノクローナル抗体は、抗原上の単一の決定基に対して向けられている。それらの特異性に加えて、モノクローナル抗体は、それらが他の免疫グロブリンの混入していないハイブリドーマ培養物によって合成されるという利点がある。「モノクローナル」という修飾語は、実質的に均質な抗体集団から得られるという抗体の特徴を示しており、その抗体が任意の特定の方法によって製造されることを必要とするものと解釈されるべきではない。例えば、本発明にしたがい使用されるモノクローナル抗体は、Kohler et al., Nature 256: 495 (1975)によって最初に記載されたハイブリドーマ法によって作製され得、または、組み換えDNA法(例え

ば、米国特許第4,816,567号を参照のこと)によって作製され得る。「モノクローナル抗体」はまた、例えば、Clackson et al., Nature, 352: 624-628 (1991)およびMarks et al., J. Mol. Biol., 222: 581-597 (1991)に記載される技術を用いて、ファージ抗体ライブラリから単離され得る。

【0073】

「ヒト抗体」という用語は、例えばKabatら (Kabat et al. (1991) loc. cit.を参照のこと)によって記載されたものを含む、当技術分野で公知のヒト生殖系列免疫グロブリン配列に実質的に対応する可変および定常領域を有する抗体を含む。本発明のヒト抗体は、例えばCDRに、特にCDR3に、ヒト生殖系列免疫グロブリン配列によってコードされないアミノ酸残基(例えば、インビトロでの無作為もしくは部位特異的変異誘発によってまたはインビボでの体細胞変異によって導入される変異)を含み得る。ヒト抗体は、ヒト生殖系列免疫グロブリン配列によってコードされないアミノ酸残基で置き換えられた、少なくとも1つ、2つ、3つ、4つ、5つまたはそれ以上の位置を有し得る。本明細書で使用されるヒト抗体の定義は、ゼノマウスなどのシステムを用いる技術を使用することによって導かれるものなどの抗体の非人工的かつ/または遺伝学的に改変されたヒト配列のみを含む完全ヒト抗体も意図していることが、強調される。

【0074】

「抗体変種」の例は、非ヒト抗体のヒト化変種、「親和性成熟」抗体(例えば、Hawkins et al., J. Mol. Biol. 254, 889-896 (1992)およびLowman et al., Biochemistry 30, 10832-10837 (1991)を参照のこと)およびエフェクター機能が変更された抗体変異体(例えば、米国特許第5,648,260号、Kontermann and Dubel (2010), loc. cit.およびLittle (2009), loc. cit.を参照のこと)を含む。

【0075】

本明細書で使用される場合、「インビトロ生成された抗体」は、可変領域(例えば、少なくとも1つのCDR)のすべてまたは一部分が非免疫細胞選択(例えば、インビトロファージディスプレイ、タンパク質チップまたは候補配列をそれらの抗原結合能力について試験することができる任意のその他の方法)によって生成された抗体を表す。したがってこの用語は、好ましくは、免疫細胞内での遺伝子の再配置によって生成される配列を排除する。

【0076】

VHおよびVLの対は共同で1つの抗原結合部位を形成する。VHに最も近いCHドメインはCH1と呼ばれる。各L鎖は、1つの共有結合的ジスルフィド結合によってH鎖に連結され、2つのH鎖は、H鎖のアイソタイプに依存して、1つまたは複数のジスルフィド結合によって相互に連結される。VHおよびVLドメインは、フレームワーク領域と呼ばれる4つの比較的保存された配列の領域(FR1、FR2、FR3およびFR4)からなり、これらが3つの超可変配列の領域(相補性決定領域、CDR)のスキヤホールドを形成する。CDRは、抗体と抗原の特異的相互作用を担う残基の大部分を含んでいる。CDRは、CDR1、CDR2およびCDR3と称される。したがって、重鎖のCDR要素はH1、H2およびH3と称され、軽鎖のCDR要素はL1、L2およびL3と称される。

【0077】

「可変」という用語は、それらの配列における可変性(variability)を示し、個々の抗体の特異性および結合親和性の決定に関与する、免疫グロブリンドメインの一部(すなわち、「可変ドメイン」)を表す。可変性は、抗体の可変ドメイン全体に均一に分布しているのではなく;それは重鎖および軽鎖の各々の可変領域の部分ドメインに集中している。これらの部分ドメインは、「超可変」領域または「相補性決定領域」(CDR)と呼ばれる。可変ドメインのより保存された(非超可変)部分は、「フレームワーク」領域(FRM)と呼ばれる。天然に存在する重鎖および軽鎖の可変ドメインは各々、大部分がβシート配置をとっている4つのFRM領域を含んでおり、これらが、ループ接続を形成し、いくつかの例ではβシート構造の一部を形成する3つの超可変領域によって接続されている。各鎖の超可変領域は、FRMによって近接状態になってまとめられて保持されており、他の鎖

の超可変領域と共に、抗原結合部位の形成に寄与している (Kabat et al., loc. cit.を参照のこと)。定常ドメインは、抗原結合に直接関与しないが、様々なエフェクター機能、例えば抗体依存的細胞媒介細胞毒性および補体活性化、を示す。

【0078】

「CDR」という用語およびその複数形は、相補性決定領域 (CDR)を表し、そのうちの3つが軽鎖可変領域の結合特性を構成し (CDRL1、CDRL2およびCDRL3)、3つが重鎖可変領域の結合特性を構成する (CDRH1、CDRH2およびCDRH3)。CDRは、抗体分子の機能的活性に寄与し、スキャホールドまたはフレームワーク領域を含むアミノ酸配列によって分断されている。厳密なCDRの境界および長さは、分類および番号付け体系によって異なる。したがってCDRは、本明細書に記載される番号付け体系を含む、Kabat、Chothia、接触 (contact) または任意のその他の境界の定義によって表され得る。境界が異なるとしても、これらの体系の各々は、可変配列内のいわゆる「超可変領域」を構成する部分に関してある程度重複している。したがって、これらの体系にしたがうCDRの定義は、長さおよび隣接するフレームワーク領域との境界領域の点で異なり得る。例えば、Kabat、Chothiaおよび/またはMacCallum (Kabat et al., loc. cit.; Chothia et al., J. Mol. Biol, 1987, 196: 901; およびMacCallum et al., J. Mol. Biol, 1996, 262: 732)を参照のこと。しかし、いわゆるKabat体系にしたがう番号付けが好ましい。軽鎖のCDR3および特に重鎖のCDR3は、軽鎖および重鎖可変領域内での抗原結合において最も重要な決定要因を構成し得る。いくつかの抗体構築物では、重鎖CDR3が、抗原と抗体の間の主要接触領域を構成するようである。抗体の結合特性を変化させるためおよびどの残基が抗原の結合に寄与するかを決定するために、CDR3のみを変化させるインピット口選択スキームが使用され得る。

【0079】

「から本質的になる」は、そのアミノ酸配列が、言及されているSEQ ID NO:の配列に対して約1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14または15%異なり得、かつそれでもなお本明細書に記載される生物学的活性を保持し得ることを意味する。

【0080】

いくつかの態様において、本明細書に記載される結合分子は、単離されたタンパク質または実質的に純粋なタンパク質である。「単離」されたタンパク質は、それがその自然状態では通常付随している物質の少なくともいくつかを伴わない、例えば、所与の試料において総タンパク質の少なくとも約5重量%または少なくとも約50重量%を構成する。単離されたタンパク質は、その環境に依存して総タンパク質含量の5~99.9重量%を構成し得ることが理解される。例えば、タンパク質は、そのタンパク質が高濃度レベルで生成されるよう、誘導性プロモーターまたは高発現プロモーターの使用を通じて有意に高い濃度で生成され得る。この定義は、当技術分野で公知の幅広い生物および/または宿主細胞における抗原結合タンパク質の産生を含む。

【0081】

アミノ酸配列に関して、配列同一性および/または類似性は、Smith and Waterman, 1981, Adv. Appl. Math. 2:482の部分配列同一性アルゴリズム、Needleman and Wunsch, 1970, J. Mol. Biol. 48:443の配列同一性アラインメントアルゴリズム、Pearson and Lipman, 1988, Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A. 85:2444の類似性検索法、これらのアルゴリズムのコンピュータによる実行 (Wisconsin Genetics Software Package, Genetics Computer Group, 575 Science Drive, Madison, Wis.のGAP、BESTFIT、FASTAおよびTFASTA)、Devereux et al., 1984, Nucl. Acid Res. 12:387-395により記載された、好ましくはデフォルト設定を使用するBest Fit配列プログラムを含むがこれらに限定されない当技術分野で公知の標準的技術を使用することによってまたは目視によって決定される。好ましくは、パーセント同一性は、以下のパラメータに基づきFastDBによって計算される: ミスマッチペナルティー 1; ギャップペナルティー 1; ギャップサイズペナルティー 0.33; および接続ペナルティー (joining penalty) 30、"Current Methods in Sequence Comparison and Analysis", Macromolecule Sequencing and Synthesis, Selected Methods and Applications, pp 127-149 (1988), Alan R. Liss, Inc.

【0082】

有用なアルゴリズムの例はPILEUPである。PILEUPは、プログレッシブ、ペアワイズなアラインメントを使用して関連配列群から複数の配列アラインメントを生成する。それはまた、アラインメントを生成するために使用されたクラスター化関係を示すツリーをプロットすることができる。PILEUPは、Feng & Doolittle, 1987, J. Mol. Evol. 35:351-360のプログレッシブアラインメント法の簡易版を使用する；この方法はHiggins and Sharp, 1989, CABIOS 5:151-153により記載されたものに類似する。有用なPILEUPパラメータは、デフォルトギャップウェイト 3.00、デフォルトギャップ長ウェイト 0.10およびウェイトドエンドキャップ (weighted end gap) を含む。

【0083】

有用なアルゴリズムの別の例は、Altschul et al., 1990, J. Mol. Biol. 215:403-410 ; Altschul et al., 1997, Nucleic Acids Res. 25:3389-3402; およびKarin et al., 1993, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 90:5873-5787に記載されるBLASTアルゴリズムである。特に有用なBLASTプログラムは、Altschul et al., 1996, Methods in Enzymology 266:460-480から得られたWU-BLAST-2プログラムである。WU-BLAST-2は、いくつかの検索パラメータを使用し、その大部分はデフォルト値に設定される。調整可能なパラメータは、以下の値に設定される：オーバーラップスパン=1、オーバーラップフラクション=0.125、ワードしきい値 (T) = 11。HSP SおよびHSP S2パラメータは動的な値であり、個々の配列の組成および関心対象の配列を検索する特定のデータベースの組成に依存してプログラム自体によって決定されるが；この値は感度を高めるために調節され得る。

【0084】

さらなる有用なアルゴリズムは、Altschul et al., 1993, Nucl. Acids Res. 25:3389-3402によって報告されたギャップドBLASTである。ギャップドBLASTは、BLOSUM-62置換スコアを使用し；しきい値Tパラメータは9に設定され；ギャップなし伸長をもたらすツープヒット法は、ギャップ長kに10+kのコストをかけ；Xuは16に設定され、そしてXgはデータベース検索段階では40におよびアルゴリズムの出力段階では67に設定される。ギャップありアラインメントは、約22ビットに相当するスコアによってもたらされる。

【0085】

一般に、個々の変種CDR間のアミノ酸相同性、類似性または同一性は、本明細書に示される配列に対して少なくとも80%であり、より典型的には少なくとも85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%およびほぼ100%の好ましくは高い相同性または同一性を有する。同様の様式で、本明細書で特定される結合タンパク質の核酸配列に関する「パーセント (%) 核酸配列同一性」は、抗原結合タンパク質のコード配列内のヌクレオチド残基と同一である候補配列内のヌクレオチド残基の百分率と定義される。特定の方法は、オーバーラップスパンおよびオーバーラップフラクションがそれぞれ1および0.125に設定されたデフォルトパラメータに設定されたWU-BLAST-2のBLASTNモジュールを利用する。

【0086】

一般に、個々の変種CDRをコードするヌクレオチド配列と本明細書に示されるヌクレオチド配列の間の核酸配列相同性、類似性または同一性は、少なくとも80%であり、より典型的には少なくとも80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%または99%およびほぼ100%の好ましくは高い相同性または同一性である。

【0087】

したがって、「変種CDR」は、本発明の親CDRに対して指定された相同性、類似性または同一性を有するものであり、かつ親CDRの特異性および/または活性の少なくとも80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%または99%を含むがこれらに限定されない生物学的機能を共有している。

【0088】

アミノ酸配列変化を導入する部位または領域は予め決定されるが、その変異自体は予め決定される必要がない。例えば、所与の部位における変異の挙動を最適化するために、無作為変異誘発が標的コドンまたは領域において実施され得、そして発現された抗原結合タンパク質CDR変種が所望の活性の最適な組み合わせに関してスクリーニングされ得る。既知配列を有するDNA内の予め決定された部位において置換変異を行う技術は周知であり、例えばM13プライマー変異誘発およびPCR変異誘発がある。変異体のスクリーニングは、抗原結合タンパク質活性、例えば標的細胞上の選択された細胞表面分子に対する結合のアクセシビリティを用いて行われる。

【0089】

「アミノ酸」または「アミノ酸残基」という用語は、典型的に、その当技術分野で知られている定義を有するアミノ酸、例えば、アラニン (AlaまたはA) ; アルギニン (ArgまたはR) ; アスパラギン (AsnまたはN) ; アスパラギン酸 (AspまたはD) ; システイン (CysまたはC) ; グルタミン (GlnまたはQ) ; グルタミン酸 (GluまたはE) ; グリシン (GlyまたはG) ; ヒスチジン (HisまたはH) ; イソロイシン (IleまたはI) ; ロイシン (LeuまたはL) ; リジン (LysまたはK) ; メチオニン (MetまたはM) ; フェニルアラニン (PheまたはF) ; プロリン (ProまたはP) ; セリン (SerまたはS) ; スレオニン (ThrまたはT) ; トリプトファン (TrpまたはW) ; チロシン (TyrまたはY) ; およびバリン (ValまたはV) からなる群より選択されるアミノ酸を表すが、望ましい場合は修飾、合成または希少アミノ酸も使用され得る。一般に、アミノ酸は、非極性側鎖 (例えば、Ala、Cys、Ile、Leu、Met、Phe、Pro、Val) ; 負荷電側鎖 (例えば、Asp、Glu) ; 正荷電側鎖 (例えば、Arg、His、Lys) ; または非荷電極性側鎖 (例えば、Asn、Cys、Gln、Gly、His、Met、Phe、Ser、Thr、TrpおよびTyr) を有する点でグループ化され得る。

【0090】

「超可変領域」という用語 (「相補性決定領域」またはCDRとしても公知) は、本明細書で使用される場合、抗原結合部位を形成しかつ抗原特異性の主要決定基である、免疫グロブリンのV領域ドメイン内の (通常、極めて高い配列可変性を示す3つまたは4つの短い領域である) 抗体のアミノ酸残基を表す。CDR残基を同定する方法は少なくとも2つ存在する: (1) 種間配列可変性に基づくアプローチ (すなわち、Kabat et al., loc. cit.) ; および (2) 抗原・抗体複合体の結晶学研究に基づくアプローチ (Chothia C. et al., J. Mol. Biol. 196: 901-917 (1987))。しかし、2つの残基同定技術が同一領域ではない重複する領域を定義する程度まで、それらを、ハイブリッドCDRを定義するために組み合わせることができる。しかし、一般に、CDR残基は、好ましくは、いわゆるKabat (番号付け) 体系にしたがい同定される。

【0091】

「フレームワーク領域」という用語は、よりばらつきのある (すなわち、超可変性の) CDRの間に存在する、抗体可変領域の当技術分野で知られている部分を表す。そのようなフレームワーク領域は、典型的に、フレームワーク1~4 (FR1、FR2、FR3およびFR4) と称され、6つのCDR (重鎖の3つおよび軽鎖の3つ) を3次元空間に提示し抗原結合表面を形成するためのスキャホールドを提供する。

【0092】

典型的に、CDRは、カノニカル構造に分類され得るループ構造を形成する。「カノニカル構造」という用語は、抗原結合 (CDR) ループによって採用される主鎖の立体構造を表す。多くの構造研究により、6つの抗原結合ループのうちの5つは、利用可能な立体構造に関して限られたレパートリーしか有さないことが見出された。各カノニカル構造は、ポリペプチド骨格のねじれ角によって特徴づけることができる。したがって抗体間で対応するループは、それらのループの大部分において高度のアミノ酸配列可変性がみられるにもかかわらず、非常によく似た3次元構造を有し得る (各々全体が参照により本明細書に組み入れられる、Chothia and Lesk, J. Mol. Biol., 1987, 196: 901; Chothia et al., Nature, 1989, 342: 877; Martin and Thornton, J. Mol. Biol., 1996, 263: 800)。さらに、採用されるループ構造とその周囲のアミノ酸配列の間に関連性がある。特定のカノニカ

ルクラスの立体構造は、ループの長さならびにそのループ内および保存されたフレームワーク内（すなわち、ループ外）の鍵となる位置に存在するアミノ酸残基によって決定される。したがって、特定のカノニカルクラスへの割り当ては、これらの鍵となるアミノ酸残基の存在に基づいてなされ得る。「カノニカル構造」という用語はまた、例えばKabatによるカタログ（Kabat et al., loc. cit.）にあるように、抗体の直線配列に対する考慮を含み得る。Kabatの番号付けスキーム（体系）は、抗体可変ドメインのアミノ酸残基の番号付けを共通の様式で行うために広く採用されている標準であり、本明細書の他所でも述べられているように本発明に適用される好ましいスキームである。さらなる構造の考慮も、抗体のカノニカル構造を決定するために使用され得る。例えば、Kabatの番号付けによっては十分に反映されない違いは、Chothiaらの番号付け体系によって説明され得および/またはその他の技術、例えば結晶学および2次元もしくは3次元コンピューターモデリング、によって明らかにされ得る。したがって、所定の抗体配列は、（例えば、様々なカノニカル構造をライブラリに含めたいという要望に基づき）特に適当なシャーシ（chassis）配列を見出すことができるカノニカルクラスに分類され得る。抗体のアミノ酸配列のKabatの番号付けおよびChothia et al., loc. cit.により記載される構造の考慮ならびに抗体構造のカノニカルな局面を解釈するためのそれらの含意は、文献に記載されている。

【0093】

CDR3は、典型的に、抗体結合部位における分子的多様性の最大の供給源である。例えば、H3は、2つのアミノ酸残基という短いものまたは26アミノ酸より大きなものであり得る。様々なクラスの免疫グロブリンのサブユニット構造および3次元構造が、当技術分野で周知である。抗体構造の見直しをする際には、Antibodies: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory, eds. Harlow et al., 1988を参照されたい。当業者は、各サブユニット構造、例えばCH、VH、CL、VL、CDR、FR構造が、活性フラグメント、例えば抗原に結合するVH、VLもしくはCDRサブユニットの一部分、すなわち抗原結合フラグメント、または例えば、例えばFc受容体および/もしくは補体に結合するおよび/もしくはこれを活性化するCHサブユニットの一部分、を含むことを理解しているであろう。CDRは、典型的に、Sequences of Proteins of immunological Interest, US Department of Health and Human Services (1991), eds. Kabat et al.に記載されるようなKabat CDRを表す。抗原結合部位を特徴づける別の標準は、Chothiaによって記載される超可変ループを参照することである。例えば、Chothia, et al. (1987; J. Mol. Biol. 227: 799-817) ; およびTomlinson et al. (1995) EMBO J. 14: 4628-4638を参照のこと。さらに別の標準は、Oxford MolecularのAbM抗体モデリングソフトウェアによって使用されるAbM定義である。例えば、概要については、Protein Sequence and Structure Analysis of Antibody Variable Domains. In: Antibody Engineering Lab Manual (Ed.: Duebel, S. and Kontermann, R., Springer-Verlag, Heidelberg)を参照のこと。Kabat CDRに基づいて説明される態様は、代替的に、Chothia超可変ループまたはAbM定義のループに基づいて同様に説明される関係を用いて実施され得る。

【0094】

アセンブリおよび体細胞変異後の抗体遺伝子の配列は高度に多様化しており、これらの多様化した遺伝子は 10^{10} 個の異なる抗体分子をコードすると見積もられる（Immunoglobulin Genes, 2nd ed., eds. Jonio et al., Academic Press, San Diego, CA, 1995）。免疫系はそのようにして免疫グロブリンのレパートリーを提供する。「レパートリー」という用語は、少なくとも1つの免疫グロブリンをコードする少なくとも1つの配列から全体がまたは一部が派生した少なくとも1つのヌクレオチド配列を表す。これらの配列は、インビボでの重鎖のV、DおよびJセグメントならびに軽鎖のVおよびJセグメントの再配置によって生成され得る。あるいは、これらの配列は、再配置を起こさせるもの、例えばインビトロ刺激、に応じて細胞から生成され得る。あるいは、これらの配列の一部またはすべてが、DNAスプライシング、ヌクレオチド合成、変異誘発およびその他の方法によって取得され得る、例えば、米国特許第5,565,332号を参照のこと。レパートリーは、1つのみの配列を含み得、または、遺伝的に多様なコレクションの配列を含む複数の配列を含み得る。

【0095】

本明細書に記載されるCD33標的化合物は、標的細胞上の細胞表面分子CD33およびT細胞の細胞表面上のCD3に結合するその機能とは別に、追加の機能を有し得る。この形式で、化合物は、標的細胞の細胞表面上のCD33への結合を通じて細胞を標的化し、CD3結合を通じて細胞毒性T細胞活性を媒介し、かつさらなる機能、例えばNK細胞のようなエフェクター細胞の動員を通じた完全機能性Fc定常ドメイン媒介抗体依存細胞毒性、アルブミン結合ドメインまたは抗体依存細胞毒性を欠くが化合物の分子量を増大する改変Fc定常ドメインなどの半減期伸長ドメイン、標識（蛍光等）の仲介、治療剤、例えば毒素もしくは放射性核種および/または血清半減期を増強する手段等を提供することによる多機能性化合物である。

10

【0096】

「エピトープ」という用語は、結合ドメイン、例えば抗体もしくは免疫グロブリンまたは抗体もしくは免疫グロブリンの誘導体もしくはフラグメント、が特異的に結合する抗原上の部位を表す。「エピトープ」は抗原性であり、したがってエピトープという用語は本明細書において「抗原性構造」または「抗原性決定基」を表すこともある。したがって、結合ドメインは、「抗原相互作用部位」である。この結合/相互作用はまた、「特異的認識」を定義することが理解されている。1つの例において、標的細胞上の細胞表面分子上のCD33およびCD3の所定の標的エピトープまたは所定の標的部位に（特異的に）結合/相互作用する結合ドメインは抗体または免疫グロブリンであり、そして結合ドメインは抗体または免疫グロブリンのVHおよび/またはVL領域である。

20

【0097】

「エピトープ」は、連続アミノ酸またはタンパク質の3次元折り畳みによって近接することになる非連続アミノ酸の両方によって形成され得る。「直線状エピトープ」は、アミノ酸の1次配列が認識されるエピトープを含んでいるエピトープである。直線状エピトープは、典型的に、特有の配列内に、少なくとも3つまたは少なくとも4つ、およびより一般には少なくとも5つまたは少なくとも6つまたは少なくとも7つ、例えば約8～約10のアミノ酸を含む。

【0098】

「立体構造エピトープ」は、直線状エピトープに対して、エピトープを含むアミノ酸の1次配列が、認識されるエピトープの唯一の定義要素ではないエピトープ（例えば、アミノ酸の1次配列が必ずしも結合ドメインによって認識されないエピトープ）である。典型的に、立体構造エピトープは、直線状エピトープよりも多数のアミノ酸を含む。立体構造エピトープの認識に関して、結合ドメインは、抗原、好ましくはペプチドもしくはタンパク質またはそれらのフラグメント、の3次元構造を認識する（本発明においては、結合ドメインの1つに対する抗原が標的細胞上の細胞表面分子内に含まれている）。例えば、タンパク質分子が折り畳まれ3次元構造が形成される場合、立体構造エピトープを形成する特定のアミノ酸および/またはポリペプチド骨格は近接した状態になり、それによって抗体がそのエピトープを認識できるようになる。エピトープの立体構造を決定する方法は、x線結晶解析、2次元核磁気共鳴（2D-NMR）分光分析および部位特異的スピンラベルおよび電子常磁性共鳴（EPR）分光分析を含むがこれらに限定されない。さらに、提供される実施例には、所定の結合ドメインが所定のタンパク質、特に標的細胞上の細胞表面分子の1つまたは複数のエピトープクラスターに結合するかどうかについての試験を含むピニングとして所定の結合ドメインを特徴づけるための、さらなる方法が記載されている。

30

40

【0099】

本明細書で使用される場合、「エピトープクラスター」という用語は、所定の連続する抗原ストレッチの中に存在するエピトープの全体を示す。エピトープクラスターは、1つ、2つまたはそれ以上のエピトープを含み得る。エピトープクラスターという概念は、本発明の結合分子の特性を特徴づける際にも使用される。

【0100】

「結合する（ことができる）」、「特異的に認識する」、「向けられる」および「反応

50

する」という用語は、本発明にしたがい、結合ドメインが、エピトープの1つまたは複数、好ましくは少なくとも2つ、より好ましくは少なくとも3つ、最も好ましくは少なくとも4つのアミノ酸と特異的に相互作用できることを意味する。

【0101】

本明細書で使用される場合、「特異的に相互作用する」または「特異的に結合する」という用語は、結合ドメインが特定のタンパク質または抗原に対して感知できる親和性を示し、そして通常、CD33またはCD3以外のタンパク質または抗原に対して有意な反応性を示さないことを意味する。「感知できる親和性」は、約 10^{-6} M (KD) またはそれより強い親和性の結合を含む。好ましくは、結合は、結合親和性が約 $10^{-12} \sim 10^{-8}$ M、 $10^{-12} \sim 10^{-9}$ M、 $10^{-12} \sim 10^{-10}$ M、 $10^{-11} \sim 10^{-8}$ M、好ましくは約 $10^{-11} \sim 10^{-9}$ Mである場合に特異的とみなされる。結合ドメインが標的に特異的に反応または結合するかどうかは、特に、標的タンパク質または抗原に対するその結合ドメインの反応を、CD33またはCD3以外のタンパク質または抗原に対するその結合ドメインの反応と比較することによって、容易に試験することができる。好ましくは、本発明の結合ドメインは、CD33またはCD3以外のタンパク質または抗原に本質的に結合しないまたは結合できない（すなわち、第1の結合ドメインは、CD33以外のタンパク質に結合できず、第2の結合ドメインは、CD3以外のタンパク質に結合できない）。

【0102】

「本質的に結合しない」または「結合できない」という用語は、本発明の結合ドメインが、CD33またはCD3以外の別のタンパク質または抗原に結合しない、すなわち、CD33またはCD3のそれぞれに対する結合を100%として、CD33またはCD3以外のタンパク質または抗原に対して30%超、好ましくは20%超、より好ましくは10%超、特に好ましくは9%、8%、7%、6%または5%超の反応性を示さないことを意味する。

【0103】

特異的な結合は、結合ドメインおよび抗原のアミノ酸配列内の特定のモチーフによってもたらされると考えられる。したがって、結合は、それらの1次、2次および/または3次構造の結果としてならびにこれらの構造の2次的修飾の結果として達成される。抗原相互作用部位とその特異的抗原との特異的相互作用は、抗原に対する該部位の単なる結合をもたらし得る。さらに、抗原相互作用部位とその特異的抗原との特異的相互作用は、代替的にまたは付加的に、例えば抗原の立体構造の変化の誘導、抗原のオリゴマー化等により、シグナルを開始させ得る。

【0104】

タンパク質（通常30未満のアミノ酸を有する、そのフラグメント、好ましくは生物学的に活性なフラグメント、およびペプチドを含む）は、共有結合的ペプチド結合を通じて相互に連結された（それによってアミノ酸の鎖を形成する）1つまたは複数のアミノ酸を含む。本明細書で使用される「ポリペプチド」という用語は、30超のアミノ酸からなる分子のグループを表す。ポリペプチドはさらに、多量体、例えば2量体、3量体およびより高次のオリゴマーを形成し得る、すなわち、2つ以上のポリペプチド分子からなり得る。そのような2量体、3量体等を形成するポリペプチド分子は、同一または非同一であり得る。その結果、そのような多量体の対応する高次構造は、ホモまたはヘテロ2量体、ホモまたはヘテロ3量体等と称される。ヘテロ多量体の例は、その天然形態において、2つの同一の軽ポリペプチド鎖および2つの同一の重ポリペプチド鎖からなる抗体分子である。「ポリペプチド」および「タンパク質」という用語はまた、例えばグリコシル化、アセチル化、リン酸化等のような翻訳後修飾による修飾がなされた天然修飾ポリペプチド/タンパク質を表す。本明細書における「ポリペプチド」はまた、化学修飾、例えばペグ化されたものであり得る。そのような修飾は、当技術分野で周知である。

【0105】

本明細書に開示されるCD33標的化合物を説明するために使用される「単離された」は、その産生環境の成分から特定され、分離されおよび/または回収された化合物を意味する。好ましくは、単離された化合物は、その産生環境由来のすべての他の成分を伴わない

ものである。その産生環境の混入成分、例えば組み換えトランスフェクト細胞から生じたものは、典型的にそのポリペプチドの診断的または治療的利用を妨げるであろう物質であり、酵素、ホルモンおよびその他のタンパク質性または非タンパク質性の溶質を含み得る。好ましい態様において、化合物は、(1) スピンカップ式配列決定装置の使用によって少なくとも15残基のN末端もしくは内部アミノ酸配列を得るのに十分な程度まで、または(2) クマシーブルーもしくは好ましくは銀染色を用いる非還元または還元条件下でのSDS-PAGEによって均質になるまで、精製される。しかし、通常、単離された化合物は、少なくとも1つの精製工程によって調製される。

【0106】

本明細書に記載されるCD33標的化合物のアミノ酸配列修飾が考慮に入れられる。例えば、化合物の結合親和性および/またはその他の生物学的特性を改善することが望ましい場合がある。CD33標的化合物のアミノ酸配列変種は、化合物の核酸に適当なヌクレオチド変化を導入することによってまたはペプチド合成によって調製される。

【0107】

そのような修飾は、例えば、化合物のアミノ酸配列内の残基の欠失および/または挿入および/または置換を含む。最終構築物が所望の特性を保持する限り、欠失、挿入および置換の任意の組み合わせが、その最終構築物に到達するためになされる。アミノ酸の変化はまた、化合物の翻訳後プロセスを変更し得る、例えば、グリコシル化部位の数または位置を変化させ得る。好ましくは、1、2、3、4、5、6、7、8、9または10個のアミノ酸がCDRにおいて置換され得、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20または25個のアミノ酸がフレームワーク領域(FR)において置換され得る。置換は、好ましくは、本明細書に記載されるような保存的置換である。付加的にまたは代替的に、1、2、3、4、5または6個のアミノ酸がCDRの各々において挿入または欠失され得(当然、それらの長さに依存して)、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20または25個のアミノ酸がFRの各々において挿入または欠失され得る。

【0108】

変異誘発に好ましい位置であるCD33標的化合物の特定の残基または領域の同定に有用な方法は、Science, 244: 1081-1085 (1989)においてCunningham and Wellsによって記載されるように「アラニンスキャン変異誘発」と呼ばれるものである。この方法では、化合物内の残基または標的残基群が、同定され(例えば、荷電残基、例えばarg、asp、his、lysおよびglu)、そしてエピトープに対するそのアミノ酸の相互作用に影響を与えるよう、中性または負荷電アミノ酸(最も好ましくは、アラニンまたはポリアラニン)で置き換えられる。

【0109】

この置換に対して機能的感受性を示すアミノ酸位置は、次いで、その置換部位にまたは置換部位のためにさらなるまたはその他の変種を導入することによって厳選される。したがって、アミノ酸配列変化を導入するための部位は予め決定されるが、変異の性質自体は予め決定される必要はない。例えば、所定部位における変異の働きを分析するため、ala スキャンまたは無作為変異誘発が標的のコドンまたは領域において行われ、そして発現される化合物の変種が所望の活性についてスクリーニングされる。

【0110】

好ましくは、アミノ酸配列挿入は、1、2、3、4、5、6、7、8、9または10残基~100残基またはそれ以上を含むポリペプチドの長さの範囲の、アミノおよび/またはカルボキシル末端融合ならびに単一または複数のアミノ酸残基の配列内挿入を含む。CD33標的化合物の挿入変種は、酵素への抗体のNまたはC末端の融合または抗体の血清半減期を増加させるポリペプチドへの融合を含む。

【0111】

別のタイプの変種は、アミノ酸置換変種である。これらの変種は、好ましくは、化合物の少なくとも1、2、3、4、5、6、7、8、9または10個のアミノ酸残基が異なる残基で置き

10

20

30

40

50

換えられたものである。置換変異誘発に関する最大の関心対象の部位は、重鎖および／または軽鎖のCDR、特に超可変領域を含むが、重鎖および／または軽鎖におけるFRの変更もまた考慮に入れられる。

【0112】

例えば、CDR配列が6個のアミノ酸を含む場合、これらのアミノ酸のうちの1、2または3個が置換されることが想定される。同様に、CDR配列が15個のアミノ酸を含む場合、これらのアミノ酸の1、2、3、4、5または6個が置換されることが想定される。

【0113】

一般に、重鎖および／または軽鎖のCDRの1つもしくは複数またはすべてにおいてアミノ酸が置換される場合、それによって得られる「置換された」配列が「当初の」CDR配列と少なくとも60%同一であることが好ましく、より好ましくは65%、さらにより好ましくは70%、特別に好ましくは75%、より特別に好ましくは80%である。これは、それがどの程度「置換された」配列と同一であるのかがCDRの長さに依存することを意味する。例えば、5アミノ酸を有するCDRは、少なくとも1つのアミノ酸が置換される場合、好ましくはその置換されたアミノ酸配列と少なくとも80%同一である。したがって、CD33標的化合物のCDRは、それらの置換された配列に対して異なる程度の同一性を有し得る、例えば、CDRL1は80%を有し得、CDRL3は90%を有し得る。

10

【0114】

好ましい置換（または置き換え）は、保存的置換である。しかし、CD33標的化合物が第1の結合ドメインを通じてCD33に結合し第2の結合ドメインを通じてCD3イプシロンに結合する能力を保持する限りおよび／またはそのCDRがそのように置換される配列に対して同一性を有する（「当初」のCDR配列に対して少なくとも60%、より好ましくは65%、さらにより好ましくは70%、特別に好ましくは75%、さらに特別に好ましくは80%同一である）限り、任意の置換（非保存的置換または以下の表1に列举される「例示的な置換」の1つもしくは複数を含む）が想定されている。

20

【0115】

保存的置換は、表1の「好ましい置換」という見出しの下に示されている。そのような置換が生物学的活性を変化させる場合、表1で「例示的な置換」として挙げられたまたはアミノ酸クラスに関して以下にさらに記載されるようなより実質的な変更が導入され、そしてその産物が所望の特性についてスクリーニングされ得る。

30

【0116】

（表1）アミノ酸置換

当初	例示的な置換	好ましい置換
Ala (A)	val, leu, ile	val
Arg (R)	lys, gln, asn	lys
Asn (N)	gln, his, asp, lys, arg	gln
Asp (D)	glu, asn	glu
Cys (C)	ser, ala	ser
Gln (Q)	asn, glu	asn
Glu (E)	asp, gln	asp
Gly (G)	ala	ala
His (H)	asn, gln, lys, arg	arg
Ile (I)	leu, val, met, ala, phe	leu
Leu (L)	ノルロイシン, ile, val, met, ala	ile
Lys (K)	arg, gln, asn	arg
Met (M)	leu, phe, ile	leu
Phe (F)	leu, val, ile, ala, tyr	tyr
Pro (P)	ala	ala
Ser (S)	thr	thr
Thr (T)	ser	ser
Trp (W)	tyr, phe	tyr
Tyr (Y)	trp, phe, thr, ser	phe
Val (V)	ile, leu, met, phe, ala	leu

【 0 1 1 7 】

本明細書に記載されるCD33標的化合物の生物学的特性の実質的修飾は、(a)置換領域のポリペプチド骨格の構造、例えばシートもしくはらせん立体構造、(b)標的部位における分子の電荷もしくは疎水性、または(c)側鎖のかさ高さ、の維持に対するそれらの効果が有意に異なる置換を選択することによって達成される。天然に存在する残基は、共通の側鎖特性に基づきグループ分けされる：(1)疎水性：ノルロイシン、met、ala、val、leu、ile；(2)中性親水性；cys、ser、thr；(3)酸性：asp、glu；(4)塩基性：asn、gln、his、lys、arg；(5)鎖の配向性に影響する残基：gly、pro；および(6)芳香族：trp、tyr、phe。

【 0 1 1 8 】

非保存的置換は、これらのクラスのうちの1つのメンバーから別のクラスのメンバーへの交換を伴うものであろう。CD33標的化合物の適切な立体構造の維持に関与しない任意のシステイン残基は、その分子の酸化安定性を改善し異常な架橋を防ぐために、通常セリンで置換され得る。逆に、システイン結合は、化合物が抗体である場合に、化合物に対して、その安定性（特にその抗体が抗体フラグメント、例えばFvフラグメントである場合）を改善するために添加され得る。

【 0 1 1 9 】

特に好ましいタイプの置換変種は、親抗体（例えば、ヒト化またはヒト抗体）の1つまたは複数の超可変領域残基の置換を含むものである。通常、さらなる開発のために選択される得られた変種は、それらの起源となった親抗体に比して改善された生物学的特性を有するものであろう。そのような置換変種を生成する簡便な方法は、ファージディスプレイを用いる親和性成熟を含む。簡潔に説明すると、いくつかの超可変領域部位（例えば、6

～7部位)が、各部位ですべての可能性のあるアミノ酸置換が生成されるよう変異される。そのようにして生成された抗体変種は、1価の形態で、繊維状ファージ粒子から、各粒子内にパッケージングされたM13の遺伝子III産物との融合物として提示される。ファージディスプレイされた変種は、次に、修飾のための超可変領域部位候補を同定するために、本明細書に開示されるようにしてそれらの生物学的活性(例えば、結合親和性)についてスクリーニングされ、抗原結合に有意に寄与する超可変領域残基を同定するために、アラニンスキャン変異誘発が行われ得る。あるいはまたは加えて、結合ドメインと例えばヒトCD33またはCD3との間の接触点を同定するために、抗原・抗体複合体の結晶構造を分析することが有益であり得る。そのような接触残基および隣接残基は、本明細書で詳述される技術にしたがう置換の候補である。そのような変種が生成された後、変種のパネルが本明細書に記載されるスクリーニングに供され、そして1つまたは複数の関連するアッセイにおいて優れた特性を示す抗体が、さらなる開発のために選択され得る。

