

ANTICUERPOS DE ANTI-CD33 Y MÉTODOS PARA USARLOS

REFERENCIA CRUZADA A SOLICITUDES RELACIONADAS

- 5 La presente solicitud reivindica el beneficio de la solicitud provisional estadounidense n.º de serie 62/726,053, presentada el 31 de agosto de 2018, que se incorpora a la presente en su totalidad mediante referencia.

PRESENTACIÓN DEL LISTADO DE SECUENCIAS EN ARCHIVO DE TEXTO

10 ASCII

El contenido del archivo de texto ASCII presentado se incorpora a la presente en su totalidad mediante esta referencia: un formulario legible en computadora (CRF, por su sigla en inglés) de listado de secuencias (nombre del archivo: 735022002840SEQLIST.TXT, fecha registrada: 26 de agosto de 2019, tamaño: 112 KB).

15

CAMPO DE LA PRESENTE DESCRIPCIÓN

La presente descripción se relaciona con anticuerpos anti-CD33 y usos terapéuticos de tales anticuerpos.

ANTECEDENTES DE LA PRESENTE DESCRIPCIÓN

- 20 El precursor del antígeno de superficie celular mieloide CD33 (CD33), también conocido como Siglec-3, es una proteína transmembranaria inmunoglobulinoide de tipo 1 que se expresa en células inmunitarias y hematopoyéticas, inclusive células mieloides inmaduras y maduras, células dendríticas y microglíocitos. (Crocker et ál. (2007) Nat Rev Immunol. 7:255–266; McMillan y Crocker (2008) Carbohydr Res. 343:2050–2056; Von Gunten y
- 25 Bochner (2008) Ann NY Acad Sci. 1143:61–82; Handgretinger et ál. (1993) Immunol Lett. 37:223–228; y Hernández-Caselles et ál. (2006) J Leukoc Biol. 79:46-58). CD33 contiene un dominio extracelular similar a Ig de tipo C2 (inmunoglobulinoide) y similar a Ig de tipo V (inmunoglobulinoide), así como dos motivos de tipo ITIM en su dominio citoplasmático. Se han identificado tres formas con empalme alternativo (isoformas) de CD33, inclusive una
- 30 variante con mayor peso molecular, llamada CD33M y una isoforma más pequeña CD33m que carece del dominio similar a Ig de tipo V (el sitio de unión al ligando) y el enlace disulfuro que une los dominios V y C.
- Con estudios de asociación del genoma completo (GWAS, por su sigla en inglés) que se llevaron a cabo en cohortes ampliadas (por ejemplo, miles de individuos) se identificaron
- 35 polimorfismos de un único nucleótido (SNP) *rs3865444^{CC}* (mejor conocido como *rs3826656*) y *rs3865444^{AA}* en CD33 como moduladores genéticos para el riesgo de enfermedad de Alzheimer (AD, por su sigla en inglés) de inicio tardío. En oncología, se ha demostrado que

las variantes CD33 que conducen a una menor expresión de CD33 se asocian a una mejor tasa de supervivencia en la leucemia mieloide aguda (AML, por su sigla en inglés) en niños. La tasa de supervivencia general de 3 años desde la remisión es de 84 % $\pm$ 8 % para aquellos que poseen la variante rs35112940^{GG}, que tiene un fuerte desequilibrio de enlace con la variante rs3865444AA, que se asocia la menor expresión completa de CD33. La tasa de remisión para el alelo no protector es 68 % $\pm$ 15 %. Los portadores del alelo protector también tienen un menor riesgo de recidiva y mayor supervivencia sin la enfermedad. Asimismo, los pacientes homocigotas para el alelo de variante menor (TT) de rs12459419, que se asocia a más de 46 % de menor expresión del CD33 completo, tienen más probabilidades de tener un resultado favorable de la enfermedad que aquellos que tienen las variantes CC y CT (52 % en oposición a 31 %) y tienen una expresión significativamente menor de CD33 blástico de diagnóstico que otros genotipos. Este es el caso incluso en pacientes que se someten a tratamiento con el anticuerpo anti-CD33 y un derivado tóxico de caliqueamicina gamma (Mortland et ál., (2013) Clin Cancer Res; 1–8). Los portadores del alelo 2459419^{TT}, así como los portadores del alelo rs12459419^{CT}, que presentan más de 25 % de reducción en la expresión de CD33 completo, también presentan menor riesgo de padecer enfermedad de Alzheimer (Malik M. et ál. (2015) Human Molecular Genetics, 1–14). Esto indica que la funcionalidad o expresión reducida de CD33 puede ser beneficiosa en la enfermedad de Alzheimer y el cáncer.

Se han descrito anticuerpos para CD33, por ejemplo, en US7,342,110, US7,557,189, US8,119,787, US8,337,855, US8,124, 069, US5,730, 982, WO2012/074097, WO2004/043344, WO1993/020848, WO2012/045752, WO2007/014743, WO2003/093298, WO2011/036183, WO1991/009058, WO2008/058021, WO2011/038301, WO2016/201389, WO2016/201388, Hoyer et ál (2008) Am J Clin Pathol, 129:316-323, Rollins-Ravel y Roth (2012) Histopathology 60:933-942, Perez-Olivia et ál (2011) Glycobiol 21:757-770, Ferlasso et ál (2000) Eur J Immunol 30:827-833, Vitale et ál (2001) Proc Natl Acad Sci USA 98:5764-5769, Jandus et ál (2011) Biochem Pharmacol 82:323-332, O'Reilly y Paulson (2009) Trends Pharmacol Sci 30:240-248, Jurcic (2012) Curr Hematol Malig Rep 7:65-73 y Ricart (2011) Clin Cancer Res 17:6417-6427.

Por consiguiente, existe la necesidad de anticuerpos terapéuticos anti-CD33 para tratar enfermedades, trastornos y afecciones asociadas a la actividad no deseada de CD33. Todas las referencias mencionadas en la presente, incluidas patentes, publicaciones y solicitudes de patente, se incorporan a la presente en su totalidad mediante esta referencia.

COMPENDIO DE LA PRESENTE DESCRIPCIÓN

La presente descripción se orienta en general a composiciones que incluyen anticuerpos, por ejemplo, monoclonales, quiméricos, anticuerpos humanizados, fragmentos de anticuerpos, etc., que se unen específicamente a CD33 humana, y a métodos para usar

tales composiciones.

Determinados aspectos de la presente descripción se basan, al menos en parte, en la identificación de anticuerpos anti-CD33 con características funcionales mejoradas y/o potenciadas. En algunas modalidades, los anticuerpos anti-CD33 de la presente descripción comprenden una o más características funcionales mejoradas y/o potenciadas con respecto a un anticuerpo de referencia (por ejemplo, un anticuerpo anti-CD33 que comprende una región variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 3 y una región variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 4). En algunas modalidades, los anticuerpos anti-CD33 de la presente descripción tienen una afinidad para CD33 (por ejemplo, CD33 humana) mayor que la de un anticuerpo anti-CD33 de referencia (por ejemplo, un anticuerpo anti-CD33 que comprende una región variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 3 y una región variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 4). En algunas modalidades, los anticuerpos anti-CD33 de la presente descripción se unen a células humanas, tales como células dendríticas primarias humanas, con una concentración eficaz media máxima (EC_{50}) menor que la de un anticuerpo de referencia (por ejemplo, un anticuerpo anti-CD33 que comprende una región variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 3 y una región variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 4). En algunas modalidades, los anticuerpos anti-CD33 de la presente descripción disminuyen los niveles celulares (por ejemplo, disminuyen o reducen los niveles de la superficie celular) de CD33 con una concentración eficaz media máxima (EC_{50}) menor que la de un anticuerpo de referencia (por ejemplo, un anticuerpo anti-CD33 que comprende una región variable de cadena pesada que comprende la secuencia de la SEQ ID NO: 3 y una región variable de cadena ligera que comprende la secuencia de la SEQ ID NO: 4).

Por consiguiente, en un aspecto, la presente descripción se relaciona con un anticuerpo que se une a una proteína CD33, en donde el anticuerpo comprende una región variable de cadena pesada y una región variable de cadena ligera, en donde la región variable de cadena pesada comprende: una HVR-H1 que comprende una secuencia de aminoácidos que se selecciona de las SEQ ID NO:8-30, una HVR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:33, una HVR-H3 que comprende una secuencia de aminoácidos que se selecciona de las SEQ ID NO:39-40, una HVR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:47, una HVR-L2 que comprende una secuencia de aminoácidos que se selecciona de las SEQ ID NO:53-55, y una HVR-L3 que comprende una secuencia de aminoácidos que se selecciona de las SEQ ID NO: 58-62.

En otro aspecto, la presente descripción se relaciona con un anticuerpo que se une a una

proteína CD33, en donde el anticuerpo comprende una región variable de cadena pesada y una región variable de cadena ligera, en donde la región variable de cadena pesada comprende las HVR-H1, HVR-H2 y HVR-H3 del anticuerpo 6C7H8, 6C7H9, 6C7H10, 6C7H11, 6C7H12, 6C7H13, 6C7H14, 6C7H15, 6C7H16, 6C7H17, 6C7H18, 6C7H19, 6C7H20, 6C7H21, 6C7H22, 6C7H23, 6C7H24, 6C7H25, 6C7H26, 6C7H27, 6C7H28, 6C7H29, 6C7H30, 6C7H31, 6C7H32, 6C7H33, 6C7H34, 6C7H35, 6C7H36, 6C7H37, 6C7H38, 6C7H39, 6C7H40, 6C7H41, 6C7H42, 6C7H43, 6C7H44, 6C7H45, 6C7H46, 6C7H47, 6C7H48, 6C7H49, 6C7H50, 6C7H51, 6C7H52, 6C7H53 o 6C7H54.

En otro aspecto, la presente descripción se relaciona con un anticuerpo que se une a una proteína CD33, en donde el anticuerpo comprende una región variable de cadena pesada y una región variable de cadena ligera, en donde la región variable de cadena ligera comprende las HVR-L1, HVR-L2 y HVR-L3 del anticuerpo 6C7H8, 6C7H9, 6C7H10, 6C7H11, 6C7H12, 6C7H13, 6C7H14, 6C7H15, 6C7H16, 6C7H17, 6C7H18, 6C7H19, 6C7H20, 6C7H21, 6C7H22, 6C7H23, 6C7H24, 6C7H25, 6C7H26, 6C7H27, 6C7H28, 6C7H29, 6C7H30, 6C7H31, 6C7H32, 6C7H33, 6C7H34, 6C7H35, 6C7H36, 6C7H37, 6C7H38, 6C7H39, 6C7H40, 6C7H41, 6C7H42, 6C7H43, 6C7H44, 6C7H45, 6C7H46, 6C7H47, 6C7H48, 6C7H49, 6C7H50, 6C7H51, 6C7H52, 6C7H53 o 6C7H54.

En otro aspecto, la presente descripción se relaciona con un anticuerpo que se une a una proteína CD33, en donde el anticuerpo comprende una región variable de cadena pesada y una región variable de cadena ligera, en donde la región variable de cadena pesada comprende las HVR-H1, HVR-H2 y HVR-H3 del anticuerpo 6C7H8, 6C7H9, 6C7H10, 6C7H11, 6C7H12, 6C7H13, 6C7H14, 6C7H15, 6C7H16, 6C7H17, 6C7H18, 6C7H19, 6C7H20, 6C7H21, 6C7H22, 6C7H23, 6C7H24, 6C7H25, 6C7H26, 6C7H27, 6C7H28, 6C7H29, 6C7H30, 6C7H31, 6C7H32, 6C7H33, 6C7H34, 6C7H35, 6C7H36, 6C7H37, 6C7H38, 6C7H39, 6C7H40, 6C7H41, 6C7H42, 6C7H43, 6C7H44, 6C7H45, 6C7H46, 6C7H47, 6C7H48, 6C7H49, 6C7H50, 6C7H51, 6C7H52, 6C7H53, o 6C7H54; y la región variable de cadena ligera comprende las HVR-L1, HVR-L2 y HVR-L3 del anticuerpo 6C7H8, 6C7H9, 6C7H10, 6C7H11, 6C7H12, 6C7H13, 6C7H14, 6C7H15, 6C7H16, 6C7H17, 6C7H18, 6C7H19, 6C7H20, 6C7H21, 6C7H22, 6C7H23, 6C7H24, 6C7H25, 6C7H26, 6C7H27, 6C7H28, 6C7H29, 6C7H30, 6C7H31, 6C7H32, 6C7H33, 6C7H34, 6C7H35, 6C7H36, 6C7H37, 6C7H38, 6C7H39, 6C7H40, 6C7H41, 6C7H42, 6C7H43, 6C7H44, 6C7H45, 6C7H46, 6C7H47, 6C7H48, 6C7H49, 6C7H50, 6C7H51, 6C7H52, 6C7H53 o 6C7H54.

En otro aspecto, la presente descripción se relaciona con un anticuerpo que se une a una proteína CD33, en donde el anticuerpo comprende la región variable de cadena pesada del anticuerpo 6C7H8, 6C7H9, 6C7H10, 6C7H11, 6C7H12, 6C7H13, 6C7H14, 6C7H15, 6C7H16, 6C7H17, 6C7H18, 6C7H19, 6C7H20, 6C7H21, 6C7H22, 6C7H23, 6C7H24,

6C7H25, 6C7H26, 6C7H27, 6C7H28, 6C7H29, 6C7H30, 6C7H31, 6C7H32, 6C7H33, 6C7H34, 6C7H35, 6C7H36, 6C7H37, 6C7H38, 6C7H39, 6C7H40, 6C7H41, 6C7H42, 6C7H43, 6C7H44, 6C7H45, 6C7H46, 6C7H47, 6C7H48, 6C7H49, 6C7H50, 6C7H51, 6C7H52, 6C7H53, o 6C7H54; y el anticuerpo comprende la región variable de cadena ligera del anticuerpo 6C7H8, 6C7H9, 6C7H10, 6C7H11, 6C7H12, 6C7H13, 6C7H14, 6C7H15, 6C7H16, 6C7H17, 6C7H18, 6C7H19, 6C7H20, 6C7H21, 6C7H22, 6C7H23, 6C7H24, 6C7H25, 6C7H26, 6C7H27, 6C7H28, 6C7H29, 6C7H30, 6C7H31, 6C7H32, 6C7H33, 6C7H34, 6C7H35, 6C7H36, 6C7H37, 6C7H38, 6C7H39, 6C7H40, 6C7H41, 6C7H42, 6C7H43, 6C7H44, 6C7H45, 6C7H46, 6C7H47, 6C7H48, 6C7H49, 6C7H50, 6C7H51, 6C7H52, 6C7H53 o 6C7H54.

En otro aspecto, la presente descripción se relaciona con un anticuerpo que se une a una proteína CD33, en donde el anticuerpo comprende una región variable de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos que se selecciona de las SEQ ID NO:68-93; y/o una región variable de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos que se selecciona de las SEQ ID NO:97-103.

En otro aspecto, la presente descripción se relaciona con un anticuerpo que se une a una proteína CD33, en donde el anticuerpo comprende la región variable de cadena pesada del anticuerpo 6C7H8, 6C7H9, 6C7H10, 6C7H11, 6C7H12, 6C7H13, 6C7H14, 6C7H15, 6C7H16, 6C7H17, 6C7H18, 6C7H19, 6C7H20, 6C7H21, 6C7H22, 6C7H23, 6C7H24, 6C7H25, 6C7H26, 6C7H27, 6C7H28, 6C7H29, 6C7H30, 6C7H31, 6C7H32, 6C7H33, 6C7H34, 6C7H35, 6C7H36, 6C7H37, 6C7H38, 6C7H39, 6C7H40, 6C7H41, 6C7H42, 6C7H43, 6C7H44, 6C7H45, 6C7H46, 6C7H47, 6C7H48, 6C7H49, 6C7H50, 6C7H51, 6C7H52, 6C7H53, o 6C7H54; y el anticuerpo comprende la región variable de cadena ligera del anticuerpo 6C7H8, 6C7H9, 6C7H10, 6C7H11, 6C7H12, 6C7H13, 6C7H14, 6C7H15, 6C7H16, 6C7H17, 6C7H18, 6C7H19, 6C7H20, 6C7H21, 6C7H22, 6C7H23, 6C7H24, 6C7H25, 6C7H26, 6C7H27, 6C7H28, 6C7H29, 6C7H30, 6C7H31, 6C7H32, 6C7H33, 6C7H34, 6C7H35, 6C7H36, 6C7H37, 6C7H38, 6C7H39, 6C7H40, 6C7H41, 6C7H42, 6C7H43, 6C7H44, 6C7H45, 6C7H46, 6C7H47, 6C7H48, 6C7H49, 6C7H50, 6C7H51, 6C7H52, 6C7H53 o 6C7H54.

En otro aspecto, la presente descripción se relaciona con un anticuerpo aislado que se une a CD33, en donde el anticuerpo comprende una región variable de cadena pesada y una región variable de cadena ligera, en donde la región variable de cadena pesada comprende: una HVR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 23, una HVR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:33, una HVR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 39; y en donde la región variable de cadena ligera comprende: una HVR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:47, una HVR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID

NO: 53; y una HVR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 61.

En otro aspecto, la presente descripción se relaciona con un anticuerpo aislado que se une a CD33, en donde el anticuerpo comprende una región variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 83 y una región variable de

5 cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 102.

En otro aspecto, la presente descripción se relaciona con un anticuerpo aislado que se une a CD33, en donde el anticuerpo comprende:

(a) una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID. NO: 120 y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 122; o

10 (b) una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID. NO: 121 y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 122

En algunas modalidades que se pueden combinar con cualquiera de las modalidades

anteriores, la región variable de cadena pesada comprende una, dos, tres o cuatro regiones de armazón que se seleccionan de VH FR1, VH FR2, VH FR3 y VH FR4, en donde: VH FR1

15 comprende una secuencia que se selecciona del grupo que consiste en las SEQ ID NO:5-6; VH FR2 comprende una secuencia que se selecciona del grupo que consiste en las SEQ ID

NO:31-32; VH FR3 comprende una secuencia que se selecciona del grupo que consiste en las SEQ ID NO:34-36; y VH FR4 comprende la secuencia de la SEQ ID NO:41; y la región

variable de cadena ligera comprende una, dos, tres o cuatro regiones de armazón que se

20 seleccionan de VL FR1, VL FR2, VL FR3 y VL FR4, en donde: VL FR1 comprende una

secuencia que se selecciona del grupo que consiste en las SEQ ID NO:42-46; VL FR2

comprende una secuencia que se selecciona del grupo que consiste en las SEQ ID NO:48-51; VL FR3 comprende una secuencia que se selecciona del grupo que consiste en las SEQ

ID NO:56-57; y VL FR4 comprende una secuencia que se selecciona del grupo que consiste

25 en las SEQ ID NO:63-64.

En algunas modalidades que pueden combinarse con cualquiera de las modalidades que

antecedan, el anticuerpo es de la clase IgG, la clase IgM o la clase IgA. En algunas

modalidades, el anticuerpo es de la clase IgG y tiene un isotipo IgG1, IgG2, IgG3 o IgG4. En

algunas modalidades, el anticuerpo tiene un isotipo de IgG4, y en donde el anticuerpo

30 comprende una sustitución de aminoácido S228P en la posición de residuo 228, una

sustitución de aminoácido F234A en la posición de residuo 234 y una sustitución de

aminoácido L235A en la posición de residuo 235, en donde la numeración de la posición del residuo es de acuerdo con la numeración de EU. En algunas modalidades, el anticuerpo

comprende una o más sustituciones de aminoácidos en la región Fc en una posición de

35 residuo que se selecciona del grupo que consiste en: C127S, L234A, L234F, L235A, L235E,

S267E, K322A, L328F, A330S, P331S, E345R, E430G, S440Y, y cualquier combinación de

estas, en donde la numeración de los residuos es de acuerdo con la numeración de EU. En

algunas modalidades, la región Fc comprende una sustitución de aminoácidos en la posición E430G, en donde la numeración de la posición del residuo es de acuerdo con la numeración EU; la región Fc comprende una sustitución de aminoácidos en las posiciones L234A, L235A y P331A, en donde la numeración de la posición del residuo es de acuerdo con la

5 numeración EU; la región Fc comprende una sustitución de aminoácidos en las posiciones L234A, L235A, P331A y E430G, en donde la numeración de la posición del residuo es de acuerdo con la numeración de EU; la región Fc comprende una sustitución de aminoácidos en las posiciones K322A y E430G, en donde la numeración de la posición del residuo es de acuerdo con la numeración EU; la región Fc comprende una sustitución de aminoácidos en

10 las posiciones P331S y E430G, en donde la numeración de la posición del residuo es de acuerdo con la numeración EU; la región Fc comprende una sustitución de aminoácidos en las posiciones A330S, P331S y E430G, en donde la numeración de la posición del residuo es de acuerdo con la numeración EU; la región Fc comprende una sustitución de aminoácidos en las posiciones K322A, A330S y P331S, en donde la numeración de la

15 posición del residuo es de acuerdo con la numeración de EU; la región Fc comprende una sustitución de aminoácidos en las posiciones K322A, P331S y E430G, en donde la numeración de la posición del residuo es de acuerdo con la numeración de EU; la región Fc comprende una sustitución de aminoácidos en la posición E430G, en donde la numeración de la posición del residuo es de acuerdo con la numeración de EU; la región de Fc

20 comprende una sustitución de aminoácidos en las posiciones A330S, P331S y E430G, en donde la numeración de la posición del residuo es de acuerdo con la numeración de EU; la región Fc comprende una sustitución de aminoácidos en las posiciones S267E y L328F, en donde la numeración de la posición del residuo es de acuerdo con la numeración de EU; la región Fc comprende una sustitución de aminoácidos en la posición C127S, en donde la

25 numeración de la posición del residuo es de acuerdo con la numeración EU; o la región Fc comprende una sustitución de aminoácidos en las posiciones E345R, E430G y S440Y, en donde la numeración de la posición del residuo es de acuerdo con la numeración EU. En algunas modalidades que se pueden combinar con cualquiera de las modalidades anteriores, la proteína CD33 es una proteína de mamífero o una proteína humana. En

30 algunas modalidades, la proteína CD33 es una proteína natural. En algunas modalidades, la proteína CD33 es una variante de origen natural. En algunas modalidades que se pueden combinar con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, la proteína CD33 se expresa en una o más células que se seleccionan del grupo que consiste en células dendríticas humanas, macrófagos humanos, monocitos humanos, osteoclastos humanos, neutrófilos

35 humanos, linfocitos T humanos, linfocitos T cooperadores humanos, linfocitos T citotóxicos humanos, granulocitos humanos y microglía. En algunas modalidades que se pueden combinar con cualquiera de las modalidades

anteriores, el anticuerpo se une específicamente a una proteína CD33 humana. En algunas modalidades, el anticuerpo se une a una proteína CD33 humana y no tiene reacción cruzada con un homólogo u ortólogo de CD33 de otras especies. En algunas modalidades que se pueden combinar con cualquiera de las modalidades anteriores, el anticuerpo es un

5 fragmento de anticuerpo que se une a un epítipo que comprende residuos de aminoácidos en CD33 humana o una proteína CD33 de mamífero. En algunas modalidades que pueden combinarse con cualquiera de las modalidades que anteceden, el anticuerpo es un fragmento de anticuerpo que se une a una o más proteínas humanas que se seleccionan del grupo que consiste en CD33 humana, una variante de origen natural de CD33 humana y

10 una variante de enfermedad de CD33 humana. En algunas modalidades, el fragmento de anticuerpo se reticula a un segundo fragmento de anticuerpo que se une a una o más proteínas humanas que se seleccionan del grupo que consiste en CD33 humana, una variante de origen natural de CD33 humana y una variante de enfermedad de CD33 humana. En algunas modalidades, el fragmento es un fragmento Fab, Fab', Fab'-SH,

15 F(ab')₂, Fv o scFv.

En algunas modalidades que se pueden combinar con cualquiera de las modalidades que anteceden, el anticuerpo es un anticuerpo humanizado, un anticuerpo biespecífico, un anticuerpo monoclonal, un anticuerpo multivalente, un anticuerpo conjugado o un anticuerpo quimérico. En algunas modalidades, el anticuerpo es un anticuerpo monoclonal. En algunas

20 modalidades, el anticuerpo es un anticuerpo biespecífico que reconoce un primer antígeno y un segundo antígeno. En algunas modalidades, el primer antígeno es CD33 y el segundo antígeno es: un antígeno que facilita el transporte a través de la barrera hematoencefálica; un antígeno que facilita el transporte a través de la barrera hematoencefálica que se selecciona del grupo que consiste en receptor de transferrina (TR), receptor de insulina

25 (HIR), receptor del factor de crecimiento de tipo insulina (IGFR), proteínas relacionadas con el receptor de lipoproteína de baja densidad 1 y 2 (LPR-1 y 2), receptor de la toxina de difteria, CRM197, un anticuerpo de dominio sencillo de llama, TMEM 30(A), dominio de transducción de proteína, TAT, Syn-B, penetratina, un péptido poliarginina, un angiopéptido y ANG1005; un agente que provoca enfermedades que se selecciona del grupo que

30 consiste en proteínas o péptidos que provocan enfermedades y ácidos nucleicos que provocan enfermedades, en donde las proteínas o péptidos que provocan enfermedades se seleccionan del grupo que consiste en beta amiloidea, beta amiloidea oligomérica, placas beta amiloideas, proteína precursora amiloidea o fragmentos de esta, Tau, IAPP, sinucleína alfa, TDP-43, proteína FUS, C9orf72 (marco de lectura abierto 72 del cromosoma 9),

35 proteína c9RAN, proteína priónica, PrPSc, huntingtina, calcitonina, superóxido dismutasa, ataxina, ataxina 1, ataxina 2, ataxina 3, ataxina 7, ataxina 8, ataxina 10, cuerpos de Lewy, factor natriurético atrial, polipéptido amiloideo de islotes, insulina, apolipoproteína AI,

amiloidea A en suero, medina, prolactina, transtirretina, lisozima, microglobulina beta 2, gelsolina, queratoepitelina, cistatina, cadena ligera de inmunoglobulina AL, proteína S-IBM, productos de traducción no ATG asociados a la repetición (RAN), péptidos de repetición dipeptídica (DPR), péptidos de repetición de glicina-alanina (GA), péptidos de repetición de glicina-prolina (GP), péptidos de repetición de glicina-arginina (GR), péptidos de repetición de prolina-alanina (PA), ubiquitina y péptidos de repetición de prolina-arginina (PR), y los ácidos nucleicos que provocan enfermedades son ARN de expansión de repetición GGCCCC (G2C4) de antisentido; ligandos y/o proteínas expresados en células inmunitarias, en donde el ligando y/o la proteína se seleccionan del grupo que consiste en CD40, OX40, ICOS, CD28, CD137/4-1BB, CD27, GITR, PD-L1, CTLA4, PD-L2, PD-1, B7-H3, B7-H4, HVEM, LIGHT, BTLA, CD38, TIGIT, VISTA, KIR, GAL9, TIM1, TIM3, TIM4, A2AR, LAG3, DR5, CD39, CD70, CD73, TREM1, TREM2, Siglec-5, Siglec-7, Siglec-9, Siglec-11, SirpA, CD47, receptor de CSF1 y fosfatidilserina; y una proteína, un lípido, un polisacárido o un glucolípido que se expresa en una o más células tumorales.

En algunas modalidades que se pueden combinar con cualquiera de las modalidades que anteceden, el anticuerpo se usa junto con uno o más anticuerpos que se unen específicamente a un agente que provoca enfermedades que se selecciona del grupo que consiste en péptidos que provocan enfermedades, proteínas que provocan enfermedades, beta amiloidea, beta amiloidea oligomérica, placas beta amiloideas, proteína de precursor amiloideo o fragmentos de esta, Tau, IAPP, sinucleína alfa, TDP-43, proteína FUS, C9orf72 (marco abierto de lectura 72 del cromosoma 9), proteína priónica, PrPSc, huntingtina, calcitonina, superóxido dismutasa, ataxina, ataxina 1, ataxina 2, ataxina 3, ataxina 7, ataxina 8, ataxina 10, cuerpo de Lewy, factor natriurético atrial, polipéptido amiloideo de islotes, insulina, apolipoproteína AI, amiloidea A en suero, medina, prolactina, transtirretina, lisozima, microglobulina beta 2, gelsolina, queratoepitelina, cistatina, cadena ligera de inmunoglobulina AL, proteína S-IBM, productos de traducción no ATG asociados a la repetición (RAN), péptidos de repetición dipeptídica (DPR), péptidos de repetición de glicina-alanina (GA), péptidos de repetición de glicina-prolina (GP), péptidos de repetición de glicina-arginina (GR), péptidos de repetición de prolina-alanina (PA), ubiquitina y péptidos de repetición de prolina-arginina (PR), y cualquier combinación de estos; o con uno o más anticuerpos que se unen a una proteína inmunomoduladora que se selecciona del grupo que consiste en: CD40, OX40, ICOS, CD28, CD137/4-1BB, CD27, GITR, PD-L1, CTLA4, PD-L2, PD-1, B7-H3, B7-H4, HVEM, LIGHT, BTLA, CD38, TIGIT, VISTA, KIR, GAL9, TIM1, TIM3, TIM4, A2AR3, DR5, CD39, CD70, CD73, LAG3, TREM1, TREM2, Siglec-5, Siglec-7, Siglec-9, Siglec-11, SirpA, CD47, receptor de CSF1, fosfatidilserina, ácidos nucleicos que provocan enfermedades, ARN de expansión de repetición GGCCCC (G2C4) de antisentido y cualquier combinación de estos.

En algunas modalidades que se pueden combinar con cualquiera de las modalidades que anteceden, el anticuerpo tiene una constante de disociación (K_D) para CD33 humana que es al menos 1,8 veces menor que un anticuerpo anti-CD33 que comprende una región variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 3 y una
 5 región variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 4, en donde la K_D se determina mediante interferometría de biocapas.

En algunas modalidades que pueden combinarse con cualquiera de las modalidades que anteceden, el anticuerpo tiene una constante de disociación (K_D) para CD33 humana que varía de alrededor de 2 nM a alrededor de 200 pM, o menos que alrededor de 200 pM, y en
 10 donde la K_D se determina mediante interferometría de biocapas.

En algunas modalidades que pueden combinarse con cualquiera de las modalidades que anteceden, el anticuerpo reduce los niveles de CD33 en la superficie celular. En algunas modalidades, el CD33 se expresa en la superficie de células dendríticas humanas. En algunas modalidades, el anticuerpo reduce el nivel en superficie celular de CD33 *in vitro*. En
 15 algunas modalidades, el anticuerpo reduce los niveles de CD33 en la superficie celular *in vitro* con una concentración eficaz media máxima (EC_{50}) menor que 40 pM, medida a través de citometría de flujo.

En algunas modalidades que se pueden combinar con cualquiera de las modalidades que anteceden, el anticuerpo aumenta la expresión de uno o más marcadores de microglía
 20 asociados con la enfermedad (DAM, por su sigla en inglés).

En algunas modalidades, el uno o más marcadores DAM es ApoE3, Tyrobp, B2m, Trem2, Cst7, Ctsl, Lpl, Cd9, Axl, Csf1, Ccl6, Itgax, Clec7a, Liltrb4, Timp2, o cualquier combinación de estos.

En algunas modalidades que se pueden combinar con cualquiera de las modalidades
 25 anteriores, el anticuerpo compite con uno o más anticuerpos que se seleccionan del grupo que consiste en 6C7H8, 6C7H9, 6C7H10, 6C7H11, 6C7H12, 6C7H13, 6C7H14, 6C7H15, 6C7H16, 6C7H17, 6C7H18, 6C7H19, 6C7H20, 6C7H21, 6C7H22, 6C7H23, 6C7H24, 6C7H25, 6C7H26, 6C7H27, 6C7H28, 6C7H29, 6C7H30, 6C7H31, 6C7H32, 6C7H33, 6C7H34, 6C7H35, 6C7H36, 6C7H37, 6C7H38, 6C7H39, 6C7H40, 6C7H41, 6C7H42,
 30 6C7H43, 6C7H44, 6C7H45, 6C7H46, 6C7H47, 6C7H48, 6C7H49, 6C7H50, 6C7H51, 6C7H52, 6C7H53 y 6C7H54, y cualquier combinación de estos para la unión a CD33 humana.

En algunas modalidades que se pueden combinar con cualquiera de las modalidades anteriores, el anticuerpo se une básicamente al mismo epítipo de CD33 o superpuesto
 35 como un anticuerpo que se selecciona del grupo que consiste en 6C7H8, 6C7H9, 6C7H10, 6C7H11, 6C7H12, 6C7H13, 6C7H14, 6C7H15, 6C7H16, 6C7H17, 6C7H18, 6C7H19, 6C7H20, 6C7H21, 6C7H22, 6C7H23, 6C7H24, 6C7H25, 6C7H26, 6C7H27, 6C7H28,

6C7H29, 6C7H30, 6C7H31, 6C7H32, 6C7H33, 6C7H34, 6C7H35, 6C7H36, 6C7H37, 6C7H38, 6C7H39, 6C7H40, 6C7H41, 6C7H42, 6C7H43, 6C7H44, 6C7H45, 6C7H46, 6C7H47, 6C7H48, 6C7H49, 6C7H50, 6C7H51, 6C7H52, 6C7H53 y 6C7H54.