10

【0120】

CD33標的化合物のその他の修飾も本明細書で考慮に入れられる。例えば、CD33標的化合物は、様々な非タンパク質性ポリマー、例えばポリエチレングリコール、ポリプロピレングリコール、ポリアルキレンまたはポリエチレングリコールおよびポリプロピレングリコールのコポリマー、の1つに連結され得る。CD33標的化合物はまた、例えばコアセルベーション技術によってまたは界面重合によって調製されたマイクロカプセル(例えば、それぞれ、ヒドロキシメチルセルロースまたはゼラチンマイクロカプセルおよびポリ(メチルメタクリレート)マイクロカプセル)に、コロイド薬物送達システム(例えば、リポソーム、アルブミンマイクロスフィア、マイクロエマルジョン、ナノ粒子およびナノカプセル)に、またはマクロエマルジョンに捕捉され得る。そのような技術は、Remington's Pharmaceutical Sciences, 16th edition, Oslo, A., Ed., (1980)に開示されている。

20

【0121】

本明細書に開示されるCD33標的化合物はまた、免疫リポソームとして製剤化され得る。「リポソーム」は、哺乳動物への薬物送達に有用な様々なタイプの脂質、リン脂質および/または界面活性剤から構成される小さな小胞である。リポソームの成分は通常、生体膜の脂質の配置と同様の2重層の形式で配置される。化合物を含むリポソームは、例えば、Epstein et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 82: 3688 (1985); Hwang et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 77: 4030 (1980); 米国特許第4,485,045号および同第4,544,545号; ならびに1997年10月23日公開のWO 97/38731に記載されるような当技術分野で公知の方法によって調製される。循環時間が強化されたリポソームは、米国特許第5,013,556号に開示されている。特に有用なリポソームは、ホスファチジルコリン、コレステロールおよびPEG誘導体化ホスファチジルエタノールアミン(PEG-PE)を含む脂質組成物を用いる逆相蒸発法によって生成され得る。リポソームは、所望の直径のリポソームを得るために、規定の孔サイズのフィルターを通して押出しされる。本発明の抗体のFab'フラグメントは、ジスルフィド交換反応を通じてMartin et al. J. Biol. Chem. 257: 286-288 (1982)に記載されるようなリポソームにコンジュゲートされ得る。場合により、化学療法剤がリポソーム内に含まれる。Gabizon et al. J. National Cancer Inst. 81 (19) 1484 (1989)を参照のこと。

30

40

【0122】

組み換え技術を用いる場合、CD33標的化合物は、ペリプラズマ間隙で細胞内産生され得、または培地に直接分泌され得る。抗体構築物が細胞内産生される場合、最初の工程として、宿主細胞または溶解したフラグメントのいずれかの粒状の残骸が、例えば遠心分離または限外ろ過によって除去される。Carter et al., Bio/Technology 10: 163-167 (1992)は、大腸菌(E.coli)のペリプラズマ間隙に分泌された抗体を単離する手法を記載している。

【0123】

細胞から調製されるCD33標的化合物は、例えばヒドロキシアパタイトクロマトグラフィー、ゲル電気泳動、透析および親和性クロマトグラフィーを用いて精製され得、親和性

50

クロマトグラフィーが好ましい精製技術である。

【0124】

本明細書に記載されるCD33標的化化合物は、ペプチドリンカー（スペーサーペプチド）を含むまたは含まない少なくとも2つの結合ドメインを含む融合タンパク質の形態で提供され得る。特に適当なペプチドリンカーは、米国特許第4,751,180号および同第4,935,233号またはWO 88/09344に記載されるものである。

【0125】

オリゴマー抗体構築物誘導体の形態である本明細書に記載されるCD33標的化化合物を調製する別の方法は、ロイシンジッパーの使用を含む。ロイシンジッパードメインは、それらが見いだされるタンパク質のオリゴマー化を促進するペプチドである。ロイシンジッパーは、当初、いくつかのDNA結合タンパク質において同定され（Landschulz et al., 1988, Science 240:1759）、そしてその後、様々な異なるタンパク質において見出されている。特に知られているロイシンジッパーは、2量体化または3量体化する天然に存在するペプチドおよびその誘導体である。可溶性オリゴマータンパク質を作製するのに適したロイシンジッパードメインの例は、PCT出願WO 94/10308に記載されており、肺サーファクタントタンパク質D（SPD）由来のロイシンジッパーがHoppe et al., 1994, FEBS Letters 344:191に記載されており、これらが参照により本明細書に組み入れられる。それに融合された異種タンパク質の安定的な3量体化を実現する修飾されたロイシンジッパーの使用は、Fanslow et al., 1994, Semin. Immunol. 6:267-78に記載されている。1つのアプローチにおいて、ロイシンジッパーペプチドに融合されたCD33およびCD3抗体フラグメントまたは誘導体を含む組み換え融合タンパク質が、適当な宿主細胞において発現され、そして形成した可溶性オリゴマー CD33およびCD3抗体フラグメントまたは誘導体が培養上清から回収される。

【0126】

抗原結合タンパク質の共有結合修飾は、本発明の範囲に含まれ、そしてそれは、常にではないが概ね、翻訳後に行われる。例えば、抗原結合タンパク質のいくつかのタイプの共有結合修飾は、抗原結合タンパク質の特定のアミノ酸残基を、選択された側鎖またはNもしくはC末端残基と反応することができる有機誘導体化剤と反応させることによって、分子内に導入される。

【0127】

システイニル残基は、最も一般的には、 α -ハロアセテート（および対応するアミン）、例えばクロロ酢酸またはクロロアセトアミドと反応し、カルボキシメチルまたはカルボキシアミドメチル誘導体を生じる。システイニル残基はまた、プロモトリフルオロアセトン、 α -ブromo- β -(5-イミドゾイル)プロピオン酸、リン酸クロロアセチル、N-アルキルマレイミド、3-ニトロ-2-ピリジルジスルフィド、メチル 2-ピリジルジスルフィド、p-クロロ水銀安息香酸、2-クロロ水銀-4-ニトロフェノールまたはクロロ-7-ニトロベンゾ-2-オキサ-1,3-ジアゾールとの反応によって誘導体化される。

【0128】

ヒスチジル残基は、ヒスチジル側鎖に対して比較的特異的であるジエチルピロカーボネートとのpH 5.5~7.0での反応によって誘導体化される。パラ-ブromoフェナシルプロミドもまた有用であり；この反応は、好ましくは、pH 6.0の0.1M カコジル酸ナトリウム中で行われる。

【0129】

リシニルおよびアミノ末端残基は、コハク酸または他のカルボン酸無水物と反応する。これらの剤による誘導体化は、リシニル残基の電荷を反転させる効果を有する。アルファ-アミノ含有残基を誘導体化する他の適当な剤は、イミドエステル、例えばピコリンイミド酸メチル；ピリドキサルリン酸；ピリドキサル；クロロポロヒドリド；トリニトロベンゼンスルホン酸；O-メチルイソウレア；2,4-ペンタンジオン；およびグリオキシレートを用いたトランスアミナーゼ触媒反応を含む。

【0130】

アルギニル残基は、1つまたは複数の従来の試薬、特にフェニルグリオキサール、2,3-ブタンジオン、1,2-シクロヘキサジオンおよびニンヒドリンとの反応によって修飾される。アルギニン残基の誘導体化は、グアニジン官能基の高いpKaのためにこの反応がアルカリ条件下で行われることを必要とする。さらに、これらの試薬は、リジンの官能基およびアルギニンイプシロン-アミノ基と反応し得る。

【0131】

チロシル残基の特定の修飾は、特に芳香族ジアゾニウム化合物またはテトラニトロメタンとの反応によるチロシル残基へのスペクトル標識の導入のために、行われ得る。最も一般的には、N-アセチルイミジゾール (N-acetylimidazole) およびテトラニトロメタンが、それぞれ、O-アセチルチロシル種および3-ニトロ誘導体を形成するために使用される。チロシル残基は、放射免疫アッセイにおいて使用するための標識タンパク質を調製するために、 ^{125}I または ^{131}I を用いてヨウ化され、上記のクロラミンT法が適している。

10

【0132】

カルボキシル側鎖基 (アスパルチルまたはグルタミル) は、カルボジイミド ($\text{R}'\text{-N}=\text{C}=\text{N}-\text{R}'$) との反応によって選択的に修飾され、ここで、RおよびR'は任意で異なるアルキル基、例えば1-シクロヘキシル-3-(2-ホルホルニル-4-エチル)カルボジイミドまたは1-エチル-3-(4-アゾニア-4,4-ジメチルペンチル)カルボジイミドである。さらに、アスパルチルおよびグルタミル残基は、アンモニウムイオンとの反応によってアスパラギニルおよびグルタミニル残基に変換される。

【0133】

20

2官能性の剤を用いる誘導体化は、様々な方法において使用するために抗原結合タンパク質を水不溶性の支持マトリックスまたは表面に架橋するのに有用である。広く使用されている架橋剤は、例えば、1,1-ビス (ジアゾアセチル) -2-フェニルエタン、グルタルアルデヒド、N-ヒドロキシスクシンイミドエステル、例えば、4-アジドサリチル酸とのエステル、ジスクシンイミジルエステル、例えば3,3'-ジチオビス (スクシンイミジルプロピオネート) を含むホモ2官能性イミドエステル、および2官能性マレイミド、例えばビス-N-マレイミド-1,8-オクタンを含む。誘導体化剤、例えばメチル-3-[(p-アジドフェニル)ジチオ]プロピオイミデートは、光の存在下で架橋を形成することができる光活性化可能な中間体を生成する。あるいは、反応性水不溶性マトリックス、例えば臭化シアン活性化炭水化物ならびに米国特許第3,969,287号；同第3,691,016号；同第4,195,128号；同第4,247,642号；同第4,229,537号；および同第4,330,440号に記載される反応性基質が、タンパク質の固定化のために使用される。

30

【0134】

グルタミルおよびアスパラギニル残基は、しばしば脱アミド化され、それぞれ対応するグルタミルおよびアスパルチル残基にされる。あるいは、これらの残基は、穏やかな酸性条件下で脱アミド化される。これらの残基のいずれの形態も、本発明の範囲に含まれる。

【0135】

他の修飾は、プロリンおよびリジンの水酸化、セリルまたはスレオニル残基のヒドロキシル基のリン酸化、リジン、アルギニンおよびヒスチジン側鎖の α -アミノ基のメチル化 (T.E. Creighton, Proteins: Structure and Molecular Properties, W.H. Freeman & Co., San Francisco, 1983, pp.79-86)、N末端アミンのアセチル化ならびに任意のC末端カルボキシル基のアミド化を含む。

40

【0136】

本発明の範囲に含まれる抗原結合タンパク質の共有結合修飾の別のタイプは、タンパク質のグリコシル化パターンの変更を含む。当技術分野で公知のように、グリコシル化パターンは、タンパク質の配列 (例えば、以下で議論される特定のグリコシル化アミノ酸残基の存在もしくは非存在) またはそのタンパク質を産生する宿主細胞もしくは生物の両方に依存し得る。特定の発現システムが、以下で議論されている。

【0137】

50

ポリペプチドのグリコシル化は、典型的に、N結合型またはO結合型のいずれかである。N結合型は、アスパラギン残基の側鎖への炭水化物部分の付加を表す。Xがプロリン以外の任意のアミノ酸である3ペプチド配列アスパラギン-X-セリンおよびアスパラギン-X-スレオニンは、アスパラギン側鎖への炭水化物部分の酵素付加の認識配列である。したがって、ポリペプチド中のこれらの3ペプチド配列のいずれかの存在は、潜在的なグリコシル化部位を形成する。O結合型グリコシル化は、ヒドロキシアミノ酸、最も一般的にはセリンまたはスレオニンへの糖N-アセチルガラクトサミン、ガラクトースまたはキシロースの1つの付加を表すが、5-ヒドロキシプロリンまたは5-ヒドロキシリジンも使用され得る。

【0138】

抗原結合タンパク質へのグリコシル化部位の付加は、(N結合型グリコシル化部位のための)上記の3ペプチド配列の1つまたは複数を含むようアミノ酸配列を変更することによって従来法により達成される。変更はまた、(O結合型グリコシル化部位のための)開始配列への1つまたは複数のセリンまたはスレオニン残基の付加または置換によって行われ得る。簡潔には、抗原結合タンパク質のアミノ酸配列は、好ましくは、DNAレベルでの変化を通じて、特に所望のアミノ酸に翻訳されるコドンが生じるよう標的ポリペプチドをコードするDNAを予め選択された塩基で変異させることによって、変更される。

【0139】

抗原結合タンパク質上の炭水化物部分の数を増やす別の手段は、そのタンパク質へのグリコシドの化学的または酵素的カップリングによる。これらの手法は、NおよびO結合型グリコシル化のためのグリコシル化能力を有するタンパク質を宿主細胞において産生する必要がない点で有利である。使用されるカップリングの様式に依存して、糖は、(a)アルギニンおよびヒスチジン、(b)遊離カルボキシル基、(c)遊離スルフヒドリル基、例えばシステインのそれら、(d)遊離ヒドロキシル基、例えばセリン、スレオニンもしくはヒドロキシプロリンのそれら、(e)芳香族残基、例えばフェニルアラニン、チロシンもしくはトリプトファン、または(f)グルタミンのアミド基に付加され得る。これらの方法は、1987年9月11日公開のWO 87/05330およびApplin and Wriston, 1981, CRC Crit. Rev. Biochem., pp.259-306に記載されている。

【0140】

出発抗原結合タンパク質上に存在する炭水化物部分の除去は、化学的または酵素的に行われ得る。化学的脱グリコシル化は、化合物トリフルオロメタンスルホン酸または等価化合物へのタンパク質の暴露を必要とする。この処理は、ポリペプチドをインタクトなまま残しつつ、連結糖(N-アセチルグルコサミンまたはN-アセチルガラクトサミン)を除くほとんどまたはすべての糖を切断する。化学的脱グリコシル化は、Hakimuddin et al., 1987, Arch. Biochem. Biophys. 259:52によっておよびEdge et al., 1981, Anal. Biochem. 118:131によって記載されている。ポリペプチド上の炭水化物部分の酵素的切断は、Thotakura et al., 1987, Meth. Enzymol. 138:350に記載されるような様々なエンドおよびエキソグルコシダーゼの使用によって達成され得る。潜在的なグリコシル化部位におけるグリコシル化は、Duskin et al., 1982, J. Biol. Chem. 257:3105によって記載されるような化合物ツニカマイシンの使用によって防止され得る。ツニカマイシンは、タンパク質-N-グリコシド連結の形成を阻止する。

【0141】

抗原結合タンパク質の別のタイプの共有結合修飾は、米国特許第4,640,835号；同第4,496,689号；同第4,301,144号；同第4,670,417号；同第4,791,192号または同第4,179,337号に示される様式での様々なポリオール、例えばポリエチレングリコール、ポリプロピレングリコールまたはポリオキシアルキレンを含むがこれらに限定されない様々な非タンパク質ポリマーへの抗原結合タンパク質の連結を含む。加えて、当技術分野で公知のように、アミノ酸置換は、ポリマー、例えばPEGの付加を容易にするよう抗原結合タンパク質内の様々な位置で行われ得る。

【0142】

いくつかの態様において、本明細書に記載される抗原結合タンパク質の共有結合修飾は

10

20

30

40

50

、1つまたは複数の標識の付加を含む。

【0143】

「標識基」という用語は、任意の検出可能な標識を意味する。適当な標識基の例は、以下を含むがこれらに限定されない：放射性同位体または放射性核種（例えば、 ^3H 、 ^{14}C 、 ^{15}N 、 ^{35}S 、 ^{90}Y 、 ^{99}Tc 、 ^{111}In 、 ^{125}I 、 ^{131}I ）、蛍光基（例えば、FITC、ローダミン、ランタニドリン光体）、酵素基（例えば、西洋ワサビペルオキシダーゼ、 β -ガラクトシダーゼ、ルシフェラーゼ、アルカリホスファターゼ）、化学発光基、ビオチニル基または2次レポーターによって認識される既定のポリペプチドエピトープ（例えば、ロイシンジッパー対配列、2次抗体の結合部位、金属結合ドメイン、エピトープタグ）。いくつかの態様において、標識基は、潜在的な立体障害を減らすために、様々な長さのスペーサーアームを通じて抗原結合タンパク質に連結される。タンパク質を標識する様々な方法が当技術分野で公知であり、本発明を実施する上で使用され得る。

10

【0144】

一般に、標識は、それらを検出するアッセイに依存して様々なクラスに分類される：a) 放射性または重同位体であり得る同位体標識；b) 磁気標識（例えば、磁気粒子）；c) 酸化還元活性部分；d) 光学色素；酵素基（例えば、西洋ワサビペルオキシダーゼ、 β -ガラクトシダーゼ、ルシフェラーゼ、アルカリホスファターゼ）；e) ビオチニル化基；およびf) 2次レポーターによって認識される既定のポリペプチドエピトープ（例えば、ロイシンジッパー対配列、2次抗体の結合部位、金属結合ドメイン、エピトープタグ等）。いくつかの態様において、標識基は、潜在的な立体障害を減らすために、様々な長さのスペーサーアームを通じて抗原結合タンパク質にカップリングされる。タンパク質を標識する様々な方法が当技術分野で公知であり、本発明を実施する上で使用され得る。

20

【0145】

特定の標識は、発色団、リン光体および蛍光体を含むがこれらに限定されない光学色素を含み、後者が多くの例で用いられる。蛍光体は、「低分子」蛍光体またはタンパク質蛍光体のいずれかであり得る。

【0146】

「蛍光標識」は、その固有の蛍光特性を通じて検出され得る任意の分子を意味する。適当な蛍光標識は、フルオレセイン、ローダミン、テトラメチルローダミン、エオシン、エリスロシン、クマリン、メチル-クマリン、ピレン、マラカイトグリーン、スチルベン、ルシファアーイエロー、カスケードブルー-J、テキサスレッド、IAEDANS、EDANS、BODIPY FL、LCレッド640、Cy 5、Cy 5.5、LCレッド705、オレゴングリーン、Alexa-Fluor色素（Alexa Fluor 350、Alexa Fluor 430、Alexa Fluor 488、Alexa Fluor 546、Alexa Fluor 568、Alexa Fluor 594、Alexa Fluor 633、Alexa Fluor 660、Alexa Fluor 680）、カスケードブルー、カスケードイエローおよびR-フィコエリトリン（PE）（Molecular Probes, Eugene, OR）、FITC、ローダミンおよびテキサスレッド（Pierce, Rockford, IL）、Cy5、Cy5.5、Cy7（Amersham Life Science, Pittsburgh, PA）を含むがこれらに限定されない。蛍光体を含む適当な光学色素は、明示的に参照により本明細書に組み入れられるMolecular Probes Handbook by Richard P. Hauglandに記載されている。

30

【0147】

適当なタンパク質蛍光標識はまた、レニラ（Renilla）、プチロサーカス（Ptilosarcus）またはエクオレア（Aequorea）種のGFP（Chalfie et al., 1994, Science 263:802-805）、EGFP（Clontech Laboratories, Inc., Genbankアクセッション番号U55762）を含む緑色蛍光タンパク質、青色蛍光タンパク質（BFP, Quantum Biotechnologies, Inc. 1801 de Maisonneuve Blvd. West, 8th Floor, Montreal, Quebec, Canada H3H 1J9; Stauber, 1998, Biotechniques 24:462-471; Heim et al., 1996, Curr. Biol. 6:178-182）、強化型黄色蛍光タンパク質（EYFP, Clontech Laboratories, Inc.）、ルシフェラーゼ（Ichikawa et al., 1993, J. Immunol. 150:5408-5417）、 β ガラクトシダーゼ（Nolan et al., 1988, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 85:2603-2607）およびレニラ（W092/15673、W095/07463、W098/14605、W098/26277、W099/49019、米国特許第5292658号、同第5418155号、

40

50

同第5683888号、同第5741668号、同第5777079号、同第5804387号、同第5874304号、同第5876995号、同第5925558号)を含むがこれらに限定されない。上記の参考文献はすべて、明示的に参照により本明細書に組み入れられる。

【0148】

本明細書に記載されるCD33標的化合物はまた、例えばこの分子の単離を助けるまたはこの分子の適合された薬物動態プロファイルに関連する追加ドメインを含み得る。

【0149】

抗体構築物の単離を助けるドメインは、単離方法、例えば単離用カラムにおいて捕捉され得るペプチドモチーフまたは2次的に導入される部分から選択され得る。そのような追加ドメインの非限定的な態様は、Mycタグ、HATタグ、HAタグ、TAPタグ、GSTタグ、キチン結合ドメイン(CBDタグ)、マルトース結合タンパク質(MBPタグ)、Flagタグ、Strepタグおよびその変種(例えば、StrepIIタグ)ならびにHisタグとして公知のペプチドモチーフを含む。特定のCDRによって特徴づけられる本明細書に開示される抗体構築物はすべて、その分子のアミノ酸配列中の連続するHis残基、好ましくは6つのHis残基の反復として一般に公知のHisタグドメインを含むことが好ましい。

【0150】

「エピジェネティック因子」という用語は、本発明に関して、投与により細胞集団の遺伝子発現または細胞形質を変化させることが可能な化合物を定義する。そのような変化は、核酸配列における変化を伴わない、ゲノムに対する1つまたは複数の機能的に関連する修飾を意味すると理解される。そのような修飾の例は、DNAメチル化およびヒストン修飾であり、これらはいずれも、基になるDNA配列を変更せずに遺伝子発現を調節するために重要である。本発明に関連する組み合わせ治療アプローチに適したエピジェネティック因子の特定の例は、ヒストンデアセチラーゼ(HDAC)阻害剤、DNAメチルトランスフェラーゼ(DNMT)I阻害剤、ヒドロキシ尿素、顆粒球コロニー刺激因子(G-CSF)、ヒストンデメチラーゼ阻害剤、およびATRA(全トランス型レチノイン酸)からなる群より選択される。

【0151】

ヒストンデアセチラーゼ(HDAC)は、ヒストン上の ϵ -N-アセチルリジンアミノ酸からアセチル基を除去した酵素のクラスである。脱アセチル化ヒストンは、DNAをより強く包む(wrap)のに適しており、これは、ラップ(wrapped)DNAの領域中の発現遺伝子に負の影響を与える。したがって、HDAC阻害剤は、ヒストンの酵素的脱アセチル化を阻害し、アセチル化ヒストンの領域中に位置するこれらの遺伝子の発現、またはこれらの遺伝子の発現の増強を可能にする。HDAC阻害剤の非限定的な例は、本発明に関連して、パノビノスタット、ボリノスタット、ロミデプシン、N-アセチルジナリン、ベリノスタット、ギビノスタット、エンチノスタット、モセチノスタット、EVP-0334、SRT501、CUDC-101、キシノスタット、アベキシノスタット、LAQ824、およびバルプロ酸を含む。

【0152】

DNAメチルトランスフェラーゼ(DNMT)Iは、DNAにメチル基を転移することを触媒する酵素である。DNAメチル化の程度もまた、遺伝子の発現に対して決め手となる。DNMT I阻害剤の非制限的な例は、本発明に関連して、5-アザシチジン、デシタビン、ヒドララジン、ゼブラリン、プロカインアミド、(-)-エピガロカテキン-3-ガレート、MG98、RG108、およびSGI-110を含む。

【0153】

ヒストンメチルトランスフェラーゼ(HMT)は、ヒストンタンパク質のリジンおよびアルギニン残基に1つ、2つ、または3つのメチル基を転移することを触媒するヒストン修飾酵素である。ヒストンのメチル化は、遺伝子発現、ゲノム安定性、幹細胞成熟、細胞系統発達、遺伝的インプリンティング、DNAメチル化、および細胞有糸分裂を決定するクロマチンの主要なエピジェネティック修飾であることから、生物学的に重要である。HMT阻害剤の非制限的な例は、本発明に関連して、LSD1(KDM1A)デメチラーゼ阻害剤およびケトシンを含む。

【0154】

ATRA（全トランス型レチノイン酸）は、ビタミンAのカルボン酸形態であり、トレチノインとしても知られる。

【0155】

ヒドロキシ尿素は、ヒドロキシカルバミドとしても知られ、抗悪性腫瘍薬として使用される。化合物は、酵素リボヌクレオチドレダクターゼの阻害を介して、デオキシリボヌクレオチドの産生を減少させるために記載される。

【0156】

顆粒球コロニー刺激因子（G-CSFまたはGCSF）は、コロニー刺激因子3（CSF3）としても知られ、これは、骨髄を刺激して顆粒球および幹細胞を産生し、血流中にそれらを放出する糖タンパク質である。機能的に、それはサイトカインおよびホルモン、コロニー刺激因子のタイプであり、多くの異なる組織によって産生される。天然に存在するG-CSFの薬学的アナログは、フィルグラスチムおよびレノグラスチムと呼ばれる。

10

【0157】

「核酸」という用語は、当業者に周知であり、DNA（例えば、cDNA）およびRNA（例えば、mRNA）を含む。核酸は、2本鎖および1本鎖、直鎖状および環状であり得る。核酸分子は、好ましくは、好ましくは宿主細胞の中に含まれる、ベクターの中に含まれる。宿主細胞は、例えば、本明細書に記載される核酸配列を用いた形質転換またはトランスフェクションの後に、CD33標的化合物を発現することができる。その目的で、核酸分子は、制御配列に機能的に連結される。

【0158】

20

ベクターは、（外来）遺伝子物質を細胞内に運搬するためのビヒクルとして使用される核酸分子である。「ベクター」という用語は、プラスミド、ウイルス、コスミドおよび人工染色体を含むがこれらに制限されない。一般に、工学ベクターは、複製起点、マルチクローニング部位および選択マーカーを含む。ベクター自体は、一般に、インサート（導入遺伝子）およびベクターの「骨格」の役割をするより大きな配列を含むヌクレオチド配列、通常DNA配列である。最近のベクターは、導入遺伝子インサートおよび骨格に加えて追加の特徴：プロモーター、遺伝子マーカー、抗生物質耐性、レポーター遺伝子、標的化配列、タンパク質精製タグを含み得る。発現ベクター（発現構築物）と呼ばれるベクターは特に、標的細胞において導入遺伝子を発現させるためのものであり、一般に、制御配列、例えば導入遺伝子の発現を促すプロモーター配列を有する。標的細胞へのベクターの投入は、通常、細菌の場合は「形質転換」、真核生物細胞の場合は「トランスフェクション」と呼ばれるが、ウイルスベクターの投入は「形質導入」とも呼ばれる。

30

【0159】

本明細書で使用される場合、「宿主細胞」という用語は、本明細書に記載されるCD33標的化合物をコードする核酸が形質転換、トランスフェクション等によって導入される細胞を表すことが意図されている。そのような用語は、特定の対象細胞だけでなく、そのような細胞の子孫または潜在的子孫も表すことを理解されたい。後続の世代では変異または環境の影響のいずれかにより一定の修飾が起こり得るので、そのような子孫は、実際には、その親細胞と同一ではないかもしれないが、そうであっても本明細書で使用される場合はこの用語の範囲に含まれる。

40

【0160】

本明細書で使用される場合、「発現」という用語は、転写、転写後修飾、翻訳、翻訳後修飾および分泌を含むがこれらに限定されない、本明細書に記載されるCD33標的化合物の産生に関する任意の工程を含む。

【0161】

「制御配列」という用語は、機能的に連結されたコード配列を特定の宿主生物において発現させるのに必要なDNA配列を表す。原核生物に適した制御配列は、例えば、プロモーター、場合によりオペレーター配列およびリボソーム結合部位を含む。真核生物細胞は、プロモーター、ポリアデニル化シグナルおよびエンハンサーを利用することが公知である。

50

【 0 1 6 2 】

核酸は、それが別の核酸配列との機能的関係の下に置かれている場合、「機能的に連結」されている。例えば、プレ配列もしくは分泌リーダーのためのDNAがポリペプチドのためのDNAに機能的に連結されているのは、それがポリペプチドの分泌に関与するプレタンパク質として発現される場合であり；プロモーターもしくはエンハンサーがコード配列に機能的に連結されているのは、それがその配列の転写に影響する場合であり；またはリボソーム結合部位がコード配列に機能的に連結されているのは、それが翻訳を促進するよう配置される場合である。一般に、「機能的に連結」は、連結されるDNA配列が連続していること、および、分泌リーダーの場合は、連続しかつリーディングフェーズ内にあることを意味する。しかし、エンハンサーは、連続している必要がない。連結は、都合の良い制限部位でのライゲーションによって達成される。そのような部位が存在しない場合、従来の実務にしたがい、合成性のオリゴヌクレオチドアダプターまたはリンカーが使用される。

10

【 0 1 6 3 】

「宿主細胞」、「標的細胞」または「レシピエント細胞」という用語は、ベクターまたは外因性の核酸分子、ポリヌクレオチドおよび／もしくはタンパク質の組み込みのためのレシピエントであり得るまたはすでにレシピエントとなっている任意の個々の細胞または細胞培養物を含むことが意図されている。それはまた1つの細胞の子孫を含むことも意図されており、その子孫は、自然、偶発的または計画的変異により、必ずしも元の親細胞と（形態またはゲノムもしくは総DNAの補完性の点で）完全に同一でないかもしれない。細胞は原核生物細胞または真核生物細胞であり得、細菌、酵母細胞、動物細胞および哺乳動物細胞、例えばマウス、ラット、マカクまたはヒトを含むがこれらに限定されない。

20

【 0 1 6 4 】

適当な真核生物宿主細胞は、酵母、真菌、昆虫細胞および哺乳動物細胞を含む。

【 0 1 6 5 】

本明細書に記載されるCD33標的化化合物は、細菌において産生され得る。発現後、CD33標的化化合物、好ましくは抗体構築物は、溶液画分において大腸菌細胞ペーストから単離され、そして例えば親和性クロマトグラフィーおよび／またはサイズ排除を通じて精製され得る。最終精製は、例えばCHO細胞において発現させた抗体を精製するためのプロセスと同様に行われ得る。

30

【 0 1 6 6 】

原核生物に加えて、真核微生物、例えば糸状菌または酵母が、本明細書に記載されるCD33標的化化合物に適したクローニングまたは発現宿主である。出芽酵母 (*Saccharomyces cerevisiae*) または一般パン酵母は、下等真核宿主微生物の中で最も一般的に使用されている。しかし、多くの他の属、種および株が一般に利用可能であり、かつ本発明において有用である、例えば、分裂酵母 (*Schizosaccharomyces pombe*)、クルイベロマイセス (*Kluyveromyces*) 宿主、例えば *K. ラクチス* (*K. lactis*)、*K. フラジリス* (*K. fragilis*) (ATCC 12424)、*K. ブルガリクス* (*K. bulgaricus*) (ATCC 16045)、*K. ウィッカラミイ* (*K. wickerhamii*) (ATCC 24178)、*K. ウォルチイ* (*K. waltii*) (ATCC 56500)、*K. ドロソフィラルム* (*K. drosophilum*) (ATCC 36906)、*K. サーモトレランス* (*K. thermotolerans*) および *K. マルキシアナス* (*K. marxianus*)；ヤロウイア (*Yarrowia*) (EP 402 226)；ピキア・パストリス (*Pichia pastoris*) (EP 183 070)；カンジダ (*Candida*)；トリコダーマ・リーシア (*Trichoderma reesia*) (EP 244 234)；ニューロスボラ・クラッサ (*Neurospora crassa*)；シュワンニオミセス (*Schwanniomyces*)、例えばシュワンニオミセス・オクシデンタリス (*Schwanniomyces occidentalis*)；ならびに糸状菌、例えばニューロスボラ、ペニシリウム (*Penicillium*)、トリポクラジウム (*Tolypocladium*) およびアスペルギルス (*Aspergillus*) 宿主、例えば *A. ニデュランス* (*A. nidulans*) および *A. ニガー* (*A. niger*)。

40

【 0 1 6 7 】

本明細書に記載されるグリコシル化CD33標的化化合物の、好ましくは抗体由来抗体構築

50

物の発現に適した宿主細胞は、多細胞生物から得られる。無脊椎動物細胞の例は、植物および昆虫細胞を含む。多くのバキュロウイルス株および変種ならびにヨトウガ (*Spodoptera frugiperda*) (毛虫)、ネッタイシマカ (*Aedes aegypti*) (蚊)、ヒトスジシマカ (*Aedes albopictus*) (蚊)、キイロショウジョウバエ (*Drosophila melanogaster*) (ショウジョウバエ) およびカイコ (*Bombyx mori*) 等の宿主由来の対応する許容される昆虫宿主細胞が同定されている。トランスフェクションのための様々なウイルス株、例えばオートグラフ・カリフォルニカ (*Autographa californica*) NPVのL-1変種およびカイコNPVのBm-5株、が公的に入手可能であり、そのようなウイルスが、本発明にしたがい本明細書においてウイルスとして、特にヨトウガ細胞のトランスフェクションのために、使用され得る。

10

【0168】

綿、トウモロコシ、ジャガイモ、ダイズ、ピーナツ、ペチュニア、トマト、シロイヌナズナおよびタバコの植物細胞培養物もまた、宿主として使用され得る。植物細胞培養物におけるタンパク質の産生に有用なクローニングおよび発現ベクターは当業者に公知である。例えば、Hiatt et al., *Nature* (1989) 342: 76-78、Owen et al. (1992) *Bio/Technology* 10: 790-794、Artsaenko et al. (1995) *The Plant J* 8: 745-750およびFecker et al. (1996) *Plant Mol Biol* 32: 979-986を参照のこと。

【0169】

しかし、脊椎動物細胞に対する関心が最も高く、培養(組織培養)下での脊椎動物細胞の繁殖は慣用手法となっている。有用な哺乳動物宿主細胞株の例は、SV40によって形質転換されたサル腎臓CV1株(COS-7、ATCC CRL 1651); ヒト胎児腎臓株(293または懸濁培養下での成長に関してサブクローニングされた293細胞、Graham et al., *J. Gen Virol.* 36: 59 (1977)); ペビーハムスター腎臓細胞(BHK、ATCC CCL 10); チャイニーズハムスター卵巣細胞/-DHFR(CHO、Urlaub et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 77: 4216 (1980)); マウスセルトリ細胞(TM4、Mather, *Biol. Reprod.* 23: 243-251 (1980)); サル腎臓細胞(CVI ATCC CCL 70); アフリカミドリザル腎臓細胞(VERO-76、ATCC CRL1587); ヒト子宮頸癌細胞(HELA、ATCC CCL 2); イヌ腎臓細胞(MDCK、ATCC CCL 34); パッファローラット肝臓細胞(BRL 3A、ATCC CRL 1442); ヒト肺細胞(W138、ATCC CCL 75); ヒト肝臓細胞(Hep G2、1413 8065); マウス乳癌(MMT 060562、ATCC CCL5 1); TRI細胞(Mather et al., *Annals N. Y Acad. Sci.* 383: 44-68 (1982)); MRC 5細胞; FS4細胞; およびヒトヘパトーマ株(Hep G2)である。

20

30

【0170】

組み換え技術を用いる場合、本明細書に記載されるCD33標的化合物は、ペリプラズマ間隙で細胞内産生され得、または培地に直接分泌され得る。抗体構築物が細胞内産生される場合、最初の工程として、宿主細胞または溶解したフラグメントのいずれかの粒状の残骸が、例えば遠心分離または限外ろ過によって除去される。Carter et al., *Bio/Technology* 10: 163-167 (1992)は、大腸菌のペリプラズマ間隙に分泌された抗体を単離する手法を記載している。簡潔に説明すると、細胞ペーストを、酢酸ナトリウム(pH 3.5)、EDTAおよびフッ化フェニルメチルスルホニル(PMSF)の存在下で約30分間解凍する。細胞の残骸は、遠心分離によって除去され得る。抗体が培地中に分泌される場合、通常最初に、そのような発現システムの上清が、市販のタンパク質濃縮フィルター、例えばAmiconまたはMillipore Pellicon限外ろ過ユニットを用いて遠心分離される。プロテアーゼ阻害剤、例えばPMSFは、タンパク質分解を阻害するために、上記の工程のいずれかにおいて含められ得、そして抗生物質は、外来混入物の成長を防ぐために、含められ得る。

40

【0171】

宿主細胞から調製された本明細書に記載されるCD33標的化合物は、例えばヒドロキシアパタイトクロマトグラフィー、ゲル電気泳動、透析および親和性クロマトグラフィーを用いて精製され得、親和性クロマトグラフィーが好ましい精製技術である。

【0172】

親和性リガンドを付加するマトリクスは、アガロースであることが最も多いが、他のマ

50

トリクスも利用可能である。機械的に安定なマトリクス、例えば規定の孔を有するガラスまたはポリ(スチレンジビニル)ベンゼンは、アガロースを用いて達成できるよりも速い流速および短い処理時間を実現する。本明細書に記載されるCD33標的化合物がCH3ドメインを含む場合、Bakerbond ABXMresin(J. T. Baker, Phillipsburg, NJ)が精製に有用である。他のタンパク質精製技術、例えばイオン交換カラムによる分画、エタノール沈降、逆相HPLC、シリカによるクロマトグラフィー、ヘパリンSEPHAROSE(商標)によるクロマトグラフィー、アニオンまたはカチオン交換樹脂(例えば、ポリアスパラギン酸カラム)によるクロマトグラフィー、クロマトフォーカシング、SDS-PAGEおよび硫酸アンモニウム沈降もまた、回収される抗体に依存して利用可能である。

【0173】

「培養」という用語は、培地中での適切な条件下での細胞のインビトロ維持、分化、成長、増殖および/または繁殖を表す。

【0174】

本明細書で使用される場合、「薬学的組成物」という用語は、患者、好ましくはヒト患者に投与する組成物を表す。特定の好ましい本発明の薬学的組成物は、単一の製剤中または別々の製剤中に、CD33標的化合物および少なくとも1種のエピジェネティック因子を含む。好ましくは、薬学的組成物は、担体、安定剤および/または賦形剤の適当な配合物を含む。好ましい態様において、薬学的組成物は、経口、経皮、腔内、動脈内、くも膜下腔内および/もしくは鼻腔内投与または組織への直接注射のための組成物を含む。組成物が注入または注射を通じて患者に投与されることが特に想定されている。適当な組成物の投与は、異なる方法によって、例えば、静脈内、腹腔内、皮下、筋内、局所または皮内投与によって、行われ得る。特に、本発明は、適当な組成物の中断のない投与を提供する。非限定的な例として、中断のない、すなわち連続的な投与は、患者体内への治療剤の流入を計量する患者に装着された小型ポンプシステムによって行われ得る。CD33標的化合物、またはCD33標的化合物および少なくとも1種のエピジェネティック因子を含む薬学的組成物は、このポンプシステムを用いることによって投与され得る。そのようなポンプシステムは概ね当技術分野で公知であり、一般には注入される治療剤を含むカートリッジの定期的交換が必要である。そのようなポンプシステムにおいてカートリッジを交換する際、それ以外では中断されない患者体内への治療剤の流入の一時的中断が生じ得る。そのような場合であっても、カートリッジ交換前の投与フェーズとカートリッジ交換後の投与フェーズは、薬学的手段および本発明の方法のどちらの意味においても、依然としてそのような治療剤の「中断のない投与」を構成するとみなされるであろう。