En algunas modalidades que se pueden combinar con cualquiera de las modalidades que
5 anteceden, el anticuerpo tiene una región Fc que comprende la secuencia de ácido nucleico de la SEQ ID NO: 118.

En algunas modalidades que se pueden combinar con cualquiera de las modalidades que anteceden, los anticuerpos anti-CD33 de la presente descripción comprenden un dominio variable de cadena pesada y un dominio variable de cadena ligera, en donde (a) la HVR-H1
10 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:8, la HVR-H2 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:33, la HVR-H3 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:38, la HVR-L1 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:47, la HVR-L2 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:52, y la HVR-L3 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:58; (b) la HVR-H1
15 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:8, la HVR-H2 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:33, la HVR-H3 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:39, la HVR-L1 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:47, la HVR-L2 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:53, y la HVR-L3 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:58; (c) la HVR-H1
20 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:9, la HVR-H2 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:33, la HVR-H3 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:39, la HVR-L1 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:47, la HVR-L2 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:54 y la HVR-L3 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:58; (d) la HVR-H1
25 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:9, la HVR-H2 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:33, la HVR-H3 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:39, la HVR-L1 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:47, la HVR-L2 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:53, y la HVR-L3 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:58; (e) la HVR-H1
30 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:9, la HVR-H2 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:33, la HVR-H3 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:39, la HVR-L1 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:47, la HVR-L2 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:55 y la HVR-L3 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:58; (f) la HVR-H1
35 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:10, la HVR-H2 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:33, la HVR-H3 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:39, la HVR-L1 comprende la secuencia de aminoácidos de la

35

- secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:33, la HVR-H3 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:39, la HVR-L1 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:47, la HVR-L2 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:53, y la HVR-L3 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:62; (kk) la HVR-H1
- 5 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:30, la HVR-H2 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:33, la HVR-H3 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:39, la HVR-L1 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:47, la HVR-L2 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:53 y la HVR-L3 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:59; (ll) la HVR-H1
- 10 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:30, la HVR-H2 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:33, la HVR-H3 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:39, la HVR-L1 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:47, la HVR-L2 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:53, y la HVR-L3 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:61; (mm) la HVR-H1
- 15 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:28, la HVR-H2 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:33, la HVR-H3 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:39, la HVR-L1 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:47, la HVR-L2 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:53 y la HVR-L3 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:59; y (nn) la HVR-H1
- 20 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:28, la HVR-H2 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:33, la HVR-H3 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:39, la HVR-L1 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:47, la HVR-L2 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:53, y la HVR-L3 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:61.
- 25 En algunas modalidades que pueden combinarse con cualquiera de las modalidades que anteceden, los anticuerpos anti-CD33 de la presente descripción comprenden una región variable de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos que se selecciona de cualquiera de las SEQ ID NO:94-103; y/o un dominio variable de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos que se selecciona de cualquiera de las SEQ ID
- 30 NO:65-93. En algunas modalidades, el dominio variable de cadena ligera comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 94; y el dominio variable de cadena pesada comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 65. En algunas modalidades, el dominio variable de cadena ligera comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 94; y el dominio variable de cadena pesada comprende la secuencia de aminoácidos de
- 35 la SEQ ID NO: 66. En algunas modalidades, el dominio variable de cadena ligera comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 95; y el dominio variable de cadena pesada comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 65. En algunas

[illegible]

[illegible]

[illegible]

ligera comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 103; y el dominio variable
 de cadena pesada comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 93. En
 algunas modalidades, el dominio variable de cadena ligera comprende la secuencia de
 aminoácidos de la SEQ ID NO: 101; y el dominio variable de cadena pesada comprende la
 5 secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 83. En algunas modalidades, el dominio
 variable de cadena ligera comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 103; y
 el dominio variable de cadena pesada comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ
 ID NO: 83. En algunas modalidades, el dominio variable de cadena ligera comprende la
 secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 100; y el dominio variable de cadena pesada
 10 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 92. En algunas modalidades, el
 dominio variable de cadena ligera comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID
 NO: 102; y el dominio variable de cadena pesada comprende la secuencia de aminoácidos
 de la SEQ ID NO: 92. En algunas modalidades, el dominio variable de cadena ligera
 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 100; y el dominio variable de
 15 cadena pesada comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 93. En algunas
 modalidades, el dominio variable de cadena ligera comprende la secuencia de aminoácidos
 de la SEQ ID NO: 102; y el dominio variable de cadena pesada comprende la secuencia de
 aminoácidos de la SEQ ID NO: 93. En algunas modalidades, el dominio variable de cadena
 ligera comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 100; y el dominio variable
 20 de cadena pesada comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 83. En
 algunas modalidades, el dominio variable de cadena ligera comprende la secuencia de
 aminoácidos de la SEQ ID NO: 102; y el dominio variable de cadena pesada comprende la
 secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 83.

En otro aspecto, la presente descripción se refiere a ácidos nucleicos aislados que
 25 comprenden una secuencia de ácido nucleico que codifica cualquiera de los anticuerpos
 descritos en la presente.

En otro aspecto, la presente descripción se refiere a vectores que comprenden cualquiera
 de los ácidos nucleicos descritos en la presente. En algunas modalidades, el vector es un
 vector de expresión y/o un vector de visualización.

30 En otro aspecto, la presente descripción se refiere a células hospedadoras aisladas que
 comprenden cualquiera de los ácidos nucleicos o vectores descritos en la presente.

En otro aspecto, la presente descripción se refiere a un método para producir un anticuerpo
 que se une a CD33, que comprende cultivar cualquiera de las células hospedadoras
 descritas en la presente, de forma que se produzca el anticuerpo. En algunas modalidades,
 35 el método comprende además la recuperación del anticuerpo producido por la célula.

En otro aspecto, la presente descripción se refiere a un anticuerpo producido por cualquiera
 de los métodos descritos en la presente.

En otro aspecto, la presente descripción se refiere a composiciones farmacéuticas que comprenden cualquiera de los anticuerpos descritos en la presente y un excipiente farmacéuticamente aceptable. En algunas modalidades, la presente descripción se refiere al uso de cualquiera de los anticuerpos descritos en la presente para la preparación de un medicamento.

En otro aspecto, la presente descripción se refiere a un método para prevenir, reducir el riesgo o tratar una enfermedad, trastorno o lesión que se selecciona del grupo que consiste en demencia, demencia frontotemporal, enfermedad de Alzheimer, demencia vascular, demencia mixta, tauopatía, infecciones y cáncer, que comprende administrar a un individuo que lo necesite una cantidad con eficacia terapéutica de cualquiera de los anticuerpos descritos en la presente. En algunas modalidades, la enfermedad, trastorno o lesión es cáncer. En algunas modalidades, el cáncer se selecciona del grupo que consiste en cáncer de vejiga, cáncer encefálico, cáncer de mama, cáncer de colon, cáncer de recto, cáncer de endometrio, cáncer de riñón, cáncer de células renales, cáncer de pelvis renal, leucemia, carcinoma broncopulmonar, melanoma, linfoma no hodgkiniano, cáncer de páncreas, cáncer de próstata, cáncer de ovario, fibrosarcoma, leucemia linfoblástica aguda (ALL, por su sigla en inglés), leucemia mieloide aguda (AML, por su sigla en inglés), leucemia linfocítica crónica (CLL, por su sigla en inglés), leucemia mieloide crónica (CML, por su sigla en inglés) y mieloma múltiple. En algunas modalidades, la presente descripción se refiere al uso de cualquiera de los anticuerpos descritos en la presente para la preparación de un medicamento útil para prevenir, reducir el riesgo o tratar una enfermedad, trastorno o lesión que se selecciona del grupo que consiste en demencia, demencia frontotemporal, enfermedad de Alzheimer, demencia vascular, demencia mixta, tauopatía, infecciones y cáncer. En algunas modalidades, la enfermedad, trastorno o lesión es cáncer. En algunas modalidades, el cáncer se selecciona del grupo que consiste en cáncer de vejiga, cáncer encefálico, cáncer de mama, cáncer de colon, cáncer de recto, cáncer de endometrio, cáncer de riñón, cáncer de células renales, cáncer de pelvis renal, leucemia, carcinoma broncopulmonar, melanoma, linfoma no hodgkiniano, cáncer de páncreas, cáncer de próstata, cáncer de ovario, fibrosarcoma, leucemia linfoblástica aguda (ALL), leucemia mieloide aguda (AML), leucemia linfocítica crónica (CLL), leucemia mieloide crónica (CML) y mieloma múltiple.

Se debe entender que es posible combinar una, algunas o todas las propiedades de las diversas modalidades descritas en la presente para formar otras modalidades de la presente invención. Estos y otros aspectos de la invención se volverán evidentes para el experto en la técnica. Estas y otras modalidades de la invención se describirán de manera adicional en la descripción detallada que sigue.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

La FIG. 1 establece los datos que presentan que los anticuerpos anti-CD33 de la presente descripción se unen a las células dendríticas primarias humanas.

5 **La FIG. 2** establece los datos que presentan que los anticuerpos anti-CD33 de la presente descripción regulan por disminución el nivel de CD33 en superficie celular en las células dendríticas humanas.

La FIG. 3 establece los datos que presentan que los anticuerpos anti-CD33 de la presente descripción se unen a las células dendríticas primarias humanas.

10 **La FIG. 4** establece los datos que presentan que los anticuerpos anti-CD33 de la presente descripción se unen a proteínas CD33 de ser humano y CD33 de macaco cangrejero.

La Fig. 5 establece los datos que presentan que los anticuerpos anti-CD33 de la presente descripción regulan por disminución el nivel de CD33 en superficie celular en las células dendríticas humanas.

15 **La FIG. 6A y la FIG. 6B** establecen los datos que presentan que los anticuerpos anti-CD33 de la presente descripción se unen a CD33 recombinante humano.

La FIG. 7 establece los datos que presentan que los anticuerpos anti-CD33 de la presente descripción se unen a las células dendríticas primarias humanas.

20 **La FIG. 8A y la FIG. 8B** establecen los datos que comparan la reducción del nivel de CD33 en superficie celular en las células dendríticas mediante diversos anticuerpos anti-CD33 de la presente descripción.

La FIG. 9 establece los datos que presentan que las variantes de anticuerpos anti-CD33 de la presente descripción se unen a las células dendríticas primarias humanas.

25 **La FIG. 10A y la FIG. 10B** establecen datos que presentan que las variantes de anticuerpos anti-CD33 de la presente descripción se unen a proteínas CD33 de ser humano y CD33 de macaco cangrejero, respectivamente.

La FIG. 11 establece los datos que presentan que las variantes de anticuerpos anti-CD33 de la presente descripción reducen el nivel de CD33 en superficie celular en las células dendríticas primarias humanas.

30 **La FIG. 12A, la FIG. 12B y la FIG. 12C** establecen los datos que presentan que las variantes de anticuerpos anti-CD33 con las variantes Fc reducen el nivel en superficie celular de CD33 en las células dendríticas primarias humanas.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA PRESENTE DESCRIPCIÓN

35 La presente descripción se relaciona con anticuerpos anti-CD33 (por ejemplo, anticuerpos monoclonales); métodos para elaborar y usar tales anticuerpos; composiciones farmacéuticas que comprenden tales anticuerpos; ácidos nucleicos que codifican tales anticuerpos; y células hospedadoras que comprenden ácidos nucleicos que codifican tales

anticuerpos.

Las técnicas y procedimientos que se describen o a los que se hace referencia en la presente son conocidos en general y se usan comúnmente con la metodología convencional de los expertos en la técnica, tal como, por ejemplo, métodos que se utilizan ampliamente tales como los descritos en Sambrook et ál. *Molecular Cloning: A Laboratory Manual* 3^o edición (2001) Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y.; *Current Protocols in Molecular Biology* (F.M. Ausubel, et ál. eds., (2003); *Monoclonal Antibodies: A Practical Approach* (P. Shepherd y C. Dean, eds., Oxford University Press, 2000).

I. Definiciones

- Los términos **«CD33»** o **«polipéptido CD33»** se usan indistintamente en la presente y hacen referencia en la presente a cualquier CD33 natural de cualquier origen vertebrado, inclusive mamíferos tales como primates (por ejemplo, humanos y macacos cangrejeros) y roedores (por ejemplo, ratones y ratas), a menos que se indique algo diferente. En algunas modalidades, el término abarca tanto las secuencias naturales como las secuencias variantes de origen natural, por ejemplo, variantes de empalme o variantes alélicas. En algunas modalidades, el término abarca CD33 sin procesar «completa» así como cualquier forma de CD33 que se genere a partir del procesamiento en la célula. En algunas modalidades, el CD33 es la isoforma 1 de CD33 humana (Secuencia de referencia NCBI: NP_001763.3). En algunas modalidades, la secuencia de aminoácidos de un CD33 humana de ejemplo es la SEQ ID NO: 1. La secuencia de aminoácidos de CD33 de macaco cangrejero es la SEQ ID NO:2 (Secuencia de referencia NCBI: XP_005590138.1).
- Las expresiones **«anticuerpo anti-CD33»**, un **«anticuerpo que se une a CD33»** y **«anticuerpo que se une específicamente a CD33»** hacen referencia a un anticuerpo que puede unirse a CD33 con suficiente afinidad para que el anticuerpo sea útil para el diagnóstico y/o tratamiento al dirigirse a CD33. En una modalidad, el alcance de la unión de un anticuerpo anti-CD33 a un polipéptido no relacionado que no sea CD33 es menor que alrededor de 10 % de la unión del anticuerpo a CD33 medido, por ejemplo, mediante un radioinmunoensayo (RIA, por su sigla en inglés). En determinadas modalidades, un anticuerpo que se une a CD33 tiene una constante de disociación (KD) de < 1 μ M, < 100 nM, < 10 nM, < 1 nM, < 0,1 nM, < 0,01 nM o < 0,001 nM (por ejemplo, 10^{-8} M o menos, por ejemplo de 10^{-8} M a 10^{-13} M, por ejemplo, de 10^{-9} M a 10^{-13} M). En determinadas modalidades, un anticuerpo anti-CD33 se une a un epítipo de CD33 que se conserva entre CD33 de diferentes especies.

- Con respecto a la unión de un anticuerpo a una molécula específica, la expresión **«unión específica»** o **«se une específicamente»** o es **«específica para»** un polipéptido particular o un epítipo en una diana de polipéptido en particular significa una unión que es diferente, desde el punto de vista mensurable, a la interacción no específica. La unión específica se

puede medir, por ejemplo, mediante la determinación de la unión de una molécula en comparación con la unión de una molécula de referencia. Por ejemplo, la unión específica se puede determinar mediante la competencia con una molécula de referencia que es similar a la diana, por ejemplo, un exceso de diana no marcada. En este caso, la unión específica

5 está indicada si la unión de la diana marcada a una sonda se inhibe de manera competitiva mediante una diana no marcada en exceso. La expresión «unión específica» o «se une específicamente a» o «es específico para» un polipéptido en particular o un epítipo en una diana de polipéptido en particular, tal como se usa en la presente, puede presentarse, por ejemplo, con una molécula que tiene una KD para la diana de alrededor de cualquiera de 10^{-4} M o menor, 10^{-5} M o menor, 10^{-6} M o menor, 10^{-7} M o menor, 10^{-8} M o menor, 10^{-9} M o menor, 10^{-10} M o menor, 10^{-11} M o menor, 10^{-12} M o menor o una KD en el intervalo de 10^{-4} M a 10^{-6} M o 10^{-6} M a 10^{-10} M o 10^{-7} M a 10^{-9} M. Tal como comprenderá el experto en la técnica, los valores de afinidad y de la KD se relacionan en forma inversa. Una afinidad elevada por un antígeno se mide mediante un valor bajo de la KD. En una modalidad, la

15 expresión «unión específica» hace referencia a la unión en donde una molécula se une a un polipéptido en particular o un epítipo en un polipéptido en particular sin unirse considerablemente a ningún otro polipéptido o epítipo de polipéptido.

El término «**inmunoglobulina**» (Ig) se utiliza indistintamente con «**anticuerpo**» en la presente. El término «anticuerpo» en la presente se usa en el sentido más amplio y cubre

20 específicamente los anticuerpos monoclonales, los anticuerpos policlonales, los anticuerpos multiespecíficos (por ejemplo, anticuerpos biespecíficos) incluidos aquellos formados a partir de al menos dos anticuerpos intactos y los fragmentos de anticuerpos, siempre que presenten la actividad biológica deseada.

Los «**anticuerpos naturales**» son generalmente glucoproteínas heterotetraméricas de

25 alrededor de 150 000 Daltons, compuestas por dos cadenas ligeras («L») idénticas y dos cadenas pesadas («H») idénticas. Cada cadena ligera está enlazada a una cadena pesada por un enlace disulfuro covalente, mientras que la cantidad de enlaces disulfuro varía entre las cadenas pesadas de diferentes isotipos de inmunoglobulina. Cada cadena pesada y ligera también tiene puentes disulfuro intracatenarios separados de forma regular. Cada

30 cadena pesada tiene en un extremo un dominio variable (V_H) seguido de una cantidad de dominios constantes. Cada cadena ligera tiene un dominio variable (V_L) en un extremo y un dominio constante en su otro extremo; el dominio constante de la cadena ligera está alineado con el primer dominio constante de la cadena pesada y el dominio variable de la cadena ligera está alineado con el dominio variable de la cadena pesada. Se cree que los

35 residuos de aminoácidos particulares forman una interfaz entre los dominios variables de la cadena ligera y la cadena pesada.

Para la estructura y propiedades de las diferentes clases de anticuerpos, véase, por

ejemplo, *Basic and Clinical Immunology*, 8° edición, Daniel P. Stites, Abba I. Terr y Tristram G. Parslow (eds.), Appleton & Lange, Norwalk, CT, 1994, página 71 y capítulo 6.

La cadena ligera de cualquier especie de vertebrados puede asignarse a uno de dos tipos claramente distintos, denominados kappa («κ») y lambda («λ»), según las secuencias de aminoácidos de sus dominios constantes. Dependiendo de la secuencia de aminoácidos del dominio constante de sus cadenas pesadas (CH), a las inmunoglobulinas se les puede asignar diferentes clases o isotipos. Hay cinco clases de inmunoglobulinas: IgA, IgD, IgE, IgG y IgM, con cadenas pesadas denominadas alfa («α»), delta («δ»), épsilon («ε»), gamma («γ») y mu («μ»), respectivamente. Las clases γ y α se dividen adicionalmente en subclases (isotipos) en función de diferencias relativamente menores en cuanto a la función y secuencia de CH, por ejemplo, los seres humanos expresan las siguientes subclases: IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1 e IgA2. Las estructuras de subunidades y las configuraciones tridimensionales de diferentes clases de inmunoglobulinas son conocidas y se describen de forma general, por ejemplo, en Abbas et ál., *Cellular and Molecular Immunology*, 4° ed. (W.B. Saunders Co., 2000).

La «**región variable**» o «**dominio variable**» de un anticuerpo, tal como un anticuerpo anti-CD33 de la presente descripción, hace referencia a los dominios de extremo amino de la cadena pesada o ligera del anticuerpo. Los dominios variables de cadena pesada y de cadena ligera pueden designarse como « V_H » y « V_L », respectivamente. Estos dominios son generalmente las partes más variables del anticuerpo (en relación con otros anticuerpos de la misma clase) y contienen los sitios de unión al antígeno.

El término «**variable**» hace referencia a que determinados segmentos de los dominios variables difieren en gran medida en su secuencia entre anticuerpos, tales como los anticuerpos anti-CD33 de la presente descripción. El dominio variable media la unión al antígeno y define la especificidad de un anticuerpo particular para su antígeno particular. No obstante, la variabilidad no se distribuye de forma uniforme en una extensión total de los dominios variables. En su lugar, se concentra en tres segmentos llamados regiones hipervariables (HVR, por su sigla en inglés) tanto en los dominios variables de cadena ligera como en los de cadena pesada. Las porciones más conservadas de los dominios variables se denominan regiones de armazón (FR, por su sigla en inglés). Cada uno de los dominios variables de cadenas pesada y ligera naturales comprende cuatro regiones FR, adoptando en gran medida una configuración de lámina beta, conectada por tres HVR, que forman bucles que conectan y, en algunos casos, forman parte de la estructura de lámina beta. Las HVR en cada cadena se mantienen juntas y cerca mediante las regiones FR y, con las HVR de la otra cadena, contribuyen a la formación del sitio de unión al antígeno de los anticuerpos (véase Kabat et ál., *Sequences of Immunological Interest*, quinta edición, National Institute of Health, Bethesda, MD (1991)). Los dominios constantes no están

implicados directamente en la unión de un anticuerpo a un antígeno, pero presentan varias funciones efectoras, tal como la participación del anticuerpo en la toxicidad celular dependiente del anticuerpo.

Como se usa en la presente, la expresión «**anticuerpo monoclonal**» hace referencia a un anticuerpo, tal como un anticuerpo anti-CD33 de la presente descripción, obtenido de una población de anticuerpos considerablemente homogéneos, es decir, los anticuerpos individuales que comprenden la población son idénticos a excepción de posibles mutaciones de origen natural y/o modificaciones postraduccionales (por ejemplo, isomerizaciones, amidaciones, *etc.*) que pueden estar presentes en cantidades pequeñas. Los anticuerpos monoclonales son muy específicos y se dirigen a un único punto antigénico. En contraste con las preparaciones de anticuerpos policlonales, que normalmente incluyen diferentes anticuerpos dirigidos contra diferentes determinantes (epítomos), cada anticuerpo monoclonal se dirige contra un determinante único en el antígeno. Además de su especificidad, los anticuerpos monoclonales son ventajosos porque los sintetiza el cultivo de hibridomas y no están contaminados por otras inmunoglobulinas. El modificador «monoclonal» indica que el anticuerpo se obtuvo de una población de anticuerpos considerablemente homogénea y no debe interpretarse que requiere la producción del anticuerpo a través de ningún método en particular. Por ejemplo, los anticuerpos monoclonales que se van a usar de acuerdo con la presente descripción pueden elaborarse con diversas técnicas, inclusive, de modo no taxativo, uno o más de los siguientes métodos, métodos de inmunización de animales, inclusive, de modo no taxativo a ratas, ratones, conejos, cobayos, hámsters y/o pollos con uno o más de ADN, partículas tipo virales, polipéptidos y/o células, los métodos de hibridoma, métodos de clonación de linfocitos B, métodos de ADN recombinante y tecnologías para producir anticuerpos humanos y similares a humanos en animales que tienen partes o la totalidad de los locus de inmunoglobulina humana o genes que codifican secuencias de inmunoglobulina humana.

Las expresiones «**anticuerpo de longitud completa**», «**anticuerpo intacto**» o «**anticuerpo completo**» se utilizan de forma intercambiable para hacer referencia a un anticuerpo, tal como un anticuerpo anti-CD33 de la presente descripción, en su forma considerablemente intacta, en contraposición a un fragmento de anticuerpo. Específicamente, los anticuerpos completos incluyen aquellos con cadenas pesada y ligera que incluyen una región Fc. Los dominios constantes pueden ser dominios constantes de una secuencia natural (por ejemplo, dominios constantes de una secuencia natural humana) o variantes de secuencia de aminoácidos de estos. En algunos casos, el anticuerpo intacto puede tener una o más funciones efectoras.

Un «**fragmento de anticuerpo**» hace referencia a una molécula distinta a un anticuerpo intacto que comprende una parte de un anticuerpo intacto que se une al antígeno al cual se

une el anticuerpo intacto. Los ejemplos de fragmentos de anticuerpo incluyen fragmentos Fab, Fab', F(ab')₂ y Fv; dicuerpos; anticuerpos lineales (véase la patente estadounidense n.º 5641870, Ejemplo 2; Zapata et ál., *Protein Eng.* 8(10):1057-1062 (1995)); moléculas de anticuerpo monocatenarias y anticuerpos multiespecíficos formados a partir de fragmentos de anticuerpo.

La digestión de papaína de los anticuerpos, tales como los anticuerpos anti-CD33 de la presente descripción, produce dos fragmentos idénticos de unión al antígeno, denominados fragmentos «**Fab**» y un fragmento «**Fc**» residual, cuya denominación refleja la capacidad de cristalizarse con facilidad. El fragmento Fab consiste en una cadena ligera completa junto con el dominio de región variable de la cadena pesada (V_H) y el primer dominio constante de una cadena pesada (C_H1). Cada fragmento Fab es monovalente con respecto a la unión al antígeno, es decir, tiene un único sitio de unión al antígeno. El tratamiento de un anticuerpo con pepsina produce un único fragmento F(ab')₂ grande que corresponde aproximadamente a dos fragmentos Fab enlazados por disulfuro que tienen distinta actividad de unión al antígeno y que mantienen la capacidad de reticular antígenos. La diferencia de los fragmentos Fab' con respecto a los fragmentos Fab es que tienen algunos residuos adicionales en el extremo carboxi del dominio C_H1 que incluyen una o más cisteínas de la región bisagra del anticuerpo. En la presente, Fab'-SH es la designación para Fab' donde uno o más residuos de cisteína de los dominios constantes presentan un grupo tiol libre. Los fragmentos de anticuerpo F(ab')₂ se produjeron originalmente como pares de fragmentos Fab' que tienen cisteínas bisagra entre ellos. También se conocen otros acoplamientos químicos de fragmentos de anticuerpos.

El fragmento Fc comprende las porciones de extremo carboxi de ambas cadenas pesadas unidas por disulfuros. Las funciones efectoras de los anticuerpos están determinadas por secuencias en la región Fc, la región que también es reconocida por los receptores Fc (FcR) que se encuentran en ciertos tipos de células.

Los «**fragmentos funcionales**» de los anticuerpos, tales como los anticuerpos anti-CD33 de la presente descripción, comprenden una parte de un anticuerpo intacto que generalmente incluye la región variable o de unión al antígeno del anticuerpo intacto o la región Fc de un anticuerpo que conserva la capacidad de unión a FcR o tiene una capacidad modificada. Los ejemplos de fragmentos de anticuerpo incluyen anticuerpos lineales, moléculas de anticuerpo monocatenarias; y anticuerpos multiespecíficos formados a partir de fragmentos de anticuerpo.

El término «**dicuerpos**» hace referencia a pequeños fragmentos de anticuerpo preparados mediante la construcción de fragmentos sFv (ver el párrafo anterior) con conectores cortos (de alrededor de 5-10 residuos) entre los dominios V_H y V_L para lograr el emparejamiento entre cadenas pero no dentro de las cadenas de los dominios variables, lo que produce así

un fragmento bivalente, es decir, un fragmento con dos sitios de unión al antígeno. Los dicuerpos biespecíficos son heterodímeros de dos fragmentos sFv «cruzados» en los que los dominios V_H y V_L de los dos anticuerpos están presentes en diferentes cadenas de polipéptidos.

- 5 Tal como se usa en la presente, un «**anticuerpo quimérico**» hace referencia a un anticuerpo (inmunoglobulina), tal como un anticuerpo anti-CD33 quimérico de la presente descripción, donde una parte de la cadena pesada y/o ligera es idéntica u homóloga con respecto a las secuencias correspondientes de anticuerpos derivados de una especie particular o pertenecientes a una clase o subclase de anticuerpo particular, mientras que el
- 10 resto de las cadenas son idénticas u homólogas con respecto a secuencias correspondientes de anticuerpos derivados de otra especie o que pertenecen a otra clase o subclase de anticuerpo, así como fragmentos de estos anticuerpos, siempre y cuando presenten la actividad biológica deseada. Los anticuerpos quiméricos de interés en la presente incluyen anticuerpos PRIMATIZED® (primatizados) en donde la región de unión al
- 15 antígeno del anticuerpo se deriva de un anticuerpo producido, por ejemplo, mediante la inmunización de macacos con un antígeno de interés. Tal como se utiliza en la presente, un «anticuerpo humanizado» se utiliza como un subconjunto de «anticuerpos quiméricos». Las formas «**humanizadas**» de anticuerpos que no sean humanos (por ejemplo, murinos), tales como las formas humanizadas de anticuerpos anti-CD33 de la presente descripción,
- 20 son anticuerpos quiméricos que comprenden residuos de aminoácidos de HVR no humanas y residuos de aminoácidos de FR humanas. En determinadas modalidades, un anticuerpo humanizado comprenderá básicamente la totalidad de al menos uno, y normalmente dos, dominios variables, en los que todas o considerablemente todas las HVR (por ejemplo, CDR) corresponden a las de un anticuerpo no humano y todas o considerablemente todas
- 25 las FR corresponden a las de un anticuerpo humano. Un anticuerpo humanizado puede comprender opcionalmente al menos una parte de una región constante de anticuerpo derivada de un anticuerpo humano. Una «forma humanizada» de un anticuerpo, por ejemplo, un anticuerpo no humano, hace referencia a un anticuerpo que sufrió una humanización.
- 30 Un «**anticuerpo humano**» es uno que posee una secuencia de aminoácidos que corresponde a la de un anticuerpo, tal como un anticuerpo anti-CD33 de la presente descripción, producido por un ser humano y/o que se produjo mediante el uso de cualquiera de las técnicas para producir anticuerpos humanos, tal como se describe en la presente. Esta definición de un anticuerpo humano excluye específicamente un anticuerpo
- 35 humanizado que comprende residuos de unión a antígeno no humanos. Los anticuerpos humanos se pueden producir con diversos métodos conocidos en la técnica, inclusive bibliotecas de expresión en fagos y bibliotecas de expresión en levaduras. Los anticuerpos

humanos se pueden preparar mediante la administración del antígeno a un animal transgénico que se modificó para producir tales anticuerpos como respuesta a un estímulo antigénico, pero cuyos locus endógenos fueron desactivados, por ejemplo, xenorratones inmunizados así como generados mediante tecnología de hibridoma de linfocitos B.

- 5 Las expresiones «**región hipervariable**», «**HVR**» o «**HV**», cuando se utilizan en la presente, hacen referencia a las regiones de un dominio variable de anticuerpo, tal como el de un anticuerpo anti-CD33 de la presente descripción, que son hipervariables en su secuencia y/o forman bucles definidos estructuralmente. Generalmente, los anticuerpos comprenden seis HVR; tres en la V_H (H1, H2, H3) y tres en la V_L (L1, L2, L3). En anticuerpos naturales, H3 y
- 10 L3 expresan la mayor diversidad de las seis HVR, y se cree que H3 en particular juega un rol único al conferir una buena especificidad a los anticuerpos. Los anticuerpos camélidos de origen natural que únicamente constan de una cadena pesada son funcionales y estables cuando no hay cadena ligera.

- Se utiliza una cantidad de descripciones de HVR y se encuentran comprendidas en la
- 15 presente. En algunas modalidades, las HVR pueden ser regiones determinantes de la complementariedad (CDR) de Kabat basadas en la variabilidad de la secuencia y son las utilizadas más comúnmente (Kabat et ál., mencionado anteriormente). En algunas modalidades, las HVR pueden ser CDR de Chothia. Por el contrario, Chothia hace referencia a la ubicación de los bucles estructurales (Chothia y Lesk, *J. Mol. Biol.* 196:901-
- 20 917 (1987)). En algunas modalidades, las HVR pueden ser HVR de AbM. Las HVR de AbM representan una solución intermedia entre las CDR de Kabat y los bucles estructurales de Chothia, y son utilizadas por el software de modelado de anticuerpos AbM de Oxford Molecular. En algunas modalidades, las HVR pueden ser **HVR «de contacto»**. Las HVR «de contacto» se basan en un análisis de las estructuras cristalinas complejas disponibles. A
- 25 continuación, se describen los residuos de cada una de estas HVR.

Bucle	Kabat	AbM	Chothia	Contacto
L1	L24-L34	L24-L34	L26-L32	L30-L36
L2	L50-L56	L50-L56	L50-L52	L46-L55
30 L3	L89-L97	L89-L97	L91-L96	L89-L96
H1	H31-H35B	H26-H35B	H26-H32	H30-H35B (numeración de Kabat)
H1	H31-H35	H26-H35	H26-H32	H30-H35 (numeración de Chothia)
H2	H50-H65	H50-H58	H53-H55	H47-H58
H3	H95-H102	H95-H102	H96-H101	H93-H101

35

Las HVR pueden comprender «**HVR ampliadas**» tal como a continuación: 24-36 o 24-34 (L1), 46-56 o 50-56 (L2) y 89-97 o 89-96 (L3) en la VL, y 26-35 (H1), 50-65 o 49-65 (una

modalidad preferida) (H2) y 93-102, 94-102 o 95-102 (H3) en la VH. Los residuos de dominio variable se numeran de acuerdo con Kabat et ál., *supra*, para cada una de estas definiciones de HVR ampliadas.

Los residuos «**de armazón**» o «**FR**» son aquellos residuos de dominio variable que no son residuos de HVR tal como se define en la presente.