【0175】

本明細書に記載されるCD33標的化合物、または本明細書に記載されるCD33標的化合物および少なくとも1種のエピジェネティック因子の連続的なまたは中断のない投与は、流体をリザーバから送り出すための流体送出機構および送出機構を作動させるための作動機構を含む、流体送達デバイスまたは小型ポンプシステムによる静脈内または皮下投与であり得る。皮下投与用のポンプシステムは、患者の皮膚に突き入り適当な組成物を患者体内に送達するための針またはカニューレを含み得る。このポンプシステムは、静脈、動脈または血管に関係なく、ポンプシステムと患者の皮膚が直接接触するよう患者の皮膚に直接固定または取り付けられ得る。ポンプシステムは、患者の皮膚に24時間~数日間取り付けられ得る。ポンプシステムは、少量のリザーバを有する小サイズのものであり得る。非限定的な例として、投与される適当な薬学的組成物のためのリザーバの容量は、0.1~50mlの間であり得る。

【0176】

連続的な投与は、皮膚に装着され一定間隔で交換されるパッチによる経皮投与であり得る。当業者は、この目的に適した薬物送達のためのパッチシステムに精通している。経皮投与は、第1の使いきったパッチの交換が、新しい第2のパッチを例えば第1の使いきったパッチのすぐ隣の皮膚表面におよび第1の使いきったパッチの除去直前に設置するのと同時に達成され得る利点があるために、中断のない投与に特に適しているに注目されたい。

流れの中断または動力源喪失の問題は生じない。

【0177】

本発明の組成物はさらに、薬学的に許容される担体を含み得る。適当な薬学的担体の例は当技術分野で周知であり、溶液、例えばリン酸緩衝生理食塩水溶液、水、エマルジョン、例えば油/水エマルジョン、様々なタイプの湿潤剤、滅菌溶液、リボソーム等を含む。そのような担体を含む組成物は、周知の従来法によって製剤化され得る。配合物は、炭水化物、緩衝溶液、アミノ酸および/または界面活性剤を含み得る。炭水化物は、非還元糖、好ましくはトレハロース、スクロース、八硫化物(octasulfate)、ソルビトールまたはキシリトールであり得る。概ね、本明細書で使用される場合、「薬学的に許容される担体」は、薬物投与に適合する任意かつすべての溶媒、分散媒、コーティング、抗菌および抗真菌剤、等張および吸収遅延剤を意味する。薬学的に活性な物質のためにそのような媒体および薬剤を使用することは当技術分野で周知である。許容される担体、賦形剤または安定剤は、用いられる投薬量および濃度でレシipientに対して非毒性であり、追加の緩衝剤；保存剤；共溶媒；アスコルビン酸およびメチオニンを含む抗酸化物質；キレート化剤、例えばEDTA；金属錯体（例えば、Zn・タンパク質錯体）；生分解性ポリマー、例えばポリエステル；塩形成性の対イオン、例えばナトリウム、多価糖アルコール；アミノ酸、例えばアラニン、グリシン、アスパラギン、2-フェニルアラニンおよびスレオニン；糖または糖アルコール、例えばトレハロース、スクロース、八硫化物、ソルビトールまたはキシリトールスタキオース、マンノース、ソルボース、キシロース、リボース、ミオイニシトース(myoinisitose)、ガラクトース、ラクチトール、リビトール、ミオイニシトール、ガラクトール、グリセロール、シクリトール（例えば、イノシトール）、ポリエチレングリコール；硫黄含有還元剤、例えばグルタチオン、チオクト酸、チオグリコール酸ナトリウム、チオグリセロール、[アルファ]-モノチオグリセロールおよびチオ硫酸ナトリウム；低分子量タンパク質、例えばヒト血清アルブミン、ウシ血清アルブミン、ゼラチンまたはその他の免疫グロブリン；ならびに親水性ポリマー、例えばポリビニルピロリドンを含む。そのような配合物は、ポンプシステムを用いるおよび/または用いない静脈内または皮下投与であり得る連続的な投与のために使用され得る。アミノ酸は、荷電アミノ酸、好ましくはリジン、リジン酢酸塩、アルギニン、グルタミン酸塩および/またはヒスチジンであり得る。界面活性剤は、デタージェント(detergent)、好ましくは分子量が>1.2KDのそれ、および/またはポリエーテル、好ましくは分子量が>3KDのそれ、であり得る。好ましいデタージェントの非限定的な例は、Tween 20、Tween 40、Tween 60、Tween 80またはTween 85である。好ましいポリエーテルの非限定的な例は、PEG 3000、PEG 3350、PEG 4000またはPEG 5000である。本発明において使用される緩衝システムは、5~9の好ましいpHを有し得、クエン酸塩、コハク酸塩、リン酸塩、ヒスチジンおよび酢酸塩を含み得る。

【0178】

単一のまたは別々の製剤中に、CD33標的化化合物および少なくとも1種のエピジェネティック因子を含む、本発明の組成物は、例えば漸増用量の本明細書に記載される種間特異性を示す本明細書に記載されるポリペプチドを非チンパンジー霊長類、例えばマカク、に投与する用量増加研究によって決定され得る適当な用量で対象に投与され得る。上記のように、本明細書に記載される種間特異性を示す本明細書に記載のCD33標的化組成物は、非チンパンジー霊長類における前臨床試験においておよびヒトにおける薬物として同一の形態で使用できる利点がある。このもしくはこれらの組成物はまた、さらなる他のタンパク質性および非タンパク質性薬物と組み合わせて投与され得る。これらの薬物は、本明細書で定義される本明細書に記載のポリペプチドを含む組成物と同時に投与され得または該ポリペプチドの投与前もしくは投与後に定義された時間間隔および用量で別々に投与され得る。投薬レジメンは、担当医および臨床的要因によって決定されるであろう。医学分野で周知のように、ある1人の患者に対する投薬量はその患者のサイズ、体の表面積、年齢、投与される個々の化合物、性別、投与時間および経路、健康状態全般ならびに同時に投与される他の薬物を含む、多くの要因に依存する。

10

20

30

40

50

【0179】

非経口投与用の調製物は、滅菌された水性または非水性の溶液、懸濁物およびエマルジョンを含む。非水性溶媒の例は、プロピレングリコール、ポリエチレングリコール、植物油、例えばオリーブ油、および注射可能な有機エステル、例えばオレイン酸エチルである。水性担体は、生理食塩水および緩衝化媒体を含む、水、アルコール性/水性の溶液、エマルジョンまたは懸濁物を含む。非経口ビヒクルは、塩化ナトリウム溶液、リンゲルデキストロース、デキストロースおよび塩化ナトリウム、乳酸加リンゲルまたは固定油を含む。静脈内用ビヒクルは、流体および栄養補給物、電解質補給物（例えば、リンゲルデキストロースに基づくもの）等を含む。保存剤および他の添加物、例えば抗菌物質、抗酸化物質、キレート化剤、不活性ガス等もまた存在し得る。加えて、本発明の組成物は、例えば、好ましくはヒト起源の、血清アルブミンまたは免疫グロブリンのようなタンパク質性の担体を含み得る。本発明の組成物は、その組成物の意図されている用途に依存して、本明細書で定義される本明細書に記載のポリペプチドに加えてさらなる生物学的に活性な薬剤を含み得ることが想定されている。そのような薬剤は、胃腸管系に作用する薬物、細胞静止剤として作用する薬物、高尿酸血症を予防する薬物、免疫反応を阻害する薬物（例えば、コルチコステロイド）、炎症応答を調整する薬物、循環器系に作用する薬物および/または当技術分野で公知の薬剤、例えばサイトカイン、であり得る。単一のまたは別々の製剤中に、CD33標的化合物および少なくとも1種のエピジェネティック因子を含む、本発明の組成物は、追加の並行療法において、すなわち、別の抗癌医薬と併用して適用されることも想定されている。

10

20

【0180】

本明細書で定義される薬学的組成物の生物学的活性は、例えば、以下の実施例に、WO 99/54440にまたはSchlerethら（Cancer Immunol. Immunother. 20 (2005), 1-12）によって記載されたような、細胞毒性アッセイによって決定され得る。本明細書で使用される「効能」または「インビボ効能」は、例えば標準化されたNCIの応答基準を用いる、本発明の薬学的組成物による療法に対する応答を表す。本発明の薬学的組成物を用いる療法の成功またはインビボ効能は、その意図されている目的に対する組成物の有効性、すなわち、その所望の効果、すなわち病理学的細胞、例えば腫瘍細胞の枯渇、をもたらす組成物の能力、を表す。インビボ効能は、白血球数、分化、蛍光活性化細胞選別、骨髓吸引を含むがこれらに限定されない、各々の疾患において確立されている標準的方法によってモニタリングされ得る。加えて、様々な疾患に特異的な臨床化学パラメータおよびその他の確立された標準的方法が使用され得る。さらに、コンピューター断層撮影、X線、核磁気共鳴断層撮影（例えば、National Cancer Institute基準に基づく応答評価のため [Cheson BD, Horning SJ, Coiffier B, Shipp MA, Fisher RI, Connors JM, Lister TA, Vose J, Grillo-Lopez A, Hagenbeek A, Cabanillas F, Klippensten D, Hiddemann W, Castellino R, Harris NL, Armitage JO, Carter W, Hoppe R, Canellos GP. Report of an international workshop to standardize response criteria for non-Hodgkin's lymphomas. NCI Sponsored International Working Group. J Clin Oncol. 1999 Apr; 17(4): 1244]）、ポジトロン放出断層走査、白血球数、分化、蛍光活性化細胞選別、骨髓吸引、リンパ節生検/組織学、および様々なリンパ腫に特異的な臨床化学パラメータ（例えば、乳酸デヒドロゲナーゼ）ならびにその他の確立されている標準的方法が使用され得る。

30

40

【0181】

薬物、例えば本発明の薬学的組成物、の開発における別の大きな課題は、薬物動態特性を予測できるよう調整することである。この目的で、候補薬物の薬物動態プロファイル、すなわち、所定の状態を処置する特定の薬物の能力に影響する薬物動態パラメータのプロファイル、が確立され得る。特定の疾患を処置する薬物の能力に影響する薬物の薬物動態パラメータは、半減期、分布容積、肝臓の初回通過時代謝および血液血清結合度を含むがこれらに限定されない。所定の薬物の効能は、上記のパラメータの各々によって影響され得る。

【0182】

50

「半減期」は、投与された薬物の50%が生物学的プロセス、例えば代謝、排出等を通じて排除される時間を意味する。

【0183】

「肝臓の初回通過時代謝」は、薬物が肝臓に最初に接したとき、すなわち、肝臓の初回通過の間に、代謝される性質を意味する。

【0184】

「分布容積」は、例えば細胞内および細胞外空間、組織および臓器等のような、身体のような区画における薬物の保持ならびにこれらの区画内での薬物の分配の程度を表す。

【0185】

「血液血清結合度」は、薬物が血液血清タンパク質、例えばアルブミンに相互作用および結合してその薬物の生物学的活性を減少または喪失させる性質を意味する。

10

【0186】

薬物動態パラメータはまた、バイオアベイラビリティ、ラグタイム (Tlag)、Tmax、吸収速度、より多い作用発現 (more onset) および / または投与される所定の薬物量についてのCmaxを含む。「バイオアベイラビリティ」は、血液区画の薬物の量を意味する。「ラグタイム」は、薬物の投与から血液または血漿中でのその検出および測定可能段階までの間の時間の遅れを意味する。

【0187】

「Tmax」は、それ以降に薬物の最大血中濃度が達成される時間であり、「Cmax」は、所定の薬物によって得られる最大の血中濃度である。その生物学的効果に必要とされる薬物の血中または組織濃度に達するまでの時間は、すべてのパラメータに影響される。上記のような非チンパンジー霊長類における前臨床動物試験において決定され得る、種間特異性を示す二重特異性単鎖抗体などCD33標的化合物を含むものの薬物動態パラメータは、例えばSchlierethら (Cancer Immunol. Immunother. 20 (2005), 1-12) による刊行物にも示されている。

20

【0188】

本明細書で使用される「毒性」という用語は、有害事象または重篤な有害事象において見られる薬物の毒性の効果を表す。これらの副事象は、全体的な薬物の認容性の欠如および / または投与後の局所的な認容性の欠如を表し得る。毒性はまた、その薬物によって引き起こされる催奇形効果または発癌効果を含み得る。

30

【0189】

本明細書で使用される「安全性」、「インビボ安全性」または「認容性」という用語は、投与直後に (局所的認容性) およびより長期の薬物適用期間の間に重篤な有害事象を誘導しない薬物の投与と定義される。「安全性」、「インビボ安全性」または「認容性」は、例えば、処置中およびフォローアップ期間中に一定間隔で評価され得る。測定は、臨床評価、例えば臓器の兆候、および検査異常のスクリーニングを含む。臨床評価が実施され、NCI-CTCおよび / またはMedDRA標準にしたがう正常所見からの逸脱が記録 / コード化され得る。臓器の兆候は、例えばCommon Terminology Criteria for adverse events v3.0 (CTCAE) に示されるように、アレルギー / 免疫学、血液 / 骨髄、心不整脈、凝固等の基準を含み得る。試験され得る検査パラメータは、例えば、血液学、臨床化学、凝固プロフィールおよび尿検査ならびにその他の体液、例えば血清、血漿、リンパまたは脊髄液、リカー等の試験が含まれる。したがって安全性は、例えば身体試験、画像化技術 (すなわち、超音波、x線、CTスキャン、磁気共鳴画像化 (MRI)、専門的装置を用いるその他の測定 (すなわち、心電図)、バイタルサインによって、検査パラメータを測定し有害事象を記録することによって、評価され得る。例えば、本発明にしたがう使用および方法において、非チンパンジー霊長類における有害事象が組織病理学および / または組織化学法により試験され得る。

40

【0190】

「有効用量」または「有効投薬量」は、所望の効果を達成するまたは少なくとも部分的に達成するのに十分な量と定義される。「治療有効用量」という用語は、疾患にすでに罹

50

患している患者において疾患およびその合併症を治癒するまたは少なくとも部分的に抑止するのに十分な量と定義される。この用途に効果的な量は、感染の重篤度および対象自身の免疫系の全体的状態に依存するであろう。「患者」という用語は、予防的または治療的処置のいずれかを受けるヒトおよびその他の哺乳動物対象を含む。

【0191】

本明細書で使用される「有効・非毒性用量」という用語は、大きな毒性作用を生じさせずにまたは本質的に生じさせずに病理学的細胞の枯渇、腫瘍の除去、腫瘍の縮退または疾患の安定化をもたらすのに十分高い、薬学的組成物（すなわち、単一のまたは別々の製剤中に、CD33標的化合物および少なくとも1種のエピジェネティック因子を含む薬学的組成物）の認容可能な用量を表す。そのような有効・非毒性用量は、例えば当技術分野で記載されている用量増加研究によって決定され得、そしてそれは重篤な有害副事象を誘導する用量以下とされるべきである（用量制限毒性、DLT）。

10

【0192】

上記の用語はまた、例えば、Preclinical safety evaluation of biotechnology derived pharmaceuticals S6; ICH Harmonised Tripartite Guideline; ICH Steering Committee meeting on July 16, 1997も参照する。

【0193】

単一のまたは別々の製剤中に、CD33標的化合物および少なくとも1種のエピジェネティック因子を含む薬学的組成物の適当な投薬量または治療有効量は、処置される状態、状態の重篤度、これまでの療法ならびに患者の病歴および治療剤に対する応答に依存する。適当な用量は、1度にまたは一連の投与により患者に投与され得るように、担当医の判断にしたがい調節され得る。薬学的組成物は、単独の治療としてまたは必要な場合は追加の療法、例えば抗癌療法と併用して投与され得る。

20

【0194】

本発明の薬学的組成物は、非経口投与、すなわち、皮下、筋内、静脈内、関節内および/または滑液嚢内投与に特に有用である。非経口投与は、ボラス注射または連続注入によるものであり得る。

【0195】

薬学的組成物が凍結乾燥される場合、凍結乾燥された物質はまず、投与の前に適当な液体中で再構成される。凍結乾燥された物質は、例えば注射用静菌水（BWF1）、生理学的食塩水、リン酸緩衝生理食塩水（PBS）または凍結乾燥の前にタンパク質を添加したのと同じ製剤中で再構成され得る。

30

【0196】

本発明に関連して、驚くべきことに、特定の群のエピジェネティック因子が、CD33陽性標的細胞とのT細胞の結合を使用する治療アプローチの可能性を増加させることに関連することが見出された。5-アザシチジン（Vidaza（商標））および5-アザ-2'デオキシシチジン（デシタピン、Dacogen（商標））は、エピジェネティック治療学のクラスに属するヌクレオシドアナログであり、タンパク質合成の破壊およびDNAメチル化の阻害を介して、腫瘍細胞の殺傷を誘導できることが知られている。CD33特異的抗体であるリンツズマブおよび5-アザシチジンを用いる併用治療アプローチは、AML標的細胞に対する改良されたリンツズマブ媒介性ADCCを導く。しかし、そのような試験において、AML細胞またはマクロファージのインキュベーションは、これらの細胞におけるCD33の発現に影響しなかった（Sutherland et al. MAbs. 2010 Jul-Aug; 2(4): 440-448）。したがって、リンツズマブの作用様式は、リンツズマブのF_Cドメインと免疫エフェクター細胞のF_Cγ受容体との間の機能的相互作用を要求することから、エピジェネティック化合物による前処理は、エフェクター細胞による標的細胞の特異的食作用を増加させると結論された。

40

【0197】

したがって、本明細書に記載されるCD33標的化合物により結合された場合に、T細胞による標的細胞溶解に基づく作用様式が、任意のF_C-F_Cγ受容体相互作用と完全に独立していることから、本発見は、公知の効果に照らせば、特に驚くべきことである。以前の研

50

究とは対照的に、本明細書に記載されるエピジェネティック因子による標的細胞の処理により、CD33の表面発現の増加が観察された。また、T細胞による標的細胞溶解の基づく作用様式から明らかなように、観察された相乗効果は、CD33表面分子に結合する抗体によって生じ得る如何なるシグナル伝達作用（例えばSHP-1、Syk、または両方を含むシグナル伝達経路）からも独立している。

【0198】

さらに、所与の時点での骨髓性白血病細胞芽球の溶解の速さおよび程度は、CD33の発現に比例するため、この発見は、エピジェネティック治療とCD33に指向したT細胞エンゲイジャー（engager）の組み合わせが、いずれかの治療を別に投与されたものと比べて、相乗的により効果的であることを支持している。したがって、本明細書に記載されるエピジェネティック因子と組み合わせた1つまたは複数のCD33標的化合物の、記載された投与により、所与の時点で効果的であるより低用量の二重特異性T細胞エンゲイジャーを可能にする可能性がある。

10

【0199】

上記のように、本発明に係る組み合わせ治療アプローチに適したエピジェネティック因子の例は、ヒストンデアセチラーゼ（HDAC）阻害剤、DNAメチルトランスフェラーゼ（DNMT）阻害剤、ヒドロキシ尿素、顆粒球コロニー刺激因子（G-CSF）、ヒストンデメチラーゼ阻害剤、およびATRA（全トランス型レチノイン酸）からなる群より選択される。多重特異性、少なくとも二重特異性の構築物によるT細胞の動員を介した標的細胞の変更された溶解は、細胞溶解性のシナプス形成、ならびにパーフォリンおよびグランザイムの送達に関する。結合されたT細胞は、連続的な標的細胞の溶解を行うことができ、ペプチド抗原のプロセッシングおよび提示またはクローン性T細胞の分化に干渉する免疫回避機構には影響されない；例えば、WO 2007/042261を参照のこと。

20

【0200】

二重特異性抗体構築物等の本明細書に記載されるCD33/CD3二重特異性化合物により媒介される細胞毒性活性は、好ましくは細胞ベースの細胞毒性アッセイにおいて測定される。それは、最大半量有効濃度（half maximal effective concentration）（ベースラインと最大の間の半分の細胞毒性応答を誘導する化合物の濃度）に対応する EC_{50} 値によって表される。好ましくは、CD33/CD3二重特異性抗体構築物の EC_{50} 値は、20,000 pg/ml、より好ましくは 5000 pg/ml、さらにより好ましくは 1000 pg/ml、さらにより好ましくは 500 pg/ml、さらにより好ましくは 350 pg/ml、さらにより好ましくは 320 pg/ml、さらにより好ましくは 250 pg/ml、さらにより好ましくは 100 pg/ml、さらにより好ましくは 50 pg/ml、さらにより好ましくは 10 pg/ml、および最も好ましくは 5 pg/mlである。

30

【0201】

上記の所与の任意の EC_{50} 値が、細胞ベースの細胞毒性アッセイの示されたシナリオのいずれか1つと組み合わせられ得る。例えば、（ヒト）CD8陽性T細胞またはマカクT細胞株がエフェクター細胞として使用される場合、CD33/CD3二重特異性抗体構築物の EC_{50} 値は、好ましくは 1000 pg/ml、より好ましくは 500 pg/ml、さらにより好ましくは 250 pg/ml、さらにより好ましくは 100 pg/ml、さらにより好ましくは 50 pg/ml、さらにより好ましくは 10 pg/mlおよび最も好ましくは 5 pg/mlである。このアッセイにおいて、標的細胞が（ヒトまたはマカク）CD33トランスフェクト細胞、例えばCHO細胞である場合、CD33/CD3二重特異性抗体構築物の EC_{50} 値は、好ましくは 150 pg/ml、より好ましくは 100 pg/ml、さらにより好ましくは 50 pg/ml、さらにより好ましくは 30 pg/ml、さらにより好ましくは 10 pg/mlおよび最も好ましくは 5 pg/mlである。

40

【0202】

標的細胞がCD33陽性自然発現細胞株である場合、 EC_{50} 値は、好ましくは 350 pg/ml、より好ましくは 320 pg/ml、さらにより好ましくは 250 pg/ml、さらにより好ましくは 200 pg/ml、さらにより好ましくは 100 pg/ml、さらにより好ましくは 150 pg/ml、さらにより好ましくは 100 pg/mlおよび最も好ましくは 50 pg/mlまたはそれより低い

50

値である。

【 0 2 0 3 】

(ヒト) PBMCがエフェクター細胞として使用される場合、CD33/CD3二重特異性抗体構築物のEC₅₀値は、好ましくは 1000 pg/ml、より好ましくは 750 pg/ml、より好ましくは 500 pg/ml、さらにより好ましくは 350 pg/ml、さらにより好ましくは 320 pg/ml、さらにより好ましくは 250 pg/ml、さらにより好ましくは 100 pg/mlおよび最も好ましくは 50 pg/mlまたはそれより低い値である。

【 0 2 0 4 】

個々のCD33/CD3二重特異性抗体構築物の単量体アイソフォームと2量体アイソフォームの間の細胞毒性活性の違いは、「効果ギャップ (potency gap)」と称される。この効果ギャップは、例えば、その分子の単量体形態のEC₅₀値と2量体形態のEC₅₀値の間の比として計算され得る。本明細書に記載されるCD33/CD3二重特異性抗体構築物の効果ギャップは、好ましくは 5、より好ましくは 4、さらにより好ましくは 3、さらにより好ましくは 2および最も好ましくは 1である。

10

【 0 2 0 5 】

T細胞CD3受容体複合体に結合できる第2の結合ドメインが、

(a) WO 2008/119567のSEQ ID NO: 27に示されるCDR-L1、WO 2008/119567のSEQ ID NO: 28に示されるCDR-L2およびWO 2008/119567のSEQ ID NO: 29に示されるCDR-L3 ;

(b) WO 2008/119567のSEQ ID NO: 117に示されるCDR-L1、WO 2008/119567のSEQ ID NO: 118に示されるCDR-L2およびWO 2008/119567のSEQ ID NO: 119に示されるCDR-L3 ; なら
びに

20

(c) WO 2008/119567のSEQ ID NO: 153に示されるCDR-L1、WO 2008/119567のSEQ ID NO: 154に示されるCDR-L2およびWO 2008/119567のSEQ ID NO: 155に示されるCDR-L3
から選択されるCDR-L1、CDR-L2およびCDR-L3を含むVL領域を含む本明細書に記載されるCD33標的化化合物が、特に好ましい。

【 0 2 0 6 】

本明細書に記載されるCD33標的化化合物の代替の好ましい態様において、T細胞CD3受容体複合体に結合できる第2の結合ドメインは :

(a) WO 2008/119567のSEQ ID NO: 12に示されるCDR-H1、WO 2008/119567のSEQ ID NO: 13に示されるCDR-H2およびWO 2008/119567のSEQ ID NO: 14に示されるCDR-H3 ;

30

(b) WO 2008/119567のSEQ ID NO: 30に示されるCDR-H1、WO 2008/119567のSEQ ID NO: 31に示されるCDR-H2およびWO 2008/119567のSEQ ID NO: 32に示されるCDR-H3 ;

(c) WO 2008/119567のSEQ ID NO: 48に示されるCDR-H1、WO 2008/119567のSEQ ID NO: 49に示されるCDR-H2およびWO 2008/119567のSEQ ID NO: 50に示されるCDR-H3 ;

(d) WO 2008/119567のSEQ ID NO: 66に示されるCDR-H1、WO 2008/119567のSEQ ID NO: 67に示されるCDR-H2およびWO 2008/119567のSEQ ID NO: 68に示されるCDR-H3 ;

(e) WO 2008/119567のSEQ ID NO: 84に示されるCDR-H1、WO 2008/119567のSEQ ID NO: 85に示されるCDR-H2およびWO 2008/119567のSEQ ID NO: 86に示されるCDR-H3 ;

(f) WO 2008/119567のSEQ ID NO: 102に示されるCDR-H1、WO 2008/119567のSEQ ID NO: 103に示されるCDR-H2およびWO 2008/119567のSEQ ID NO: 104に示されるCDR-H3 ;

40

(g) WO 2008/119567のSEQ ID NO: 120に示されるCDR-H1、WO 2008/119567のSEQ ID NO: 121に示されるCDR-H2およびWO 2008/119567のSEQ ID NO: 122に示されるCDR-H3 ;

(h) WO 2008/119567のSEQ ID NO: 138に示されるCDR-H1、WO 2008/119567のSEQ ID NO: 139に示されるCDR-H2およびWO 2008/119567のSEQ ID NO: 140に示されるCDR-H3 ;

(i) WO 2008/119567のSEQ ID NO: 156に示されるCDR-H1、WO 2008/119567のSEQ ID NO: 157に示されるCDR-H2およびWO 2008/119567のSEQ ID NO: 158に示されるCDR-H3 ; なら
びに

(j) WO 2008/119567のSEQ ID NO: 174に示されるCDR-H1、WO 2008/119567のSEQ ID NO: 175に示されるCDR-H2およびWO 2008/119567のSEQ ID NO: 176に示されるCDR-H3
から選択されるCDR-H1、CDR-H2およびCDR-H3を含むVH領域を含む。

50

【 0 2 0 7 】

T細胞CD3受容体複合体に結合できる第2の結合ドメインが、WO 2008/119567のSEQ ID NO : 35、39、125、129、161または165に示されるVL領域からなる群より選択されるVL領域を含む本明細書に記載されるCD33標的化化合物が、さらに好ましい。

【 0 2 0 8 】

T細胞CD3受容体複合体に結合できる第2の結合ドメインが、WO 2008/119567のSEQ ID NO : 15、19、33、37、51、55、69、73、87、91、105、109、123、127、141、145、159、163、177または181に示されるVH領域からなる群より選択されるVH領域を含むことが、代替的に好ましい。

【 0 2 0 9 】

より好ましくは、本明細書に記載されるCD33標的化化合物は：

(a) WO 2008/119567のSEQ ID NO: 17または21に示されるVL領域およびWO 2008/119567のSEQ ID NO: 15または19に示されるVH領域；

(b) WO 2008/119567のSEQ ID NO: 35または39に示されるVL領域およびWO 2008/119567のSEQ ID NO: 33または37に示されるVH領域；

(c) WO 2008/119567のSEQ ID NO: 53または57に示されるVL領域およびWO 2008/119567のSEQ ID NO: 51または55に示されるVH領域；

(d) WO 2008/119567のSEQ ID NO: 71または75に示されるVL領域およびWO 2008/119567のSEQ ID NO: 69または73に示されるVH領域；

(e) WO 2008/119567のSEQ ID NO: 89または93に示されるVL領域およびWO 2008/119567のSEQ ID NO: 87または91に示されるVH領域；

(f) WO 2008/119567のSEQ ID NO: 107または111に示されるVL領域およびWO 2008/119567のSEQ ID NO: 105または109に示されるVH領域；

(g) WO 2008/119567のSEQ ID NO: 125または129に示されるVL領域およびWO 2008/119567のSEQ ID NO: 123または127に示されるVH領域；

(h) WO 2008/119567のSEQ ID NO: 143または147に示されるVL領域およびWO 2008/119567のSEQ ID NO: 141または145に示されるVH領域；

(i) WO 2008/119567のSEQ ID NO: 161または165に示されるVL領域およびWO 2008/119567のSEQ ID NO: 159または163に示されるVH領域；ならびに

(j) WO 2008/119567のSEQ ID NO: 179または183に示されるVL領域およびWO 2008/119567のSEQ ID NO: 177または181に示されるVH領域；

からなる群より選択されるVL領域およびVH領域を含むT細胞CD3受容体複合体に結合できる第2の結合ドメインによって特徴づけられる。

【 0 2 1 0 】

本明細書に記載されるCD33標的化化合物、特にT細胞CD3受容体複合体に結合できる第2の結合ドメインの好ましい態様によると、VH領域およびVL領域の対は、単鎖抗体 (scFv) の形式にされる。VHおよびVL領域は、VH-VLまたはVL-VHの順で配列される。VH領域がリンカー配列のN末端側に配置されることが好ましい。VL領域は、リンカー配列のC末端側に配置される。

【 0 2 1 1 】

本明細書に記載されるCD33標的化化合物の好ましい態様は、WO 2008/119567のSEQ ID NO: 23、25、41、43、59、61、77、79、95、97、113、115、131、133、149、151、167、169、185または187からなる群より選択されるアミノ酸配列を含むT細胞CD3受容体複合体に結合できる第2の結合ドメインによって特徴づけられる。

【 0 2 1 2 】

本明細書に記載される製剤は、それを必要とする患者における本明細書に記載される病理学的医学状態を処置、寛解および/または予防する薬学的組成物として有用である。「処置」という用語は、治療的処置および予防または抑止手段の両方を表す。処置は、その疾患、疾患の症状または疾患に対する素因を治癒する、修復する、軽減する、解放する、是正する、救済する、寛解する、改善するまたはそれに影響を与える目的での、疾患/障

10

20

30

40

50

害、疾患／障害の症状または疾患／障害の素因を有する患者の身体、単離された組織または細胞に対する製剤の適用または投与を含む。

【0213】

「処置を必要とする」は、すでに障害を有している者およびその障害を予防したい者を含む。「疾患」という用語は、本明細書に記載されるタンパク質製剤を用いた処置から利益を得るであろう任意の状態である。これは、哺乳動物が問題の疾患にかかりやすくなる病理学的状態を含む、慢性および急性の障害または疾患を含む。本発明により処置される疾患／障害の非限定的な例は、本明細書に記載される骨髄性白血病を含む。

【0214】

いくつかの態様において、本発明は、治療有効量の本明細書に記載される1つまたは複数の抗体構築物を薬学的に有効な希釈剤、担体、可溶化剤、乳化剤、保存剤および／またはアジュバントと共に含む薬学的組成物を提供する。本明細書に記載される薬学的組成物は、液体、凍結および凍結乾燥組成物を含むがこれらに限定されない。

【0215】

好ましくは、配合物質は、用いられる用量および濃度でレシipientに非毒性である。

【0216】

特定の態様において、薬学的組成物は、例えば組成物のpH、オスモル濃度、粘性、清澄性、色、等張性、臭気、滅菌性、安定性、溶解もしくは放出速度、吸収性または浸透性を変化、維持または保存するための配合物質を含み得る。そのような態様において、適当な配合物質は、アミノ酸（例えば、グリシン、グルタミン、アスパラギン、アルギニン、プロリンもしくはリジン）；抗菌剤；抗酸化物質（例えば、アスコルビン酸、亜硫酸ナトリウムもしくは亜硫酸水素ナトリウム）；緩衝液（例えば、ホウ酸塩、重炭酸塩、Tris-HCl、クエン酸塩、リン酸塩もしくはその他の有機酸）；充填剤（例えば、マンニトールもしくはグリシン）；キレート剤（例えば、エチレンジアミン四酢酸（EDTA））；錯化剤（例えば、カフェイン、ポリビニルピロリドン、ベータ-シクロデキストリンもしくはヒドロキシプロピル-ベータ-シクロデキストリン）；増量剤；単糖；二糖；および他の炭水化物（例えば、グルコース、マンノースもしくはデキストリン）；タンパク質（例えば、血清アルブミン、ゼラチンもしくは免疫グロブリン）；着色、香味および希釈剤；乳化剤；親水性ポリマー（例えば、ポリビニルピロリドン）；低分子量ポリペプチド；塩形成対イオン（例えば、ナトリウム）；保存剤（例えば、塩化ベンザルコニウム、安息香酸、サリチル酸、チメロサル、フェネチルアルコール、メチルパラベン、プロピルパラベン、クロルヘキシジン、ソルビン酸または過酸化水素）；溶媒（例えば、グリセリン、ポリピレングリコールもしくはポリエチレングリコール）；糖アルコール（例えば、マンニトールもしくはソルビトール）；懸濁剤；界面活性剤もしくは湿潤剤（例えば、プルロニック、PEG、ソルビタンエステル、ポリソルベート、例えばポリソルベート20、ポリソルベート、トリトン、トロメタミン、レシチン、コレステロール、チロキサポール（tyloxapol））；安定性向上剤（例えば、スクロースもしくはソルビトール）；等張性向上剤（例えば、アルカリ金属ハロゲン化物、好ましくは塩化ナトリウムもしくはカリウム、マンニトールソルビトール）；送達ビヒクル；希釈剤；賦形剤ならびに／または医薬用アジュバントを含むがこれらに限定されない。REMINGTON'S PHARMACEUTICAL SCIENCES, 18th Edition, (A.R. Genrmo, ed.), 1990, Mack Publishing Companyを参照のこと。

【0217】

特定の態様において、最適な薬学的組成物は、例えば、意図される投与経路、送達形式および望まれる用量に基づいて、当業者によって決定されるであろう。例えば、REMINGTON'S PHARMACEUTICAL SCIENCES、前記を参照のこと。特定の態様において、そのような組成物は、本明細書に記載される抗原結合タンパク質の物理的状態、安定性、インビボ放出速度およびインビボクリアランス速度に影響し得る。特定の態様において、薬学的組成物における主ビヒクルまたは担体は、本来的に水性または非水性のいずれかであり得る。例えば、適当なビヒクルまたは担体は、非経口投与用組成物において一般的な他の物質を補充され得る注射用水、生理食塩水溶液または人工脳脊髄液であり得る。中性緩衝化生理食

10

20

30

40

50

塩水または血清アルブミンを混合された生理食塩水は、さらなる例示的なビヒクルである。特定の態様において、薬学的組成物は、約pH 7.0~8.5のTris緩衝液または約pH 4.0~5.5の酢酸緩衝液を含み、さらにソルビトールまたはその適当な代替物質を含み得る。本発明の特定の態様において、本明細書に記載されるヒト抗体もしくはその抗原結合フラグメントまたは本明細書に記載される抗体構築物は、凍結乾燥ケーキまたは水溶液の形態で望ましい純度を有する選択された組成物を任意の配合剤 (REMINGTON'S PHARMACEUTICAL SCIENCES、前記) と混合することによって保存用に調製され得る。さらに、特定の態様において、本明細書に記載されるヒト抗体もしくはその抗原結合フラグメントまたは本明細書に記載される抗体構築物は、適当な賦形剤、例えばスクロースを用いて凍結乾燥物として製剤化され得る。

10

【0218】

本明細書に記載される薬学的組成物は、非経口送達用を選択され得る。あるいは、組成物は、吸入または消化管を通じた送達用に、例えば経口用に選択され得る。そのような薬学的に許容される組成物の調製は、当技術分野の技能の範疇である。配合成分は、好ましくは投与部位にとって許容できる濃度で存在する。特定の態様において、緩衝液が、生理学的pHまたは若干低いpHで、典型的には約5~約8のpH範囲内で組成物を維持するために使用される。

【0219】

非経口投与が考慮される場合、本発明において使用される治療組成物は、薬学的に許容されるビヒクル中に本明細書に記載される望まれるヒト抗体もしくはその抗原結合フラグメントまたは本明細書に記載される抗体構築物を含む発熱物質非含有の、非経口的に許容される水溶液の形態で提供され得る。非経口注射に特に適したビヒクルは、本明細書に記載される抗体構築物を適切に保存する滅菌性、等張性の溶液として製剤化されている滅菌蒸留水である。特定の態様において、調製物は、望まれる分子と、蓄積注射を通じて送達され得る産物の制御または持続放出を提供し得る薬剤、例えば注射可能なマイクロスフィア、生体内分解性粒子、ポリマー化合物 (例えば、ポリ乳酸もしくはポリグリコール酸)、ビーズまたはリポソームとの配合物を含み得る。特定の態様において、循環中での持続時間を向上させる効果を有するヒアルロン酸も使用され得る。特定の態様において、移植可能な薬物送達デバイスが、望ましい抗原結合タンパク質を導入するために使用され得る。

20

30

【0220】

持続または制御送達製剤中に本明細書に記載される抗体構築物を含む製剤を含むさらなる薬学的組成物は、当業者に明らかであろう。様々な他の持続または制御送達手段、例えばリポソーム担体、生体内分解性マイクロスフィアまたは多孔性ビーズおよび蓄積注射物を配合する技術もまた当業者に公知である。例えば、参照により組み入れられ、薬学的組成物の送達のための多孔性ポリマーマイクロ粒子の制御放出について記載する国際特許出願第PCT/US93/00829号を参照のこと。持続放出調製物は、成形物、例えばフィルム、またはマイクロカプセルの形態の半透過性ポリマーマトリックスを含み得る。持続放出マトリックスは、ポリエステル、ヒドロゲル、(各々参照により組み入れられる米国特許第3,773,919号および欧州特許出願公開第EP 058481号に記載されるような) ポリラクチド、L-グルタミン酸およびガンマ エチル-L-グルタメートのコポリマー (Sidman et al., 1983, Biopolymers 2:547-556)、ポリ(2-ヒドロキシエチル-メタクリレート) (Langer et al., 1981, J. Biomed. Mater. Res. 15:167-277およびLanger, 1982, Chem. Tech. 12:98-105)、エチレンビニル酢酸 (Langer et al., 1981, 前記) またはポリ-D(-)-3-ヒドロキシ酪酸 (欧州特許出願公開第EP 133,988号) を含み得る。持続放出組成物はまた、当技術分野で公知のいくつかの方法のいずれかによって調製され得るリポソームを含み得る。例えば、参照により組み入れられる、Eppstein et al., 1985, Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 82:3688-3692; 欧州特許出願公開第EP 036,676号; 同第EP 088,046号および同第EP 143,949号を参照のこと。

40

【0221】

50

インビボ投与のために使用される薬学的組成物は、典型的に、滅菌調製物として提供される。滅菌は、滅菌ろ過膜を通じたる過によって達成され得る。組成物が凍結乾燥される場合、この方法を用いた滅菌は、凍結乾燥および再構成の前および後のいずれかに実施され得る。非経口投与用組成物は、凍結乾燥形態または溶液中で保存され得る。非経口組成物は、通常、滅菌アクセス口を有する容器、例えば皮下注射針によって穿孔可能なストッパーを有する静脈内溶液用バッグまたはバイアル中に注入される。