Como se usa en la presente, un «**armazón humano aceptor**» es un armazón que comprende la secuencia de aminoácidos de un armazón V_L o V_H derivado de un armazón de inmunoglobulina humana o de un armazón de consenso humano. Un armazón humano aceptor «derivado de» un armazón de inmunoglobulina humana o un armazón de consenso humano puede comprender la misma secuencia de aminoácidos de este, o puede comprender cambios en secuencias de aminoácidos preexistentes. En algunas modalidades, la cantidad de cambios de aminoácidos preexistentes es 10 o menos, 9 o menos, 8 o menos, 7 o menos, 6 o menos, 5 o menos, 4 o menos, 3 o menos, o 2 o menos. Cuando se encuentran presentes cambios preexistentes de aminoácidos en una VH, es preferible que esos cambios tengan lugar solo en tres, dos o una de las posiciones 71H, 73H y 78H; por ejemplo, los residuos de aminoácidos en esas posiciones pueden ser 71A, 73T y/o 78A. En una modalidad, el armazón humano aceptor de V_L es idéntico a la secuencia de armazón de inmunoglobulina humana de V_L o la secuencia de armazón de consenso humana.

Un «**armazón de consenso humano**» es un armazón que representa los residuos de aminoácidos que se presentan más comúnmente en una selección de secuencias de armazón V_L o V_H de inmunoglobulina humana. Generalmente, la selección de secuencias de V_L o V_H de inmunoglobulina humana se realiza a partir de un subgrupo de secuencias de dominio variable. En general, el subgrupo de secuencias es un subgrupo como en Kabat et ál., *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, 5^o ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD (1991). Los ejemplos incluyen, en el caso de V_L, que el subgrupo puede ser un subgrupo kappa I, kappa II, kappa III o kappa IV según Kabat et ál., mencionado anteriormente. Adicionalmente, en el caso de V_H, el subgrupo puede ser subgrupo I, subgrupo II o subgrupo III según Kabat et ál., mencionado anteriormente.

Una «**modificación de aminoácidos**» en una posición específica, por ejemplo, de un anticuerpo anti-CD33 de la presente descripción, hace referencia a la sustitución o eliminación del residuo especificado, o la inserción de al menos un residuo de aminoácidos adyacente al residuo especificado. La inserción «adyacente» a un residuo especificado significa la inserción dentro de uno o dos residuos del mismo. La inserción puede ser de extremo N o de extremo C para el residuo especificado. La modificación de aminoácidos preferida en este documento es una sustitución.

Un anticuerpo «**madurado por afinidad**», tal como un anticuerpo anti-CD33 madurado por

afinidad de la presente descripción, es uno con una o más alteraciones en una o más de sus HVR que tiene como resultado una mejora de la afinidad del anticuerpo por el antígeno, en comparación con un anticuerpo original que carece de estas alteraciones. En una modalidad, el anticuerpo madurado por afinidad tiene afinidades nanomolares o incluso picomolares para el antígeno diana. Los anticuerpos madurados por afinidad se producen mediante procedimientos conocidos en la técnica. Por ejemplo, Marks et ál. *Bio/Technology* 10:779-783 (1992) describe la maduración por afinidad con trasposición de los dominios V_H y V_L. La mutagénesis aleatoria de los residuos de armazón y/o HVR se describe, por ejemplo, en: Barbas et ál. *Proc Nat. Acad. Sci. USA* 91:3809-3813 (1994); Schier et ál. *Gene* 169:147-155 (1995); Yelton et ál. *J. Immunol.* 155: 1994-2004 (1995); Jackson et ál. *J. Immunol.* 154(7):3310-9 (1995); y Hawkins et ál, *J. Mol. Biol.* 226:889-896 (1992).

«Fv» es el fragmento de anticuerpo mínimo que comprende un sitio de reconocimiento del antígeno completo y de unión a este. Este fragmento consiste en un dímero de un dominio de región variable de cadena pesada y uno de cadena ligera en asociación fuerte, no covalente. Del plegamiento de estos dos dominios emanan seis bucles hipervariables (3 bucles cada uno de la cadena H y L) que contribuyen a los residuos de aminoácidos para la unión al antígeno y confieren especificidad de unión al antígeno al anticuerpo. Sin embargo, incluso un dominio variable simple (o la mitad de Fv que comprende solo tres HVR específicas para un antígeno) tiene la capacidad de reconocer y unirse al antígeno, aunque a una afinidad menor que todo el sitio de unión.

Los «Fv monocatenario», abreviados también como «sFv» o «scFv», son fragmentos de anticuerpos que comprenden los dominios de anticuerpos V_H y V_L conectados a una única cadena polipeptídica. Preferentemente, el polipéptido sFv comprende además un conector de polipéptido entre los dominios V_H y V_L que permite que el sFv forme la estructura deseada para la unión al antígeno.

Las «funciones efectoras» del anticuerpo hacen referencia a las actividades biológicas que pueden atribuirse a la región Fc (una región Fc de secuencia natural o una región Fc variante de secuencia de aminoácidos) de un anticuerpo y varían según el isotipo de anticuerpo.

La expresión «región Fc» se usa en la presente para definir una región de extremo C de una cadena pesada de inmunoglobulina, que incluye regiones Fc de secuencia natural y regiones Fc variantes. A pesar de que los límites de la región Fc de una cadena pesada de inmunoglobulina pueden variar, la región Fc de cadena pesada de IgG humana se define generalmente para extenderse desde un residuo de aminoácido en la posición Cys226, o desde Pro230, al extremo carboxilo de esta. Es posible eliminar la lisina del extremo C (residuo 447 de acuerdo con el sistema de numeración EU) de la región Fc, por ejemplo, durante la producción o purificación del anticuerpo, o mediante la modificación recombinante

del ácido nucleico que codifica una cadena pesada del anticuerpo. Por consiguiente, una composición de anticuerpos intactos puede comprender poblaciones de anticuerpos con todos los residuos K447 eliminados, poblaciones de anticuerpos sin residuos K447 eliminados y poblaciones de anticuerpos que tienen una mezcla de anticuerpos con y sin el residuo K447. Las regiones Fc de secuencia natural adecuada a utilizar en los anticuerpos de la presente descripción incluyen IgG1, IgG2, IgG3 e IgG4 humana.

Una «**región Fc de secuencia natural**» comprende una secuencia de aminoácidos idéntica a la secuencia de aminoácidos de una región Fc que se encuentra en la naturaleza. Las regiones Fc humanas de secuencia natural incluyen una región Fc de IgG1 humana de secuencia natural (alotipos A y no A); una región Fc de IgG2 humana de secuencia natural; una región Fc de IgG3 humana de secuencia natural; y una región Fc de IgG4 humana de secuencia natural, así como variantes de origen natural de estas.

Una «**región Fc variante**» comprende una secuencia de aminoácidos que difiere de aquella de una región Fc de secuencia natural en virtud de al menos una modificación de aminoácidos, preferentemente una o más sustituciones de aminoácidos. Preferentemente, la región Fc variante tiene al menos una sustitución de aminoácidos en comparación con una región Fc de secuencia natural o con la región Fc de un polipéptido original, por ejemplo, de alrededor de una a alrededor de diez sustituciones de aminoácidos, y preferentemente de alrededor de una a alrededor de cinco sustituciones de aminoácidos en una región Fc de secuencia natural o en la región Fc del polipéptido original. La región Fc variante en la presente poseerá preferentemente al menos alrededor de 80 % de homología con una región Fc de secuencia natural y/o con una región Fc de un polipéptido original, y lo más preferentemente al menos alrededor de 90 % de homología con este, más preferentemente al menos aproximadamente 95 % de homología con este.

«**Receptor de Fc**» o «**FcR**» describen un receptor que se une a la región Fc de un anticuerpo. El FcR preferido es una secuencia natural de FcR humano. Además, un FcR preferido es uno que se une a un anticuerpo de IgG (un receptor gamma) e incluye receptores de las subclases Fc γ RI, Fc γ RII y Fc γ RIII, incluidas las variantes alélicas y formas de empalme alternativo de estos receptores. Los receptores Fc γ RII incluyen Fc γ RIIA (un «receptor activador») y Fc γ RIIB (un «receptor inhibidor»), que tienen secuencias de aminoácidos similares que difieren principalmente en sus dominios citoplásmicos. El receptor de activación Fc γ RIIA contiene un motivo de activación inmunorreceptor basado en tirosina («ITAM») en su dominio citoplásmico. El receptor de inhibición Fc γ RIIB contiene un motivo de inhibición inmunorreceptor basado en tirosina («ITIM») en su dominio citoplásmico. El término «FcR» abarca otros FcR, incluidos los que se identifiquen en el futuro, en la presente. Los FcR también pueden aumentar la semivida en suero de los

anticuerpos.

Como se usan en la presente, «**porcentaje (%) de identidad de secuencia de**

aminoácidos» y «**homología**» con respecto a una secuencia de polipéptido, péptido o anticuerpo hace referencia al porcentaje de residuos de aminoácidos en una secuencia

- 5 posible que son idénticos a los residuos de aminoácidos en la secuencia de polipéptidos o péptidos específica, después de alinear las secuencias e introducir espacios, de ser necesario, para lograr el porcentaje máximo de identidad de secuencia y sin considerar ninguna sustitución conservadora como parte de la identidad de secuencia. La alineación a efectos de determinar el porcentaje de identidad de secuencia de aminoácidos puede
- 10 lograrse de diversas formas conocidas por el experto en la técnica, por ejemplo, mediante el uso de software informático disponible al público, tal como el software BLAST, BLAST-2, ALIGN o MEGALIGN™ (DNASTAR). Los expertos en la técnica pueden determinar parámetros adecuados para medir la alineación, lo que incluye cualquier algoritmo conocido en la técnica necesario para lograr la alineación máxima en la longitud completa de las
- 15 secuencias que se comparan.

El término «**competir**» cuando se usa en el contexto de los anticuerpos (por ejemplo, anticuerpos neutralizantes) que compite por el mismo epítipo significa competencia entre el anticuerpo tal como se determine con un ensayo en el cual el anticuerpo evaluado previene o impide (por ejemplo, reduce) la unión específica de una molécula de referencia (por

- 20 ejemplo, un ligando, o un anticuerpo de referencia) a un antígeno común (por ejemplo, CD33 o un fragmento de este). Se pueden usar muchos tipos de ensayos de unión competitiva para determinar si el anticuerpo compite con otro, por ejemplo: radioinmunoensayo directo o indirecto de fase sólida (RIA), inmunoensayo de enzimas directo o indirecto de fase sólida (EIA), ensayo de competencia tipo *sandwich* (véase, por ejemplo, Stahl et ál., 1983,
- 25 *Methods in Enzymology* 9:242-253); EIA directo con biotina y avidina de fase sólida (véase, por ejemplo, Kirkland et ál., 1986, *J. Immunol.* 137:3614-3619) ensayo marcado directo de fase sólida, ensayo de tipo *sandwich* directo o de fase sólida (véase, por ejemplo, Harlow y Lane, 1988, *Antibodies, A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Press); RIA marcado directo de fase sólida con el marcador 1-125 (véase, por ejemplo, Morel et ál., 1988, *Molec.*
- 30 *Immunol.* 25:7-15); EIA directo con biotina y avidina de fase sólida (véase, por ejemplo, Cheung, et ál., 1990, *Virology* 176:546-552); y RIA marcado directo (Moldenhauer et ál., 1990, *Scand. J. Immunol.* 32:77-82). Normalmente, tal ensayo implica el uso de antígeno purificado unido a una superficie sólida o células que portan cualquiera de estos, un anticuerpo de prueba sin marcar y un anticuerpo de referencia marcado. La inhibición
- 35 competitiva se mide determinando la cantidad de marcador unido a la superficie sólida o células en presencia del anticuerpo de prueba. Normalmente el anticuerpo de prueba se encuentra presente en exceso. Los anticuerpos identificados por el ensayo de competencia

(anticuerpos que compiten) incluyen anticuerpos que se unen al mismo epítopo que el anticuerpo de referencia y anticuerpos que se unen a un epítopo adyacente lo suficientemente cercano al epítopo unido por el anticuerpo de referencia para que ocurra el impedimento estérico. Se proporcionan en la presente los detalles adicionales respecto a los métodos para determinar la unión competitiva. Normalmente, cuando un anticuerpo competitivo se encuentra presente en exceso, inhibirá (por ejemplo, reducirá) la unión específica de un anticuerpo de referencia a un antígeno común al menos en un 20 %, 30 %, 40 %, 50 %, 60 %, 70 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 97,5 % y/o cerca del 100 %.

5 Tal como se utiliza en la presente, una «**interacción**» entre un polipéptido CD33 y una segunda proteína abarca, de modo no taxativo, la interacción entre proteínas, una interacción física, una interacción química, unión, unión covalente y unión iónica. Tal como se utiliza en la presente, un anticuerpo «inhibe la interacción» entre dos polipéptidos cuando el anticuerpo altera, reduce o elimina por completo una interacción entre los dos polipéptidos. Un anticuerpo de la presente descripción, de este, «**inhibe la interacción**»
 10 entre dos polipéptidos cuando el anticuerpo de este se une a uno de los dos polipéptidos. En algunas modalidades, la interacción se puede inhibir al menos en aproximadamente cualquiera de 20 %, 30 %, 40 %, 50 %, 60 %, 70 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 97,5 % y/o cerca de 100 %.

El término «**epítopo**» incluye cualquier determinante capaz de unirse mediante un anticuerpo. Un epítopo es una región de un antígeno que se une mediante un anticuerpo que se dirige a ese antígeno, y cuando el antígeno es un polipéptido incluye aminoácidos
 20 específicos que entran en contacto directo con el anticuerpo. Frecuentemente, los epítopos se encuentran en polipéptidos pero, en algunos casos, pueden encontrarse en otros tipos de moléculas, tal como ácidos nucleicos. Los determinantes de epítopos pueden incluir agrupaciones de moléculas de superficie activas desde el punto de vista químico tal como
 25 aminoácidos, cadenas laterales de azúcar, grupos fosforilo o sulfonilo, y puede tener características estructurales tridimensionales específicas y/o características de carga específica. En general, los anticuerpos específicos para un antígeno diana en particular reconocerán preferentemente un epítopo en el antígeno diana en una mezcla compleja de
 30 polipéptidos y/o macromoléculas.

Un anticuerpo «**agonista**» o un anticuerpo «**activador**» es un anticuerpo que induce (por ejemplo, aumenta) una o más actividades o funciones del antígeno después de que el anticuerpo se haya unido al antígeno.

Anticuerpo «antagonista» o un anticuerpo «**bloqueador**» o un anticuerpo «**inhibidor**» es
 35 un anticuerpo que reduce, inhibe y/o elimina (por ejemplo, disminuye) la unión del antígeno a uno o más ligandos luego de que el anticuerpo se une al antígeno y/o que reduce, inhibe y/o elimina (por ejemplo, disminuye) una o más actividades o funciones del antígeno luego

de que el anticuerpo se une al antígeno. En algunas modalidades, los anticuerpos antagonistas, o anticuerpos bloqueadores, o anticuerpos inhibidores inhiben considerable o totalmente la unión del antígeno a uno o más ligandos y/o una o más actividades o funciones del antígeno.

- 5 Un **anticuerpo «aislado»**, tal como un anticuerpo anti-CD33 aislado de la presente descripción, es aquel que se ha identificado, separado y/o recuperado de un componente de su entorno de producción (por ejemplo, de forma natural o recombinante). Preferentemente, el anticuerpo aislado carece de asociación con todos los demás componentes contaminantes de su entorno de producción. Los componentes contaminantes de su entorno
- 10 de producción, tal como aquellos que resultan de las células transfectadas recombinantes, son materiales que normalmente interferirían con los usos de investigación, diagnóstico o tratamiento para el anticuerpo, y pueden incluir enzimas, hormonas y otros solutos proteináceos o no proteináceos. En modalidades preferidas, el anticuerpo se purificará: (1) hasta más de 95 % en peso del anticuerpo según se determina, por ejemplo, mediante el
- 15 método de Lowry y, en algunas modalidades, hasta más de 99 % en peso; (2) hasta un grado suficiente para obtener al menos 15 residuos de la secuencia de aminoácidos interna o del extremo N mediante el uso de un secuenciador de taza giratoria, o (3) hasta la homogeneidad mediante SDS-PAGE en condiciones de no reducción o de reducción con tinción con azul de Coomassie o, preferentemente, plata. El anticuerpo aislado incluye el
- 20 anticuerpo *in situ* dentro de linfocitos T recombinantes, ya que al menos un componente del entorno natural del anticuerpo no está presente. Sin embargo, normalmente, un polipéptido o anticuerpo aislado se prepara mediante al menos una etapa de purificación.

Una **molécula de ácido nucleico «aislada»** que codifica un anticuerpo, tal como un anticuerpo anti-CD33 de la presente descripción, es una molécula de ácido nucleico que se

25 identifica y se separa de al menos una molécula de ácido nucleico contaminante con la que se asocia normalmente en el entorno en el que se produjo. Preferentemente, el ácido nucleico aislado carece de asociación con todos los componentes asociados al entorno de producción. Las moléculas de ácido nucleico aisladas que codifican los polipéptidos y anticuerpos de la presente se encuentran en una forma que no sea la forma o configuración

30 en las que se encuentran en la naturaleza. Por lo tanto, las moléculas de ácido nucleico aisladas se distinguen del ácido nucleico que codifica los polipéptidos y anticuerpos de la presente que existen de forma natural en las células.

Como se usa en la presente, se pretende que el término «**vector**» haga referencia a una molécula de ácido nucleico que puede transportar otro ácido nucleico al cual se enlazó. Un

35 tipo de vector es un «plásmido», lo que hace referencia a un ADN bicatenario circular al que se pueden ligar segmentos de ADN adicionales. Otro tipo de vector es un vector de fago. Otro tipo de vector es un vector viral, en donde los segmentos de ADN adicionales se

pueden ligar en el genoma viral. Determinados vectores tienen capacidad de replicación autónoma en una célula hospedadora en la que se introducen (por ejemplo, vectores bacterianos con un origen bacteriano de replicación y vectores de mamíferos episomales).

Otros vectores (por ejemplo, vectores mamíferos no episomales) se pueden integrar al genoma de una célula hospedadora luego de introducirse en ella y, por lo tanto, se replican junto con el genoma hospedador. Asimismo, determinados vectores pueden dirigir la expresión de genes a los que se encuentran enlazados de forma operativa. Se hace referencia a dichos vectores en la presente como «vectores de expresión recombinantes» o simplemente, «vectores de expresión». Por lo general, los vectores de expresión útiles en las técnicas de ADN recombinante suelen encontrarse en forma de plásmidos. En la presente memoria descriptiva, «plásmido» y «vector» se pueden utilizar de forma indistinta, ya que el plásmido es la forma de vector más comúnmente utilizada.

Los términos **«polinucleótido» o «ácido nucleico»**, como se usan de manera intercambiable en la presente, hacen referencia a polímeros de nucleótidos de cualquier longitud, e incluyen ADN y ARN. Los nucleótidos pueden ser desoxirribonucleótidos, ribonucleótidos, nucleótidos modificados o bases y/o sus análogos, o cualquier sustrato que pueda incorporarse en un polímero mediante ADN o ARN polimerasa, o mediante una reacción sintética.

Una **«célula hospedadora»** incluye un cultivo celular o célula individual que puede ser o fue un receptor para vectores para la incorporación de inserciones de polinucleótidos. Las células hospedadoras incluyen la progenie de una única célula hospedadora y la progenie puede no necesariamente ser completamente idéntica (en su morfología o en complemento de ADN genómico) a la célula progenitora original debido a mutaciones naturales, accidentales o deliberadas. Una célula hospedadora incluye células transfectadas *in vivo* con uno o más polinucleótidos de la presente descripción.

Como se usa en la presente, los **«vehículos»** incluyen vehículos, excipientes o estabilizantes farmacéuticamente aceptables que no son tóxicos para la célula o el mamífero que se expone a estos en las dosis y concentraciones empleadas.

Tal como se usa en la presente, el término **«prevenir»** incluye proporcionar profilaxis con respecto a la aparición o reaparición de una enfermedad, trastorno o afección de un individuo. Un individuo puede estar predispuesto, ser susceptible a una enfermedad, trastorno o afección particular, o correr riesgo de desarrollar tal enfermedad, trastorno o afección, pero aún no ha recibido un diagnóstico de la enfermedad, trastorno o afección.

Como se usa en la presente, un individuo **«en riesgo»** de desarrollar una enfermedad, trastorno o afección particular puede tener o no tener una enfermedad o síntomas de la enfermedad detectables, y puede o no haber presentado la enfermedad o síntomas de la enfermedad detectables previo a los métodos de tratamiento descritos en la presente. «En

riesgo» implica que un individuo tiene uno o más factores de riesgo, que son parámetros mensurables que se correlacionan con el desarrollo de una enfermedad, trastorno o afección en particular, tal como se conoce en la técnica. Un individuo que tiene uno o más de estos factores de riesgo tiene mayor probabilidad de desarrollar una enfermedad, trastorno o afección en particular que un individuo sin uno o más de estos factores de riesgo.

Como se usa en la presente, el término **«tratamiento»** hace referencia a la intervención clínica diseñada para alterar la evolución natural del individuo que se trata durante el transcurso de la patología clínica. Los efectos deseables del tratamiento incluyen la reducción de la tasa de evolución, la mejora o mitigación del estado patológico y la remisión o el pronóstico mejorado de una enfermedad, trastorno o afección particular. Un individuo es «tratado» con éxito, por ejemplo, si se mitigan o eliminan uno o más síntomas asociados con una enfermedad, trastorno o afección particular.

Una **«cantidad eficaz»** hace referencia a al menos una cantidad eficaz, a dosis y durante el tiempo que sea necesario, para alcanzar los resultados profilácticos o terapéuticos

deseados. Una cantidad eficaz puede proporcionarse en una o más administraciones. Una cantidad eficaz de la presente puede variar de acuerdo con factores tales como el estado de la enfermedad, edad, sexo y peso del individuo, así como la capacidad del tratamiento de producir una respuesta deseada en el individuo. Una cantidad eficaz es también una cantidad en la que cualquier efecto tóxico o perjudicial del tratamiento se ve superado por los efectos terapéuticamente beneficiosos. Para uso profiláctico, los resultados beneficiosos o deseados incluyen resultados como eliminar o reducir el riesgo, disminuir la gravedad o retrasar la aparición de la enfermedad, incluidos los resultados bioquímicos, histológicos y/o síntomas conductuales de la enfermedad, sus complicaciones y fenotipos patológicos intermedios que se presentan durante el desarrollo de la enfermedad. Para el uso

terapéutico, los resultados beneficiosos o deseados incluyen resultados clínicos como la reducción de uno o más síntomas de la enfermedad, la mejora de la calidad de vida de quienes padecen la enfermedad, la disminución de la dosis de otros medicamentos necesarios para tratar la enfermedad, la mejora del efecto de otro medicamento tal como mediante la selección de dianas, el retraso del avance de la enfermedad y/o la prolongación de la supervivencia. Una cantidad eficaz de fármaco, compuesto o composición

farmacéutica es una cantidad suficiente para lograr un tratamiento profiláctico o terapéutico, ya sea directa o indirectamente. Como se entiende en el contexto clínico, una cantidad eficaz de un fármaco, compuesto o composición farmacéutica puede conseguirse o no junto con otro fármaco, compuesto o composición farmacéutica. Por lo tanto, una «cantidad eficaz» puede considerarse en el contexto de la administración de uno o más medicamentos y un único medicamento puede considerarse suministrado en una cantidad eficaz si, junto con uno o más medicamentos adicionales, puede constituir o lograr un resultado deseable.

Un **«individuo»**, a los efectos del tratamiento, prevención o reducción del riesgo, hace referencia a cualquier animal clasificado como mamífero, que incluye los seres humanos, animales domésticos y de granja, y animales de zoológico, animales utilizados en deportes o mascotas, tales como perros, caballos, conejos, ganado, cerdos, hámsters, jerbos, ratones, hurones, ratas, gatos y similares. En algunas modalidades, el individuo es un ser humano.

Como se usa en la presente, la administración **«en conjunto»** con otro compuesto o composición incluye la administración simultánea y/o la administración en momentos diferentes. La administración en conjunto también abarca la administración como una coformulación o administración como composiciones separadas, que incluyen diferentes frecuencias o intervalos de administración y el uso de la misma vía de administración o diferentes vías de administración. En algunas modalidades, la administración en conjunto significa la administración como parte del mismo esquema de administración.

El término **«alrededor de»**, tal como se utiliza en la presente, hace referencia al intervalo de error usual para el respectivo valor que conoce fácilmente el experto en la técnica de este campo técnico. La referencia a **«alrededor de»** un valor o parámetro en la presente incluye (y describe) modalidades que se orientan a ese valor o parámetro en sí.

Tal como se usa en la presente y en las reivindicaciones adjuntas, las formas singulares «un/una» y «el/la», incluyen referentes plurales, salvo que el contexto indique claramente lo contrario. Por ejemplo, la referencia a un «anticuerpo» es una referencia de uno a varios anticuerpos, tal como cantidades molares, e incluye equivalentes de este conocidos por los expertos en la técnica, y así sucesivamente.

Se entiende que el aspecto y las modalidades de la presente descripción que se describen en la presente incluyen aspectos y modalidades de «que comprende», «que consiste» y «que consiste esencialmente en».

25

Perspectiva general

La presente descripción se relaciona, en parte, con anticuerpos anti-CD33 que presentan una o más características funcionales mejoradas y/o potenciadas (por ejemplo, con respecto a un anticuerpo anti-CD33 que tiene una región variable de cadena pesada que comprende la secuencia de la SEQ ID NO:3 y una región variable de cadena ligera que comprende la secuencia de la SEQ ID NO:4), inclusive, por ejemplo, anticuerpos que pueden disminuir el nivel en superficie celular de CD33 y/o la unión a CD33 con cinética mejorada/potenciada; métodos para elaborar y usar tales anticuerpos; composiciones farmacéuticas que contienen tales anticuerpos; ácidos nucleicos que codifican tales anticuerpos; y células hospedadoras que contienen ácidos nucleicos que codifican tales anticuerpos.

En algunas modalidades, los anticuerpos anti-CD33 de la presente descripción tienen una o más actividades que se deben, al menos en parte, a la capacidad de los anticuerpos de

inhibir la interacción entre CD33 y uno o más ligandos de glucano. En algunas modalidades, los anticuerpos anti-CD33 de la presente descripción pueden tener una o más actividades que se deben, al menos en parte, a la capacidad de los anticuerpos para reducir la expresión celular (por ejemplo, la expresión en la superficie celular) de CD33 al inducir la degradación, la regulación por disminución, la escisión, la desensibilización del receptor y/o el direccionamiento lisosómico de CD33. En algunas modalidades, los anticuerpos anti-CD33 presentan una o más de las siguientes propiedades: a) tienen una constante de disociación (K_D) para CD33 humana que es menor que la de un anticuerpo anti-CD33 que tiene una región variable de cadena pesada que comprende la secuencia de la SEQ ID NO:3 y una región variable de cadena ligera que comprende la secuencia de la SEQ ID NO:4; b) se unen a las células humanas, tal como células dendríticas primarias humanas; c) disminuyen el nivel en superficie celular de CD33 (por ejemplo, disminuyen el nivel de CD33 en superficie celular en células dendríticas primarias humanas *in vitro*) con una concentración eficaz media máxima (EC_{50}) que es menor que la de un anticuerpo anti-CD33 que tiene una región variable de cadena pesada que comprende la secuencia de la SEQ ID NO:3 y una región variable de cadena ligera que comprende la secuencia de la SEQ ID NO:4; d) tienen una constante de disociación (K_D) para CD33 humana que puede variar de alrededor de 0,061 nM a alrededor de 0,40 nM, por ejemplo cuando la K_D se determina mediante resonancia por plasmones superficiales o interferometría en biocapas; y/o e. disminuyen el nivel en superficie celular de CD33 (por ejemplo, disminuye el nivel en superficie celular de CD33 en células dendríticas primarias humanas *in vitro*) con una concentración eficaz media máxima (EC_{50}) que puede variar de alrededor de 78 pM a alrededor de 40 pM, por ejemplo cuando la EC_{50} se determina *in vitro* mediante citometría de flujo. Como se describe en la presente, la concentración eficaz media máxima (EC_{50}) se refiere a la concentración a la que un anticuerpo anti-CD33 de la presente descripción reduce el nivel celular de CD33 en una célula o en una célula a la mitad del nivel de las células no tratadas, o la concentración a la que el anticuerpo alcanza la unión media máxima a CD33 en una célula.

De manera ventajosa, los anticuerpos anti-CD33 de la presente descripción reducen la expresión en superficie celular (por ejemplo, hasta aproximadamente 1,6 veces o hasta 18 veces) de CD33 de forma más potente (por ejemplo, con una EC_{50} menor) en comparación con un anticuerpo anti-CD33 de referencia (por ejemplo, un anticuerpo anti-CD33 de referencia que tenga una región variable de cadena pesada que comprende la secuencia de la SEQ ID NO:3 y una región variable de cadena ligera que comprende la secuencia de la SEQ ID NO:4) (véase, por ejemplo, el Ejemplo 3). Además, ventajosamente, los anticuerpos anti-CD33 de la presente descripción tienen una mayor afinidad (por ejemplo, hasta aproximadamente una afinidad 7 veces mayor) por CD33 (por ejemplo, un valor K_D menor

medido por resonancia de plasmones superficiales) en comparación con un anticuerpo anti-CD33 de referencia (por ejemplo, un anticuerpo anti-CD33 de referencia que tiene una región variable de cadena pesada que comprende la secuencia de la SEQ ID NO:3 y una región variable de cadena ligera que comprende la secuencia de la SEQ ID NO:4. De manera sorprendente, una mayor afinidad por CD33 no necesariamente se correlaciona con un aumento de la capacidad o potencia de reducción de la expresión de CD33 en la superficie celular.

Determinados aspectos de la presente descripción se basan, al menos en parte, en la identificación de anticuerpos anti-CD33 que presentan una o más características funcionales mejoradas y/o potenciadas (por ejemplo, con respecto a un anticuerpo anti-CD33 que tiene una región variable de cadena pesada que comprende la secuencia de la SEQ ID NO:3 y una región variable de cadena ligera que comprende la secuencia de la SEQ ID NO:4), inclusive una capacidad mejorada/potenciada para disminuir el nivel en superficie celular de CD33 en las células, lo que genera la reducción, la neutralización, la prevención o la contención de una o más de las actividades de CD33, inclusive, de modo no taxativo, la reducción del crecimiento celular de monocitos, macrófagos, linfocitos T, células dendríticas y/o microglía; la reducción de la proliferación de linfocitos T inducida por las células dendríticas, células dendríticas derivadas de médula ósea, monocitos, microglía, microglía M1, microglía M1 activada, microglía M2, macrófagos, macrófagos M1, macrófagos M1 activados y/o macrófagos M2; disminución en la supervivencia de los neutrófilos, las células dendríticas, células dendríticas derivadas de médula ósea, macrófagos, macrófagos M1, macrófagos M1 activados, macrófagos M2, monocitos, osteoclastos, linfocitos T, linfocitos T cooperadores, linfocitos T citotóxicos, granulocitos, microglía, microglía M1, microglía M1 activada y/o microglía M2; disminución de la proliferación de neutrófilos, células dendríticas, células dendríticas derivadas de médula ósea, macrófagos, macrófagos M1, macrófagos M1 activados, macrófagos M2, monocitos, osteoclastos, linfocitos T, linfocitos T cooperadores, linfocitos T citotóxicos, granulocitos, microglía, microglía M1, microglía M1 activada y/o microglía M2; inhibición de la migración de neutrófilos, células dendríticas, células dendríticas derivadas de médula ósea, macrófagos, macrófagos M1, macrófagos M1 activados, macrófagos M2, monocitos, osteoclastos, linfocitos T, linfocitos T cooperadores, linfocitos T citotóxicos, granulocitos, microglía, microglía M1, microglía M1 activada y/o microglía M2; disminución de una o más funciones de neutrófilos, células dendríticas, células dendríticas derivadas de médula ósea, macrófagos, macrófagos M1, macrófagos M1 activados, macrófagos M2, monocitos, osteoclastos, linfocitos T, linfocitos T cooperadores, linfocitos T citotóxicos, granulocitos, microglía, microglía M1, microglía M1 activada y/o microglía M2; reducción de la proliferación de monocitos, macrófagos, linfocitos T, células dendríticas, neutrófilos y/o microglía; reducción de la funcionalidad general de los monocitos,