【0222】

本発明の複数の局面は、その全体が参照により本明細書に組み入れられる国際特許出願 WO 2006/138181A2 (PCT/US2006/022599) に記載される薬学的組成物として使用され得る自己緩衝用抗体構築物製剤を含む。

10

【0223】

上記のように、特定の態様は、本明細書に記載される抗体構築物に加えて、1つまたは複数の賦形剤、例えばこの節および本明細書の他箇所に例示的に記載されているものを含む抗体構築物タンパク質組成物、特に本発明の薬学的組成物の抗体構築物を含む。この点に関して、賦形剤は本発明において、幅広い目的で、例えば製剤の物理的、化学的または生物学的特性を調節するために、例えば粘性の調節、効能を改善するためおよびまたはそのような製剤を安定化させるためのプロセスならびに例えば製造、輸送、保管、使用前準備、投与の間およびその後生じるストレスに起因する分解および損傷に対するプロセスのために、使用され得る。

【0224】

20

様々な解説、例えば各々その全体が参照により本明細書に組み入れられる Arakawa et al., "Solvent interactions in pharmaceutical formulations," Pharm Res. 8(3): 285-91 (1991); Kendrick et al., "Physical stabilization of proteins in aqueous solution," in: RATIONAL DESIGN OF STABLE PROTEIN FORMULATIONS: THEORY AND PRACTICE, Carpenter and Manning, eds. Pharmaceutical Biotechnology. 13: 61-84 (2002) および Randolph et al., "Surfactant-protein interactions," Pharm Biotechnol. 13: 159-75 (2002) が、特に一部本発明にしたがうタンパク質製剤の自己緩衝のための賦形剤およびそのプロセスに関連する、特に獣医学的および/またはヒト医療用途のタンパク質医薬製品およびプロセスに関連する、タンパク質の安定化ならびにこの点で有用な配合物質および方法に関して利用可能である。

30

【0225】

塩は、本発明の特定の態様によると、例えば製剤のイオン強度および/もしくは等張性を調節するためならびに/または本発明にしたがう組成物のタンパク質もしくは他の成分の溶解度および/もしくは物理的安定性を改善するために使用され得る。

【0226】

周知のように、イオンは、タンパク質の表面上の荷電残基に結合することによってならびにタンパク質中の荷電および極性基を遮蔽しそれらの静電気相互作用、誘引および反発相互作用の強度を減少させることによってネイティブ状態のタンパク質を安定化させ得る。イオンはまた、特にタンパク質の変性したペプチド結合 (---CONH) に結合することによって変性状態のタンパク質を安定化させ得る。さらにタンパク質中の荷電および極性基とのイオン相互作用はまた、分子間静電気相互作用を減少させ、それによってタンパク質の凝集および不溶化を防止または減少させ得る。

40

【0227】

イオン種は、タンパク質に対するそれらの効果に関して大きく異なる。多くのイオンおよびタンパク質に対するそれらの効果の分類別順位づけが開発され、これらが本発明にしたがう薬学的組成物の製剤化に使用され得る。1つの例は、イオンおよび極性非イオン溶質を溶液中のタンパク質の立体構造安定性に対するそれらの効果によって順位づけするホフマイスターシリーズである。安定化させる溶質は、「コスモトロピック」と称される。不安定化させる溶質は、「カオトロピック」と称される。コスモトロップは、一般に、溶液からタンパク質を沈殿 (「塩析」) させるために高濃度 (例えば、>1モル硫酸アンモ

50

ニウム)で使用される。カオトロープは、一般に、タンパク質を変性および/または可溶化(「塩溶」)させるために使用される。「塩溶」および「塩析」に対するイオンの相対的な効果が、ホフマイスターシリーズにおけるそれらの位置を定義する。

【0228】

遊離アミノ酸は、バルク剤、安定化剤および抗酸化物質としてならびにその他の標準的用途で、本発明の様々な態様による抗体構築物製剤において使用され得る。リジン、プロリン、セリンおよびアラニンは、製剤中のタンパク質を安定化させるために使用され得る。グリシンは、正確なケーキの構造および特性を確保するために凍結乾燥時に有用である。アルギニンは、液体および凍結乾燥の両製剤においてタンパク質の凝集を防ぐために有用であり得る。メチオニンは、抗酸化物質として有用である。

10

【0229】

ポリオールは、糖、例えばマンニトール、スクロースおよびソルビトールならびに多価アルコール、例えばグリセロールおよびプロピレングリコールならびに、本明細書における議論の目的で、ポリエチレングリコール(PEG)および関連物質を含む。ポリオールはコスモトロピックである。それらは、タンパク質を物理的および化学的分解プロセスから保護するための液体および凍結乾燥の両製剤における安定化剤として有用である。ポリオールは、製剤の等張性を調節するために有用である。

【0230】

本発明の選択された態様において特に有用なポリオールは、凍結乾燥製剤においてケーキの構造安定性を確保するために広く使用されるマンニトールである。それは、ケーキの構造安定性を確保する。それは一般に、凍結保護物質、例えばスクロースと共に使用される。ソルビトールおよびスクロースは、等張性を調節するためにおよび輸送中または製造プロセスにおけるバルク調製中の凍結・解凍ストレスから保護するための安定化剤として特に好ましい薬剤である。(遊離アルデヒドまたはケトン基を含む)還元糖、例えばグルコースおよびラクトースは、表面リジンおよびアルギニン残基を糖化し得る。したがって、それらは概ね、本発明にしたがう使用に関して特に好ましいポリオールではない。加えて、そのような反応性種を形成する糖、例えば酸性条件下でフルクトースおよびグルコースに加水分解され、その結果糖化をもたらすスクロースもまたこの点で本発明の特に好ましいポリオールではない。PEGは、タンパク質を安定化させるためにおよび凍結保護物質として有用であり、本発明においてこの点で使用され得る。

20

30

【0231】

抗体構築物製剤の複数の態様はさらに、界面活性剤を含む。タンパク質分子は、表面への吸着ならびに空気・液体、固体・液体および液体・液体界面での変性およびその結果としての凝集を引き起こしやすいものであり得る。これらの効果は通常、タンパク質濃度に反比例する。これらの有害な相互作用は通常、タンパク質濃度と反比例し、典型的には、例えば製品の輸送および取り扱い時に生じる物理的撹拌によって悪化する。

【0232】

界面活性剤は、慣用的に、表面吸着を防止する、最小限に抑えるまたは減少させるために使用される。この点で本発明において有用な界面活性剤は、ポリソルベート20、ポリソルベート80、ソルピタンポリエトキシレートのその他の脂肪酸エステルおよびポロキサマー188を含む。

40

【0233】

界面活性剤はまた、タンパク質の立体構造安定性を制御するために広く使用されている。この点における界面活性剤の使用は、任意の所与の界面活性剤は典型的に一部のタンパク質を安定化させ他を不安定化させるので、タンパク質特異的である。

【0234】

ポリソルベートは、酸化的分解の影響を受けやすく、しばしば、供給されるときに、タンパク質残基の側鎖、特にメチオニンの酸化を引き起こすのに十分な量のペルオキシドを含んでいる。結果として、ポリソルベートは、注意して使用されなければならない、使用される際は、それらの最低有効濃度で用いられるべきである。この点で、ポリソルベートは

50

、賦形剤がそれらの最低有効濃度で使用されるべきとする一般的なルールの一例である。

【0235】

抗体構築物製剤の複数の態様はさらに、1つまたは複数の抗酸化物質を含む。適当なレベルの環境の酸素および温度を維持することによってならびに光への暴露を回避することによって、ある程度まで、薬学的製剤においてタンパク質の有害な酸化を防ぐことができる。タンパク質の酸化分解を防ぐために、抗酸化物質賦形剤も使用され得る。この点で特に有用な抗酸化物質は、還元剤、酸素/フリーラジカル消去剤およびキレート剤である。本発明にしたがう治療用タンパク質製剤において使用される抗酸化物質は、好ましくは、水溶性であり、製品の有効期間を通じてそれらの活性を維持する。EDTAが、この点で本発明にしたがう好ましい抗酸化物質である。

10

【0236】

抗酸化物質は、タンパク質を損傷し得る。例えば、還元剤、例えばグルタチオンは特に、分子内ジスルフィド連結を破壊し得る。したがって、本発明において使用するための抗酸化物質は、特に、それ自体が製剤中のタンパク質に損傷を与える可能性を排除するまたは実質的に減少させるよう選択される。

【0237】

本発明にしたがう製剤は、タンパク質の補因子でありタンパク質配位化合物を形成するのに必要とされる金属イオン、例えば、特定のインスリン懸濁物を形成するのに必要とされる亜鉛、を含み得る。金属イオンはまた、タンパク質を分解するいくつかのプロセスを阻害し得る。しかし、金属イオンはまた、タンパク質を分解する物理的および化学的プロセスを触媒する。

20

【0238】

マグネシウムイオン(10~120mM)は、アスパラギン酸からイソアスパラギン酸への異性化を阻害するために使用され得る。 Ca^{+2} イオン(最大100mM)は、ヒトデオキシリボヌクレアーゼの安定性を向上させ得る。 Mg^{+2} 、 Mn^{+2} および Zn^{+2} は、しかし、rhDNaseを不安定化させ得る。同様に Ca^{+2} および Sr^{+2} は、第VIII因子を安定化させ得、それは Mg^{+2} 、 Mn^{+2} および Zn^{+2} 、 Cu^{+2} ならびに Fe^{+2} によって不安定化され得、そしてその凝集は Al^{+3} イオンによって増大され得る。

【0239】

抗体構築物製剤の複数の態様はさらに、1つまたは複数の保存剤を含む。保存剤は、同じ容器からの1回より多い取り出しを行う多用量非経口製剤を開発する際に必要となる。それらの主たる機能は、その医薬品の有効期間または使用期間を通じて微生物の成長を阻害し、製品の滅菌性を確保することである、広く使用されている保存剤は、ベンジルアルコール、フェノールおよびm-クレゾールを含む。保存剤は低分子量非経口薬と共に使用される歴史が長い、保存剤を含むタンパク質製剤の開発は、困難であり得る。保存剤は、ほぼ常に、タンパク質に対して不安定化効果(凝集)を有し、これが多用量タンパク質製剤におけるそれらの使用を制限する大きな要因となっている。今日まで、ほとんどのタンパク質薬は、単回使用用途でしか製剤化されていない。しかし、多用量製剤が可能な場合、それらは患者の利便性および高い市場性を実現するという追加の利点を有する。良い例は、保存処理された製剤の開発がより便利な多使用注射ペンの提案の商業化を実現したヒト成長ホルモン(hGH)のそれである。hGHの保存された製剤を含む少なくとも4つそのようなペンデバイス、現在市場で入手可能である。Norditropin(液体、Novo Nordisk)、Nutropin AQ(液体、Genentech)およびGenotropin(凍結乾燥-デュアルチャンパーカートリッジ、Pharmacia & Upjohn)はフェノールを含み、Somatropo (Eli Lilly)はm-クレゾールを用いて製剤化される。いくつかの局面は、保存された剤形の製剤化および開発の間に考慮される必要がある。医薬品における効果的な保存剤濃度は、最適化されなければならない。これは、タンパク質の安定性を損なわずに抗微生物効果を付与する濃度範囲を有する剤形において所与の保存剤を試験することを必要とする。

30

40

【0240】

予想され得るように、保存剤を含む液体製剤の開発は、凍結乾燥製剤よりも困難である

50

。凍結乾燥製品は、保存剤なしで凍結乾燥されそして使用時に保存剤を含む希釈剤で再構成され得る。これにより保存剤がタンパク質と接触している時間が短縮され、関連する安定性リスクが大きく抑制される。液体製剤の場合、保存剤の効果および安定性は、全製品有効期間（約18～24ヶ月）にわたって維持されるべきである。注意すべき重要な点は、保存剤の効果は活性な薬物およびすべての賦形剤成分を含む最終製剤において示されるべきであることである。

【0241】

本明細書に記載される抗体構築物は、通常、特に、バイオアベイラビリティおよび持続性の範囲で、特定の投与経路および方法のために、特定の投与用量および投与頻度のために、特定の疾患の特定の処置のために設計されるであろう。したがって製剤は、本発明にしたがい、経口、耳、目、直腸および膣を含むがこれらに限定されない任意の適当な経路によるならびに静脈内および動脈内注射、筋内注射および皮下注射を含む非経口経路による送達のために設計され得る。

【0242】

薬学的組成物が製剤化された後、それは溶液、懸濁物、ゲル、乳化物、固体、結晶としてまたは脱水もしくは凍結乾燥粉末として滅菌バイアル中で保管され得る。そのような製剤は、即時使用可能（ready-to-use）形態または投与前に再構成される（例えば、凍結乾燥された）形態のいずれかで保管され得る。本発明はまた、単回用量投与ユニットを作製するためのキットを提供する。本発明のキットは各々、乾燥されたタンパク質を含む第1の容器および水性製剤を有する第2の容器を含み得る。本発明の特定の態様において、単および多チャンパーの充填済みシリンジ（例えば、液体シリンジおよびリオシリンジ（lyosyringe））を含むキットが提供される。使用される抗体構築物タンパク質含有薬学的組成物の治療有効量は、例えば、治療状況および目的に依存するであろう。当業者は、処置のための適当な用量レベルが、送達される分子、本明細書に記載される抗体構築物を使用される適応病、投与経路ならびに患者のサイズ（体重、体表面または臓器サイズ）および/または状態（年齢および全般的健康）に一部依存して変化することを理解するであろう。特定の態様において、臨床医は、最適な治療効果を得るために用量を滴定し投与経路を変更し得る。典型的な用量は、上記の要因に依存して、約0.1 $\mu\text{g/kg}$ ～最大約30 mg/kg またはそれ以上の範囲であり得る。特定の態様において、用量は、1.0 $\mu\text{g/kg}$ ～最大約20 mg/kg 、任意で10 $\mu\text{g/kg}$ ～最大約10 mg/kg または100 $\mu\text{g/kg}$ ～最大約5 mg/kg の範囲であり得る。

【0243】

単一のまたは別々の製剤中に、CD33標的化化合物および少なくとも1種のエピジェネティック因子を含む、治療有効量の本発明の薬学的組成物は、好ましくは、疾患症状の重篤度を低下させ、無疾患症状期の頻度もしくは持続期間を増大させ、または疾患の苦痛に起因する損傷もしくは障害を防止する。CD33発現腫瘍の処置のために、単一のまたは別々の製剤中にある、治療有効量のCD33標的化化合物および少なくとも1種のエピジェネティック因子、例えば抗CD33/CD3抗体構築物および少なくとも1種のエピジェネティック因子は、好ましくは、細胞成長または腫瘍成長を未処置患者と比較して少なくとも約20%、少なくとも約40%、少なくとも約50%、少なくとも約60%、少なくとも約70%、少なくとも約80%または少なくとも約90%阻害する。腫瘍成長を阻害する化合物の能力は、ヒト腫瘍における効能を推測する動物モデルにおいて評価され得る。

【0244】

薬学的組成物は、医療デバイスを用いて投与され得る。薬学的組成物を投与するための医療デバイスの例は、すべて参照により本明細書に組み入れられる、米国特許第4,475,196号；同第4,439,196号；同第4,447,224号；同第4,447,233号；同第4,486,194号；同第4,487,603号；同第4,596,556号；同第4,790,824号；同第4,941,880号；同第5,064,413号；同第5,312,335号；同第5,312,335号；同第5,383,851号；および同第5,399,163号に記載されている。

【0245】

本発明は、特定の方法論、プロトコルまたは試薬に限定されず、それらは変更され得ることを理解されたい。本明細書に提供される議論および実施例は、個々の態様を説明する目的で提供されるにすぎず、本発明の範囲を限定することは意図されておらず、本発明の範囲は添付の特許請求の範囲によってのみ定義される。

【0246】

本明細書の文書を通じて引用されているすべての刊行物および特許（すべての特許、特許出願、科学刊行物、製造元の仕様書、説明書等を含む）は、上記のものも以下のものも、それらの全体が参照により本明細書に組み入れられる。本明細書のいかなる事項も、本発明が先行発明であることを理由としてそのような開示よりも先の日付を主張する資格を有さないことの承認とみなされるべきではない。参照により組み入れられる書類が本明細書と相反または矛盾する程度まで、本明細書は任意のそのような書類よりも優先される。

【実施例】

【0247】

以下の実施例は、本発明の特定の態様または特徴を説明する目的で提供される。これらの実施例は、本発明の範囲を限定するものと解釈されるべきでない。実施例は説明を目的として含まれるのであり、本発明は特許請求の範囲によってのみ限定される。

【0248】

実施例1 - CD33標的化化合物誘導性細胞毒性に対する感作物質としてのエピジェネティック修飾薬物

CD33の発現レベルは、ヒトAML細胞に対するAMG330等の本明細書に記載されるCD33標的化化合物の活性範囲に対する重要な変数として同定された。したがって、AMG 330誘導性細胞毒性に対する感作物質としての、ヒストンデアセチラーゼ（HDAC）阻害剤またはDNAメチルトランスフェラーゼ（DNMT）阻害剤等のエピジェネティック修飾薬物の可能性の観察は、驚くべきことだった。

【0249】

実験設定のために、健常の成人ボランティアから、白血球除去により単核細胞を回収し、磁気細胞分離によりT細胞を濃縮した（Pan T Cell Isolation Kit II; Miltenyi Biotec, Auburn, CA）。製造者の指示に従って、解凍された細胞アリコートに3 μ M CellVue Burgundy（eBioscience, San Diego, CA）で標識した。

【0250】

ヒト骨髓OCI-AML3細胞、KG-1a細胞、ML-1細胞、NB4細胞、TF-1細胞、およびHL-60細胞を、以前に記載されたように維持した（Walter et al. Blood. 2003;102(4):1466-1473; Walter et al. Blood. 2004;103(11):4276-4284, Walter et al. Blood. 2005;105(3):1295-1302）。

【0251】

親AML細胞および細胞系におけるCD33の発現をフィコエリトリン（PE）複合型抗CD33抗体（クローンP67.6; BD Biosciences, San Jose, CA, USA）を用いたフローサイトメトリーにより定量した（Walter et al. Blood. 2005;105(3):1295-1302を参照のこと）。

【0252】

細胞毒性を誘導する化合物の定量のために、AML細胞を指数増殖の間で回収し、37（5 %CO₂および空気）、96ウェル丸底プレート（BD Falcon（商標））中、様々な濃度のAMG 330と異なるエフェクター細胞：標的細胞（E:T）割合でT細胞とを含む225 μ Lの培養培地中5~10 $\times$ 10³細胞/ウェルで、インキュベートした。48時間後、生育不能の細胞を検出するために4',6-ジアミジノ-2-フェニルインドール（DAPI）を用いて、細胞数および薬物誘導性細胞毒性を、LSRIIフローサイトメーター（BD Biosciences, San Jose, CA）を用いて測定し、FlowJo（Tree Star, Ashland, OR）により解析した。AML細胞を、CellVue Burgundy色素に対する前方/側方散乱特性および陰性により同定した。

【0253】

CD33調節を決定するため、AML細胞のアリコートを、未処理で放置、またはAMG 330（250 pg/mL）もしくは非複合型非標識抗CD33抗体（クローンP67.6; BD Biosciences, San Jo

10

20

30

40

50

se, CA, USA; 2.5 $\mu\text{g/mL}$) のいずれかと共にインキュベートした。48時間後、細胞を、未結合の抗体を除去するために、氷冷リン酸緩衝食塩水 (PBS, GIBCO Invitrogen) 中で洗浄し、2% ウシ胎仔血清を含むPBS中に再懸濁した。AMG 330はCD33とP67.6との結合に対して競合しないため、未処理およびAMG 330処理細胞のアリコート、P67.6と共にインキュベート、または一次抗体無しでインキュベートした後、ビオチン複合型ラット抗マウスIgG₁ (PBS/2%FBS中2.5 $\mu\text{g/mL}$ で使用) およびストレプトアビジン-フィコエリトリン (PE) (PBS/2%FBS中2.5 $\mu\text{g/mL}$ で使用: いずれもBD Biosciences由来) と共にインキュベートした。同様に、未処理およびP67.6処理細胞のアリコートを、非複合型P67.6と共にインキュベート、または一次抗体無しでインキュベートし、その後、細胞を洗浄し、ビオチン複合型ラット抗マウスIgG₁モノクローナル抗体と共にインキュベートした後、ストレプトアビジン-PE複合体と共にインキュベートした。生育不能な細胞を同定するために、全ての試料をDAPIで染色した。少なくとも10,000イベントを得て、DAPI⁺細胞をフローサイトメーター (BD Biosciences) でFlowJo Softwareを使用して解析した。線形中央蛍光強度 (Linear median fluorescence intensity) (MFI) 値を、薬物結合性CD33内部移行のパーセンテージを計算するために使用した。

【0254】

図1に示されるように、HDAC阻害剤、パノビノスタットによる1日目、3日目の前処理は、OCI-AML3および際だってKG-1a細胞におけるCD33発現において顕著な増加を生じた。より重要なことに、未処理細胞と比較して、3日間パノビノスタットで処理された細胞は、AMG 330誘導性細胞毒性に対してより穏やかな感受性を有した (KG-1a > OCI-AML3)。DNMT I阻害剤であるアザシチジンによる3日間の前処理は、KG-1aにおけるCD33発現において著しい増加を生じた。一貫して、アザシチジンによる前処理後、KG-1a細胞は、未処理細胞と比較して、AMG 330誘導性細胞毒性に対して著しく感受性になった (図2)。

【0255】

実施例2 - AMG 330を介した溶解能力を増加させるためのAML細胞におけるCD33の上方調節
ヒドロキシ尿素

AML細胞系におけるCD33の上方調節:

AML細胞系であるHL-60、PL21、OCI-AML3、KG1a、およびMV4-11を、0日目に 1×10^6 細胞/mlで24ウェルプレートに播種した。細胞を、未処理 (UT) で放置、または10 μM のヒドロキシ尿素 (H1) もしくは100 μM のヒドロキシ尿素 (H2) (Sigma) で、連続3日間 (0日目、1日目、および2日目) 処理した。3日目に細胞を回収し、計数し、フローサイトメトリーによりCD33の表面発現レベルにおける変化を解析した。

【0256】

図3および表2は、濃度依存的様式でのHL-60およびPL21 AML細胞におけるCD33の上方調節を示す。

【0257】

(表2) フローサイトメトリーにより測定されたヒドロキシ尿素有り/無しでのインキュベーション後のHL-60およびPL21 AML細胞のCD33 MFI比

CD33 MFI 比	UT	H1	H2
HL-60	134.9	171.3	210.0
PL21	166.9	177.9	191.8

【0258】

初代AML細胞におけるCD33の上方調節:

3種類の初代AML試料を、以前に記載されたように、 1×10^6 細胞/mlで12ウェルプレートに播種した (Krupka, Subklewe et.al, Blood 2014)。細胞を、未処理 (UT) で放置、または10 μM のヒドロキシ尿素 (H1) もしくは100 μM のヒドロキシ尿素 (H2) (Sigma) で、連続3日間 (0日目、1日目、および2日目) 処理した。1~3日目に細胞を回収し、計数し、フローサイトメトリーによりCD33の表面発現レベルにおける変化を解析した。

【0259】

図4および表3は、ヒドロキシ尿素有りでのインキュベーションの1日目および2日目の3

つの患者試料のうちの1つの患者試料におけるCD33の上方調節を示す。

【 0 2 6 0 】

(表3) フローサイトメトリーにより測定されたヒドロキシ尿素有りでのインキュベーション1日後および2日後の患者2由来の初代AML細胞のCD33 MFI比

CD33 MFI 比	UT	H1	H2
1日目の患者2	3.7	4.2	4.5
2日目の患者2	4.8	4.2	5.1

【 0 2 6 1 】

顆粒球コロニー刺激因子 (G-CSF)

AML細胞系におけるCD33の上方調節：

10

AML細胞系であるOCI-AML3およびKG1 α を、0日目に 5×10^5 細胞/mlで24ウェルプレートに播種した。細胞を、未処理 (UT) で放置、または200 ng/mlのG-CSF (C1) もしくは2000 ng/mlのG-CSF (C2) (Peprotech) で、10日間処理した。G-CSFをバイウイークリーで (biweekly) 培養物に新たに添加した。10日目に細胞を回収し、フローサイトメトリーによりCD33の表面発現レベルにおける変化を解析した。

【 0 2 6 2 】

図5および表4は、濃度依存的様式でのKG1 α AML細胞におけるCD33の低い上方調節を示す。

【 0 2 6 3 】

(表4) フローサイトメトリーにより測定されたG-CSF有り / 無しでのインキュベーション10日後のKG1 α AML細胞のCD33 MFI比

20

CD33 MFI 比	UT	C1	C2
KG1 α	16.5	17.9	19.2

SEQ ID NO.	名称	供給源	種類	配列
1	AH3のCD33 VH	合成	aa	QVQLVQSGAEVKKPESVKVSKKASGYTFNTYGMNWVRQAPGQGLEWMGWINTYTGEPTVADDFKG RVTMSSDTSTSTAYLEINSLRSDDTAIYCARWSWSDGYVYFDYWGGQTTTVSS
2	AH3のCD33 HCDR1	合成	aa	NYGMN
3	AH3のCD33 HCDR2	合成	aa	WINTYTGEPTYADDFKG
4	AH3のCD33 HCDR3	合成	aa	WSWSDDGYVYVFDY
5	AH3のCD33 VH	合成	nt	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGAGCTGAGGTGAAAAAGCCTGGAGAGTCAGTCAAGGTCTCCTGC AAGGCTAGCGGGTATACCTTCACAACTATGGAATGAACTGGGTGAGGCAGGCTCCAGGACAGGGT TTAGAGTGGATGGGTGGATAAACACCTACACTGGAGAGCCAAACATATGCTGATGACTTCAAGGGA CGGGTTACCATGCTTCGGATACCTTACCAGCACTGCCATTGGAATCAACAGCCCTCAGAGT GATGACACGGCTATATATTACTGTGCGGCTGGAGTTGGAGTGATGGTTACTACGTTTACTTTGAC TACTGGGGCCAAAGCACTACGCTCAGCTCCTCTCTCA
6	AH3のCD33 VL	合成	aa	DIVMTQSPDSLTVSLGERTTINCKSSQVLDSSKNKNSLAWYQQKPGQPPLKLLLSWASTRESGIPD RFGSGSGTDFTLTIDSLOPEDSATYTCOOSAFHPITFGQTRLEIK
7	AH3のCD33 LCDR1	合成	aa	KSSQSVLDSSKNKNSLA
8	AH3のCD33 LCDR2	合成	aa	WASTRES
9	AH3のCD33 LCDR3	合成	aa	QQSAHFPIT
10	AH3のCD33 VL	合成	nt	GACATCGTGATGACACACAGTCTCCAGACTCCCTGACTGTGTCTCTGGCGAGAGGACCAACATCAAC TGCAAGTCCAGCCAGAGTGTTTTAGACAGCTCCAGAAATAAGAACTCCTTAGCTTGGTACCAGCAG AAACCAGGACAGCTCCTAAATTACTCTTCTTCTGGGCATCTACGCGGAATCCGGGATCCTTGAC CGATTGAGTGGCAGCGGCTCTGGGACAGATTCTACTCTCACTATTGACAGCCCTGCAGCCTGAAGAT CTGCAACTTACTATTGTCAACAGTCTGCCCACTTCCGATCACCTTTGGCCAAAGGACACCACTG GAGATTAAA
11	AH3のCD33 CD33 HL	合成	aa	QVQLVQSGAEVKKPESVKVSKKASGYTFNTYGMNWVRQAPGQGLEWMGWINTYTGEPTVADDFKG RVTMSSDTSTSTAYLEINSLRSDDTAIYCARWSWSDGYVYFDYWGGQTTTVSSGGGSGGGGS GGGSDIVMTQSPDSLTVSLGERTTINCKSSQVLDSSKNKNSLAWYQQKPGQPPLKLLLSWASTRE SGIPDRFSGSGGTDFTLTIDSLOPEDSATYTCOOSAFHPITFGQTRLEIK
12	AH3のCD33 HL	合成	nt	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGAGCTGAGGTGAAAAAGCCTGGAGAGTCAGTCAAGGTCTCCTGC AAGGCTAGCGGGTATACCTTCACAACTATGGAATGAACTGGGTGAGGCAGGCTCCAGGACAGGGT

13	CD33 AH3 HL x H2C HL	合成	aa	TTAGAGTGGATGGGCTGGATAAACACCTACACTGAGAGCCCAACATATGCTGATGACTTCAAGGA CGGTTACCATGTCTTCGGATACCTCTACAGCACTGCCTATTTGGAAATCAACAGCCTCAGAAGT GATGACACGGCTATATATTACTGTGGCGTGGAGTTGGAGTGATGGTTACTACGTTTACTTTGAC TACTGGGGCCAAGGCACTACGGTCACCGTCTCCTCAGGTGGTGGTTCCTGGCGGGCGGCTCC GGTGGTGGTGTCTTGACATCGTATGACACAGTCTCCAGACTCCCTGACTGTCTCTGGCGAG AGGACACCATCAACTGCAAGTCCAGCAGAGTGTCTTAGACAGTCCCAAGATAAGAACTCCTTA GCTTGGTACAGCAAGAACCCAGGACAGCCTCTAAATTTACTCTTCTGGCATCTACGCGGAA TCCGGGATCCCTGACCGATTCTGCAACTTACTATTGTCAACAGTCTGCCACTTCCCGATCACCCTTGGC CAAGGGACACGACTGGAGATTAA QVQLVQSGAEVKKPESVKVSCKASGYTFTNYGMNVRQAPGQGLEWMGWINTYTGEPYADDFKG RVTMSSDTSTSTAYLEINSLRSDDTAIYCARWSWSDGYVYFDYWGQGTITVTVSSGGSGGGGS GGGSDIVMTQSPDSLTVSLGERFTINCKSSQSVLDSKNKNSLAWYQQKPGQPPLKLLSWASTRE SGIPDRFSGSGSDFTLTIDSLQPEDSATYCYQQSAHFPIITFGQGRLEIKSGGGSEVQLVESG GGLVQPGGSLKLSAASGFTFNKYAMNVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISR DDSKNTAYLQMNLLKTEDTAVYYCVRHGNEFNSYISYWAYWGQGLTVTVSSGGSGGGSGGGGS QTVVTEPSLTVSPGGTVTLTCSSTGAVTSGYYPNWVQKPGQAPRGLIGGTFKFLAPGTPARFSG SLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCALWYSNRWVFGGKTLTVL
14	CD33 AH3 HL x H2C HL	合成	nt	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGAGCTGAGGTGAAAAAGCCTGGAGAGTCAGTCAAGGTCTCCTGC AAGGTAGCGGTATACCTTCACAACTATGGAATGAACCTGGTGAGGCAAGCTCCAGGACAGGGT TTAGAGTGGATGGGCTGGATAAACACCTACACTGGAGAGCCCAACATATGCTGATGACTTCAAGGA CGGTTACCATGTCTTCGGATACCTCTACAGCACTGCCTATTTGGAAATCAACAGCCTCAAGT GATGACAGGCTATATATTACTGTGCGCGTGGAGTTGGAGTGATGGTTACTACGTTTACTTTGAC TACTGGGGCCAAGGCACTACGGTCAACCGTCTCCTCAGGTGGTGGTTCCTGGCGGGCGGCTCC GGTGGTGGTGTCTTGACATCGTGTGACACAGTCTCCAGACTCCCTGACTGTCTCTGGCGGAG AGGACCAACCATCAACTGCAAGTCCAGCAGAGTGTCTTAGACAGTCCCAAGATAAGAACTCCTTA GCTTGGTACAGCAGAAACCCAGGACAGCCTCTAAATTTACTCTTCTGGCATCTACGCGGAA TCCGGGATCCCTGACCGATTCTGCAACTTACTATTGTCAACAGTCTGCCACTTCCCGATCACCCTTGGC CAAGGGACACGACTGGAGATTAAATCCGAGGTGGTGGTCCGAGGTGCAGTGGTGGTGGTGGGA GGAGGATTGGTGCAGCCTGGAGGTCAATTGAAACTCTCATGTGCAGCCTCTGGATTCACTTCAAT AAGTACGCCATGAACCTGGTCCGCAAGCTCCAGGAAAGGTTTGGAAATGGTGTCTCGGATAAGA AGTAAATATAATAATTATGCAACATATATGCCGATTGAGTGAAGACAGGTTACCATCTCCAGA GATGATTCAAAAACACTGCCTATCTACAAATGAACAACCTTGAAACTGAGGACACTGCCGTGTAC TACTGTGTGAGACATGGGAACCTCGGTAATAGCTACATATCTACTGGCTTACTTGGGCGCAAGGG ACTCTGGTCACCGTCTCCTCAGGTGGTGGTGTCTGGCGGGCGGCTCCGCTGGTGGTGGTGGTGT CAGACTGTGTGACTCAGGAACCTTCACTACCGTATCACCCTGGTGAACAGTCACTCACTGTGT GGCTCCTCGACTGGGGCTGTACATCTGGGTACTACCAACTGGTCCCAAAAAACCAAGTCAG GCACCCCGTGGTCTAATAGGTGGGACTAAGTTCTCTGCCCCCGGTACTCTCTGCCAGATTCTCAGGC

10

20

30

40

15	CD33 AH3 HL x F12Q HL	合成	aa	TCCCTGCTTGAGGCAAGGCTGCCCTCACCCCTCTCAGGGGTACAGCCAGGATGAGGACAGAAATAT TACTGTGCTCTATGGTACAGCAACCGCTGGGTGTTTCGGTGAGGAACCAAACTGACTGCTCTA QVQLVQSGAEVKKPESVKVSCKASGYTFITNYGMNWRQAPQGLEWMGWINTYTGEPYADDFKG RVTMSSDTSTSTAYLEINSLRSDDTAIYYCARWSWSDGYVYFDYWGQGTITVTVSSGGSGSGGGS GGGSDIVMTQSPDSLTVSLGERTTINCKSSQSLDSSKNKNSLAWYQQKPGQPPKLLLSWASTRE SGIPDRFSGSGSGTDFTLTIDSLQPEDSATYQCQSAHFPIITFGQGTRLEIKSGGGSEVQLVESG GGLVQPGSLKLSCAASGFTFNSYAMNWRQAPGKGLWEVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISR DDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWWAYWGQGTITVTVSSGGSGSGGSGGGS QTVVTQEPSTLTVSPGGTVTLTCGSSGTAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGGTFKFLAPGTPARFSG SLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGKLTIVL
16	CD33 AH3 HL x F12Q HL	合成	nt	CAGGTGCAGCTGGTGACGCTGGAGCTGAGGTGAAAAAGCCTGGAGAGTCAGTCAAGGTCTCCTGC AAGGCTAGCGGGTATACCTTCACAACTATGGAATGAACCTGGTGAGGCAAGCTCCAGGACAGGCT TTAGAGTGGATGGGCTGGATAAACACCTACACTGGAGAGCCAACATATGCTGATGACTCAAGGGA CGGTTACCATGCTTCGGATACCTCTACCAGCACTGCCTATTTGAAATCAACAGCCTCAGAAGT GATGACACGGCTATATATTACTGTGCGCGCTGGAGTTGGAGTGATGGTTACTACGTTACTTTGAC TACTGGGGCCAAGGCATACGGTACCGTCTCCTCAGGTGGTGGTTCCTGGCGGGCGGCTCC GGTGGTGGTCTTGACATCGTGATGACACAGTCTCCAGACTCCCTGACTGTGCTCTGGCGGAG AGGACCACCATCAACTGCAAGTCCAGCCAGAGTGTTTTAGACAGCTCCAAGAATAAGAACTCCTTA GCTTGGTACCAGCAGAAACCCAGGACAGCCTCCTAAATTAATCTTCTGGGCATCTACCGGGAA TCCGGGATCCCTGACCGATTACGTGGCAGCGGCTGGGACAGATTTCACCTCTCATATTGACAGC CTGCAGCCTGAAGATTCTGCAACTTACTATTGTCAACAGTCTGCCACTTCCCGTCACTTTGGC CAAGGACACAGACTGGAGATTAAATCCGAGGTGGTGGTCCGAGGTGACGTGGTCCAGTCTGGA GGAGGATTGGTGACGCTGGAGGTCAATTGAAACTCTCATGTGACGCTCTGGATTACCTTCAAT AGCTACGCCATGAACCTGGTCCGCCAGGCTCCAGGAAAGGTTTGGAAATGGGTTGCTCGCATAGA AGTAAATATAATAATTATGCAACATATTATGCCGATTTCAGTGAAGGCAGGTTCCACCATCTCCAGA GATGATTCAAAAAACACTGCCTATCTACAAATAGCTACGTTTCTGGTGGCTTACTGGGGCAAGGG TACTGTGTGAGACATGGGAACCTCGGTAATAGCTACGTTTCTGGCGCGGCGGCTCCGGTGGTGGTCT ACTCTGGTCACCGTCTCCTCAGGTGGTGGTGTTCGGCGCGGCGGCTCCGGTGGTGGTCTTCT CAGACTGTTGTGACTCAGGAACCTTCACTACCGTATACCTGGTGAACAGTCACTCACTTGT GGCTCCTCGACTGGGCTGTTACATCTGGCAACTACCAAACTGGGTCCAACAAAACAGGTCAG GCACCCGTTGGTCTAATAGGTGGGCTAAGTTCTCGCCCCGGTACTCCTGCCAGATTCTCAGGC TCCCTGCTTGAGGCAAGGCTGCCCTCACCCCTCTCAGGGGTACAGCCAGGATGAGGACAGAAATAT TACTGTGTTCTATGGTACAGCAACCGCTGGGTGTTTCGGTGAGGAACCAAACTGACTGCTCTA
17	CD33 AH3 HL x I2C HL	合成	aa	QVQLVQSGAEVKKPESVKVSCKASGYTFITNYGMNWRQAPQGLEWMGWINTYTGEPYADDFKG RVTMSSDTSTSTAYLEINSLRSDDTAIYYCARWSWSDGYVYFDYWGQGTITVTVSSGGSGSGGGS GGGSDIVMTQSPDSLTVSLGERTTINCKSSQSLDSSKNKNSLAWYQQKPGQPPKLLLSWASTRE SGIPDRFSGSGSGTDFTLTIDSLQPEDSATYQCQSAHFPIITFGQGTRLEIKSGGGSEVQLVESG GGLVQPGSLKLSCAASGFTFNSYAMNWRQAPGKGLWEVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISR DDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISWAYWGQGTITVTVSSGGSGSGGSGGGS

10

20

30

40

18	CD33 AH3 HL x I2C HL	合成	nt	QTVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCCSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTFKFLAPGTPARFSG SLIGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGKLTIVL CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGAGCTGAGGTGAAAAAGCCTGGAGAGTCAGTCAAGGTCTCCTGC AAGGCTAGCGGGTATACCTTCACAACTATGGAATGAAGTGGTGAGGACAGGCTCCAGGACAGGGT TTAGAGTGGATGGGCTGGATAAACACCTACACTGGAGAGCCAACATATGCTGATGACTTCAAGGGA CGGTTACCATGTCTTCGGATACCTTACCAGCAGTGCCTATTGGAAATCAACAGCCTCAGAAGT GATGACACGGCTATATATTACTGTGCGGCTGGAGTTGGATTGATGTTACTACGTTTACTGTTGAC TACTGGGCGCAAGGCACTACGGTACCGTCTCCTCAGGTGGTGGTTCCTGGCGGGCGGGCTCC GGTGGTGGTGGTCTTGACATCGTATGACACAGTCTCCAGACTCCCTGACTGCTCTGCGCGAG AGGACCAACCATCAACTGCAAGTCCAGCCAGAGTGTTTTAGACAGTCCAAAGATAAGAACTCCTTA GCTTGGTACCAGCAGAAACCCAGGACAGCTCCTAAATTTACTCCTTCTGGGCACTACCGCGGAA TCCGGGATCCCTGACCGATTTCAGTGGCAGCGGCTTGGACAGATTTCACCTCTCACTATTGACAGC CTGCAGCCTGAAGATTCTGCAACTTACTATTGTCAACAGTCTGCCACTTCCCGATCACTTTGGC CAAGGACACAGACTGGAGATTAAATCCGGAGGTGGTGGCTCCGAGGTGCAGTGGTCGAGTCTGGA GGAGGATTGGTGCAGCCTGGAGGTCAATTGAAACTCTCATGTGCAGCCTCTGGATTCACTTCAAT AAGTACGCCATGAAGTGGTCCGCGAGCTCCAGGAAAGGTTTGGAAATGGTGGTCTCGCATAGA AGTAAATATAATAATTATGCAACATATTATGCCGATTTCAGTGAAGACAGGTTCACTTCCAGT GATGATTCAAAAAACACTGCCTATCTACAAATGAACAACCTTGAAACTGAGGACACTGCCGTGAC TACTGTGTGAGACATGGGAACCTTCGGTAATAGTACATATCTACTGGCTTACTGGGCGCAAGG ACTCTGGTCACCGTCTCCTCAGGTGGTGGTGGTCTTGGCGGCGGCTCCGGTGGTGGTGGTCT CAGACTGTGTGACTCAGGAACCTTCACTACCGTATCACCTGGTGAACAGTCACTGACTGCTGT GGCTCCTCGACTGGGGCTGTACATCTGGCAACTACCCAACTGGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGT GCACCCCGTGGTCTAATAGGTGGGACTAAGTCTCCTCGCCCCGGTACTCCTGCCAGATTCTCAGG TCCCTGCTTGGAGGCAAGGCTGCCCTCACCTCTCAGGGGTACAGCCAGAGGATGAGGCAAGATAT TACTGTGTTCTATGGTACAGCAACCGCTGGGTGTTCCGGTGGAGGAACCAACTGACTGTCCTA QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYFTNYGMNWVKQAPGQGLKWMGWINTYTGEPYADDFKG RVTMTSDTSTSTAYLELHNLRSDDTAVYYCARWSWSGDGYVYFDYWGQGT'TVTVSS NYGMN
19	AF5のCD33 VH	合成	aa	
20	AF5のCD33 HCDR1	合成	aa	
21	AF5のCD33 HCDR2	合成	aa	
22	AF5のCD33 HCDR3	合成	aa	
23	AF5のCD33 VH	合成	nt	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGAGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGAGCGTCAGTCAAGGTCTCCTGC AAGGCTAGCGGGTATACCTTCACAACTATGGAATGAAGTGGTGAAGCAGGCTCCAGGACAGGGT TTAAAGTGGATGGGCTGGATAAACACCTACACTGGAGAGCCAACATATGCTGATGACTTCAAGGGA CGGTTACCATGACTTCGGATACCTCTACAGCAGTGCCTATTGGAACTCCACAACTCAGAAGT

10

20

30

40

				GATGACACGGCTGTATATTACTGTGCGCGCTGGAGTTGGAGTGATGGTTACTACGTTTACTTTGAC TACTGGGGCCAAGGCACACTACGTCACCGTCTCCTCA
24	AF5のCD33 VL	合成	aa	DIVMTQSPDSLTVSLGERTTINCKSSQSVLSDSKNKNLSLAWYQQKPGQPPLKLLSWASTRESGIPD RFSGSGSGTDFTLTIDSLQPEDSATYVCQSAHFPIITFGQGRLEIK
25	AF5のCD33 LCDR1	合成	aa	KSSQSVLSDSKNKNLSLA
26	AF5のCD33 LCDR2	合成	aa	WASTRES
27	AF5のCD33 LCDR3	合成	aa	QQSAHFPIIT
28	AF5のCD33 VL	合成	nt	GACATCGTGATGACACAGTCTCCAGACTCCCTGACTGTGTCTCTGGGCGAGAGGACACCATCAAC TGCAAGTCCAGCCAGAGTGTTTAGACAGCTCCAAGAAATAAGAACTCCTTAGCTTGGTACCAGCAG AAACCAGGACAGCCTCCTAAATTACTCTTCTTGGGCACTACGCGGGAATCCGGGATCCCTGAC CGATTGAGTGGCAGCGGCTCTGGGACAGATTTCACCTCTCACTATTGACAGCCTGCAGCCTGAAGAT TCTGCAACTTACTATTGTCAACAGTCTGCCACTTCCCGATCACCTTTGGCCAAAGGACACGACTG GAGATTAAA
29	AF5のCD33 HL	合成	aa	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYFTNYGMNWNVKQAPGQGLKWMGWINTYTGEPYADDFKG RVMTSDTSTSTAYLELHNLRSDDTAVYYCARWSWSDGYVYFDYWGQGTFTVTVSSGGSGSGGGS GGGSDIVMTQSPDSLTVSLGERTTINCKSSQSVLSDSKNKNLSLAWYQQKPGQPPLKLLSWASTRE SGIPDRFSGSGSGTDFTLTIDSLQPEDSATYVCQSAHFPIITFGQGRLEIK
30	AF5のCD33 HL	合成	nt	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGAGTGAAGAGCCTGGAGCTCAGTCAAGGTCTCTCTGC AAGGTAGCGGGTATACCTTCACAACTATGGAATGAATGAGTGAAGCAGGCTCCAGGACAGGGT TTAAAGTGATGGCTGGATAAACACCTACACTGGAGAGCAACATATGCTGATGACTCAAGGGA CGGTTACCATGACTTCGGATACCTCTACAGACTGCCTATTGGAACTCCACAACTCAGAAAGT GATGACACGGCTGTATATTACTGTGCGCGCTGGAGTTGGAGTGTGTTCTGCGGCGCGGCTCC TACTGGGCGCAAGGCACACGCTACCGTCTCTCAGGTGGTGGTGTCTGCGGCGCGGCTCC GGTGGTGGTGTCTGACATCGTATGATGACACAGTCTCCAGACTCCCTGACTGTGTCTCTGGCGGAG AGGACCAACCATCAACTGCAAGTCCAGCCAGAGTGTTTAGACAGCTCCAAGAAATAAGAACTCCTTA GCTTGGTACCAGCAGAAACCCAGGACAGCTCCCTAAATTACTCTCTTCTGGGCACTACCGGGGAA TCCGGGATCCCTGACCGATTGAGTGGCAGCGGCTCTGGACAGATTTCACTCTCACTATGACAGC CTGACAGCTGAAGATTCTGCAACTTACTATTGTCAACAGTCTGCCACTTCCCGATCACTTTGGC CAAGGACACGACTGGAGATTAA
31	CD33 AF5 HL x H2C HL	合成	aa	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYFTNYGMNWNVKQAPGQGLKWMGWINTYTGEPYADDFKG RVMTSDTSTSTAYLELHNLRSDDTAVYYCARWSWSDGYVYFDYWGQGTFTVTVSSGGSGSGGGS GGGSDIVMTQSPDSLTVSLGERTTINCKSSQSVLSDSKNKNLSLAWYQQKPGQPPLKLLSWASTRE SGIPDRFSGSGSGTDFTLTIDSLQPEDSATYVCQSAHFPIITFGQGRLEIKSGGGSEVQLVESG GGLVQPGGSLKLSAASGFTFNKYAMNWRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISR DDSKNTAYLQMNLLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGLTVTVSSGGSGSGGSGGGS QTVVTQEPSLTIVSPGGTFTLTGSGSTGAVTSGYYPNWNVQKPGQAPRGLIGGTFKLAPGTPARFSG SLLGKKAALTLSGVQPEDEAEYICALWYSNRWVFGGTKLTVL

32	CD33 AF5 HL x H2C HL	合成	nt	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGAGCTTGAGGTGAAGAAGCCCTGGAGCGTCAGTCAAGGTCCTCCTGC AAGGCTAGCGGGTATACCTTCACAACTATGGAATGAATGGGTGAAGCAGGCTCCAGGACAGGGT TTAAAGTGGATGGGCTGGATAAACACCTACACTGGAGAGCCACATATGCTGATGACTTCAAGGGA CGGTTACCATGACTTCGGATACCTCTACCAGCACTGCCTATTTGGAACCTCCACAACCTCAGAAGT GATGACACGGCTGTATATTACTGTGCGGCTGGAGTTGGAGTGATGGTTACTACGTTTACTTTTGAC TACTGGGGCCAAGGCATACGGTCACCGTCCCTCTCCTCAGGTGGTGGTGGTTCCTGGCGGGCGGGTCC GGTGGTGGTGGTCTGACATCGTGATGACACAGTCTCCAGACTCCCTGACTGTCTCTGGCGGAG AGGACCACCATCAACTGCAAGTCCAGCAGAGTGTTTAGACAGCTCCAAGAAATAAGAACTCCTTA GCTTGGTACCAGCAAAACCAGGACAGCTCCTAAATTAATCTCCTTCCCTGGGCATCTACGCGGGA TCCGGGATCCCTGACCGATTGAGTGGCAGCGGGTCTGGGACAGATTTCACCTCTCACTATTGACAGC CTGCAGCCTGAAGATTCTGCAACTTACTATTGTCAACAGTCTGCCACTTCCCGATCACCTTTGGC CAAGGGACACGACTGGAGATTAAATCCGAGGTGGTGGCTCCGAGGTGCAGTGGTCGAGTCTGGA GGAGGATTGGTGCAGCCTGGAGGTCATTTGAAACTCTCATGTGCAGCCTCTGGATTCACTTCAAT AAGTACGCCATGAACCTGGTCCGCCAGGCTCCAGGAAAGGTTTGGAAATGGGTGCTCGCATAGA AGTAAATATAATAATTATGCAACAATATATGCCGATTTCAGTGAAGACAGGTTCAACATCTCCAGA GATGATCAAAAAACACTGCCCTATCTACAAATGAACAACCTTGAAACTGAGGACACTGCCGTGTAC TACTGTGTGAGACATGGGAACCTTCGGTAAATAGCTACATATCTACTGGCTTACTGGGGCCAGGG ACTCTGGTCACCGTCTCTCAGGTGGTGGTGTCTTGGCGGGCGGGTCCGGTGGTGGTGGTCT CAGACTGTTGTGACTCAGGAACCTTCACTACCGTATCACCTGGTGAACAGTCACTCACTCTGT GGCTCTCGACTGGGCTGTTACATCTGGCTACTACCCAACTGGGTCCAACAAAAACAGGTGAG GCACCCGTGGTCTAATAGGTGGACTAAGTTCTCGCCCGCTTCTCTGCCAGATTCTCAGGC TCCCTGCTTGGAGGCAAGGCTGCCCTCACCTCTCAGGGGTACAGCCAGAGGATGAGGCAGAAATAT TACTGTGCTCTATGGTACAGCAACCGCTGGGTGTTCCGTGGAGGAACCAACTGACTGTCTCTA
33	CD33 AF5 HL x F12Q HL	合成	aa	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFNYGMNWVKQAPGQGLKMMGWINTYTGEPTYADDFKG RVMTSDTSTSTAYLELHNLRSDDTAVYCARWSWSDGYVYFDYWGQGTITVTVSSGGGGSGGGGS GGGSDIVMTQSPDSLTVSLGERTTINCKSSQSVLDSKNKNSLAWYQQKPGQPPKLLLSWASTRE SGIPDRFSGSGGTDFLTIDSLQPEDSATYCYQQSAHFPITFGQGRLEIKSGGGGSEVQLVESG GGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNSYAMNVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISR DDSKNTAYLQMNLLKTEDTAVYCYVRHGNFNSYVSWWAYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGGS QTVVTQEPSTVSPGGTITLTCCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTKFLAPGTPARFSG SLLGKKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGTKLTVL
34	CD33 AF5 HL x F12Q HL	合成	nt	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGAGCTTGAGGTGAAGAAGCCCTGGAGCGTCAGTCAAGGTCCTCCTGC AAGGCTAGCGGGTATACCTTCACAACTATGGAATGAATGGGTGAAGCAGGCTCCAGGACAGGGT TTAAAGTGGATGGGCTGGATAAACACCTACACTGGAGAGCCACATATGCTGATGACTTCAAGGGA CGGTTACCATGACTTCGGATACCTCTACCAGCACTGCCTATTTGGAACCTCCACAACCTCAGAAGT GATGACACGGCTGTATATTACTGTGCGGCTGGAGTTGGAGTGATGGTTACTACGTTTACTTTTGAC TACTGGGGCCAAGGCATACGGTCAACCGTCCCTCTCCTCAGGTGGTGGTGGTTCCTGGCGGGCGGGTCC GGTGGTGGTGGTCTGACATCGTGATGACACAGTCTCCAGACTCCCTGACTGTCTCTGGCGGAG

10

20

30

40

				AGGACCACCATCAACTGCAAGTCCAGCAGAGTGTTTGTAGACAGCTCCAAGAAATAAGAACTCCTTA GCTTGGTACCAGAGAAACAGGACAGCCTCCTAAATTAATCTCTTCTGGGCATCTACGGGGA TCCGGGATCCCTGACCGATTAGTGGCAGCGGTCTGGACAGATTCTACTCTACTATTGACAGC CTGACGCTGAAGATTCTGCAACTTACTATTGTCAACAGTCTGCCACTTCCCGATCACCTTTGGC CAAGGACACGACTGGAGATTAAATCCGAGGTGGTCCGAGGTGCAGTGGTCGAGTCTGGA GGAGGATTGGTGCAGCCTGGAGGTCAATTGAAACTCTCATGTGCAGCCTCTGGATTCACTTCAAT AGCTACGCCATGAACCTGGTCCGCCAGGCTCCAGGAAAGGTTTGAATGGTTCCTCGCATAGA AGTAAATATAAATTAATGCAACATAATATGCCGATTAGTGAAGCAGGTTCAACATCTCCAGA GATGATCAAAAAACACTGCCCTATCAAAAATGAACAACTTGAAACACTGAGGACACTGCCGTGAC TACTGTGTGAGACATGGAACTTCGGTAATAGCTACGTTCTCTGGTGGCTTACTGGGGCCAAAGG ACTCTGGTCACCGTCTCTCAGGTGGTGGTCTTGGCGGGCGGCTCCGGTGGTGGTCTCT CAGACTGTTGTGACTCAGGAACCTTCACTACCGTATCACCTGGTGAACAGTCACACTCACTTGT GGCTCTCGACTGGGCTGTTACATCTGGCAACTACCAAACTGGTCCAACAAAACAGGTGAG GCACCCGTGGTCTAATAGGTGGGACTAAGTTCCTCGCCCCCGTACTCTTCCAGATTCTCAGGC TCCCTGCTTGGAGGCAAGGCTGCCCTCACCTCTCAGGGGTACAGCCAGAGGATGAGGCAGAAATAT TACTGTGTTCTATGGTACAGCAACCGCTGGTGTTCGGTGGAGAACCAAACTGACTGTCTCTA
35	CD33 AF5 HL x I2C HL	合成	aa	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFITNYGMNWVKQAPGQGLKMWINTYTGEPTIADDFKG RVMTSDTSTSTAYLELHNLRSDDTAVYICARWSDSGYVYFDYWGQGTITVTVSSGGSGSGSGS GGGSDIVMTQSPDSLTVSLGERTINCKSSQSVLDSKKNLSLAWYQKPGQPPKLLLSWASTRE SGIPDRFSGSGSGTDFTLTIDSLQPEDSATYCYQQSAHFPIITFGQGRLEIKSGGGSEVQLVESG GGLVQPGGSLKLSAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISR DDSKNTAYLQMNILKTEDTAVYICVRHGNFNSYISYWAYWGQGTITVTVSSGGSGSGSGSGSGS QTVVTQEPSTLTVSPGGTITLTGCSSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGGTFKFLAPGTPARFSG SLGGKAAITLSGVQPEDEAEYCYVILWYSNRWYFGGTKLITVL
36	CD33 AF5 HL x I2C HL	合成	nt	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGAGCTGAGGTGAAGAACCTGGAGCGTCAGTCAAGGTCTCCTGC AAGGCTAGCGGGTATACCTTCACAACTATGGAATGAATGAAGTCCAGGCTCCAGGACAGGGT TTAAAGTGGATGGCTGGATAAACACCTACACTGGAGAGCCACATATGCTGATGACTTCAAGGGA CGGTTACCATGACTTCGGATACCTCTACAGACTGCTTATTTGGAACCTCCACAACCTCAGAAGT GATGACACGGCTGTATATTACTGTGCGGCTGGAGTTGGAGTGTGTTACTACGTTTACTTTGAC TACTGGGCGCAAGGCACTACGGTCAACGCTCTCTCAGGTGGTGGTGGTCTTGGCGGCGGGCTCC GGTGGTGGTGGTCTGACATCGTGAATGACACAGTCTCCAGACTCCCTGACTGTCTCTGGCGGAG AGGACCACCATCAACTGCAAGTCCAGCCAGAGTGTTTAGACAGCTCCAAGAAATAAGAACTCCTTA GCTTGGTACCAGCAGAAACAGGACAGCCTCCTAAATTAATCTCTTCTGGGCATCTACGGGGA TCCGGGATCCCTGACCGATTAGTGGCAGCGGTCTGGACAGATTCTCACTCTCACTATTGACAGC CTGACGCTGAAGATTCTGCAACTTACTATTGTCAACAGTCTGCCACTTCCCGATCACCTTTGGC CAAGGACACGACTGGAGATTAAATCCGAGGTGGTGGTCCGAGGTGCAGTGGTCGAGTCTGGA GGAGGATTGGTGCAGCCTGGAGGTCAATTGAAACTCTCATGTGCAGCCTCTGGATTCACTTCAAT AAGTACGCCATGAACCTGGTCCGCCAGGCTCCAGGAAAGGTTTGAATGGTTCCTCGCATAGA AGTAAATATAAATTAATGCAACATAATATGCCGATTAGTGAAGACAGGTTTCAACATCTCCAGA

10

20

30

40

				GATGATTCAAAAAACACTGCCTATCTACAAATGAACAACCTGAAAACTGAGGACACTGCCGTGTAC TACTGTGTGAGACATGGGAACCTTCGGTAATAGCTACATATCCTACTGGGCTTACTGGGGCCAGGG ACTCTGGTCACCGTCTCCTCAGGTGGTGGTGTTCGGGGCGGGCTCCGGTGGTGGTGGTCT CAGACTGTTGTGACTCAGGAACCTTCACTACCGTATCACCTGGTGAACAGTCACTACACTGTGT GGCTCCTCGACTGGGCTGTTACATCTGGAACCTACCCAACTGGTCCAAACAAACCCAGGTCAG GCACCCCGTGGTCTAATAGGTGGGACTAAGTTCCTCGCCCGGTACTCCTGCCAGATTCTCAGGC TCCCTGCTTGGAGGCAAGGCTGCCCTCACCTCTCAGGGTACAGCCAGAGGATGAGGCAAGATAAT TACTGTGTTCTATGGTACAGCAACCGCTGGTGTTCGGTGGAGAACCAACTGACTGTCTCTA
37	AC8のCD33 VH	合成	aa	QVQLVQSGAEVKKPGESVKVSCKASGYTFNYGMNWVKQAPGQGLKMMGWINTYTGEPYADDFKG RVMTTDTSTSTAYMEIRNLNRNDDIAVYICARWSWSGDGYVYFDYWGQGT'TVTVSS
38	AC8のCD33 HCDR1	合成	aa	NYGMN
39	AC8のCD33 HCDR2	合成	aa	WINTYTGEPYADDFKG
40	AC8のCD33 HCDR3	合成	aa	WSWSDGYVYFDY
41	AC8のCD33 VH	合成	nt	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGAGCTGAGGTGAAGAAAGCCTGGAGAGTCAGTCAAGGTCTCCTGC AAGGCTAGCGGGTATACCTTCAAAAATATGGAATGAATGAAGTGGTGAAGCAGGCTCCAGGACAGGCT TTAAAGTGGATGGGTGGATAAACCTTACCTACACTGGAGAGCCAAATATGCTGATGACTTCAAGGA CGGTTACCATGACTACGGATACCTTACCAGCACTGCCTATATGGAAATCCGCAACCTCAGAAAT GATGACACGGCTGTATATTACTGTGGCGCTGGAGTTGGAGTGGTACTACGTTTACTTTCAC TACTGGGGCCAAGGCACTACGGTCACCGTCTCCTCA
42	AC8のCD33 VL	合成	aa	DIVMTQSPDLSLTIVSLGERTTINCKSSQSVLDSKKNKNSLAWYQQKPGQPPLKLLSWASTRESGIPD RFGSGSGTDFTLTIDSLQPEDSATYQCQSAHFPIITFGQGRLEIK
43	AC8のCD33 LCDR1	合成	aa	KSSQSVLDSKKNKNSLA
44	AC8のCD33 LCDR2	合成	aa	WASTRES
45	AC8のCD33 LCDR3	合成	aa	QQSAHFPIIT
46	AC8のCD33 VL	合成	nt	GACATCGTGATGACACAGTCTCCAGACTCCCTGACTGTGTCTCTGGCGGAGAGGACCACTCAAC TGCAAGTCCAGCCAGAGTGTATACACAGCTCCAAGAAATAAGAACTCCTTAGCTTGGTACCAGCAG AAACCCAGGACAGCCTCCCTAAATTACTCCTTTCCTGGGCATCTACGCGGGAATCCGGGATCCCTGAC CGATTGAGTGGCAGCGGCTCTGGGACAGATTTTCACTCTCACTATTGACAGCCTGCAGCCTGAGAT TCTGCAACTTACTATTGTCAACAGTCTGCCCACTTCCCGATCACCTTTGGCCAAGGACACAGCACTG GAGATTAAA

10

20

30

40

47	AC8のCD33 HL	合成	aa	QVQLVQSGAEVKKPGESVKVSKCKASGYFTFTNYGMNWKQAPGQGGLKWMGWINTYTGEPYADDFKGRVTMTTDTSTSTAYMEIRNLNRDDTAVYYCARWSWSDGYVYFDYWGGTFTVTVSSGGSGSGGGSGGGSDIVMTQSPDSLTVSLGERTTINCKSSQSVLSDSKNKNLSAWYQKPGQPKPKLLLSWASTRESGIPDRFSGSGSGTDFTLTIDSLQPEDSATYYCQQSAHFPIIFGQGRLEIK
48	AC8のCD33 HL	合成	nt	CAGGTGCAGCTGGTGCAGCTGGAGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGAGAGTCAGTCAAGGTCTCTCTGC AAGGTAGCGGGTATACCTTCACAAACTATGGAATGAACCTGGTGAAGCAGGCTCCAGGACAGGGT TTAAAGTGGATGGCTGGATAAACACCTACACTGGAGAGCCACATATGCTGATGACTTCAAGGGA CGGTTACCATGACTACGGATACCTCTACCAGCACTGCCTATATGGAATCCGCAACCTCAGAAAT GATGACACGGCTGTATATTACTGTGCGCGCTGGAGTTGGAGTGATGGTTACTACGTTTACTTTTGAC TACTGGGGCCAAAGGCATACGGTCACCGTCTCTCAGGTGGTGGTGTCTGGCGCGCGGCTCC GGTGGTGGTGGTTCGTGACATCGTGATGACACAGTCTCCAGACTCCCTGACTGTGTCTCTGGCGGAG AGGACCACCATCAACTGCAAGTCCAGCCAGAGTGTTTAGACAGTCCAAAGAACTCCTTTA GTTTGTTACCAGAGAAACCAGGACAGCCTCCTAAATTTACTCCTTCTTGGGCATCTACGCGGAA TCCGGGATCCCTGACCGATTCACTGGCAGCGGTCTGGGACAGATTTCACTCTCACTATTGACAGC CTGCAGCCTGAAGATTCTGCAACTTACTATTGTCAACAGTCTGCCACTTCCCCGATCACCTTTGGC CAAGGGACACGACTGGAGATTAA
49	CD33 AC8 HL x H2C HL	合成	aa	QVQLVQSGAEVKKPGESVKVSKCKASGYFTFTNYGMNWKQAPGQGGLKWMGWINTYTGEPYADDFKGRVTMTTDTSTSTAYMEIRNLNRDDTAVYYCARWSWSDGYVYFDYWGGTFTVTVSSGGSGSGGGSGGGSDIVMTQSPDSLTVSLGERTTINCKSSQSVLSDSKNKNLSAWYQKPGQPKPKLLLSWASTRESGIPDRFSGSGSGTDFTLTIDSLQPEDSATYYCQQSAHFPIIFGQGRLEIKSGGGSGSEVQLVESG GGLVQPGGSLKLSAASGFTFNKYAMNWRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISR DSKNTAYLQMNILKTEDTAVYYCVRHGNFNSIYSIWAYWGQGLTVTVSSGGSGSGGGSGGGSG QTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGYYPNWVQKPGAPRGLIGGTFKFLAPGTPARFSG SLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCALWYSNRVFGGGLTLVL
50	CD33 AC8 HL x H2C HL	合成	nt	CAGGTGCAGCTGGTGCAGCTGGAGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGAGAGTCAGTCAAGGTCTCTCTGC AAGGTAGCGGGTATACCTTCACAAACTATGGAATGAACCTGGTGAAGCAGGCTCCAGGACAGGGT TTAAAGTGGATGGCTGGATAAACACCTACACTGGAGAGCCACATATGCTGATGACTTCAAGGGA CGGTTACCATGACTACGGATACCTCTACCAGCACTGCCTATATGGAATCCGCAACCTCAGAAAT GATGACACGGCTGTATATTACTGTGCGCGCTGGAGTTGGAGTGATGGTTACTGTTTACTTTTGAC TACTGGGGCCAAAGGCATACGGTCACCGTCTCCTCAGTGTGGTGGTGTCTGGCGCGCGGCTCC GGTGGTGGTGGTTCGTGACATCGTGATGACACAGTCTCCAGTCCAGTGTGTCTCTGGCGGAG AGGACCACCATCAACTGCAAGTCCAGCCAGAGTGTTTAGACAGTCCAAAGAACTCCTTTA GCTTTGTTACCAGAGAAACCAGGACAGCCTCCTAAATTTACTCCTTCTTGGGCATCTACGCGGAA TCCGGGATCCCTGACCGATTCACTGGCAGCGGTCTGGGACAGATTTCACTCTCACTATTGACAGC CTGCAGCCTGAAGATTCTGCAACTTACTATTGTCAACAGTCTGCCACTTCCCGATCACCTTTGGC CAAGGGACACGACTGGAGATTAAATCCGAGGTGGTGGTCCGAGGTGAGTGGTTCGAGTCTGGA GGAGGATTGGTCAGCCTGGAGGTTCAATTGAAACTCTCATGTGAGCCTCGGATTCACCTTCAAT AAGTACGCCATGAACCTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGAAAGGGTTTGGATGGGTGTGCTCGCATAGA

67	CD33 AH11 HL x H2C HL	合成	aa	QVQLVQSGAEVKKPGESVKVSKASGYTFTNYGMNWVKQAPGQGLKWMGWINTYTGEPTVADDFKG RVMTSDTSTSTAYMEISSLRSDDTAVYICARWSWSDGYVYFDYWGQGTTVTVSSGGGGSGGGGS GGGSDIVMTQSPDSTLVSLGERTTINCKSSQSVLDSSKNKNSLAWYQKPGQPPKLLLSWASTRE SGIPDRFSGSGSDTFTLTIDSLQPEDSATYCYQSAHFPITFGQGTRLEIKSGGGGSEVQLVYESG GGLVQPGGSLKLSAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYADSVKGRFTISR DDSKNTAYLQMNLLKTEDTAVYYCVRHGNFNGSYISWAYWGQGTTLTVSSGGGGSGGGSGGGGS QTVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCSGSTGAVTSGYYPNWVQKPGQAPRGLIGGTFKFLAPGTPARFSG SLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCALWYSNRWVFGGTKLTVL
68	CD33 AH11 HL x H2C HL	合成	nt	CAGGTGCAGCTGGTGCAGCTGGAGCTGAGGTAAGAACGCTGGAGAGTCAGTCAAGGTCTCCTGC AAGGTCAGCGGTATACCTTCACAACTATGGAATGAATGAGTCAAGCAGGCTCCAGGACAGGGT TTAAAGTGATGGGCTGGATAAACACTACACTGGAGAGCCAAACATATGCTGATGACTTCAAGGGA CGGTTACCATGACTTCGGATACCTTACCAGCACTGCCTATATGAAATCAGCAGCCTCAGAAGT GATGACACGGCTGTATATTACTGTGGCGCTGGAGTTGGAGTGTGTTACTACGTTTACTTTTAC TACTGGGCGCAAGGCACCTACGGTACCGTCTCCTCAGGTGGTGGTTCCTGGCGCGGGGCTCC GGTGGTGGTGGTCTGACATCGTATGACACAGTCTCCAGACTCCCTGACTGTCTCTGGCGCAG AGGACCACCATCAACTGCAAGTCCAGCCAGAGTGTTTAGACAGCTCCAAGATAAGAACTCCTTA GCTTGGTACCAGCAGAAACCCAGGACAGCCTCCTAAATTAATCTCCTTCTCTGGGCATCTACGCGGAA TCCGGGATCCCTGACCGATTTCAGTGGCAGCGGGTCTGGGACAGATTTCACCTCTCACTATTGACAGC CTGCAGCCTGAAGATTCTGCAACTTACTATTGTCAACAGTCTGCCACTTCCCGATCACTTTGGC CAAGGGACACGACTGGAGATTAAATCCGAGGTGGTGGCTCCGAGGTGCAGCTGGTCGAGTCTGGA GGAGGATTGGTGCAGCCTGGAGGTCAATGAAACTCTCATGTGCAGCCTCTGGATTCACTTCAAT AAGTACGCCATGAACCTGGTCCGCCAGGCTCCAGGAAAGGTTTGGAAATGGTGTGCTCGCATAGA AGTAAATATAATAATTATGCAACATAATTGCGGATTTCAGTGAAGACAGGTTCACTCCTCAG GATGATTCAAAAACACTGCCCTATCAAAATGAACAACTTGAAACTGAGGACACTGCCGTGTAC TACTGTGTGAGACATGGGAACCTTCGGTAAATAGCTACATATCTTACTGGCTTACTGGGCGCAAGG ACTCTGGTCACCGTCTCCTCAGGTGGTGGTGGTTCCTGGCGGGCGGGCTCCGGTGGTGGTGGTCT CAGACTGTTGTGACTCAGGAACCTTCACCTACCGTATCACCTGGTGAACAGTCACACTCACITGT GGCTCCTCGACTGGGCTGTTACATCTGGCTACTACCAACTGGGTCCAAACAAACCCAGGTCAG GCACCCGCTGGTCTAATAGGTGGGACTAAGTTCCTCGCCCCGGTACTCCTGCCAGATTCTCAGGC TCCCTGCTTGGAGGCAAGGCTGCCCTCACCTCTCAGGGGTACAGCCAGAGGATGAGGCAGAAATAT TACTGTGCTCTATGGTACAGCAACCGTGGTGTTCGGTGGAGGAACCAACTGACTGCTCCTTA
69	CD33 AH11 HL x F12Q HL	合成	aa	QVQLVQSGAEVKKPGESVKVSKASGYTFTNYGMNWVKQAPGQGLKWMGWINTYTGEPTVADDFKG RVMTSDTSTSTAYMEISSLRSDDTAVYICARWSWSDGYVYFDYWGQGTTVTVSSGGGGSGGGGS GGGSDIVMTQSPDSTLVSLGERTTINCKSSQSVLDSSKNKNSLAWYQKPGQPPKLLLSWASTRE SGIPDRFSGSGSDTFTLTIDSLQPEDSATYCYQSAHFPITFGQGTRLEIKSGGGGSEVQLVYESG GGLVQPGGSLKLSAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYADSVKGRFTISR DDSKNTAYLQMNLLKTEDTAVYYCVRHGNFNGSYISWAYWGQGTTLTVSSGGGGSGGGSGGGGS QTVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCSGSTGAVTSGYYPNWVQKPGQAPRGLIGGTFKFLAPGTPARFSG SLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCALWYSNRWVFGGTKLTVL

10

20

30

40

70	CD33 AH11 HL x F12Q HL	合成	nt	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGAGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGAGAGTCAGTCAAGGTCTCCTGC AAGGCTAGCGGGTATACCTTCACAACTATGGAATGAACCTGGTGAAGCAGGCTCCAGGACAGGGT TTAAAGTGGATGGCTGGATGAATAACACCTACACTGGAGAGCCAACATATGCTGATGACTTCAAGGGA CGGGTTACCATGACTTCGGATACCTCTACAGCACTGCCTATATGGAATCAGCAGCCTCAGAAGT GATGACACGGCTGTATATTACTGTGGCGTGGAGTTGGAGTGATGGTTACTACGTTTACTTTGAC TACTGGGCGCAAGCACTACGGTCAACCTCCCTCTCCTCAGGTGGTGGTGGTTCTGGCGCGGGGGTCC GGTGGTGGTGGTCTGACATCGTGATGACACAGCTCCAGACTCCCTGACTGTCTCTCTGGCGGAG AGGACACCATCAACTGCAAGTCCAGCCAGAGTGTCTTAGACAGCTCCAAGAATAAGAACTCCTTA GCTTGGTACCAGCAAAACCAGGACAGCCTCCTAAATTAATCTCTCTCTGGGCACTACACGGGAA TCCGGGATCCCTGACCGATTACGTGGCAGCGGGTCTGGACAGATTTCACCTCTCACTATTGACAGC CTGCAGCCTGAAGATTCTGCAACTTACTATTGTCAACAGTCTGCCACTTCCCGATCACCTTTGGC CAAGGACACGACTGGAGATTAAATCCGAGGTGGTGGTCCGAGGTGCAGTGGTCGAGTCTGGA GGAGATTGGTGCAGCCTGGAGGTCAATGAAACTCTCATGTGCAGCCTCTGGATTCACTTCAAT AGCTACGCCATGAACCTGGTCCGCAAGCTCCAGGAAAGGTTTGAATGGTGGTGGTCTCGCATAGA AGTAAATATAATAATTAATGCAACATATAATGCCGATTAGTGAAGGACAGTTTCACTCTCCAGA GATGATCAAAAAACACTGCCCTATCAAAATGAACAACTTGAAACTGAGGACACTGCCGTGTAC TACTGTGAGACATGGGAACCTTCGGTAAATAGCTACGTTTCTTGGTGGCTTACTGGGGCCAGGG ACTCTGGTCAACGCTCTCTCAGGTGGTGGTGGTCTTGGCGGGCGGGTCCGGTGGTGGTGGTCT CAGACTGTTGTGACTCAGGAACCTTCACTACCGTATCACCTGGTGAACAGTCACTCACTCACTGT GGCTCTCGACTGGGCTGTTACTCTGGCAACTACCCAACTGGGTCCAAACAAACCAAGTCCAG GCACCCGTGGTCTAATAGGTGGGACTAAGTTCCTCGCCCGGTACTCTCTGCCAGATTCTCAGGC TCCCTGCTTGGAGGCAAGGCTGCCCTCACCTCTCAGGGTACAGCCAGGATGAGGCAAGATAT TACTGTGTTCTATGGTACAGCAACCGCTGGGTGTTCTGGTGGAGGAACCAACTGACTGTCTCTA
71	CD33 AH11 HL x I2C HL	合成	aa	QVLVQSGAEVKKPGESVKVSKASGYTFTNYGMNWVKQAPGQGLKWMGWINTYTGEPTYADDFKG RVMTSDTSTAYMEISSLRSDDTAVYICARWSWSDGYVYFDYWGQGTTVTVSSGGGGSGGGGS GGGSDIVMTQSPDSLTVSLGERTTINCKSSQSVLDSKNKNSLAWYQKPGQPPKLLLSWASTRE SGIPDRFSGSGSDFTLTIDSLQPEDSATYCYQSAHFPIITFGQGRLEIKSGGGGSEVQLVESG GGLVQPGGSLKLSAASGFTFNKYANNWVRQAPGKLEWVARIRSKYNNYATYADSVKDRFTISR DDSKNTAYLQMNLLKTEDTAVYCYVRHGNFGNSYISYWAYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGGS QTVVTQEPSTVSPGGTTLTTCGSSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGGTFKFLAPGTPARFSG SLGGKAALTLGSVQPEDEAEYCYLWYSNRWVFGGTKLTVL
72	CD33 AH11 HL x I2C HL	合成	nt	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGAGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGAGAGTCAGTCAAGGTCTCCTGC AAGGCTAGCGGGTATACCTTCACAACTATGGAATGAACCTGGTGAAGCAGGCTCCAGGACAGGGT TTAAAGTGGATGGCTGGATGAATAACACCTACACTGGAGAGCCAACATATGCTGATGACTTCAAGGGA CGGGTTACCATGACTTCGGATACCTCTACAGCACTGCCTATATGGAATCAGCAGCCTCAGAAGT GATGACACGGCTGTATATTACTGTGGCGTGGAGTTGGAGTGATGGTTACTACGTTTACTTTGAC TACTGGGCGCAAGCACTACGGTCAACCTCCCTCTCCTCAGGTGGTGGTGGTTCTGGCGCGGGGGTCC GGTGGTGGTGGTCTGACATCGTGATGACACAGCTCCAGACTCCCTGACTGTCTCTCTGGCGGAG AGGACACCATCAACTGCAAGTCCAGCCAGAGTGTCTTAGACAGCTCCAAGAATAAGAACTCCTTA GCTTGGTACCAGCAAAACCAGGACAGCCTCCTAAATTAATCTCTCTCTGGGCACTACACGGGAA TCCGGGATCCCTGACCGATTACGTGGCAGCGGGTCTGGACAGATTTCACCTCTCACTATTGACAGC CTGCAGCCTGAAGATTCTGCAACTTACTATTGTCAACAGTCTGCCACTTCCCGATCACCTTTGGC CAAGGACACGACTGGAGATTAAATCCGAGGTGGTGGTCCGAGGTGCAGTGGTCGAGTCTGGA GGAGATTGGTGCAGCCTGGAGGTCAATGAAACTCTCATGTGCAGCCTCTGGATTCACTTCAAT AGCTACGCCATGAACCTGGTCCGCAAGCTCCAGGAAAGGTTTGAATGGTGGTGGTCTCGCATAGA AGTAAATATAATAATTAATGCAACATATAATGCCGATTAGTGAAGGACAGTTTCACTCTCCAGA GATGATCAAAAAACACTGCCCTATCAAAATGAACAACTTGAAACTGAGGACACTGCCGTGTAC TACTGTGAGACATGGGAACCTTCGGTAAATAGCTACGTTTCTTGGTGGCTTACTGGGGCCAGGG ACTCTGGTCAACGCTCTCTCAGGTGGTGGTGGTCTTGGCGGGCGGGTCCGGTGGTGGTGGTCT CAGACTGTTGTGACTCAGGAACCTTCACTACCGTATCACCTGGTGAACAGTCACTCACTCACTGT GGCTCTCGACTGGGCTGTTACTCTGGCAACTACCCAACTGGGTCCAAACAAACCAAGTCCAG GCACCCGTGGTCTAATAGGTGGGACTAAGTTCCTCGCCCGGTACTCTCTGCCAGATTCTCAGGC TCCCTGCTTGGAGGCAAGGCTGCCCTCACCTCTCAGGGTACAGCCAGGATGAGGCAAGATAT TACTGTGTTCTATGGTACAGCAACCGCTGGGTGTTCTGGTGGAGGAACCAACTGACTGTCTCTA