- macrófagos, linfocitos T, células dendríticas, neutrófilos y/o microglía; inhibición de la respuesta inmunitaria beneficiosa a diferentes tipos de cáncer que se seleccionan de cáncer de vejiga, cáncer encefálico, cáncer de mama, cáncer de colon, cáncer de recto, cáncer de endometrio, cáncer de riñón, cáncer de células renales, cáncer de pelvis renal, leucemia,
- 5 carcinoma broncopulmonar, melanoma, linfoma no hodgkiniano, leucemia mieloide aguda, cáncer de páncreas, cáncer de próstata, cáncer de ovario, fibrosarcoma y cáncer de tiroides; inhibición de la respuesta inmunitaria beneficiosa a diferentes tipos de trastornos nerviosos que se seleccionan de demencia, demencia frontotemporal, enfermedad de Alzheimer, demencia vascular, demencia mixta, enfermedad de Creutzfeldt-Jakob, hidrocefalia
- 10 normotensiva, esclerosis lateral amiotrófica, corea de Huntington, tauopatía, enfermedad de Nasu-Hakola, accidente cerebrovascular, traumatismo agudo, traumatismo crónico, temblor hereditario, enfermedad de Behcet, enfermedad de Parkinson, demencia con cuerpos de Lewy, atrofia de múltiples sistemas, síndrome de Shy-Drager, parálisis supranuclear progresiva, degeneración ganglionar basal cortical, encefalomielitis diseminada aguda,
- 15 trastornos granulomatosos, sarcoidosis, enfermedades propias de la edad, convulsiones, lesión de la médula espinal, lesión encefálica traumática, degeneración macular relacionada con la edad, glaucoma, retinitis pigmentaria, degeneración de la retina y esclerosis múltiple; unión al ligando CD33 en células tumorales; unión al ligando CD33 en células dendríticas, células dendríticas derivadas de médula ósea, monocitos, microglía, linfocitos T, neutrófilos
- 20 y/o macrófagos; inhibición de la eliminación de células tumorales mediante uno o más de microglía, macrófagos, células dendríticas, células dendríticas derivadas de médula ósea, neutrófilos, linfocitos T, linfocitos T cooperadores o linfocitos T citotóxicos; inhibición de la actividad de proliferación de células contra tumores de uno o más de microglía, macrófagos, células dendríticas, células dendríticas derivadas de médula ósea, neutrófilos, linfocitos T,
- 25 linfocitos T cooperadores o linfocitos T citotóxicos; inhibición de la actividad de metástasis contra células tumorales de uno o más de microglía, macrófagos, células dendríticas, células dendríticas derivadas de médula ósea, neutrófilos, linfocitos T, linfocitos T cooperadores o linfocitos T citotóxicos; expresión modulada de uno o más receptores inflamatorios, tal como CD86, que se expresan en uno o más de microglía, macrófagos, células dendríticas, células
- 30 dendríticas derivadas de médula ósea, neutrófilos, linfocitos T, linfocitos T cooperadores o linfocitos T citotóxicos; mejora de la infiltración de uno o más de células dendríticas inmunosupresoras, macrófagos inmunosupresores, células supresoras mieloides, macrófagos asociados a tumores, neutrófilos inmunosupresores y linfocitos T reguladores en tumores; aumento de la cantidad de células mieloides que promueven
- 35 tumores/inmunosupresoras granulocíticas en un tumor, en sangre periférica u otro órgano linfoide; mejorar la actividad de promoción de tumores de las células supresoras mieloides; disminuir la activación de los linfocitos T específicos del tumor con potencial de eliminación

de tumores; disminuir la infiltración de linfocitos T específicos de tumores con potencial de eliminación de tumores; aumentar la tasa de crecimiento tumoral; aumentar la tasa de recurrencia tumoral; disminuir la eficacia de una o más inmunoterapias que modulen la respuesta de los linfocitos T contra tumores, opcionalmente en donde la una o más

5 inmunoterapias son inmunoterapias que se dirigen a una o más proteínas que se seleccionan de CD40, OX40, ICOS, CD28, CD137/4-1BB, CD27, GITR, PD-L1, CTLA4, PD-L2, PD-1, B7-H3, B7-H4, HVEM, LIGHT, BTLA, VISTA, KIR, GAL9, TIM1, TIM3, TIM4, A2AR, LAG3, DR-5, CD39, CD70, TREM1, TREM2, Siglec-5, Siglec-7, Siglec-9, Siglec-11, SirpA, CD447, receptor CSF-1 y cualquier combinación de estos, o de uno o sustancias

10 quimioterápicas y/o más vacunas contra el cáncer.

En algunas modalidades, el tratamiento del cáncer con anticuerpos anti-CD33 tal como se describe en la presente puede: (i) aumentar la cantidad de linfocitos T CD3⁺ infiltrantes de tumores; (ii) disminuir el nivel celular de CD33 en células mieloides CD14⁺ no tumorigénicas, opcionalmente en donde las células mieloides CD14⁺ no tumorigénicas son células

15 infiltrantes de tumores u opcionalmente en donde las células mieloides CD14⁺ no tumorigénicas están presentes en la sangre; (iii) reducir la cantidad de células mieloides CD14⁺ no tumorigénicas, opcionalmente en donde las células mieloides CD14⁺ no tumorigénicas son células infiltrantes de tumores u opcionalmente en donde las células mieloides CD14⁺ no tumorigénicas están presentes en la sangre; (iv) reducir el nivel de PD-

20 L1, PD-L2, B7-H7, B7-H3, CD200R, CD163 y/o CD206 en una o más células, opcionalmente en donde la una o más células son células supresoras mieloides (MDSC) no tumorigénicas; (v) disminuir la velocidad de crecimiento tumoral de tumores sólidos; (vi) reducir el volumen tumoral; (vii) aumentar la eficacia de uno o más inhibidores de PD-1; (viii) aumentar la eficacia de una o más terapias inhibitoras del punto de control y/o terapias

25 inmunomoduladoras, opcionalmente en donde la una o más terapias inhibitoras del punto de control y/o terapias inmunomoduladoras se dirigen a uno o más de CTL4, la vía de adenosina, PD-L1, PD-L2, OX40, TIM3, LAG3, o cualquier combinación de estos; (ix) aumentar la eficacia de uno o más quimioterápicos, opcionalmente en donde el uno o más quimioterápicos son gemcitabina, capecitabina, antraciclinas, doxorubicina (Adriamycin®),

30 epirubicina (Ellence®), taxanos, paclitaxel (Taxol®), docetaxel (Taxotere®), 5-fluorouracilo (5-FU), ciclofosfamida (Cytosan®), carboplatino (Paraplatin®) y cualquier combinación de estos; (x) aumentar la proliferación de linfocitos T en presencia de células supresoras mieloides (MDSC) no tumorigénicas (xi) inhibir la diferenciación, supervivencia y/o una o más funciones de las células supresoras mieloides (MDSC) no tumorigénicas; y (xii) destruir las

35 células mieloides inmunosupresoras no tumorigénicas que expresan CD33 y/o células que expresan CD14 no tumorigénicas en tumores sólidos y vasos sanguíneos asociados cuando se conjugan a un químico o toxina radiactiva.

En algunas modalidades, las células mieloides de la presente descripción incluyen, de modo no taxativo, células mieloides CD45+CD14+, células mieloides CD14+ y células supresoras mieloides (MDSC). En algunas modalidades, las células mieloides de la presente descripción son células mieloides no tumorigénicas. A veces las células inmunosupresoras se denominan células supresoras mieloides (MDSC). En seres humanos, las MDSC se pueden definir con uno de la siguiente combinación de marcadores: (1) CD14+ HLA-DRbajo/-, (2) CD14+ IL4Rα+, (3) CD14+ HLA-DR- IL4Rα+, (4) CD34+ CD14+ CD11b+ CD33+, (5) CD11b+ CD14+ CD33+, (6) CD33+ HLA-DR-, (7) Lin- HLA-DR-, (8) Lin- HLA-DR- CD33+, (9) Lin- HLA-DR- CD33+ CD11b+, (10) Lin- CD33+ CD11b+ CD15+, (11) Lin- HLA-DR- CD33+ CD11b+ CD14- CD15+, (12) CD11b+ CD14- CD33+, (13) CD11b+ CD14- HLA-DR- CD33+ CD15+, (14) CD33+ HLA-DR- CD15+, (15) CD15+ IL4Rα+, (16) CD11b+ CD15+ CD66b+, (17) CD15+ FSCbajo SSCelevado, (18) CD15elevado CD33+, (19) CD11b+ CD14- CD15+, (20) CD66b+ SSCelevado y (21) CD11b+ CD15+ (véase también Solito S et ál. Annals of the NY Academy of Sciences, 2014). En ratones, las MDSC se pueden definir por la expresión de los marcadores de superficie CD45+, CD11b+, Gr1+ y/o IL4Rα+. Los linajes monocíticos inmunosupresores de ejemplo son CD45+, CD11b+, Gr1bajo; y CD45+, CD11c+.

Proteínas CD33

En un aspecto, la presente descripción proporciona anticuerpos, tales como anticuerpos aislados (por ejemplo, monoclonales), que interactúan o se unen de otra manera a una región, tal como un epítipo, dentro de una proteína CD33 de la presente descripción. En algunas modalidades, los anticuerpos interactúan o se unen de otra forma a una región, tal como un epítipo, dentro de una proteína CD33 de la presente descripción con propiedades cinéticas mejoradas/potenciadas (por ejemplo, con respecto a un anticuerpo anti-CD33 que posee una región variable de cadena pesada que comprende la secuencia de la SEQ ID NO:3 y una región variable de cadena ligera que comprende la secuencia de la SEQ ID NO:4). En algunas modalidades, los anticuerpos interactúan o se unen de otra forma a una región, tal como un epítipo, en una proteína CD33 en células humanas, tales como células dendríticas, con una concentración eficaz media máxima (EC₅₀) menor que la de un anticuerpo de referencia (por ejemplo, con respecto a un anticuerpo anti-CD33 que posee una región variable de cadena pesada que comprende la secuencia de la SEQ ID NO:3 y una región variable de cadena ligera que comprende la secuencia de la SEQ ID NO:4). En algunas modalidades, los anticuerpos anti-CD33 de la presente descripción se unen a una proteína CD33 y modulan una o más actividades de CD33 luego de unirse a la proteína CD33, por ejemplo, una actividad asociada con la expresión de CD33 en una célula. Las proteínas CD33 de la presente descripción incluyen, de modo no taxativo, una proteína CD33 de mamífero, proteína CD33 humana, proteína CD33 de ratón y proteína CD33 de

rata.

CD33 se denomina de varias formas como una molécula CD33, Siglec3, Siglec-3, antígeno CD33 (Gp67), P67, Gp67, lectina similar a la Ig de unión a ácido siálico 3, antígeno de superficie celular mieloide CD33 o FLJ00391.

- 5 CD33 es un receptor similar a la inmunoglobulina que se expresa principalmente en las células de linaje mieloide, inclusive, de modo no taxativo, macrófagos, células dendríticas, osteoclastos, monocitos y microglía. En algunas modalidades, CD33 forma un complejo de señalización de receptores con CD64. En algunas modalidades, la señalización de CD33 produce la inhibición posterior de PI3K u otras señales intracelulares. En las células
- 10 mieloides, las señales del receptor tipo Toll (TLR) son importantes para la inhibición de las actividades de CD33, por ejemplo, en el contexto de una respuesta de infección. Los TLR también juegan un papel clave en la respuesta inflamatoria patológica, por ejemplo, los TLR que se expresan en macrófagos y células dendríticas.

La secuencia de aminoácidos de CD33 humana se establece a continuación como la **SEQ**

15 **ID NO: 1:**

MPLLLLLLPLLWAGALAMDPNFWLQVQESVTVQEGLCVLPCTFFHPIPYDKNSPVHGYWF
REGAIISRDSPVATNKLDQEVQEETQGRFRLLGDPSRNNCSLSIVDARRRDNGSYFFRMER
GSTKYSYKSPQLSVHVTDLTHRPKILIPGTLEPGHSKNLTCSVSWACEQGTPPIFSWLSAAP
TSLGPRTHSSVLIITPRPQDHGTNLTCQVKFAGAGVTTERTIQLNVTVYPQNPTTGIFPGDG
20 SGKQETRAGVVHGAIGGAGVTALLALCLCLIFFIVKTHRRKAARTAVGRNDTHPTTGSASPK
HQQKSKLHGPTETSSCSGAAPTVMDEELHYASLNFHGMNPSKDTSTEYSEVRTQ

La secuencia de aminoácidos de CD33 de macaco cangrejero se establece a continuación como la **SEQ ID NO 2:**

- MDGEHLKGRNQGAQETSASDMPLLLLLPLLWAGALAMDPRVRLEVQESVTVQEGLCVLPVPC
25 TFFHPVPYHTRNSPVHGYWFFREGAIVSLDSPVATNKLDQEVQEETQGRFRLLGDPSRNNC
SLSIVDARRRDNGSYFFRMEKGSTKYSYKSTQLSVHVTDLTHRPQILIPGALDPDHSKNLTC
SVPWACEQGTPPIFSWMSAAPTSLGLRTHSSVLIITPRPQDHGTNLTCQVKFPGAGVTTTER
TIQLNVSYASQNPRTDIFLGDGSGKQGVVQGAIGGAGVTVLLALCLCLIFFTVKTHRRKAART
AVGRIDTHPATGPTSSKHQQKSKLHGATETSGCSGTTLTVMDEELHYASLNFHGMNPSED
30 TSTEYSEVRTQ

- En algunas modalidades, la CD33 es una preproteína que incluye una secuencia señal. En algunas modalidades, la CD33 es una proteína madura. En algunas modalidades, la proteína CD33 madura no incluye una secuencia señal. En algunas modalidades, la proteína CD33 madura se expresa en una célula. En algunas modalidades, la proteína CD33 madura
- 35 se expresa en una célula, tal como la superficie de una célula, que incluye, de modo no taxativo, células dendríticas humanas, macrófagos humanos, monocitos humanos, osteoclastos humanos, neutrófilos humanos, linfocitos T humanos, linfocitos T cooperadores

humanos, linfocitos T citotóxicos humanos, granulocitos humanos y microglías humanas. Los anticuerpos anti-CD33 de la presente descripción pueden unirse a cualquiera de las proteínas CD33 de la presente descripción expresadas en cualquier célula descrita en la presente.

- 5 Las proteínas CD33 de la presente descripción, tales como CD33 humana, contienen diversos dominios, inclusive, de modo no taxativo, una secuencia señal ubicada en los residuos de aminoácidos 1-17 de la SEQ ID NO: 1, un dominio extracelular de tipo variable similar a la inmunoglobulina (IgV) que se ubica en los residuos de aminoácidos 19-135 de la SEQ ID NO: 1, un dominio de tipo C2 similar a la Ig que se ubica en los residuos de
- 10 aminoácidos 145-228 de la SEQ ID NO: 1, un dominio transmembranario que se ubica en los residuos de aminoácidos 260-282 de la SEQ ID NO: 1, un ITIM motivo 1 que se ubica en los residuos de aminoácidos 338-343 de la SEQ ID NO: 1, y un ITIM motivo 2 que se encuentra en los residuos de aminoácidos 356-361 de la SEQ ID NO: 1. Tal como lo entenderá un experto en la técnica, los residuos al inicio y el final de los dominios de la
- 15 presente descripción pueden variar según el programa de modelado por computadora utilizado o el método utilizado para determinar el dominio.

Determinados aspectos de la presente descripción proporcionan anticuerpos anti-CD33 que se unen a CD33 humana, o un homólogo de este, inclusive, de modo no taxativo una proteína CD33 de mamífero y ortólogos de CD33 de otras especies. En algunas

20 modalidades, los anticuerpos anti-CD33 de la presente descripción se unen a un CD33 humana, o un homólogo de este, con cinética de unión mejorada/potenciada y/o actividad mejorada, tal como disminución del nivel celular de CD33 (por ejemplo, con respecto a un anticuerpo anti-CD33 que tiene una región variable de cadena pesada que comprende la secuencia de la SEQ ID NO:3 y una región variable de cadena ligera que comprende la

25 secuencia de la SEQ ID NO:4).

Por consiguiente, tal como se usa en la presente, una proteína «CD33» de la presente descripción incluye, de modo no taxativo, una proteína CD33 de mamífero, proteína CD33 humana, proteína CD33 de primate, proteína CD33 de ratón y proteína CD33 de rata.

Además, los anticuerpos anti-CD33 de la presente descripción pueden unirse a un epítipo

30 dentro de una proteína CD33 humana, CD33 de primate. En algunas modalidades, los anticuerpos anti-CD33 de la presente descripción pueden unirse específicamente a CD33 humana. En algunas modalidades, los anticuerpos anti-CD33 de la presente descripción pueden unirse a CD33 de macaco cangrejero. En algunas modalidades, los anticuerpos anti-CD33 de la presente descripción pueden unirse a CD33 humana y CD33 de macaco cangrejero.