10

20

30

40

				AGGACCACCATCAACTGCAAGTCCAGCAGAGTGTTTAGACAGCTCCAAGAATAAGAACCTCCTTA GCTTGGTACCAGAGAAAACAGGACAGCCTCTAAATTACTCTTCTGGGCATCTACGGGAA TCCGGGATCCCTGACCGATTAGTGGCAGGGGTCTGGACAGATTCTACTCTACTATTGACAGC CTGCAGCCTGAAGATTCTGCAACTTACTATTGTCAACAGTCTGCCACTTCCCGATCACCTTTGGC CAAGGACACGACTGGAGATTAAATCCGGAGGTGGTCCGAGGTGCAGCTGGTCGAGTCTGGA GGAGGATTGGTGCAGCCTGGAGGTCATTGAACTCTCATGTGCAGCCTCTGGATTCACTTCAAT AAGTACGCCATGAAC TGGTCCGCCAGGCTCCAGAAAAGGTTTGGAA TGGTTCGCTCGATAAGA AGTAAATATAATAATTATGCAACATATTATGCGATTCAGTGAAAGACAGGTTCAACATCTCCAGA GATGATCAAAAAACACTGCCTATCTACAAATGAACAACCTTGAAAACTGAGGACACTGCCGTGTAC TACTGTGTGAGACATGGGAACCTTCGGTAATAGTACATATCTACTGGCTTACTGGGACAAGG ACTCTGGTCAACGCTCTCCTCAGGTGGTGGTGTCTGGCGGGCGGCTCCGTGGTGGTGGTCT CAGACTGTTGTGACTCAGGAACCTTCACTCACCGTATCACCTGGTGGAAACAGTCACACTGTTGT GGCTCTCGACTGGGCTGTTACATCTGGCACTACCCAAACTGGTCCAACAAAACCAAGGTCAG GCACCCGCTGGTCTAATAGGTGGACTAAGTTCCTCGCCCCGGTACTCCTGCCAGATTCTCAGGC TCCCTGCTTGAGGCAAGGCTGCCCTCACCTCTCAGGGTACAGCCAGGATGAGGCAGAATAT TACTGTGTTCTATGGTACAGCAACCGCTGGGTGTCGGTGAGGAACCAACTGACTGTCCCTA
73	B3のCD33 VH	合成	aa	QQVLVQSGLAEVKPGESVKVSKKASGYTFTNYGNWVKQAPGQGLEWMGWINTYTGETNYADKFGQ RVFTSDTSTSTAYMELRNLKSDDTAVYYCARWSWSDGYVYFDYWGQGTITVTVSS
74	B3のCD33 HCDR1	合成	aa	NYGMN
75	B3のCD33 HCDR2	合成	aa	WINTYTGETNYADKFGQ
76	B3のCD33 HCDR3	合成	aa	WSWSDGYVYFDY
77	B3のCD33 VH	合成	nt	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGAGCTGAGGTGAAGAACCTGGAGAGTCAGTCAAGGTCTCCTGC AAGGCTAGCGGGTATACCTTCACAAACTATGGAATGAACTGGGTGAAGCAGGCTCCAGGACAGGGT TTAGAGTGGATGGGTGGATAAACACCTACACTGGAGAGACAAACTATGCTGATAAGTTCAGGGA CGGTTACCTTCACCTTCGGATACCTCTACCAGCACTGCCATATATGGAACCTCCGCAACCTCAAAAGT GATCACACGGCTGTATATTACTGTGGCGCTGGAGTTGGAGTGATGGTTACTACGTTTACTTTGAC TACTGGGGCCAAGCACTACGGTCACCGTCTCCTCA
78	B3のCD33 VL	合成	aa	DIVMTQSPDSMTVSLGERTTINCKSSQSVLDSSTNKNLSAWYQQKPGQPPLKLLSWASTRESGIPD RFSGSGSGTDFTLTIDSLQPEDSATYYCQQSAHFPIITFGQGTRLDIK
79	B3のCD33 LCDR1	合成	aa	KSSQSVLDSSTNKNLSIA
80	B3のCD33 LCDR2	合成	aa	WASTRE
81	B3のCD33 LCDR3	合成	aa	QQSAHFPIIT
82	B3のCD33 VL	合成	nt	GACATCGTGATGACACAGTCTCCAGACTCCATGACTGTGTCTCTGGGCGAGAGGACCAACCATCAAC TGCAAGTCCAGCCAGAGTGTTTTAGACAGCTCCACGAATAAGAACTCTCTTAGCTTGGTACCAAGCAG

83	B3のCD33 HL	合成	aa	AAACCAGGACAGCCTCCTAAATTACTCTTCTCTGGGCATCTACGCGGGAATCCGGGATCCCTGAC CGATTAGTGGCAGCGGTCTGGGACAGATTTCACTCTCACTATTGACAGCCTGCAGCCTGAAGAT TCTGCAACTTACTATTGTCAACAGTCTGCCACTTCCCGATCACCTTTGGCCAAGGACACAGACTG GACATTAAA QVQLVQSGAEVKKPESVKVSKASGYFTNYGMNWNVKQAPGQGLEWMGMWINTYTGENTYADRFQ RVFTSDTSTSTAYMELRNKSDDTAVYICARWSWSDGYVYFDYWGQGTFTVTVSSGGSGGGGS GGGSDIVMTQSPDSMTVSLGERTTINCKSSVLDSSNKNLSAWYQKPPKLLLSWASTRE SGIPDRFSGSGGTDFLTITIDSLQPEDSATYVYQSSAHFPIITFGQGRLLDIK
84	B3のCD33 HL	合成	nt	CAGGTGCAGCTGGTGCAGCTGGAGCTGAAGAGCCTGGAGAGTCAGTCAAGGTCTCCTGC AAGGTAGCGGTATACCTTCACAACTATGGAATGAATGGTGAAGCAGCTCCAGGACAGGT TTAGAGTGGATGGCTGGATAAACACCTACACTGAGAGACAACTATGCTGATAAGTTCCAGGA CGGTTACCTTCACTTCGGATACCTTACCAGCACTGCTATATGAACTCCGCAACCTCAAAAGT GATGACACGGCTGTATATTACTGTGGGCTGGAGTTGGAGTGATGGTTACTACGTTTACTTTGAC TACTGGGCGCAAGGCACCTACGTCACCTCCTCCTCAGTGGTGGTGGTCTTGGCGGCGGGCTCC GGTGGTGGTGGTCTTGACATCGTGTGACACAGTCTCCAGACTCCATGACTGTCTCTGGCGGAG AGGACCACCATCAACTGCAAGTCCAGCCAGAGTGTTTAGACAGCTCCACGAATAAGAACTCCTTA GCTTGGTACCAGCAGAAACCCAGGACAGCTCCTAAATTAATCTCTTCTGGCATCTACGCGGAA TCCGGGATCCCTGACCGATTGAGTGGCAGCGGTCTGGGACAGATTTCACTCTCACTATTGACAGC CTGACAGCTGAAGATTCTGCAACTTACTATTGTCAACAGTCTGCCACTTCCCGATCACCTTTGGC CAAGGACACGACTGGACATTAAA
85	CD33 B3 HL x H2C HL	合成	aa	QVQLVQSGAEVKKPESVKVSKASGYFTNYGMNWNVKQAPGQGLEWMGMWINTYTGENTYADRFQ RVFTSDTSTSTAYMELRNKSDDTAVYICARWSWSDGYVYFDYWGQGTFTVTVSSGGSGGGGS GGGSDIVMTQSPDSMTVSLGERTTINCKSSVLDSSNKNLSAWYQKPPKLLLSWASTRE SGIPDRFSGSGGTDFLTITIDSLQPEDSATYVYQSSAHFPIITFGQGRLLDIKSGGGSEVQLVESG GGLVQPGGSLKLSAASGFTFNKYAMNWNVQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISR DDSKNTAYLQMNLLKTEDTAVYICVRHGNFNSYISYWAYWGQGTFTVTVSSGGSGGGSGGGGS QTVVTQEPSTLTVSPGGTFTLTGSSSTGAVTSGYIPNWNVQKPGQAPRGLIGGTFKFLAPGTPARFSG SLGGKAALTLSGVQPEDEAEYICALWYSNRWVFGGTCLTVL
86	CD33 B3 HL x H2C HL	合成	nt	CAGGTGCAGCTGGTGCAGCTGGAGCTGAGTGAAGAGCCTGGAGAGTCAGTCAAGGTCTCCTGC AAGGTAGCGGTATACCTTCACAACTATGGAATGAATGGTGAAGCAGCTCCAGGACAGGT TTAGAGTGGATGGCTGGATAAACACCTACACTGAGAGACAACTATGCTGATAAGTTCCAGGA CGGTTACCTTCACTTCGGATACCTTACCAGCACTGCCTATATGAACTCCGCAACCTCAAAAGT GATGACACGGCTGTATATTACTGTGGCGCTGGAGTTGGAGTGTGTTCTCTGGCGGCGGGCTCC TACTGGGCGCAAGGCACCTACGTCACCTCCTCCTCAGTGGTGGTGGTCTTCTGGCGGCGGGCTCC GGTGGTGGTGGTCTTGACATCGTGTGACACAGTCTCCAGACTCCATGACTGTCTCTGGCGGAG AGGACCACCATCAACTGCAAGTCCAGCAGAGTGTTTAGACAGCTCCACGAATAAGAACTCCTTA GCTTGGTACCAGCAGAAACCCAGGACAGCTCCTAAATTAATCTCTTCTGGCATCTACGCGGAA TCCGGGATCCCTGACCGATTGAGTGGCAGCGGTCTGGGACAGATTTCACTCTCACTATTGACAGC CTGACAGCTGAAGATTCTGCAACTTACTATTGTCAACAGTCTGCCACTTCCCGATCACCTTTGGC

10

20

30

40

87	CD33 B3 HL x F12Q HL	合成	aa	CAAGGGACACGACTGGACATTAAATCCGGAGGTGGTGGCTCCGAGGTGCAGCTGGTCGAGTCTTGGA GGAGGATTGGTGCAGCCTGGAGGGTCATTGAAACTCTCATGTGCAGCCTCTGGATTCAACCTCAAT AAGTACGCCATGAACGGTCCGCCAGGCTCCAGGAAAGGTTTGGAAATGGTTCCTCGCATAGA AGTAAATATAATAATTATGCAACATATTATGCCGATTTCAGTGAAGACAGGTTACCATCTCCAGA GATGATTCAAAAAACACTGCCTATCTACAAATGAACAACCTTGAAACTGAGGACACTGCCGTAC TACTGTGTGAGACATGGGAACCTTCGGTAATAGTACATATCTACTGGCTTACTGGGGCCAAAGG ACTCTGGTCACCGTCTCTCAGGTGGTGGTGTCTGGCGGGCGGCTCCGGTGGTGGTGGTGTCT CAGACTGTGTGACTCAGGAACCTTCACTACCGTATACCTGGTGAACACTCACACTCACTGT GGCTCTCGACTGGGGCTGTACATCTGGCTACTACCCAACTGGGTCCAAACAAAACACAGGTGAG GCACCCCGTGGTCTAATAGTGGGACTAAGTTCTCGCCCCGGTACTCTCGCCAGATTCTCAGGC TCCCTGCTTGGAGGCAAGGCTGCCCTCACCTCTCAGGGTACAGCCAGAGGATGAGGCAGATAT TACTGTGCTCTATGGTACAGCAACCGCTGGGTGTTCGGTGGAGGAACCAACTGACTGTCTCTA QVQLVQSGAEVKKPESVKSKASGYFTNYGMNVKQAPGQGLEWMGWINTYTGETNYADKFPQ RVFTSDTSTSTAYMELRNLSKDDTAVYYCARWSWSDGYVYFDYWGQGTTVTVSSGGGSGGGGS GGGSDIVMTQSPDSMTVSLGERTTINCKSSQSVLDSSTNKNLSAWYQKPGQPPKLLLSWASTRE SGIPDRFSGSGSDFTLTIDSLQPEDSATYYCQSAHFPIITFGQGRLDIKSGGGGSEVQLVESG GGLVQPGGSLKLSAASGFTFNSYAMNWRVQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISR DDSKNTAYLQMNLLKTEDTAVYYCVRHGNFNGSYVSWWAYWGQGLTVTVSSGGGSGGGGSGGGGS QTAVTQEPSTLTVSPGGTIVLTGSSSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGGTFKFLAPGTPAPFSG SLLGKKAALTLSGVQPEDEAEYICVLWYSNRVFGGTCLTLV
88	CD33 B3 HL x F12Q HL	合成	nt	CAGGTGCAGCTGGTGCAGCTGGAGCTGAGGTGAAGAACCTTGAGAGTCAGTCAAGGTCTCTCTGC AAGGTAGCGGGTATACCTTCACAACTATGGAATGAACCTGGTGAAGCAGGCTCCAGGACAGGGT TTAGAGTGGATGGGCTGGATAAACACTACACTGAGAGAGACAACACTATGCTGATAAGTTCAGGGA CGGTTACCTTCACCTCGGATACCTCTACCAGCACTGCCATATGGAACCTCCGCAACCTCAAAAGT GATGACACGGCTGTATATTACTGTGCGCGCTGGAGTTGGAGTGTGTTACTACGTTTACTTTGAC TACTGGGGCCAAAGCACTACGGTCAACGCTCTCTCAGGTGGTGGTGTCTGCGGCGGGCGGCTCC GGTGGTGGTGTCTTGACATCGTGATGACACAGTCTCCAGACTCCATGACTGTGTCTCTGGGCGAG AGGACCACCATCAACTCAAGTCCAGCCAGAGTGTTTAGACAGCTCCACGAATAAGAACTCCTTA GCTTGGTACCAGAGAAACAGGACAGCTCCTAAATTAATTAATTAATTAATTAATTAATTAATTA TCCGGGATCCCTGACCGATTGAGTGGCAGCGGCTCTGGACAGATTTCACCTCTCACTATTGACAGC CTGCAGCCTGAAGATTCTGCACTTACTATTGTCAACAGCTGCCCCACTTCCCGATCACCTTTGGC CAAGGACACGACTGGACATTAATCCGAGGTGGTGGTCCGAGGTGCAGCTGGTCGAGTCTGGA GGAGGATTGGTGCAGCCTGGAGGTCATTGAAACTCTCATGTGCAGCCTCTGGAATTCACCTCAAT AGTACGCCATGAACGTGGTCCGCCAGGCTCCAGGAAAGGTTTGGAAATGGTGTCTCGCATAAGA AGTAAATATAATAATTATGCAACATATTATGCCGATTTCAGTGAAGGACAGGTTTCAACATCTCCAGA GATGATTCAAAAAACACTGCCTATCTACAAATGAACAACCTTGAAACACTGAGGACACTGCCGTGTAC TACTGTGTGAGACATGGGAACCTCGGTAAATAGTACTGTTCTCTGGTGGGCTTACTGGGGCCAAAGG ACTCTGGTCACCGTCTCTCAGGTGGTGGTGTCTTGGCGGGCGGCTCCGGTGGTGGTGGTGTCT CAGACTGTGTGACTCAGGAACCTTCACTACCGTATCACCTGGTGAACAGTCACTCACTGTGT

10

20

30

40

89	CD33 B3 HL x I2C HL	合成	aa	GGCTCCTCGACTGGGCTGTTACATCTGGCAACTACCCAAACTGGGTCCAAACAAAAACAGGTCAG GCACCCCGTGGTCTAATAGGTGGGACTAAGTTCTCTCGCCCCGGTACTCCTGCCAGATTCTCAGGC TCCCTGCTTGAGGCAAGGCTGCCCTCACCCTCTCAGGGGTACAGCCAGAGGATGAGGCAGATAT TACTGTGTTCTATGTTACAGCAACCGCTGGGTGTTCCGTGGAGAACCAACTGACTGTCCCTA QVQLVQSGAEVKKPESVKVSCKASGYTFFTNYGMNWVKQAPGQGLEWMGWINTYTGETNYADKFFQG RVFTSDTSTSTAYMELRNKLSDDTAVYICARWSWSDGYVYFDYWGGTITVTVSSGGGSGGGGS GGGSDIVMTQSPDSMTVSLGERTTINCKSSQSLDSSSTKNLSLAWYQQKPPQPKLLLSWASTRE SGIPDRFSGSGSDTFTLTIDSLPEDSATYQCQSAHPITFGQGRLDIKISGGGSEVQLVESG GGLVQPGGSLKLSAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLWEWYARSKYNNYATYYADSVKDRFTISR DDSKNTAYLQMNLLKTEDTAVYICVRHGNFGNSYISYWAYWGQGLTVTVSSGGGSGGGGSGGGGS QTVVTQEPSTLTVSPGGTITLTTCGSSSTGAVTSGNYPNWQKPGQAPRGLIGGTFKFLAPGTFPFPFG SLGGKAALTLSGVQPEDEAEYICVLWYSNRWVFGGTKLTVL
90	CD33 B3 HL x I2C HL	合成	nt	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGAGCTGAGGTGAAGAAAGCCTGGAGAGTCAGTCAAGGTCTCCTGC AAGGCTAGCGGGTATACCTTCACAAACTATGGAATGAACCTGGGTGAAGCAGGCTCCAGGACAGGGT TTAGAGTGGATGGGTGGATAAACACCTACACTGGAGAGACAACTATGCTGATAAGTTCAGGGA CGGTTACCTTCACCTCGGATACCTCTACCAGCACTGCCATATATGGAACCTCCGCAACCTCAAAAGT GATGACACGGCTGTATATTACTGTGCGCGCTGGAGTTGGAGTGATGGTTACTACGTTTACTTTGAC TACTGGGCGCAAGGCACACTACGGTCACCGTCTCCTCAGGTGGTGGTCTCTGGCGGCGGCGGTCC GGTGGTGGTGTCTTGACATCGTGATGACACAGTCTCCAGACTCCATGACTGTCTCTCTGGCGGAG AGGACCACCATCAACTGCAAGTCCAGCCAGAGTGTTTAGACAGCTCCACGAATAAGAACTCCTTA GCTTGGTACCAGCAGAAACAGGACAGCTCCTTAAATTAATCTCTCTGGCATCTACGGGAA TCCGGGATCCCTGACCGATTAGTGGCAGCGGTCTGGGACAGATTTCACTCTCACTATTACACAGC CTGACGCTGAAGATTCTGCACTTACTATTGTCAACAGTCTGCCACTTCCCGATCACCTTTGGC CAAGGACACGACTGGACATTAATCCGGAGGTGGTGGTCCGAGGTGCAGCTGGTCGAGTCTGGA GGAGGATTGGTGCAGCTGGAGGTCATTGAAACTCTCATGTGCAGCTCTGGATTCACTTCAAT AAGTACGCCATGAACCTGGTCCGCCAGGCTCCAGGAAAGGTTTGGAAITGGTGTCTCGCATAGA AGTAAATATAATAATTATGCAACATATTATGCCGATTCAAGTGAAGACAGGTTCACTTCCAGA GATGATTCAAAAACACTGCCATCTACAAATGAACAACTTGAAACTGAGGACACTGCCGTGTAC TACTGTGTGAGACATGGGAACCTTCGGTAAATAGCTACATATCCTACTGGCTTACTGGGCGCAAGG ACTCTGGTCACCGTCTCCTCAGGTGGTGGTGTCTGGCGGCGGCGGTCCGGTGGTGGTGGTCT CAGACTGTTGTGACTCAGGAACCTTCACTACCGTATCACCTGGTGAACAGTCACTCACTGT GGCTCCTCGACTGGGCTGTACATCTGGCAACTACCCAACTGGGTCCAAACAAAAACAGGTCAG GCACCCCGTGGTCTAATAGGTGGGACTAAGTTCTCGCCCCCGGTACTCCTGCCAGATTCTCAGGC TCCCTGCTTGAGGCAAGGCTGCCCTCACCCTCTCAGGGGTGAGGATGAGGCAGATAT TACTGTGTTCTATGTTACAGCAACCGCTGGGTGTTCCGTGGAGAACCAACTGACTGTCCCTA QVQLVQSGAEVKKPESVKVSCKASGYTFFTNYGMNWVKQAPGQGLEWMGWINTYTGETNYADKFFQG RVFTSDTSTSTAYMELRNKLSDDTAVYICARWSWSDGYVYFDYWGGTITVTVSS
91	F2のCD33 VH	合成	aa	NYGMN
92	F2のCD33 HCDR1	合成	aa	

10

20

30

40

103	CD33 F2 HL x H2C HL	合成	aa	QVQLVQSGAEVKKPGESVKVSKASGYTFTNYGMNWVKQAPGQGLEWMGWINTYTGENTYADKPFQ RVFTSDTSTSTAYMELRNLSKDDTAVYICARWSWSDGYVYFDYWGQGTITVTVSSGGGGGGGG GGGSDIVMTQSPDLSVSLGERTTINCKSSQSLDSSSTNKNLSLAWYQQKPGQPPKLLLSWASTRE SGIPDRFSGSGSGTDFTLTIDSLQPEDSATYICQSAHFPIITFGQGRLEIKSGGGGSEVQLVESG GGLVQPGGSLKLSAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLWEVARIRSKYNNYATYADSVKGRFTISR DDSKNTAYLQMNLLKTEDTAVYICVRHGNFGNSYISYWAYWGQGLTVTVSSGGGGGGGGGGGG QTVVTQEPSTLTVSPGGTVTLTCGSSSTGAVTSGYYPNWVQKPGQAPRGLIGGTFKFLAPGTPARFSG SLGGKAALTLSCVQPEDEAEYICVLWYSNRWVFGGGTKLTVL
104	CD33 F2 HL x H2C HL	合成	nt	CAGGTGCAGCTGGTGACGTGGAGCTGAGGTGAAGAAGCTGGAGAGTCAGTCAAGGTCTCCTGC AAGGTAGCGGGTATACCTTCACAACTATGGAATGAATGGTAGAGCTCCAGGACAGCGGT TTAGAGTGGATGGCTGGATAAACACCTACACTGAGAGACAACTATGCTGATAAGTTCACGGGA CGGTTACCTTCACTTCGGATACCTTACACAGCACTGCCTATATGAACTCCGCAACCTCAAAAGT GATGACACGGCTGTATATTACTGTGCGCGCTGGAGTTGGAGTGATGGTTACTACGTTTACTTTGAC TACTGGGGCCAAGGCACTACGGTACCGTCTCCTCAGGTGGTGGTGGTCTTGGCGGGCGGGCTCC GGTGGTGGTGGTCTGACATCGTGTACACAGTCTCCAGACTCCCTGCTGCTGCTCTCTGGCGGAG AGGACCAACCATCAACTGCAAGTCCAGCCAGAGTGTCTTAGACAGCTCCACGAATAAGAACTCCTTA GCTTGGTACCAGCAGAAACCCAGGACAGCTCCTAAATTAATCTCTTCTGGGCACTACCGGGGAA TCCGGGATCCCTGACCGATTACGTGGCAGCGGTCTGGACAGATTTCACCTCCTACATATTGACAGC CTGACGCTGAAGATTCTGCAACTTACTATTGTCAACAGTCTGCCACTTCCCGTACCTTGGC CAAGGACACAGACTGGAGATTAAATCCGAGGTGGTGGTCCGAGTGAGCTGGTGGAGTGGGA GGAGGATTGGTGCAGCTGGAGGGTCAATGAAACTCTCATGTGCAGCTCTGGATTCACTTCAAT AAGTACCCCATGAAGTGGTCCGCGAGCTCCAGGAAAGGTTTGAATGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGT AGTAAATATAATAATTATGCAACATATTATGCCGATTGAGTGAAGACAGGTTTCCCATCTCCAGA GATGATTCAAAAAACACTGCCTATCTACAAATGAACAACTTGAAACTGAGGACACTGCCGTGTAC TACTGTGTGAGACATGGAACTTCGGTAATAGCTACATATCTTGGCGGCGGGCTCCGGTGGTGGTGGT ACTTGGTCACCGTCTCCTCAGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGT CAGACTGTGTGACTCAGGAACCTTCACTACCGTATACCTGGTGAACAGTCACTCACTGTGT GGCTCTCGACTGGGCTGTACATCTGGCTACTACCAAACTGGTCCAAACAAACAGGTCAG GCACCCGCTGGTCTAATAGGTGGGACTAAGTCTCCTCCCGGCTACTCCTGCCAGATTCTCAGGC TCCCTGCTTGGAGGCAAGCTGCCCTCACCCTCTCAGGGGTACAGCCAGAGGATGAGGCGAATAT TACTGTGCTCTATGGTACAGCAACCGCTGGGTGGTGGTGGAGGAACCAAACTGACTGTCCTA
105	CD33 F2 HL x F12Q HL	合成	aa	QVQLVQSGAEVKKPGESVKVSKASGYTFTNYGMNWVKQAPGQGLEWMGWINTYTGENTYADKPFQ RVFTSDTSTSTAYMELRNLSKDDTAVYICARWSWSDGYVYFDYWGQGTITVTVSSGGGGGGGG GGGSDIVMTQSPDLSVSLGERTTINCKSSQSLDSSSTNKNLSLAWYQQKPGQPPKLLLSWASTRE SGIPDRFSGSGSGTDFTLTIDSLQPEDSATYICQSAHFPIITFGQGRLEIKSGGGGSEVQLVESG GGLVQPGGSLKLSAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLWEVARIRSKYNNYATYADSVKGRFTISR DDSKNTAYLQMNLLKTEDTAVYICVRHGNFGNSYISYWAYWGQGLTVTVSSGGGGGGGGGGGG QTVVTQEPSTLTVSPGGTVTLTCGSSSTGAVTSGYYPNWVQKPGQAPRGLIGGTFKFLAPGTPARFSG SLGGKAALTLSCVQPEDEAEYICVLWYSNRWVFGGGTKLTVL

10

20

30

40

106	CD33 F2 HL x F12Q HL	合成	nt	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGAGCTCAGGTGAAGAACCTGGAGAGTCAGTCAAGGTCCTCTGC AAGGCTAGCGGTATACCTTCACAACTATGGAATGAAGTGGTGAAGCAGGCTCCAGGACAGGCT TTAGAGTGGATGGCTGGATAACACCTACACTGGAGAGACAACTATGCTGATAAGTTCCAGGGA CGGTTACCTTCACCTCGGATACCTCACCAGCACTGCCATATGGAACCTCCGCAACCTCAAAAGT GATGACACGGCTGTATATTACTGTGGCGCTGGAGTTGGAGTGATGTTACTACGTTTACTTTGAC TACTGGGCGCAAGGCATACGGTCACCGTCTCCTCAGGTGGTGGTTCCTGGCGGGCGGCTCC GGTGGTGGTGGTCTGACATCTGATGACACAGTCTCCAGACTCCCTGTCTGTCTCTGGCGCAG AGGACCACTCAACTGCAAGTCCAGCAGAGTGTCTTAGACAGCTCCACGAATAAGAACTCCTTA GCTTGGTACCAGCAAAACCAGGACAGCTCCCTAAATTAATCTCTCTCTGGGCACTACCGGGAA TCCGGATCCCTGACCGATTGAGTGGCAGCGGTCTGGACAGATTCTCACTCTCACTATTGACAGC CTGACGCTGAAGATTCTGCACTTACTATTGTCAGAGTCCAGCTGCCACTTCCGATCACCTTTGGC CAAGGACACGACTGGAGATTAAATCCGAGGTGGTGGCTCCGAGGTGCAGTGGTCGAGTCTGGA GGAGATTGGTGCAGCCTGGAGGTCAATTGAACTCTCATGTGCAGCCTCTGGATTCACTTCAAT AGCTACGCCATGAACCTGGTCCGACAGCTCCAGGAAAGGTTTGAAATGGTTGCTCGCATAGA AGTAAATATAATAATTATGCAACATAATTATGCCGATTGAGTGAAGGAGGTTCACTCCTCCAGA GATGATCAAAAAACACTGCCCTATCAAAATGAACAACTTGAAACTGAGGACACTGCCGTGTAC TACTGTGAGACATGGGAACCTCGGTAAATAGCTACGTTCTCTGGTGGCTTACTGGGGCCAAAGG ACTCTGGTCACCGTCTCTCAGGTGGTGGTGTCTGGCGGGCGGCTCCGCTGGTGGTGGTCTCT CAGACTGTTGTGACTCAGGAACCTCACTACCGTATCACTGGTGAACAGTCACACTCACTGT GGCTCTCGACTGGGCTGTTACATCTGGCACTACCAACTGGTCCAAACAAACCAAGTCAAG GCACCCGTGGTCTAATAGTGGACTAAGTCTCGCCCGCTACTCTCTGCCAGATTCAAGC TCCCTGCTTGGAGGCAAGGCTGCCCTCACCTCTCAGGGTACAGCCAGAGGATGAGGCAATAAT TACTGTGTTCTATGGTACAGCAACCGCTGGTGTCTCGTGGAGAACCAACTGACTGCTCTTA
107	CD33 F2 HL x I2C HL	合成	aa	QVLVQSGAEVKKPGESVKVSKASGYFTNYGMNVKQAPGQGLEWMMGWINTYTGETNVDKFPQ RVFTSDTSTSTAYMELRLNLSDDTAVYCARWSWSDGYVYFDYWGQTTVTVSSGGSGSGSGS GGGSDIVMTQSPDLSVSLGERTTINCKSSQSVLDSSTNKNLSAWYQQKPGQPPKILLSWASTRE SGIPDRFSGSGGTDFLTIDSLQPEDSATYCYQSAHFPITFGQGRLEIKSGGGSEVQLVESG GGLVQPGGSLKLSAASGFTFNKYAMNVRQAPGKLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISR DDSKNTAYLQMNLLKTEDTAVYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQTLVTVSSGGSGSGSGSGSGS QTVVTQEPSTVSPGGTTLTCCSSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGGTFKFLAPGTPARFSG SLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGKTLTVL
108	CD33 F2 HL x I2C HL	合成	nt	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGAGCTCAGGTGAAGAACCTGGAGAGTCAGTCAAGGTCCTCTGC AAGGCTAGCGGTATACCTTCACAACTATGGAATGAAGTGGTGAAGCAGGCTCCAGGACAGGCT TTAGAGTGGATGGCTGGATAACACCTACACTGGAGAGACAACTATGCTGATAAGTTCCAGGGA CGGTTACCTTCACCTCGGATACCTCACCAGCACTGCCATATGGAACCTCCGCAACCTCAAAAGT GATGACACGGCTGTATATTACTGTGGCGCTGGAGTTGGAGTGATGTTACTACGTTTACTTTGAC TACTGGGCGCAAGGCATACGGTCAACCTCTCCTCAGGTGGTGGTTCCTGGCGGGCGGCTCC GGTGGTGGTGGTCTTGACATCTGATGACACAGTCTCCAGACTCCCTGTCTGTCTCTGGCGCAG AGGACCACTCAACTGCAAGTCCAGCAGAGTGTCTTAGACAGCTCCACGAATAAGAACTCCTTA

10

20

30

40

				GCTTGGTACCAGCAGAAACCAGGACAGCCTCCTAAATTACTCCTTTCTGGGCATCTACGGGGAA TCCGGGATCCCTGACCGATTTCAGTGGCAGCGGTCTGGACAGATTTCACCTCTCACTATTGACAGC CTGCAGCCTGAAGATTCTGCAACTTACTATTGTCAACAGTCTGCCACTTCCCGATCACCTTTGGC CAAGGGACACGACTGGAGATTAAATCCGAGGTGGTCCGAGGTGCAGCTGGTCGAGTCTCAAT GGAGGATTGGTGCAGCCTGGAGGTCATTGAAACTCTCATGTGCAGCCTCTGGATTCACTTCAAT AAGTACGCCATGAACCTGGTCCGCCAGGTCCAGGAAAGGTTTGGAAATGGGTGCTCGGATAAGA AGTAAATATAATAATTATGCAACATATTATGCCGATTTCAGTGAAGACAGGTTACCATCTCCAGA GATGATTCAAAAACACCTGCCATTCTACAAATGAACAACTTGAAACTGAGGACACTGCCGTGAC TACTGTGTGAGACATGGGAACCTCGGTAAATAGCTACATATCTTACTGGCTTACTGGGGCCAAAGG ACTCTGGTCACCGTCTCCTCAGGTGGTGGTGTCTGGCGGCGGGCTCCGGTGGTGGTGGTCT CAGACTGTTGTGACTCAGGAACCTTCACTACCGTATCACCTGGTGGAAACAGTACACTACTTGT GGCTCCTCGACTGGGCTGTTACATCTGGCAACTACCCAACTGGGTCCAAACAAACAGGTCAG GCACCCGTGGTCTAATAGGTGGGACTAAGTTCCTCGCCCCGGTACTCCTGCCAGATTCTCAGGC TCCCTGCTTGGAGGCAAGGCTGCCCTCACCTCTCAGGGGTACAGCCAGAGGATGAGGCAGAAATAT TACTGTGTTCTATGGTACAGCAACCGCTGGGTGTTCCGTGGAGGAACCAACTGACTGTCCTA QVQLVQSGAEVKKPGESVKVSCKASGYTFNYGMNWVKQAPGQGLEWMGWINTYTGPTVADKFKQG RVMTTDTSTSTAYMEIRNLRSDDTAVYYCARWSWSGSDGYVYFDYWGGQTTVTIVSS NYGMN
109	B10のCD33 VH	合成	aa	
110	B10のCD33 HCDR1	合成	aa	
111	B10のCD33 HCDR2	合成	aa	
112	B10のCD33 HCDR3	合成	aa	
113	B10のCD33 VH	合成	nt	CAGTGCAGCTGGTGCAGCTCGGACCTGAGGTGAAGAAGCCCTGGTGAGTCAGTCAAGGTCTCCTGC AAGCTAGCGGGTATACCTTCACAACTATGGAATGAAGTGGTGAAGCAGGCTCCAGGACAGGGT TTAGAGTGGATGGGCTGGATAAACACACTACACTGGAGAGCCAACTATGCTGATAAGTTCAGGGA CGGTTACCATGACTACGGATACCTCTACCAGCACTGCCTATATGGAATCCGCAACCTCAGAAAT GATGACACGGCTGTATATTACTGTGGCGCTGGAGTTGGAGTGATGTTACTACGTTTACTTTGAC TACTGGGGCCAAAGCAGTACGCTACCGTCTCCTCA
114	B10のCD33 VL	合成	aa	DIVMTQSPDSLTVSLGERTTINCKSSQSVLDSSNNKNSLAWYQQKPGQPPLKLLSWASTRESGIPD RFGSGSGTDFLTITIDGLQPEDSATYICQQSAHFPIITFGQGRLEIK
115	B10のCD33 LCDR1	合成	aa	KSSQSVLDSSNNKNSLA
116	B10のCD33 LCDR2	合成	aa	WASTRES
117	B10のCD33 LCDR3	合成	aa	QQSAHFPIIT
118	B10のCD33 VL	合成	nt	GACATCGTGATGACACAGTCTCCAGACTCCCTGACTGTGTCTCTGTGGCGAGAGGACCACCATCAAC

119	B10のCD33 HL	合成	aa	TGCAAGTCCAGCCAGAGTGTTTTAGACACAGCTCCAAACAATAAGAACTCCTTAGCTTGGTACACGAG AAACCAGGACAGCCTCCTAAATTAATCCTTTCTTGGGCATCTACGGGGAATCCGGGATCCCTGAC CGATTAGTGGCAGCGGTTCTGGGACAGATTTCACCTCTCACTATTGACGGCTGCAGCTGAAGAT TCTGCAACTTACTATTGTCAACAGTCTGCCACTTCCCGATCACCTTTGGCCAAGGACACGACTG GAGATTAAA QVQLVQSGAEVKKPESVKVSCKASGYFTNYGMNVWVKQAPQQGLEWMGWINTYTGPTYADKFPQ RVMTTDTSTSTAYMEIRNLRSDDTAVYICARWSWSDGYVYFDYWGQGTFTVTVSSGGSGSGSGS GGGSDIVMTQSPDLSLTIVSLGERTTINCKSSQSLDSSNNKNSLAWYQQKPKPQLLLSWASTRE SGIPDRFSGSGSDTFTLTIDGLQPEDSATYYCQSAHFPIITFGQGRLEIK CAGGTGCAGCTGGTGCAGCTGGAGCTGGAGTGAAGAAGCCCTGGTGAGTCAAGTCAAGGTCTCCTGC AAGGTAGCGGGTATACCTTCACAACTATGGAATGAATGGTGAAGCAGGTCCAGGACAGGGT TTAGAGTGGATGGCTGGATAAACACCTACACTGAGAGCAACCTATGCTGATAAGTTCAGGGA CGGTTACCATGACTACGGATACCTTACCAGCACTGCCTATATGAAATCCGCAACCTCAGAGT GATGACACGGCTGTATATTACTGTGCGCGCTGGAGTTGGAGTATGTTACTACGTTTACTTTGAC TACTGGGCGCAAGGCACTACGGTCAACCTCTCCTCAGGTGGTGGTGTCTGGCGGCGGGCTCC GGTGGTGGTGTCTTGACATCGTGATGACACAGTCTCCAGACTCCCTGACTGTCTCTGGCGGAG AGGACCACTCAACTGCAAGTCCAGCCAGAGTGTTTTAGACAGCTCCAAACAATAAGAACTCCTTA GCTTGGTACCAGCAGAAACAGGACAGCTCCTAAATTAATCTCTTCTGGCATCTACGCGGAA TCCGGGATCCCTGACCGATTACGTGGCAGCGGTCTGGGACAGATTTCACCTCTCACTATTGACGGC CTGACAGCTGAAGATTCTGCAACTTACTATTGTCAACAGTCTGCCACTTCCCGATCACCTTTGGC CAAGGGACACGACTGGAGATTAA QVQLVQSGAEVKKPESVKVSCKASGYFTNYGMNVWVKQAPQQGLEWMGWINTYTGPTYADKFPQ RVMTTDTSTSTAYMEIRNLRSDDTAVYICARWSWSDGYVYFDYWGQGTFTVTVSSGGSGSGSGS GGGSDIVMTQSPDLSLTIVSLGERTTINCKSSQSLDSSNNKNSLAWYQQKPKPQLLLSWASTRE SGIPDRFSGSGSDTFTLTIDGLQPEDSATYYCQSAHFPIITFGQGRLEIKSGGGGSEVQLVESG GGLVQPGGSLKLSAASGFTFNKYAMNVRQAPGKLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISR DDSKNTAYLQMNKLKTEDTAVYYCVRHGNFNSYISWAYWGQGLTVTVSSGGSGSGSGSGSGS QTVVTEPSLTVSPGGTTLTCGSSSTGAVTSGYIPNVVQKPKQAPRGLIGGTFKFLAPGTPARFSG SLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCALWYSNRWFGGGTKLTVL CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGAGCTGAGGTGAAGAAGCCCTGGTGAGTCAAGTCAAGGTCTCCTGC AAGGTAGCGGGTATACCTTCACAACTATGGAATGAATGGTGAAGCAGGTCCAGGACAGGGT TTAGAGTGGATGGCTGGATAAACACCTACACTGGAGAGCAACCTATGCTGATAAGTTCAGGGA CGGTTACCATGACTACGGATACCTTACCAGCACTGCCTATATGAAATCCGCAACCTCAGAGT GATGACACGGCTGTATATTACTGTGCGCGCTGGAGTTGGAGTATGTTACTACGTTTACTTTGAC TACTGGGCGCAAGGCACTACGGTCAACCTCTCCTCAGGTGGTGGTGTCTGGCGGCGGGCTCC GGTGGTGGTGTCTTGACATCGTGATGACACAGTCTCCAGACTCCCTGACTGTCTCTGGCGGAG AGGACCACTCAACTGCAAGTCCAGCCAGAGTGTTTTAGACAGCTCCAAACAATAAGAACTCCTTA GCTTGGTACCAGCAGAAACAGGACAGCTCCTAAATTAATCTCTTCTGGCATCTACGCGGAA TCCGGGATCCCTGACCGATTACGTGGCAGCGGTCTGGGACAGATTTCACCTCTCACTATTGACGGC
120	B10のCD33 HL	合成	nt	
121	CD33 B10 HL x H2C HL	合成	aa	QVQLVQSGAEVKKPESVKVSCKASGYFTNYGMNVWVKQAPQQGLEWMGWINTYTGPTYADKFPQ RVMTTDTSTSTAYMEIRNLRSDDTAVYICARWSWSDGYVYFDYWGQGTFTVTVSSGGSGSGSGS GGGSDIVMTQSPDLSLTIVSLGERTTINCKSSQSLDSSNNKNSLAWYQQKPKPQLLLSWASTRE SGIPDRFSGSGSDTFTLTIDGLQPEDSATYYCQSAHFPIITFGQGRLEIKSGGGGSEVQLVESG GGLVQPGGSLKLSAASGFTFNKYAMNVRQAPGKLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISR DDSKNTAYLQMNKLKTEDTAVYYCVRHGNFNSYISWAYWGQGLTVTVSSGGSGSGSGSGSGS QTVVTEPSLTVSPGGTTLTCGSSSTGAVTSGYIPNVVQKPKQAPRGLIGGTFKFLAPGTPARFSG SLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCALWYSNRWFGGGTKLTVL CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGAGCTGAGGTGAAGAAGCCCTGGTGAGTCAAGTCAAGGTCTCCTGC AAGGTAGCGGGTATACCTTCACAACTATGGAATGAATGGTGAAGCAGGTCCAGGACAGGGT TTAGAGTGGATGGCTGGATAAACACCTACACTGGAGAGCAACCTATGCTGATAAGTTCAGGGA CGGTTACCATGACTACGGATACCTTACCAGCACTGCCTATATGAAATCCGCAACCTCAGAGT GATGACACGGCTGTATATTACTGTGCGCGCTGGAGTTGGAGTATGTTACTACGTTTACTTTGAC TACTGGGCGCAAGGCACTACGGTCAACCTCTCCTCAGGTGGTGGTGTCTGGCGGCGGGCTCC GGTGGTGGTGTCTTGACATCGTGATGACACAGTCTCCAGACTCCCTGACTGTCTCTGGCGGAG AGGACCACTCAACTGCAAGTCCAGCCAGAGTGTTTTAGACAGCTCCAAACAATAAGAACTCCTTA GCTTGGTACCAGCAGAAACAGGACAGCTCCTAAATTAATCTCTTCTGGCATCTACGCGGAA TCCGGGATCCCTGACCGATTACGTGGCAGCGGTCTGGGACAGATTTCACCTCTCACTATTGACGGC
122	CD33 B10 HL x H2C HL	合成	nt	

10

20

30

40

123	CD33 B10 HL x F12Q HL	合成	aa	CTGCAGCCTGAAGATTCTGCAACTTACTATTTGTCAACAGTCTGCCACATTCCCGATCACCTTTGGC CAAGGACACGACTGGAGATTAAATCCGAGGTGGTGGCTCCGAGGTGCAGTGGTCGAGTCTGGA GGAGGATTGGTGCAGCCTGGAGGTCATTTGAAACTCTCATGTGCAGCCTCTGGATTCACTTCAAT AAGTACGCCATGAACCTGGTCCGCCAGGCTCCAGGAAAGGTTTGGAAATGGTTGCTCGCATAGA AGTAAATATAATAATTATGCAACATATTATGCCGATTAGTGAAGACAGGTTTCACTATCCAGA GATGATTCAAAAACACTGCCTATCTACAAATGAACAACCTTGAAACTGAGGACACTGCCGTGTAC TACTGTGTGAGACATGGGAACCTTCGGTAAATAGCTACATATCTTACTTGGCTTACTGGGGCAAGG ACTCTGGTCACCGTCTCTCAGGTGGTGGTTCCTGGCGCGCGCTCCGGTGGTGGTGGTGGTCT CAGACTGTTGTGACTCAGGAACCTTCACTACCGTATCACCTGGTGAACAGTCACTCACTTGT GGCTCCTCGACTGGGCTGTACATCTGGCTACTACCAACTGGTCCAAACAAACAGGTCAG GCACCCCGTGGTCTAATAGGTGGGACTAAGTTCCTGCCCCGGTACTCTGCCAGATTCTCAGGC TCCCTGCTTGGAGGCAAGGCTGCCCTCACCTCTCAGGGGTACAGCCAGAGGATGAGGCAGATAT TACTGTGCTCTATGGTACAGCAACCGTGGTGTTCGGTGGAGGAACCAACTGACTGTCTCTA QVQLVQSGAEVKKPESVKVSCKASGYTFNYGMNWVKQAPGQGLEWMGWINTYTGEPYADKFQG RVMTTDTSTSTAYMEIRNLRSDDTAVYCARWSWDGYVYFDYWGQGTTVTVSSGGGSGGGGS GGGSDIVMTQSPDSLTVSLGERTTINCKSSQSVLDSNNKNSLAWYQKPGQPPKLLLSWASTRE SGIPDRFSGSGGTDFLTIDGLQPEDSATYCYQSAHFPIITFGQGRLEIKSGGGGSEVQLVESG GGLVQPGGSLKLSAASGFTFNSYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISR DDSKNTAYLQMNILKTEDTAVYICVRHGNFNGSYVSWWAYWGQGLTVTVSSGGGSGGGGSGGGGS QTVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGGTFKFLAPGTPARFSG SLGGKAALTLSGVQPEDEAEYVCLWYSNRWVFGGTKLTVL
124	CD33 B10 HL x F12Q HL	合成	nt	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGAGCTGAGGTGAAGAAGCTGGTGGTGCAGTCAGTCAAGGTCTCCTGC AAGGTAGCGGGTATACCTTCACAACTATGGAATGAAGTGAAGCAGGCTCCAGGACAGGGT TTAGAGTGGATGGGCTGGATAACACCTACACTGGAGAGCCAACTATGCTGATAAGTTCAGGGA CGCGTTACCATGACTACGGATACCTCTACAGCAGTGCCTATATGAAATCCGCAACCTCAGAAGT GATGACACGGCTGTATATTACTGTGCGCGTGGAGTTGGAGTATGTTACTACGTTTACTTTGAC TACTGGGCGCAAGGCATACGGTCACCGTCTCTCAGGTGGTGGTGGTCTGGCGGCGGCGGTCC GGTGGTGGTGGTCTGACATCGTATGACACAGTCTCCAGACTCCCTGACTGTGTCTCTGGCGCAG AGGACCAACCATCAACTGCAAGTCCAGCCAGAGTGTTTAGACAGCTCCAAACAATAAGAACTCCCTA GCTTGGTACCAGCAGAAACCCAGGACAGCTCCCTAAATTAATCTCTTCTGGGCATCTACGCGGGA TCCGGGATCCCTGACCGATTTCAGTGGCAGCGGTCTGGGACAGATTTCACCTCTCACTATTGACGGC CTGCAGCCTGAAGATTCTGCAACTTACTATTTGTCAACAGTCTGCCACTTCCCGATCACCTTTGGC CAAGGACACGACTGGAGATTAAATCCGAGGTGGTGGTCCGAGGTGCAGTGGTTCGAGTCTGGA GGAGGATTGGTGCAGCCTGGAGGTCATTTGAAACTCTCATGTGCAGCCTCTGGATTCACTTCAAT AGCTACGCCATGAACCTGGTCCGCCAGGCTCCAGGAAAGGTTTGAATGGTGGTGGTTCGCAATAAGA AGTAAATATAATAATTATGCAACATATTATGCCGATTTCAGTGAAGGACAGTTTCACTTCCAGA GATGATTCAAAAACACTGCCTATCTACAAATGAACAACCTTGAAACTGAGGACACTGCCGTGTAC TACTGTGTGAGACATGGGAACCTTCGGTAAATAGCTACGTTTCTTGGTGGCTTACTGGGCGCAAGG ACTCTGGTCAACCGTCTCCTCAGGTGGTGGTGTTCCTGGCGGCGGCGGTCCGGTGGTGGTGGTCT

10

20

30

40

125	CD33 B10 HL x I2C HL	合成	aa	CAGACTGTTGTGACTCAGGAACCTTCACTACCGGTATCACCTGGTGAACAGTCACACTCACTTGT GGCTCCTCGACTGGGCTGTTACATCTGGCAACTACCCAACTGGGTCCAACAAAACACAGGTGAG GCACCCCGTGGTCTAATAGGTGGGACTAAGTTCCTCGCCCCGGTACTCCTGCCAGATTCTCAGGC TCCCTGCTTGAGGCAAGGCTGCCCTCACCTCTCAGGGGTACAGCCAGAGGATGAGGCAGATAT TACTGTGTTCTATGTTACAGCAACCGTGGTGTTCGGTGGAGGAACCAACTGACTGTCTCTA QVQLVQSGAEVKKPESVKVSKASGYTFNYGMNWKQAPGQGLEWMGWINTYTGEPTVADKFPQG RVMTTDTSTSTAYMEIRNLRSDDTAVYYCARWSWSDGYVYFDYWQGQTTVTVSSGGGGSGGGS GGGSDIVMTQSPDLSLTSLGERTTINCKSSQSVLDSNNKNSLAWYQQKPKPQLLLSWASTRE SGIPDRFSGSGSDFTLTIDGLQPEDSATYVYQQAHPITFGQGRLEIKSGGGSEVQLVESG GGLVQPGGSLKLSAASGFTFNKYAMNWRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISR DDSKNTAYLQMNLLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQTLTVSSGGGGSGGGSGGGS QTVVTQEPSTLTVSPGGTIVLTGSSSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGGTFKFLAPGTPARFSG SLGGKAALTLSGVQPEDEAEYVCLWYSNRWVFGGTCLTVL
126	CD33 B10 HL x I2C HL	合成	nt	CAGGTGACGTGGTGCAGTCTGGAGTGAAGTGAAGAACCTGGTGAGTCAGTCAGTCAAGGTCTCCTGC AAGGTAGCGGGTATACCTTCACAAACTATGGAATGAACCTGGGTGAAGCAGGCTCCAGGACAGGGT TTAGAGTGGATGGGCTGGATAAACCTACACTGGAGAGCAACCTATGCTGATAAGTTCAGGGA CGGTTACCATGACTACGGATACCTCTACCAGCACTGCCTATATGGAATCCGCAACCTCAGAGT GATCACCGCTGTATATTACTGTGGCGCTGGAGTTGGAGTATGTTACTACGTTTACTTTGAC TACTGGGCGCAAGCACTACGGTCAACGCTCTCCTCAGGTGGTGGTTCCTGGCGGGCGGCTCC GGTGGTGGTGTCTTGACATCGTGATGACACAGTCTCCAGACTCCCTGACTGTCTCTGGCGAG AGGACCACCATCAACTGCAAGTCCAGCAGAGTGTCTTAGACAGTCCCAACAATAAGAACTCCTTA GCTTGGTACCAGAGAAACAGGACAGCTCCTAAATTAATCTCTTCTGGGCATCTACGCGGAA TCCGGGATCCCTGACCGATTCTGCACTTACTATTGTCAACAGTCTGCGGCTCCCGATCACCTTGGC CTGACGCTGAAGATTCTGCACTTAAATCCGAGGTGGTGGTCCGAGGTGCAGCTGTGAGTCACTTGA CAAGGACACGACTGGAGTTAAATCCGAGGTGGTGGTCCGAGGTGCAGCTGTGAGTCACTTCAAT GGAGGATTGGTGCAGCTGGAGGTCAATGAACTCTCATGTGCAGCTCTGAGTTCACCTCAAT AAGTACGCCATGAACGTGGTCCGCCAGGCTCCAGGAAAGGTTTGGAAATGGTGTGCTCGCATAAGA AGTAAATATAATAATTATGCAACATATATGCCGATTTCAGTGAAGACAGGTTCCACCATCTCCAGA GATGATTCAAAAACACTGCCTATCTACAAATGAACAACTTGAAACCTGAGGACACTGCCGTGTAC TACTGTGTGAGACATGGGAACCTCGGTAATAGCTACATATCCTACTGGGCTTACTGGGGCAAGG ACTCTGGTCAACGCTCCTCAGGTGGTGGTGTCTGGCGGGCGGCTCCGGTGGTGGTGTCT CAGACTGTGTGACTCAGGAACCTTCACTACCGTATCACCTGGTGAACAGTCACACTCACTGT GGCTCCTCGACTGGGCTGTACATCTGGCAACTACCCAACTGGGTCCAACAAAACACAGGTGAG GCACCCCGTGGTCTAATAGGTGGGACTAAGTTCCTCGCCCCGGTACTCCTGCCAGATTCTCAGGC TCCCTGCTTGGAGGCAAGGCTGCCCTCACCTCTCAGGGGTACAGCAGGATGAGGCAGATAT TACTGTGTTCTATGTTACAGCAACCGCTGGTGTTCGGTGGAGAACCAACTGACTGTCTCTA QVQLVQSGAEVKKPESVKVSKASGYTFNYGMNWKQAPGQGLEWMGWINTYTGEPTVADKFPQG RVMTTDTSTSTAYMEIRNLGGDDTAVYYCARWSWSDGYVYFDYWQGQTSVTVSS
127	E11のCD33 VH	合成	aa	QVQLVQSGAEVKKPESVKVSKASGYTFNYGMNWKQAPGQGLEWMGWINTYTGEPTVADKFPQG RVMTTDTSTSTAYMEIRNLGGDDTAVYYCARWSWSDGYVYFDYWQGQTSVTVSS

10

20

30

40

128	E11のCD33 HCDR1	合成	aa	NYGMN	
129	E11のCD33 HCDR2	合成	aa	WINTYTGPTYADKFQG	
130	E11のCD33 HCDR3	合成	aa	WSWSDGYVYVFDY	
131	E11のCD33 VH	合成	nt	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGAGCTGAGGTGAAGAACCTGGAGAGTCAGTCAAGGTCTCCTGC AAGGCTAGCGGGTATACCTTCACAACTATGGAATGAAGTGGTGAAGCAGGCTCCAGGACAGGGT TTAGAGTGGATGGGTGGATAAACACCTACACTGGAGAGCAACCTATGCTGATAAGTCCAGGGA CGGTTACCATGACTACGGATACCTTACCAGCACTGCCATATGGAATCCGCAACCTCGGAGGT GATGACACGGCTGTATATTACTGTGCGGCTGGAGTTGGAGTGATGGTTACTACGTTTACTTTGAC TACTGGGGCCAAAGGCACCTTCGGTCACCGTCTCCTCA	
132	E11のCD33 VL	合成	aa	DIVMTQSPDSLTVSLGERTTINCKSSQSVLDSSTNKNLSLAWYQQKPGQPPKLLLSWASTRESGIPD RFSGSGSGTDFTLTIDSPQPEDSATYVYQQSAHFPIITFGQGRLEIK	
133	E11のCD33 LCDR1	合成	aa	KSSQSVLDSSTNKNLSLA	
134	E11のCD33 LCDR2	合成	aa	WASTRES	
135	E11のCD33 LCDR3	合成	aa	QQSAHFPIIT	
136	E11のCD33 VL	合成	nt	GACATCGTGATGACACAGTCTCCAGACTCCCTGACTGTGTCTCTGGGCGAGAGGACCAATCAAC TGCAAGTCCAGCCAGAGTGTTCACACAGCTCCAGAAATAAGAACTCCTTAGCTTGGTACCAGCAG AAACCAGGACAGCTCCTAAATTACTCCTTTCTTGGCATCTACGCGGAATCCGGGATCCCTGAC CGATTGAGTGGCAGCGGCTCTGGGACAGATTTCACCTCTCACTATTGACAGCCCGCAGCCTGAAGAT TCTGCAACTTACTATTGTCAACAGTCTGCCACTTCCCGATCACCTTTGGCCAAGGACACGACTG GAGATTAAA	
137	E11のCD33 HL	合成	aa	QVQLVQSGAEVKKPGESVKVSCKASGYFTFTNYGMNWKQAPGQGLEWMGWINTYTGPTYADKFQG RVMTTDTSTSTAYMEIRNLGGDDTAVYYCARWSWSDGYVYFDYWGQGTSTVTVSSGGGGGGGS GGGSDIVMTQSPDSLTVSLGERTTINCKSSQSVLDSSTNKNLSLAWYQQKPGQPPKLLLSWASTRE SGIPDRFSGSGSTDFLTIDSPQPEDSATYVYQQSAHFPIITFGQGRLEIK	
138	E11のCD33 HL	合成	nt	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGAGCTGAGGTGAAGAACCTGGAGAGTCAGTCAAGGTCTCCTGC AAGGCTAGCGGGTATACCTTCACAACTATGGAATGAAGTGGTGAAGCAGGCTCCAGGACAGGGT TTAGAGTGGATGGGTGGATAAACACCTACACTGGAGAGCAACCTATGCTGATAAGTCCAGGGA CGGTTACCATGACTACGGATACCTCTACAGCACTGCCATATGGAATCCGCAACCTCGGAGGT GATGACACGGCTGTATATTACTGTGCGGCTGGAGTTGGAGTGATGGTTACTACGTTTACTTTGAC TACTGGGGCCAAAGGCACCTTCGGTCACCGTCTCCTCAGGTGGTGGTTCTGGCGGCGGGCTCC GGTGGTGGTGGTCTGACATCGTGAATGACACAGTCTCCAGACTCCCTGACTGTGTCTCTGGCGGAG AGGACCACCATCAACTGCAAGTCCAGCCAGAGTGTTTTAGACAGCTCCACGAATAAGAACTCTTIA	

10

20

30

40

				GGTACTCTGCCAGATTCTCAGGCTCCCTGCTTGGAGGCAAGGCTGCCCTCACCCCTCTCAGGGGTA CAGCCAGAGGATGAGGCAGAAATATTAATGTGCTCTATGGTACAGCAACCGCTGGGTGTTCCGTGGA GGAACCAAACTGACTGTCTTATCCGAGGTGGTGGCTCCAGGTGCAGTGGTCCAGTCTGGAGCT GAGGTGAAGAAGCCTGGAGCGTCACTCAAGGTCTCCTCAAGGCTAGCGGTATACCTTCACAAAC TATGGAATGAACCTGGGTGAAGCAGGCTCAGGACAGGTTTAAAGTGGATGGCTGGATAAACAAC TACACTGGAGAGCAACATATGCTGATGACTTCAAGGACGGGTACCATGACTTCGGATACCTCT ACCAGACTGCCTATTTGGAACCTCACAACCTCAGAACTGATGACACGGCTGTATATTAATGTGCG CGCTGAGTTGGAGTGTGTTACTACCTTACTTTGACTAGTGGGCCAAGGCATACGCTACCTGTCAC GTCTCCTCAGGTGGTGGTCTGCGCGCGCGCTCCGCTGGTGGTCTTGACATCGTATCGTATG ACACAGTCTCCAGACTCCCTGACTGTCTCTTGGCGAGAGGACCAACCACTCAACTCAAGTCAAGTCCAGC CAGAGTGTCTTAGACAGCTCCAGAATAAGAACTCCTTAGCTTGGTACCAAGCAAAACCAAGGACAG CCTCTAAATTAATCTCTTCCCTGGGATCTACGCGGAATCCGGATCCCTGACCGATTCTAGTGGC AGCGGTCTGGGACAGATTCTACTCTACTATGACAGCCTGCAGCCTGAAGATTCTGCAACTTAC TATTGTCAACAGTCTGCCACTTCCCGATCACCTTTGGCCAAGGACACGACTGGAGATTAA
150	CD33 UD F12Q HL x AF5 HL	合成	aa	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNSYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNVATYYADSV KGRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYCVRHGFGNSYVSWWAYWGQTLVTVSSGGGSGG GGSGGGSQTVVTQEPSTLVSPGGIVTLTCSSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGGLIGGKFLAP GTPARFSGLLGKKAALTLSGVQPEDEAEFYCVLWYSNRWVFGGKLTLSGGGGSQVQLVQSGA EVKPPGASVKVSKASGYTFITNYGMNWVKAPGQGLKWMGWINTYTGEPTYADDFKGRVTMTSDTS TSTAYLELHLNLRDSDTAVYYCARWSWDGYVYFDYWGQGTITVTVSSgggsggsggsggsggsgg TQSPDSLTVSLGERTTINCKSSQSVLDSKNKNSLAWYQKPGQPKLLLSWASTRESGIPDRFSG SGSGTDFTLTIDSLQPEDSATYYCQQSAPHFPIITFGQGRLEIK
151	CD33 UD F12Q HL x AF5 HL	合成	nt	GAGTGCAGCTGGTCGAGTCTGGAGGAGGATTTGGTGCAGCCTGGAGGTCATTGAAACTCTCATGT GCAGCCTCTGGATTACCTTCAATAGTACGCCATGAACCTGGTCCGCCAGGCTCCAGGAAAGGGT TTGGAATGGGTGCTCGCATAGAGCTAAATATAATAATATGCAACATATTATGCCGATTACGTG AAAGGCAGGTTCAACCATCTCCAGAGATGATCAAAAAACACTGCCTATCTACAAATGAACAACTG AAAACTGAGGACACTGCCGTGTACTGTGTGAGACATGGGAACCTTCGGTAATAGCTACGTTCC TGGTGGCTTACTGGGGCCAAGGACTCTGGTCAACCTCTCCTCAGGTGGTGGTCTTGGCGGC GGCGCTCCGGTGGTGGTCTCAGACTGTGTGACTCAGGAACCTTCACTCACCGTATCACCT GGTGAACAGTCACACTCACTTGTGGCTCCTCGACTGGGCTGTACATCTGGCAACTACCCAAAC TGGTCCAAACAAAACAGGTCAAGCAACCCCGTGGTCTAATAGTGGGACTAAGTTCCTCGCCCC GGTACTCCTGCCAGATTCTCAGGCTCCCTGCTGGAGGCAAGGCTGCCCTCACCTCTCAGGGGTA CAGCCAGAGGATGAGGCAGAAATATTAATGTGTTCTATGTTACAGCAACCGCTGGGTGTTGGTGA GGAACCAAACTGACTGTCTATCCGAGGTGGTGGCTCCAGGTGCAGTGGTCCAGTCTGGAGCT GAGGTGAAGAAGCCTGGAGCCTAGTCAAGGTCTCCTGCAAGGTAGCGGTATACCTTCACAAAC TATGGAATGAACCTGGGTGAAGAGGCTCCAGGACAGGTTTAAAGTGGATGGCTGGATAAACAAC TACACTGGAGAGCAACATATGCTGATGACTTCAAGGACGGGTACCATGACTTCGGATACCTCT

10

20

30

40

152	CD33 UD I2C HL x AF5 HL	合成	aa	ACCAGCACTGCCTATTTGGAACTCCACAACCTCAGAAGTGATGACACGGCTGTATATTACTGTGG CGCTGGAGTTGGAGTGATGGTTACTACGTTTACTTTGACTACTGGGCCAAGGCACCTACGGTCACC GTCTCCTCAGGTGGTGGTTCTCGCGCGCGCGCTCCGGTGGTGGTTCTTGACATCGTGATG ACACAGTCTCCAGACTCCCTGACTGTCTCTGGCGGAGAGGACCACCATCAACTCAAGTCCAGC CAGAGTGTCTTAGACAGCTCCAAGAAATAAGAACTCCTTAGCTTGGTACCAGCAGAAACCCAGGACAG CCTCCTAAATTAATCTCCTTCCCTGGCATCTACGCGGAATCCGGATCCCTGACCGATTCACTGGC AGCGGTCTGGGACAGATTTCACTCTCACTATTGACAGCCTGACGCTGAAGATTCTGCAACTTAC TATTGTCAACAGTCTGCCCACTTCCCGATCACCTTTGGCCAAAGGACACGACTGGAGATTAA EVQLVESGGGLVQPGSLKLSCAASGFTFNKYAMNVQRQAPKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQNNNLKTEDTAVYCVRHGNGNSYISYWAYGQGLTVTVSSGGSGG GGSGGGSGTQVVTQEPSTVSPGGTVTLTCSSTGAVTSGNYPNWQKPGQAPRGLIGTKFLAP GTPARFSGSLGGAALTLSGVQPEDEAEYCVLWYSNRWVFGGKLTLSGGGSGVQLVQSGA EVKKPGASVKVSCKASGYFTFNKMNWVKQAPQGQGLKMMGWINTYTGEPTYADDFKGRVTWMTSDTS TSTAYLELHNLRSDDTAVYYCARWSWDGYVYFDYWGQGTTVTVSSgsgsgsgsgsgsDIVM TQSPDSLTVSLGERTTINCKSSQSVLDSKNKNSLAWYQKPGQPPKLLLSWASTRESGIPDRFSG SGSGDTFTLTIDSLQPEDSATYYCQSAHFPIITFGQGRLEIK
153	CD33 UD I2C HL x AF5 HL	合成	nt	GAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGAGGAGGATTGGTGCAGCCTGGAGGGTCATTGAAACTCTCATGT GCAGCCTCTGGATTCACTTCAATAAGTACGCCATGAACCTGGTCCGCCAGGCTCCAGGAAAGGGT TTGGAATGGGTGCTCGCATAGAAGTAAATATAATAATTATGCAACATATTATGCCGATTTCAGTG AAAGACAGGTTCAACATCTCCAGAGATGATTCAAAAACACATGCCTATCTACAAATGAACAATTG AAAACGTAGGACACTGCCGTGTACTGTGTGAGACACTGGAACTTCGGTAATAGCTACATATCC TACTGGGCTTACTGGGGCCAGGACCTTGGTCACCGTCTCCTCAGTGGTGGTCTTGGCGGC GGCGGCTCCGGTGGTGGTCTCAGACTGTGTGACTCAGGAACCTTCACTCACCGTATCACCT GGTGAAACAGTCACACTCACTTGTGGTCTCAGCTGGGCTGTACATCTGGCAACTACCAAAAC TGGGTCCAACAAAACAGGTCAAGCACCCCGTGGTCTAATAGGTGGACTAAGTTCTCGCCCCC GGTACTCCTGCCAGATTCTCAGGCTCCTGTCTGGAGGCAAGGTGCCCTCACCTCTCAGGGGTA CAGCCAGAGGATGAGGCAGAAATATTACTGTGTCTATGTTACAGCAACCGCTGGGTGTTCCGGTGA GGAACCAACTGACTGTCTATCCGAGGTGGTGGTCCAGGTGCAGTGGTCCAGTCTGGAGCT GAGTGAAGAAGCCTGGAGGCTCAGTCAAGGTCTCCTGCAAGGTAGCGGTATACCTTCAAAAC TATGGAATGAACCTGGTGAAGCAGGCTCCAGGACAGGTTTAAAGTGGATGGCTGGATGAACACC TACACTGGAGAGCCAAACATATGCTGATGACTTCAAGGACGGTTACCATGACTTCGGATACCTCT ACCAGCACTGCCATTTGGAACTCCACAACCTCAGAAGTGTACACGGCTGTATATTACTGTGG CGCTGGAGTTGGAGTGATGGTTACTACGTTTACTTTGACTACTGGGCGCAAGGCACCTACGGTCACC GTCTCCTCAGGTGGTGGTCTCGCGCGCGCGGCTCCGGTGGTGGTGTCTTGACATCTCGATG ACACAGTCTCCAGACTCCTGACTGTGTCTCTGGGCGAGAGGACCACCATCAACTCAAGTCCAGC CAGAGTGTTTTAGACAGCTCCAAGAAATAAGAACTCCTTAGCTTGGTACCAGCAGAAACCCAGGACAG CCTCCTAAATTAATCTCCTTCTCGTGGCATCTACGCGGGAATCCGGGATCCCTGACCGATTCACTGGC

10

20

30

40

154	F6AのVL	合成	aa	ACGGGCTCTGGGACAGATTTCACCTCTCACTTACCTATTGACAGCCTGCAGCCTGAAGATTCTGCAACTTAC TATTGTCAACAGTCTGCCACCTCCCGATCACCTTTGGCCAAGGCACGACTGGAGATTAAA
155	F6AのVH	合成	aa	QTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGYYPNWVQKPGQAPRGLIGGTKFLAPGTPARFSG SLGGKAAALTLSGVQPEDEAEYYCALWYSNRWVFGGKTTLTVL
156	F6AのVH-VL	合成	aa	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAAAGFTFNIYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNNYATYYADSV KSRFTISRDDSKNTAYLQMNLLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSFFAYWGQGLTVTVSS
157	F6AのVL-P	合成	aa	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAAAGFTFNIYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNNYATYYADSV KSRFTISRDDSKNTAYLQMNLLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSFFAYWGQGLTVTVSS
158	F6AのVH-P	合成	aa	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAAAGFTFNIYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNNYATYYADSV KSRFTISRDDSKNTAYLQMNLLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSFFAYWGQGLTVTVSS
159	F6AのVH-VL-P	合成	aa	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAAAGFTFNIYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNNYATYYADSV KSRFTISRDDSKNTAYLQMNLLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSFFAYWGQGLTVTVSSGGGSGG
160	H2CのVL	合成	aa	GGGGGSELVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGYYPNWVQKPGQAPRGLIGGTKFLAP GTPARFSGSLGGKAAALTLSGVQPEDEAEYYCALWYSNRWVFGGKTTLTVL
161	H2CのVH	合成	aa	QTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGYYPNWVQKPGQAPRGLIGGTKFLAPGTPARFSG SLGGKAAALTLSGVQPEDEAEYYCALWYSNRWVFGGKTTLTVL
162	H2CのVH-VL	合成	aa	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAAAGFTFNIYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMNLLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGLTVTVSS
163	H2CのVL-P	合成	aa	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAAAGFTFNIYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMNLLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGLTVTVSSGGGSGG
164	H2CのVH-P	合成	aa	GGGGGSELVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGYYPNWVQKPGQAPRGLIGGTKFLAP GTPARFSGSLGGKAAALTLSGVQPEDEAEYYCALWYSNRWVFGGKTTLTVL
165	H2CのVH-VL-P	合成	aa	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAAAGFTFNIYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMNLLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGLTVTVSSGGGSGG
166	H1EのVL	合成	aa	GGGGGSELVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGYYPNWVQKPGQAPRGLIGGTKFLAP GTPARFSGSLGGKAAALTLSGVQPEDEAEYYCALWYSNRWVFGGKTTLTVL
167	H1EのVH	合成	aa	QTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGYYPNWVQKPGQAPRGLIGGTKFLAPGTPARFSG SLGGKAAALTLSGVQPEDEAEYYCALWYSNRWVFGGKTTLTVL
				EVQLVESGGGLEQPGGSLKLSCAAAGFTFNIYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNNYATYYADSV KGRFTISRDDSKNTAYLQMNLLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGLTVTVSS

10

20

30

40

168	H1EのVH-VL	合成	aa	EVQLVESGGGLEQPGGSLKLSCAASGFTFNRYAMNVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSV KGRFTISRDDSKNTAYLQMNILKTEDTAVYCVRHGNGFNSYLSFWAYWGQGLTIVTVSSGGGSGG GGSGGGSQTVVVTQEPSTVSPGGIVTLTCGSSTGAVTSGYYPNWVQKPGQAPRGLIGGTKFLAP GTPARFSGSLGGKAALTLSGVQPEDEAEYICALWYSNRWVFGGGLTIVL
169	H1EのVL-P	合成	aa	ELVVTQEPSTVSPGGIVTLTCGSSTGAVTSGYYPNWVQKPGQAPRGLIGGTKFLAPGTPARFSG SLGGKAALTLSGVQPEDEAEYICALWYSNRWVFGGGLTIVL
170	H1EのVH-P	合成	aa	EVQLVESGGGLEQPGGSLKLSCAASGFTFNRYAMNVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSV KGRFTISRDDSKNTAYLQMNILKTEDTAVYCVRHGNGFNSYLSFWAYWGQGLTIVTVSS
171	H1EのVH-VL-P	合成	aa	EVQLVESGGGLEQPGGSLKLSCAASGFTFNRYAMNVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSV KGRFTISRDDSKNTAYLQMNILKTEDTAVYCVRHGNGFNSYLSFWAYWGQGLTIVTVSSGGGSGG GGSGGGSQTVVVTQEPSTVSPGGIVTLTCGSSTGAVTSGYYPNWVQKPGQAPRGLIGGTKFLAP GTPARFSGSLGGKAALTLSGVQPEDEAEYICALWYSNRWVFGGGLTIVL
172	G4HのVL	合成	aa	QTVVTQEPSTVSPGGIVTLTCGSSTGAVTSGYYPNWVQKPGQAPRGLIGGTKFLAPGTPARFSG SLGGKAALTLSGVQPEDEAEYICALWYSNRWVFGGGLTIVL
173	G4HのVH	合成	aa	EVQLVESGGGLEQPGGSLKLSCAASGFTFNRYAMNVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSV KGRFTISRDDSKNTAYLQMNILKTEDTAVYCVRHGNGFNSYLSFWAYWGQGLTIVTVSS
174	G4HのVH-VL	合成	aa	EVQLVESGGGLEQPGGSLKLSCAASGFTFNRYAMNVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSV KGRFTISRDDSKNTAYLQMNILKTEDTAVYCVRHGNGFNSYLSFWAYWGQGLTIVTVSSGGGSGG GGSGGGSQTVVVTQEPSTVSPGGIVTLTCGSSTGAVTSGYYPNWVQKPGQAPRGLIGGTKFLAP GTPARFSGSLGGKAALTLSGVQPEDEAEYICALWYSNRWVFGGGLTIVL
175	G4HのVL-P	合成	aa	ELVVTQEPSTVSPGGIVTLTCGSSTGAVTSGYYPNWVQKPGQAPRGLIGGTKFLAPGTPARFSG SLGGKAALTLSGVQPEDEAEYICALWYSNRWVFGGGLTIVL
176	G4HのVH-P	合成	aa	EVQLVESGGGLEQPGGSLKLSCAASGFTFNRYAMNVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSV KGRFTISRDDSKNTAYLQMNILKTEDTAVYCVRHGNGFNSYLSFWAYWGQGLTIVTVSS
177	G4HのVH-VL-P	合成	aa	EVQLVESGGGLEQPGGSLKLSCAASGFTFNRYAMNVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSV KGRFTISRDDSKNTAYLQMNILKTEDTAVYCVRHGNGFNSYLSFWAYWGQGLTIVTVSSGGGSGG GGSGGGSQTVVVTQEPSTVSPGGIVTLTCGSSTGAVTSGYYPNWVQKPGQAPRGLIGGTKFLAP GTPARFSGSLGGKAALTLSGVQPEDEAEYICALWYSNRWVFGGGLTIVL
178	A2JのVL	合成	aa	QTVVTQEPSTVSPGGIVTLTCRSSTGAVTSGYYPNWVQKPGQAPRGLIGATDMRPSGTPARFSG SLGGKAALTLSGVQPEDEAEYICALWYSNRWVFGGGLTIVL
179	A2JのVH	合成	aa	EVQLVESGGGLEQPGGSLKLSCAASGFTFNRYAMNVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSV KGRFTISRDDSKNTAYLQMNILKTEDTAVYCVRHGNGFNSYLSFWAYWGQGLTIVTVSS
180	A2JのVH-VL	合成	aa	EVQLVESGGGLEQPGGSLKLSCAASGFTFNRYAMNVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSV KGRFTISRDDSKNTAYLQMNILKTEDTAVYCVRHGNGFNSYLSFWAYWGQGLTIVTVSSGGGSGG GGSGGGSQTVVVTQEPSTVSPGGIVTLTCRSSTGAVTSGYYPNWVQKPGQAPRGLIGATDMRPS GTPARFSGSLGGKAALTLSGVQPEDEAEYICALWYSNRWVFGGGLTIVL
181	A2JのVL-P	合成	aa	ELVVTQEPSTVSPGGIVTLTCRSSTGAVTSGYYPNWVQKPGQAPRGLIGATDMRPSGTPARFSG SLGGKAALTLSGVQPEDEAEYICALWYSNRWVFGGGLTIVL

10

20

30

40

182	A2JのVH-P	合成	aa	EVQLLESGGGLVQPGGSLKLSCAAASGFTFNKYAMNNVVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSV KKRFTISRDDSKNTAYLQMNLLKTEDTAVYYCVRHGFGNSYLSWYAYWGQGLTVTVSS
183	A2JのVH-VL-P	合成	aa	EVQLLESGGGLVQPGGSLKLSCAAASGFTFNKYAMNNVVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSV KKRFTISRDDSKNTAYLQMNLLKTEDTAVYYCVRHGFGNSYLSWYAYWGQGLTVTVSSGGGSGG GGSGGGSELVVTQEPSTVSPGGTVTLTCRSSTGAVTSGYYPNWVQKPGQAPRGLIGATDMRPS GTPARFSGSLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCALWYSNRWVFGGGTKLTVL
184	E1LのVL	合成	aa	QTVVTQEPSTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGYYPNWVQKPGQAPRGLIGTKFLAPGTPARFSG SLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCALWYSNRWVFGGGTKLTVL
185	E1LのVH	合成	aa	EVQLLESGGGLVQPGGSLKLSCAAASGFTFNKYAMNNVVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSV KSRFTISRDDSKNTAYLQMNLLKTEDTAVYYCVRHGFGNSYTSYAYWGQGLTVTVSS
186	E1LのVH-VL	合成	aa	EVQLLESGGGLVQPGGSLKLSCAAASGFTFNKYAMNNVVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSV KSRFTISRDDSKNTAYLQMNLLKTEDTAVYYCVRHGFGNSYTSYAYWGQGLTVTVSSGGGSGG GGSGGGSELVVTQEPSTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGYYPNWVQKPGQAPRGLIGTKFLAP GTPARFSGSLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCALWYSNRWVFGGGTKLTVL
187	E1LのVL-P	合成	aa	ELVVTQEPSTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGYYPNWVQKPGQAPRGLIGTKFLAPGTPARFSG SLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCALWYSNRWVFGGGTKLTVL
188	E1LのVH-P	合成	aa	EVQLLESGGGLVQPGGSLKLSCAAASGFTFNKYAMNNVVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSV KSRFTISRDDSKNTAYLQMNLLKTEDTAVYYCVRHGFGNSYTSYAYWGQGLTVTVSS
189	E1LのVH-VL-P	合成	aa	EVQLLESGGGLVQPGGSLKLSCAAASGFTFNKYAMNNVVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSV KSRFTISRDDSKNTAYLQMNLLKTEDTAVYYCVRHGFGNSYTSYAYWGQGLTVTVSSGGGSGG GGSGGGSELVVTQEPSTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGYYPNWVQKPGQAPRGLIGTKFLAP GTPARFSGSLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCALWYSNRWVFGGGTKLTVL
190	E2MのVL	合成	aa	QTVVTQEPSTVSPGGTVTLTCRSSTGAVTSGYYPNWVQKPGQAPRGLIGATDMRPSGTPARFSG SLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCALWYSNRWVFGGGTKLTVL
191	E2MのVH	合成	aa	EVQLLESGGGLVQPGGSLKLSCAAASGFTFNKYAMNNVVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSV KERFTISRDDSKNTAYLQMNLLKTEDTAVYYCVRHGFGNSYLSWYAYWGQGLTVTVSS
192	E2MのVH-VL	合成	aa	EVQLLESGGGLVQPGGSLKLSCAAASGFTFNKYAMNNVVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSV KERFTISRDDSKNTAYLQMNLLKTEDTAVYYCVRHGFGNSYLSWYAYWGQGLTVTVSSGGGSGG GGSGGGSELVVTQEPSTVSPGGTVTLTCRSSTGAVTSGYYPNWVQKPGQAPRGLIGATDMRPS GTPARFSGSLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCALWYSNRWVFGGGTKLTVL
193	E2MのVL-P	合成	aa	ELVVTQEPSTVSPGGTVTLTCRSSTGAVTSGYYPNWVQKPGQAPRGLIGATDMRPSGTPARFSG SLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCALWYSNRWVFGGGTKLTVL
194	E2MのVH-P	合成	aa	EVQLLESGGGLVQPGGSLKLSCAAASGFTFNKYAMNNVVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSV KERFTISRDDSKNTAYLQMNLLKTEDTAVYYCVRHGFGNSYLSWYAYWGQGLTVTVSS
195	E2MのVH-VL-P	合成	aa	EVQLLESGGGLVQPGGSLKLSCAAASGFTFNKYAMNNVVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSV KERFTISRDDSKNTAYLQMNLLKTEDTAVYYCVRHGFGNSYLSWYAYWGQGLTVTVSSGGGSGG GGSGGGSELVVTQEPSTVSPGGTVTLTCRSSTGAVTSGYYPNWVQKPGQAPRGLIGATDMRPS GTPARFSGSLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCALWYSNRWVFGGGTKLTVL

10

20

30

40

196	F70のVL	合成	aa	QTVVTQEPSTVSPGGTTLTTCGSSTGAVTSGYYPNWVQKPGQAPRGLIGGTKFLAPGTPARFSG SLGGKAALTLSGVQPEDEAEYICVLMYSNRWVFGGTKLTVL
197	F70のVH	合成	aa	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWNVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSV KKRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYICVRHGNFGNSYISWYAYWGQGLTVTVSS
198	F70のVH-VL	合成	aa	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWNVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSV KKRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYICVRHGNFGNSYISWYAYWGQGLTVTVSSGGGSGG GGGGGSGTAVTQEPSTVSPGGTTLTTCGSSTGAVTSGYYPNWVQKPGQAPRGLIGGTKFLAP GTPARFSGSLGGKAALTLSGVQPEDEAEYICVLMYSNRWVFGGTKLTVL
199	F70のVL-P	合成	aa	ELVVTQEPSTVSPGGTTLTTCGSSTGAVTSGYYPNWVQKPGQAPRGLIGGTKFLAPGTPARFSG SLGGKAALTLSGVQPEDEAEYICVLMYSNRWVFGGTKLTVL
200	F70のVH-P	合成	aa	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWNVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSV KKRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYICVRHGNFGNSYISWYAYWGQGLTVTVSS
201	F70のVH-VL-P	合成	aa	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWNVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSV KKRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYICVRHGNFGNSYISWYAYWGQGLTVTVSSGGGSGG GGGGGSELVVTQEPSTVSPGGTTLTTCGSSTGAVTSGYYPNWVQKPGQAPRGLIGGTKFLAP GTPARFSGSLGGKAALTLSGVQPEDEAEYICVLMYSNRWVFGGTKLTVL
202	F120のVL	合成	aa	QTVVTQEPSTVSPGGTTLTTCGSSTGAVTSGYYPNWVQKPGQAPRGLIGGTKFLAPGTPARFSG SLGGKAALTLSGVQPEDEAEYICVLMYSNRWVFGGTKLTVL
203	F120のVH	合成	aa	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWNVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSV KKRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYICVRHGNFGNSYISWYAYWGQGLTVTVSS
204	F120のVH-VL	合成	aa	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWNVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSV KKRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYICVRHGNFGNSYISWYAYWGQGLTVTVSSGGGSGG GGGGGSGTAVTQEPSTVSPGGTTLTTCGSSTGAVTSGYYPNWVQKPGQAPRGLIGGTKFLAP GTPARFSGSLGGKAALTLSGVQPEDEAEYICVLMYSNRWVFGGTKLTVL
205	F120のVL-P	合成	aa	ELVVTQEPSTVSPGGTTLTTCGSSTGAVTSGYYPNWVQKPGQAPRGLIGGTKFLAPGTPARFSG SLGGKAALTLSGVQPEDEAEYICVLMYSNRWVFGGTKLTVL
206	F120のVH-P	合成	aa	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWNVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSV KKRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYICVRHGNFGNSYISWYAYWGQGLTVTVSS
207	F120のVH-VL-P	合成	aa	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWNVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSV KKRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYICVRHGNFGNSYISWYAYWGQGLTVTVSSGGGSGG GGGGGSELVVTQEPSTVSPGGTTLTTCGSSTGAVTSGYYPNWVQKPGQAPRGLIGGTKFLAP GTPARFSGSLGGKAALTLSGVQPEDEAEYICVLMYSNRWVFGGTKLTVL
208	I20のVL	合成	aa	QTVVTQEPSTVSPGGTTLTTCGSSTGAVTSGYYPNWVQKPGQAPRGLIGGTKFLAPGTPARFSG SLGGKAALTLSGVQPEDEAEYICVLMYSNRWVFGGTKLTVL
209	I20のVH	合成	aa	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWNVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSV KKRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYICVRHGNFGNSYISWYAYWGQGLTVTVSS
210	I20のVH-VL	合成	aa	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWNVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSV KKRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYICVRHGNFGNSYISWYAYWGQGLTVTVSSGGGSGG GGGGGSGTAVTQEPSTVSPGGTTLTTCGSSTGAVTSGYYPNWVQKPGQAPRGLIGGTKFLAP GTPARFSGSLGGKAALTLSGVQPEDEAEYICVLMYSNRWVFGGTKLTVL

211	I2CのVL-P	合成	aa	ELVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCCSSTCAVTSNGYNPNWVQQKPGQAPRGLIGGTKFLAPGTPARFSG SLLGKKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGKTLTVL
212	I2CのVH-P	合成	aa	EVQLLESGGGLVQPGSLKLSCAASGTFNFKYAMNWRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQNMNLKTEDTAVYCVRHGNGFNSYISYWAYWGQGLTVTVSS
213	I2CのVH-VL-P	合成	aa	EVQLLESGGGLVQPGSLKLSCAASGTFNFKYAMNWRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQNMNLKTEDTAVYCVRHGNGFNSYISYWAYWGQGLTVTVSSGGSGG GGSGGGSELVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCCSSTCAVTSNGYNPNWVQQKPGQAPRGLIGGTKFLAP GTPARFSGSLLGKKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGKTLTVL
214	SA21-CD33 E11 HL x I2C HL (Hisタグ)		nt	CGCTGATTGAAGATATTTGCCTGCCGCGCTGGGCTGCCTTGGGAAGATGAT CAGGTGCAGCTGGTGAGTCTGGAGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGAGAGTCAGTCAAGGTCCTCTGC AAGGTAGCGGTATACCTTCACAACTATGGAATGAAGTGGTGAAGCAGGCTCCAGGACAGGCT TTAGAGTGGATGGCTGGATAAACACCTACACTGAGAGCCAACTATGCTGATAAGTTCCAGGGA CGGTTACCATGACTACGGATACCTCTACCAGCACTGCCTATATGAAATCCGCAACCTCGGAGGT GATGACACGGCTGTATATTACTGTGCGGCTGGAGTTGGAGTGATGGTTACTACGTTTACTTTGAC TACTGGGCGCAAGGCATTCGGTCACCTCTCCTCAGGTGGTGGTGGTCTGGCGGCGGCGGTCC GGTGGTGGTGGTCTGACATCGTGATGACACAGTCTCCAGACTCCCTGACTGTGTCTGTGGCGAG AGGACCACTCAACTGCAAGTCCAGCCAGAGTGTTTAGACAGCTCCACGAATAAGAACTCCTTA GCTTGGTACCAGCAGAAACCCAGGACAGCTCCTAAATTAATCTCTTCTGGGCATCTACGCGGGA TCCGGGATCCCTGACCGATTGAGTGGCAGCGGCTGAGACAGATTTCACCTCTCACTATTGACAG CCGAGCCTGAAGATTCTGCAACTTACTATGTCAACAGTCTGCCACTTCCCGATCACCTTTGGC CAAGGGACACGACTGGAGATTAAATCCGAGGTGGTGGTCCGAGGTGAGTGGTGGTGGTGGTGG GGAGGATTGGTGAGCCTGGAGGTCAATTGAAACTCTCATGTGAGCCTCTGGAATCACTTCACTCAAT AAGTACGCCATGAACCTGGTCCGCCAGGCTCCAGGAAAGGTTTGAATGGTTGCTCGCATAGA AGTAAATATAATAATTATGCAACATATTATGCCGATTGAGTGAAGACAGGTTCACTTCCAGT GATGATTCAAAAACACTGCCCTATCTCAAAATGAACAACTTGAAACTGAGGACACTGCCGTGTAC TACTGTGTGAGACATGGGAACCTCGGTAATAGCTACATATCTTACTGGCTTACTGGGCGCAAGG ACTCTGGTCACCGTCTCCTCAGGTGGTGGTGGTCTGGCGGCGGCTCCGCTGGTGGTGGTGGTCT CAGACTGTTGTGACTCAGGAACCTTCACTCACCCTATCACCTGGTGGAGACAGTCACACTCACTGT GGCTCTCGACTGGGCTGTTACATCTGGCAACTACCCAACTGGGTCCAAACAAACAGGTCAAG GCACCCGTTGGTCTAATAGGTGGGACTAAGTCTCCCGCCGCTACTCTGCCAGATTCTCAGGC TCCCTGCTTGGAGGCAAGGCTGCCCTCACCTCTCAGGGGTACAGCCAGAGGATGAGGACAGATAT TACTGTGTTCTATGTTACAGCAACCGCTGGGTGTTTCGGTGGAGGAACCAACTGACTGTCTTA CATCACCATCACCATCAC
215	SA21-CD33 E11 HL x I2C HL H6		aa	RLIEDICLRWGCLWEDDQVQIVQSGAEVKKPGESVKVSKASGYTFTNYGMNWKQAPGQGLEWM GWINTYTGEPTYADKFQGRVTMTTDTSTSTAYMEIRNLGGDDTAVYYCARWSWSGYYVYFDYWGQ GTSVTVSSGGSGGGGGSDIVMTQSPDSLTVSLGERTTINCKSSQSVLSDSTNKNLSLAWYQ QKPGQPPKLLLSWASTRESGIPDRFSGSGSGTDFTLTIDSPQPEDSATYYCQQSAHFPIITFGQGT LEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGTFNFKYAMNWRQAPGKGLEWVARIRSKYN

10

20

30

40

216	SA25-CD33 E11 HL x 12C HL Hisタグ有り		nt	NYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNKLKTEDTAVYYCVRHGFGNSYISYWAYWGQGLVT VSSGGSGSGSGGGGQTVTVTQEPSLTVSPGGTVTLTCSSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRG LIGGTKFLAPGTPARFSGSLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGKLTVLHHHH H GAGGACATCTGCCTGCCAGATGGGGCTGCCTGTGTGGAGGACCAGGTGCAGTGGTGCAGTCTGGA GCTGAGGTGAAGAAGCCCTGGAGAGTCAGTCAAGGTCTCCTGCAAGGCTAGCGGTATACCTTCACA AACTATGGAATGAACCTGGGTGAAGAGCTCCAGGACAGGTTTAGAGTGGATGGCTGGATATAAC ACCTACACTGGAGAGCCAACTATGCTGATAAGTTCCAGGACCGCTTACCATGACTACGATATACC TCTACAGCACTGCCTATATGGAATCCGCAACCTCGAGGTGATGACACGGCTGTATATTACTGT GCGCGTGGAGTTGGAGTATGTTTACTACGTTTACTTTGACTACTGGGCCAAGGCACCTTCGGTTC ACCGTCTCCTCAGGTGGTGGTCTCGCGCGCGGCTCCGGTGGTGGTCTCTGACATCGTG ATGACACAGTCTCCAGACTCCCTGACTGTCTCTGGCGAGAGGACCACCATCAACTGCAAGTCC AGCCAGAGTGTCTTAGACAGCTCCAGATAAGAACTCCTTAGCTTGGTACCAGCAGAAACAGGA CAGCTCCTAAATTAATCCTTCTCGGGCATCTACGGGGAATCCGGATCCCTGACCGATTCAGT GGCAGCGGTCTGGACAGATTTCACTCTCACTATTGACAGCCCGAGCCTGAAGATTCTGCAACT TACTATTGTCAACAGTCTGCCACTTCCGATCACTTTGGCCAAGGACACGACTGGAGATTAAA TCCGAGGTGGTGGCTCCGAGGTGAGTGGTCAGTCTGGAGAGGATTGGTCAGCCTGGAGGG TCATTGAAACTCTCATGTGCAGCCTCTGGATTCACTTCAATAAGTACGCCATGAATGGTCCGC CAGGCTCCAGGAAAGGTTTGGATGGTGTCTCGCATAGAAATAATAATAATTATGCAACA TATTATGCCGATTTCAGTGAAGACAGGTTCAACATCTCCAGAGATGATTCAAAAACACATGCCTAT CTAAAAATGAACAACCTGAAACACTGAGACACTCCCGTGTACTACTGTGAGACATGGAACTTC GGTAAAGCTACATATCCTACTGGCTTACTGGGCCAAGGACTCTGGTCAACCTCTCCTCAGGT GGTGGTGTCTCGCGCGCGGCTCCGGTGGTGGTGTCTCAGACTGTGTGACTCAGGAACCT TCACTACCGTATCACTGGTGGACAGTCACTCACTTGTGGCTCCTCGACTGGGGCTGTACA TCTGGCAACTACCCAACTGGGTCCACAAAAACCAGTCAGGACCCCGTGGTCTAATAGTGGG ACTAAGTTCTCGCCCCGGTACTCTCCAGATTCAGGCTCCCTGCTTGGAGGCAAGGCTGCC CTCACCTCTCAGGGGTACAGCCAGAGATGAGGAGAGATATTACTGTCTTATGTTACAGCAAC CGCTGGGTGTCTCGGTGGAGAACCAACTGACTGTCTTA CATCACCATCACCATCAC EDICLPRWGCLWEDQVLVQSGAEVKKPGESVKVSKASGYTFTNYGMNWVKQAPGQGLENMGIN TYTGETPYADKFQGRVTMTTDTSTAYMEIRNLGGDDTAVYCARWSWSDGYVYFYDWGQGTSV TVSSGGSGSGSGGGGSDIVMTQSPDSLTVSLGERTTINCKSSQSVLDSSTNKNLSLAWYQKPG QPPKLLLSWASTRESGIPDRFSGSGSDTFLTIDSPQEDSATYCYQQSAHFPIITFGQGTLEIK SGGGSEVQLVESGGLVQPGGSLKLSCAAASGFTFNKYAMNWVRQAPKGLEWVARIRSKYNNYAT YYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNKLKTEDTAVYYCVRHGFGNSYISYWAYWGQGLTVTVSSG GGSGGGSGSGGGGQTVTVTQEPSLTVSPGGTVTLTCSSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGG TKFLAPGTPARFSGSLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGKLTVLHHHHH CAGGGCTGATCGGGACATCTGCCTGCCAGATGGGCTGCCTGTGGGGGACTCCGTGAAACAG GTGCAGCTGGTGCAGTCTGGAGCTAGGTGAAGAAGCCCTGGAGAGTCACTCAAGGTCTCCTGCAAG GCTAGCGGGTATACCTTCACAAACTATGGAATGAACCTGGGTGAAGCAGGCTCCAGGACAGGGTTTA
217	SA25-CD33 E11 HL x 12C HL H6		aa	
218	SA08-CD33 E11 HL x 12C HL Hisタグ有り		nt	

				GAGTGGATGGGCTGGATAAACACCTACACTGGAGAGCCAACTATGCTGATAAGTTCCAGGACCG GTTACCATGACTACGGATACCTCTACAGCACTGCCTATATGAAATCCGCAACCTCGGAGGTGAT GACACGGCTGTATATTACTGTGGCGTGGAGTTGGAGTGATGTTACTACGTTTACTTTGACTAC TGGGCCAAGGCACCTCGGTACCTCTCCTCAGGTGGTGGTGTCTTGCGCGGCGGCTCCGGT GGTGGTGGTCTTGACATCGTGATGACACAGTCTCCAGACTCCCTGACTGTGTCTCTGGCGGAGAG ACCACCATCAACTGCAAGTCCAGCCAGAGTGTCTTAGACAGCTCCACGAATAAGAACTCCTTAGCT TGGTACCAGCAGAAACCCAGGACAGCTCTCTAAATTTACTCCTTTCTGGGCATCTACGGGGAATCC GGATCCCTGACCGATTTCAGTGGCAGCGGTCTGGACAGATTTCACTCTCACTTACGACACCCG CAGCTGAAGATTCTGCAACTTACTATTTCAACAGCTCTGCCACTTCCCGATCACCTTTGGCCAA GGACACGACTGGAGATTAAATCCGAGGTGGTGGTCCGAGGTGAGCTGGTGGAGTCTGGAGGA GGATTGGTGCAGCTGGAGGTCAATGAAACTCTCATGTGCAGCTCTGGATTCACTTCAATAAG TACGCCATGAACCTGGTCCGCCAGCTCCAGGAAAGGTTTGAATGGTGTCTCGCATAGAAGT AAATATAATAATTATGCAACATATTATGCCGATTTCAGTGAAGACAGGTTCAACATCTCCAGAGAT GATTCAAAAACACTGCCTATCTACAAATGAACAACTTGAAACTGAGGACACTGCCGTGTACTAC TGTGTGAGACATGGGAACCTTCGGTAAATAGCTACATATCTACTGGCTTACTGGGGCCAGGACT CTGGTCAACCTCTCCTCAGGTGGTGGTGTCTGGCGGCGGCTCCGGTGGTGGTGTCTCAG ACTGTTGTGACTCAGGAACCTTCACCTACCGTATCACCTGGTGAACAGTCACACTCACTTGTGGC TCCTCGACTGGGCTGTACATCTGCCAACTACCCAACTGGTCCAAACAAACAGGTCAGGCA CCCCGTGGTCTAATAGGTGGACTAAGTTCCTCGCCCCGGTACTCTGCCAGATTCTCAGGCTCC CTGCTTGGAGGCAAGGCTGCCCTCACCTCTCAGGGGTACAGCCAGAGGATGAGGCAGATATATAC TGTGTTCTATGTACAGCAACCGCTGGGTGTCTGGTGGAGGAACCAACTGACTGTCTCTA CATCACCATCACCATCAC
219	SA08-CD33 E11 HL x I2C HL H6	aa		QGLIGDCLPRWGLWDSVKQVLVQSGAEVKKPGESVKVSKASGYTFTNYGMNWKQAPGQGL EWMGWINTYTGEPTYADKFQGRVMTTDTSTSTAYMEIRNLGGDDTAVYCARWSWSDYIYFDY WGQGTSVTVSSGGGSGGGGGSDIVMTQSPDSLTVSLGERTTINCKSSQSVLSDSTNKNLSLA WYQKPGQPPKLLLSWASTRESGIPDRFSGSGSTDFLTIDSPQPEDSATYYCQQAHPFITFGQ GTRLEIKSGGGSEVQLVESGGGLVQPGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWRQAPGKGLEWVARIRS KYNNTATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNLLKTEDTAVYCVRHGNGNSYISYWAYWGQGT LVTVSSGGGSGGGGSGGSGQTVVTQEPSTVSPGGTVTLTCSSTGAVTSGNYPNWVQKPGQA PRGLIGGTFKFLAPGTPARFSGSLLGKKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGLTLVLHH HHHH
220	SA21-CD33 E11 HL x I2C HL	nt		CGCCTGATTGAAGATATTTTGCCTGCCCGCTGGGGCTGCCTGTGGGAAGATGATCAGGTGCAGCTG GTGCAGTCTGGAGCTGAGGTGAAGAAGCTTGAGAGAGTCAGTCAAGGTCTCCTGCAAGGCTAGCGGG TATACCTTCACAAACTATGGAATGAATGAGTGGTGAAGCAGGCTCCAGGACAGGTTTAGAGTGGATG GGCTGGATAAACACCTACACTGGAGAGCAACCTATGCTGATAAGTTCAGGGACCGCTTACCATG ACTACGGATACCTCTACCAGCACTGCCTATATGGAATCCGCAACCTCGGAGGTGATGACACGGT GTATATTACTGTGCGCGCTGGAGTTGGAGTGTGTTACTAGTTTACTTTGACTACTGGGGCCAA GGCACTTCGGTCAACCTCTCCTCAGGTGGTGGTGTCTTGCGGGCGGGCTCCGGTGGTGGTGGT TCTGACATCGTGATGACACAGTCTCCAGACTCCCTGACTGTGTCTCTGGCGGAGAGGACCACATC

10

20

30

40

[illegible]

223	SA25-CD33 E11 HL x I2C HL		aa	TATTATGCCGATTCACTGAAAGACAGGTTCAACCATCTCCAGAGATGATTCAAAAAACACTGCCTAT CTACAAATGAACAACATTGAAAACCTGAGACACTGCCGTGTACTACTGTGTGAGACATGGGAATTC GGTAATAGCTACATATCTACTGGCTTACTGGGCCAAGGACTCTGGTCACCGTCTCCTCAGGT GGTGGTGTCTTGGCGCGCGGCTCCGGTGGTGTCTCAGACTGTGTGACTCAGGAACCT TCACTCACCGTATCACCTGGTGAACAGTACACTCACTTGTGGCTCCTCGACTGGGCTGTACCA TCTGGCAACTACCAAACTGGGTCCAAACAAAACAGGTCAGGCAACCCCGTGTCTAATAGGTGGG ACTAAGTTCCTCGCCCCCGGTACTCTCTGCCAGATTCTCAGGCTCCCTGCTTGGAGGCAAGGCTGCC CTCACCTCTCAGGGGTACAGCCAGAGGATGAGGCAGAAATATTACTGTGTCTTATGGTACAGCAAC CGCTGGGTGTTCCGTGGAGGAACCAAACTGACTGTCTCTA EDICLRWGCLWEDQVLVQSGAEVKPGEISVKVSKASGYFTNYGMNWVKQAPQGLEGWGMNIN TYTGEPTYADKFQGRVTMTTDTSTAYMEIRNLGGDDTAVYYCARWSWSDGYVYVFDYWGQTSV TVSSGGGSGGGGGGSDIVMTQSPDSLTVSLGERTTINCKSSQSVLDSSTNKNLSLAWYQKPG QPPKLLLSWASTRESGIPDRFSGSGGTFTLTIDSPQEDSATYCCQSAHFPIITFGQGRLEIK SSGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNVRQAPGKLEWVARIRSKYNNYAT YYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFNSYISYWAYWGQGLTVYSSG GGSGGGSGGGGQTVVTVQEPSLTVSPGGTVTLTCSSTGAVTSNYPNWWVQKPGQAPRGLIGG TKFLAPGTPARFSGSLGGKAALLLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGLKLVL
224	SA08-CD33 E11 HL x I2C HL		nt	CAGGGCTGATCGGGGACATCTGCCTGCCAGATGGGCTGCCTGTGGGGCGACTCCGTGGAACAG GTGCAGTGGTGCAGTCTGGAGCTGAGTGAAGAAGCTGGAGAGTCAAGTCTCCTGCAAG GCTAGCGGTATACCTTCACAACTATGGAATGAAGTGGTGAAGCAGGCTCCAGGACAGGGTTTA GAGTGGATGGCTGGATAAACACCTACACTGGAGAGCCAACTATGCTGATAAGTTCAGGAGCG GTTACCATGACTACGGTACCTTACCAGACTGCCCTATATGGAATCCGCAACCTCGGAGGTGAT GACAGGCTGTATATTACTGTGGCGGTGGAGTGGAGTGTGGTTACTACGTTTACTTTGACTAC TGGGGCCAAAGGCATTCCGTACCGTCTCCTCAGTGGTGGTGTCTGGCGGGCGGCTCCGGT GGTGGTGGTCTGACATCGTGTGACACAGTCTCCAGACTCCCTGACTGTCTCTGGGGCGAGG ACCACCATCACTGCAAGTCCAGCCAGAGTGTTTTAGACAGTCCACGAAATAAGAACTCCTTAGCT TGGTACCAGCAGAAACCAGGACAGCTCCTAAATTAATCTTCTGGCATCTACGCGGGAATCC GGGATCCCTGACCGATTCACTGGCAGCGGTCTGGGACAGATTTCACTCTCACTATTGACAGCCOG CAGCCTGAAGATTCTGCAACTTACTATTGTCAACAGTCTGCCACTTCCCGATCACCTTTGGCCAA GGGACACGACTGGAGATTAAATCCGAGGTGGTGGTCCGAGGTGAGTGGTGGTCTGGAGGA GGATTGGTGCAGCTGGAGGTCAATTGAAACTCTCATGTGACGCTCTGGATTCACTTCAATAAG TACGCCATGAACCTGGTCCGCCAGGCTCCAGGAAAGGTTTGAATGGTGTCTCGCATTAAGAGT AAATATAATAATTATGCAACATATTATCCCGATTCACTGAAAGACAGGTTCAACATCTCCAGAGAT GATTCAAAAAACACTGCCTATCTACAAATGAACAACTGAAAACCTGAGGACACTGCCGTGTACTAC TGTGTGAGACATGGGAACCTTCGGTAATAGCTACATATCTTACTGGCTTACTGGGGCCAAAGGACT CTGGTCAACCGTCTCCTCAGGTGGTGGTGTCTGGCGGGCGGCTCCGGTGGTGGTGGTCTCAG ACTGTTGTGACTCAGGAACCTTCACTACCGGTATCACTGGTGGAAACAGTCACTACTCTGTGGC TCCCTGACTGGGGCTGTTACATCTGGCAACTACCAAACTGGGTCCAAACAAACAGGTCAGGCA CCCCGTGGTCTAATAGGTGGGACTAAGTTCCTCGCCCCCGGTACTCTGCCAGATTCTCAGGCTCC

10

20

30

40

225	SA08-CD33 E11 HL x 12C HL	aa	CTGCTTGAGGCAAGGCTGCCCTCACCCCTCTCAGGGGTACAGCCAGAGGATGAGGCAGAAATATTAC TGTTGTTCTATGGTACAGCAACCGCTGGGTGTTCTGGTGGAGGAACCAAACTGACTGTCCTA QGLIGDLCPLRWGLWDSVKQVLQVSGAEVKKPESVKVSKASGYTFTNYGMNWKQAPGQGL EWMGWINTYTGEPTYADKFKQGRVTMTTDTSTAYMEIRNLGGDDTAVYVCARWSWSDGYVYFDY WQGTSVTVSSGGGGGGGGSDIVMTQSPDSLTVSLGERTTINCKSSQSVLDSSTNKNLSLA WYQKPGPPKLLLSWASTRESGIPDRFSGSGSDFTLTIDSPQPEDSATYQCQSAHFPIITFGQ GTRLEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWRQAPGKGLEWVARIRS KYNNTAYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNLLKTEDTAVYCVRHGNGNSYISYWAYWGQGT LVTVSSGGGGGGGGGGGQTVVTQEPSTLTVSPGTVTLTSCSSTGAVTSGNYPNWVQKPGQA PRGLIGTKFLAPGTPARFSGSLGGKAALTLGVSQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGKTLTVL
226	CD33 E11 HL x 12C HL (His タグ)	nt	CAGGTGAGCTGGTGCAGTCTGGAGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGAGAGTCAGTCAAGGTCTCCTGC AAGGCTAGCGGGTATACCTTCACAACTATGGAATGAATGAATGGTGAAGCAGGCTCCAGGACAGGT TTAGAGTGGATGGGTGGATAAACACCTACACTGGAGAGCCAACTATGCTGATAAGTTCCAGGA CGCTTACCATGACTACGGATACCTCTACAGCACTGCCCTATATGGAATCCGCAACCTCGGAGGT GATGACAGGCTGTATATTACTGTGCGCTGGAGTGGAGTATGTTACTACGTTTACTTGTGAC TACTGGGCCAAGGCATTCGGTCAACGCTCTCCTCAGTGGTGGTGTCTGGCGGGCGGCTCC GGTGGTGGTGTCTTGACATCGTGATGACACAGTCCAGACTCCCTGACTGCTGCTCTGGCGGAG AGGACCACTCAACTGCAAGTCCAGCCAGAGTGTTTAGACAGTCCACGAATAAGAACTCCTTA GCTTGTACAGCAGAAACAGGACAGCTCCTAAATTAATTAATCTTCTTCTGGGCATCTACGCGGAA TCCGGGATCCCTGACCGATTGAGTGGCAGCGGTCTGGGACAGATTTCACTCTCACTATTGACAGC CCGACGCTGAAGATTCTGCACTTACTATTGTCAACAGTCTGCCACTTCCGATCACTTTTGGC CAAGGACACGACTGGAGATTAAATCCGAGGTGGTGGTCCGAGTGCAGTGGTTCGAGTCTGGA GGAGATTGGTGACGCTGGAGGTCAATTGAACTCATCTGATGACAGCTCTGGATTCACTTCAAT AAGTACCCCATGAAGTGGTCCGCGAGCTCCAGGAAAGGTTTGGAAATGGTGTCTCGCATAGA AGTAAATATAATAATTATGCAACATATTATGCCGATTCAGTGAAGACAGGTTCACTCTCCAGA GATGATTCAAAAACACTGCCTATCTACAAATGAACAATTTGAAAACGTGAGACACTGCCGTGTAC TACTGTGAGACATGGGAATTCGGTAAATAGCTACATACTCTACTGGCTTACTGGGGCCAAAGG ACTCTGGTCACTGCTCTCCTCAGTGGTGGTGTCTGGCGGGCGGCTCCGTTGGTGGTGGTCT CAGACTGTGTGACTCAGGAACCTTCACTCACCGTATCACTGGTGGAAACAGTCACTCACTTGT GGCTCCTCGACTGGGCTGTATACATCTGGCACTACCAAACTGGTCCCAACAAACCAAGTCCAG GCACCCGCTGCTAATAGGTGGACTAAGTTCCTCGCCCCCGTACTCTGCCAGATTCTCAGGC TCCCTGCTTGGAGCAAGGCTGCCCTCACCTCTCAGGGGTACAGCCAGAGGATGAGGCAAGATAT TACTGTGTCTATGGTACAGCAACCGCTGGTGTCTGGTGGAGGAACCAAACTGACTGTCTTA CATCACATCAACATCAC
227	CD33 E11 HL x 12C HL H6	aa	QVQLVQSGAEVKKPESVKVSKASGYTFTNYGMNWKQAPGQGLEMMGWINTYTGEPTYADKFKQ RVMTTDTSTSTAYMEIRNLGGDDTAVYVCARWSWSDGYVYFDYWGQGTSVTVSSGGGGGGGS GGGSDIVMTQSPDSLTVSLGERTTINCKSSQSVLDSSTNKNLSLAWYQKPGQPPKLLLSWASTRE SGIPDRFSGSGSDFTLTIDSPQPEDSATYQCQSAHFPIITFGQGRLEIKSGGGGSEVQLVESG GGLVQPGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYADSVKDRFTISR DDSKNTAYLQMNLLKTEDTAVYCVRHGNGNSYISYWAYWGQTLTVSSGGGGGGGGGGG QTVVTQEPSTLTVSPGTVTLTSCSSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGTKFLAPGTPARFSG SLLGKKAALTLGVSQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGKTLTVLHHHHH

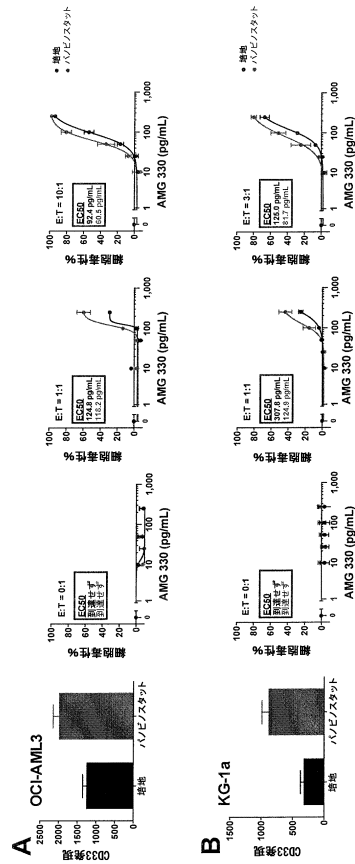
10

20

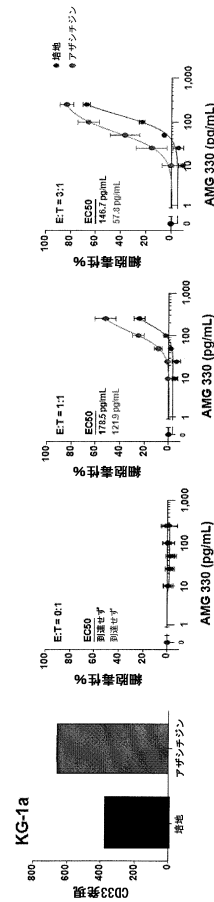
30

40

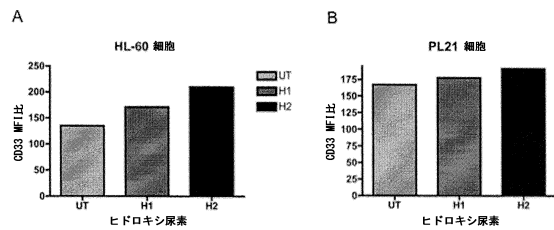
【図 1】



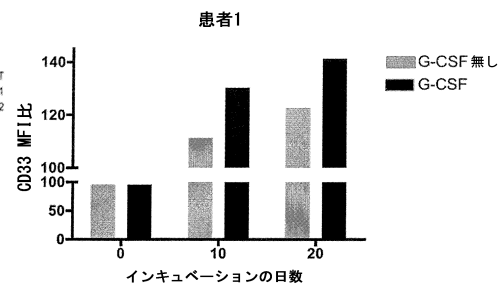
【図 2】



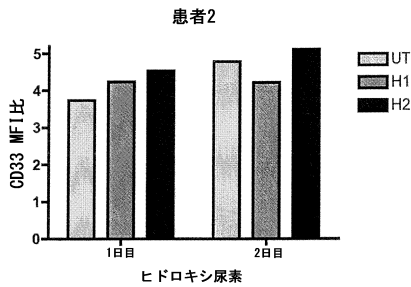
【図 3】



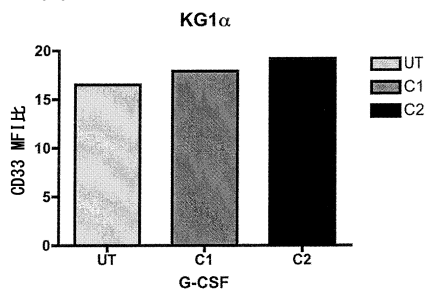
【図 6】



【図 4】



【図 5】



【配列表】

0006530409000001.app

フロントページの続き

(51)Int.Cl.		F I	
A 6 1 P 35/02	(2006.01)	A 6 1 P 35/02	
A 6 1 P 43/00	(2006.01)	A 6 1 P 43/00	1 1 1
		A 6 1 P 43/00	1 2 1

(74)代理人 100102118
弁理士 春名 雅夫

(74)代理人 100160923
弁理士 山口 裕孝

(74)代理人 100119507
弁理士 刑部 俊

(74)代理人 100142929
弁理士 井上 隆一

(74)代理人 100148699
弁理士 佐藤 利光

(74)代理人 100128048
弁理士 新見 浩一

(74)代理人 100129506
弁理士 小林 智彦

(74)代理人 100114340
弁理士 大関 雅人

(74)代理人 100114889
弁理士 五十嵐 義弘

(74)代理人 100121072
弁理士 川本 和弥

(72)発明者 ウォルター ローランド ビー .
アメリカ合衆国 ワシントン州 シアトル ノースイースト ナインティフィフス ストリート
1 0 1 2

(72)発明者 スブクレーヴェ マリオン
ドイツ連邦共和国 ミュンヘン マルヒオーニニシュトラッセ 15 クリニック デル ユニベ
ルシテート ミュンヘン メディジニシュ クリニック サード

(72)発明者 クルプカ クリスティーナ
ドイツ連邦共和国 ミュンヘン マルヒオーニニシュトラッセ 15 メディジニシュ クリニッ
ク サード アム クリニック グロスハーデン ミュンヘン

審査官 渡邊 潤也

(56)参考文献 国際公開第2 0 1 2 / 0 4 5 7 5 2 (WO , A 1)
Leukemia , 2 0 1 2 年 1 2 月 1 4 日 , 27 , p.1107-1115
mAbs , 2 0 1 0 年 7 月 1 日 , 2(4) , p.440-448
Leukemia , 2 0 1 2 年 7 月 2 0 日 , 27 , p.233-235

(58)調査した分野(Int.Cl. , D B 名)
A 6 1 K 3 9 / 3 9 5
A 6 1 K 3 1 / 0 0
A 6 1 K 3 8 / 0 0
A 6 1 K 4 5 / 0 0
J S T P l u s / J M E D P l u s / J S T 7 5 8 0 (J D r e a m I I I)

C A p l u s / M E D L I N E / E M B A S E / B I O S I S (S T N)