35

En algunas modalidades, los anticuerpos de la presente descripción pueden unirse a CD33 de una forma dependiente del pH. En algunas modalidades, los anticuerpos de la presente

descripción pueden unirse a CD33 a un pH neutro e internalizarse sin disociarse de la proteína CD33. De manera alternativa, a un pH ácido, los anticuerpos de la presente descripción pueden disociarse de CD33 luego de internalizarse y luego se degradan

mediante la vía de endosoma/lisosoma. En determinadas modalidades, un anticuerpo anti-

- 5 CD33 se une a CD33 a un pH dentro del intervalo de 5,5 a 8,0, de 5,5 a 7,5, de 5,5 a 7,0, de 5,5 a 6,5, de 5,5 a 6,0, de 6,0 a 8,0, de 6,5 a 8,0, de 7,0 a 8,0, de 7,5 a 8,0, de 6,0 a 7,5, de 6,0 a 7,0, de 6,5 a 7,5. En determinadas modalidades, un anticuerpo anti-CD33 se disocia de CD33 a un pH menor que 6,0, menor que 5,5, menor que 5,0, menor que 4,5, menor que 4,0, menor que 3,5, menor que 3,0, menor que 2,5 o menor que 2,0.

- 10 En algunas modalidades, los anticuerpos de la presente descripción se unen a una proteína CD33 natural de la presente descripción, variantes de origen natural de esta y/o variantes de enfermedad de esta.

En algunas modalidades, los anticuerpos de la presente descripción se unen a una variante de CD33 humana, en donde la variante contiene un único polimorfismo de nucleótido (SNP)

- 15 rs3865444C con un nucleótido (C). En algunas modalidades, los anticuerpos de la presente descripción que disminuyen el nivel celular de CD33 y/o que se unen o interactúan con CD33, se unen a una variante de CD33 humana, en donde la variante contiene un SNP rs3865444 con un nucleótido (A). En algunas modalidades, los anticuerpos anti-CD33 de la presente descripción se unen a una variante de CD33 humana, en donde la variante
- 20 contiene un SNP *rs3865444^{AC}* o *rs3865444^{CC}*.

En algunas modalidades, los anticuerpos de la presente descripción que disminuyen el nivel celular de CD33 y/o que se unen o interactúan con CD33, se unen a una variante de CD33 humana, en donde la variante contiene un SNP *rs35112940* con nucleótidos GG, nucleótidos AA o nucleótidos AG. En algunas modalidades, los anticuerpos de la presente

25 descripción que disminuyen el nivel celular de CD33 y/o que se unen o interactúan con CD33, se unen a una variante de CD33 humana, en donde la variante contiene un SNP *rs12459419* con genotipos CC, CT o TT. En determinadas modalidades, el sujeto tiene un homocigota o heterocigota para la codificación de SNP, rs1803 con nucleótidos GG, nucleótidos CG o nucleótidos CC.

- 30 En algunas modalidades, los anticuerpos de la presente descripción que disminuyen el nivel celular de CD33 y/o se unen o interactúan con CD33, se unen a una proteína CD33 expresada en la superficie de una célula, que incluye, de modo no taxativo, células dendríticas humanas, macrófagos humanos, monocitos humanos, osteoclastos humanos, neutrófilos humanos, linfocitos T humanos, linfocitos T cooperadores humanos, linfocitos T
- 35 citotóxicos humanos, granulocitos humanos y microglía humana. En algunas modalidades, los anticuerpos de la presente descripción que disminuyen el nivel celular de CD33 y/o que se unen o interactúan con CD33, se unen a una proteína CD33 expresada en la superficie

de una célula y modulan (por ejemplo, inducen o inhiben) al menos una actividad de CD33 de la presente descripción después de unirse a la proteína CD33 expresada en la superficie. En algunas modalidades de la presente descripción, el anticuerpo anti-CD33 se une específicamente a una proteína CD33. En algunas modalidades de la presente descripción, el anticuerpo anti-CD33 se une además a al menos una proteína Siglec adicional. En algunas modalidades, el anticuerpo anti-CD33 modula una o más actividades de la al menos una proteína Siglec adicional o de una célula que expresa la al menos una proteína Siglec adicional.

Ligandos CD33

- 10 Las proteínas CD33 de la presente descripción pueden interactuar con uno o más ligandos de CD33 (por ejemplo, unirse a estos).
- Los ejemplos de ligandos de CD33 incluyen, de modo no taxativo, ácido siálico, glucolípidos que contienen ácido siálico, glucoproteínas que contienen ácido siálico, glucolípidos que contienen ácido siálico alfa-2,6 enlazados, glucoproteínas que contienen ácido siálico alfa-2,6 enlazados, glucolípidos que contienen ácido siálico alfa-2,3 enlazados, glucoproteínas que contienen ácido siálico alfa-2,3 enlazados, glucoproteína de alfa-1-ácido (AGP), proteína CD24, gangliósidos (por ejemplo, glucolípidos que contienen una ceramida enlazada a un glucano sialilado), mucinas secretadas, ligandos de CD33 expresados en glóbulos rojos, ligandos de CD33 expresados en células bacterianas, ligandos de CD33 expresados en células apoptóticas, ligandos de CD33 expresados en células tumorales, ligandos de CD33 expresados en virus, ligandos de CD33 expresados en células dendríticas, ligandos de CD33 expresados en células nerviosas, ligandos de CD33 expresados en células gliales, ligandos de CD33 expresados en microglía, ligandos de CD33 expresados en astrocitos, ligandos de CD33 en placas beta amiloideas, ligandos de CD33 en ovillos de Tau, ligandos de CD33 en proteínas que provocan enfermedades, ligandos de CD33 en péptidos que provocan enfermedades, ligandos de CD33 expresados en macrófagos, ligandos de CD33 expresados en linfocitos citolíticos naturales, ligandos de CD33 expresados en linfocitos T, ligandos de CD33 expresados en linfocitos T cooperadores, ligandos de CD33 expresados en linfocitos T citotóxicos, ligandos de CD33 expresados en linfocitos B, ligandos de CD33 expresados en células dendríticas inmunosupresoras incrustadas en tumores, ligandos de CD33 expresados en macrófagos inmunosupresores incrustados en tumores, ligandos de CD33 expresados en células supresoras mieloides y ligandos de CD33 expresados en linfocitos T reguladores. En algunas modalidades, los ligandos de CD33 de la presente descripción son gangliósidos.
- 35 Los gangliósidos generalmente comparten un núcleo común de lacto-ceramida y uno o más residuos de ácido siálico.
- Se enumeran en la **Tabla A** otros ejemplos de ligandos adecuados de gangliósidos.

Generalmente, un gangliósido es una molécula compuesta por un glucosfingolípido con uno o más ácidos siálicos (por ejemplo, ácido n-acetil-neuramínico, NANA) enlazados en la cadena de glúcido.

Tabla A: Estructuras de ejemplos de ligandos de CD33 de gangliósido

GM2-1 = aNeu5Ac(2-3)bDGalp(1-?)bDGalNAc(1-?)bDGalNAc(1-?)bDGlc(1-1)Cer
GM3 = aNeu5Ac(2-3)bDGalp(1-4)bDGlc(1-1)Cer
GM2,GM2a(?) = bDGalpNAc(1-4)[aNeu5Ac(2-3)]bDGalp(1-4)bDGlc(1-1)Cer
GM2b(?) = aNeu5Ac(2-8)aNeu5Ac(2-3)bDGalp(1-4)bDGlc(1-1)Cer
GM1,GM1a = bDGalp(1-3)bDGalNAc[aNeu5Ac(2-3)]bDGalp(1-4)bDGlc(1-1)Cer
asialo-GM1,GA1 = bDGalp(1-3)bDGalpNAc(1-4)bDGalp(1-4)bDGlc(1-1)Cer
asialo-GM2,GA2 = bDGalpNAc(1-4)bDGalp(1-4)bDGlc(1-1)Cer
GM1b = aNeu5Ac(2-3)bDGalp(1-3)bDGalNAc(1-4)bDGalp(1-4)bDGlc(1-1)Cer
GD3 = aNeu5Ac(2-8)aNeu5Ac(2-3)bDGalp(1-4)bDGlc(1-1)Cer
GD2 = bDGalpNAc(1-4)[aNeu5Ac(2-8)aNeu5Ac(2-3)]bDGalp(1-4)bDGlc(1-1)Cer
GD1a = aNeu5Ac(2-3)bDGalp(1-3)bDGalNAc(1-4)[aNeu5Ac(2-3)]bDGalp(1-4)bDGlc(1-1)Cer
GD1alfa = aNeu5Ac(2-3)bDGalp(1-3)bDGalNAc(1-4)[aNeu5Ac(2-6)]bDGalp(1-4)bDGlc(1-1)Cer
GD1b = bDGalp(1-3)bDGalNAc(1-4)[aNeu5Ac(2-8)aNeu5Ac(2-3)]bDGalp(1-4)bDGlc(1-1)Cer
GT1a = aNeu5Ac(2-8)aNeu5Ac(2-3)bDGalp(1-3)bDGalNAc(1-4)[aNeu5Ac(2-3)]bDGalp(1-4)bDGlc(1-1)Cer
GT1,GT1b = aNeu5Ac(2-3)bDGalp(1-3)bDGalNAc(1-4)[aNeu5Ac(2-8)aNeu5Ac(2-3)]bDGalp(1-4)bDGlc(1-1)Cer
OAc-GT1b = aNeu5Ac(2-3)bDGalp(1-3)bDGalNAc(1-4)aXNeu5Ac9Ac(2-8)aNeu5Ac(2-3)]bDGalp(1-4)bDGlc(1-1)Cer
GT1c = bDGalp(1-3)bDGalNAc(1-4)[aNeu5Ac(2-8)aNeu5Ac(2-8)aNeu5Ac(2-3)]bDGalp(1-4)bDGlc(1-1)Cer
GT3 = aNeu5Ac(2-8)aNeu5Ac(2-8)aNeu5Ac(2-3)bDGal(1-4)bDGl(1-1)CerGQ1b = aNeu5Ac(2-8)aNeu5Ac(2-3)bDGalp(1-3)bDGalNAc(1-4)[aNeu5Ac(2-8)aNeu5Ac(2-3)]bDGalp(1-4)bDGlc(1-1)Cer
GGal = aNeu5Ac(2-3)bDGalp(1-1)Cer
dónde:
aNeu5Ac = ácido 5-acetil-alfa-neuramínico
aNeu5Ac9Ac = ácido 5,9-diacetil-alfa-neuramínico
bDGalp = beta-D-galactopiranososa

bDGalpNAc = N-acetil-beta-D-galactopiranososa

bDGlcP = beta-D-glucopiranososa

Cer = ceramida (esfingoide N-acilado general)

Anticuerpos anti-CD33

Determinados aspectos de la presente descripción hacen referencia a anticuerpos anti-CD33 que comprenden una o más características funcionales mejoradas y/o potenciadas.

- 5 En algunas modalidades, los anticuerpos anti-CD33 de la presente descripción comprenden una o más características funcionales mejoradas y/o potenciadas con respecto a un anticuerpo de referencia o comparativo (por ejemplo, un anticuerpo anti-CD33 que comprende una región variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 3 y una región variable de cadena ligera que comprende la
 - 10 secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 4). En algunas modalidades, los anticuerpos anti-CD33 de la presente descripción tienen una afinidad para CD33 (por ejemplo, CD33 humana) mayor que la de un anticuerpo anti-CD33 de referencia o comparativo (por ejemplo, un anticuerpo anti-CD33 que comprende una región variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 3 y una región variable de
 - 15 cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 4). En algunas modalidades, los anticuerpos anti-CD33 de la presente descripción se unen a células humanas, tales como células dendríticas primarias humanas, con una concentración eficaz media máxima (EC_{50}) menor que la de un anticuerpo de referencia o comparativo (por ejemplo, un anticuerpo anti-CD33 que comprende una región variable de cadena pesada
 - 20 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 3 y una región variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 4). En algunas modalidades, los anticuerpos anti-CD33 de la presente descripción disminuyen los niveles celulares (por ejemplo, disminuyen o reducen los niveles de la superficie celular) de CD33 con una concentración eficaz media máxima (EC_{50}) menor que la de un anticuerpo de
 - 25 referencia o comparativo (por ejemplo, un anticuerpo anti-CD33 que comprende una región variable de cadena pesada que comprende la secuencia de la SEQ ID NO: 3 y una región variable de cadena ligera que comprende la secuencia de la SEQ ID NO: 4).
- El nivel celular de CD33 puede hacer referencia, de modo no taxativo, al nivel de CD33 en la superficie celular, el nivel intracelular de CD33 y el nivel total de CD33. En algunas
- 30 modalidades, una reducción del nivel celular de CD33 comprende una reducción del nivel de CD33 en la superficie celular. En algunas modalidades, los anticuerpos anti-CD33 de la presente descripción que disminuyen el nivel celular de CD33 (por ejemplo, el nivel en superficie celular de CD33) tienen una o más de las siguientes características: (1) inhibe o

reduce una o más actividades de CD33; (2) la capacidad de inhibir o reducir la unión de una CD33 a uno o más de sus ligandos; (3) la capacidad de reducir la expresión de CD33 en células que expresan CD33; (4) la capacidad de interactuar, unirse o reconocer una proteína CD33; (5) la capacidad de interactuar o unirse específicamente a una proteína CD33; y (6) la capacidad de tratar, mejorar o prevenir cualquier aspecto de una enfermedad o trastorno descrito o contemplado en la presente.

Los anticuerpos anti-CD33 de la presente descripción pueden tener afinidades nanomolares o incluso picomolares por el antígeno diana (por ejemplo, CD33 humana). En determinadas modalidades, la constante de disociación (K_D) del anticuerpo es de alrededor de 0,001 a

alrededor de 100 nM. En determinadas modalidades, la K_D del anticuerpo es de alrededor de 0,01 nM a alrededor de 10 nM. En determinadas modalidades, la K_D del anticuerpo es de alrededor de 0,23 nM a alrededor de 3,88 nM. En algunas modalidades, la K_D del anticuerpo es menor o igual a alrededor de 100 nM, 90 nM, 80 nM, 70 nM, 60 nM, 50 nM, 40 nM, 30 nM, 20 nM, 10 nM, 9,5 nM, 9 nM, 8,5 nM, 8 nM, 7,5 nM, 7 nM, 6,5 nM, 6 nM, 5,5 nM, 5 nM,

4,5 nM, 4 nM, 3,5 nM, 3 nM, 2,5 nM, 2 nM, 1,5 nM, 1 nM, 0,9 nM, 0,8 nM, 0,7 nM, 0,6 nM, 0,5 nM, 0,4 nM, 0,3 nM, 0,2 nM, 0,1 nM, 0,05 nM, 0,01 nM o 0,005 nM. En algunas modalidades, la K_D del anticuerpo es inferior a alrededor de 0,40 nM. En algunas modalidades, la K_D del anticuerpo es inferior a alrededor de 0,30 nM. En algunas modalidades, la K_D del anticuerpo es inferior a alrededor de 0,20 nM. En algunas modalidades, la K_D es menor que alrededor de 0,10 nM. En algunas modalidades, la K_D del anticuerpo es de alrededor de 0,061 nM. En algunas modalidades, la K_D del anticuerpo es mayor o igual a alrededor de 0,001 nM, 0,005 nM, 0,01 nM, 0,05 nM, 0,1 nM, 0,2 nM, 0,3 nM, 0,4 nM, 0,5 nM, 0,6 nM, 0,7 nM, 0,8 nM, 0,9 nM, 1 nM, 1,5 nM, 2 nM, 2,5 nM, 3 nM, 3,5 nM, 4 nM, 4,5 nM, 5 nM, 5,5 nM, 6 nM, 6,5 nM, 7 nM, 7,5 nM, 8 nM, 8,5 nM, 9 nM, 9,5 nM, 10 nM, 20 nM, 30 nM, 40 nM, 50 nM, 60 nM, 70 nM, 80 nM, o 90 nM. Es decir, la K_D del anticuerpo puede ser cualquiera de una variedad de afinidades con un límite superior de alrededor de 100 nM, 90 nM, 80 nM, 70 nM, 60 nM, 50 nM, 40 nM, 30 nM, 20 nM, 10 nM, 9,5 nM, 9 nM, 8,5 nM, 8 nM, 7,5 nM, 7 nM, 6,5 nM, 6 nM, 5,5 nM, 5 nM, 4,5 nM, 4 nM, 3,5 nM, 3 nM, 2,5 nM, 2 nM, 1,5 nM, 1 nM, 0,9 nM, 0,8 nM, 0,7 nM, 0,6 nM, 0,5 nM, 0,4 nM, 0,3 nM, 0,2 nM, 0,1 nM, 0,05 nM, 0,01 nM o 0,005 nM, y un límite inferior seleccionado independientemente de alrededor de 0,001 nM, 0,005 nM, 0,01 nM, 0,05 nM, 0,1 nM, 0,2 nM, 0,3 nM, 0,4 nM, 0,5 nM, 0,6 nM, 0,7 nM, 0,8 nM, 0,9 nM, 1 nM, 1,5 nM, 2 nM, 2,5 nM, 3 nM, 3,5 nM, 4 nM, 4,5 nM, 5 nM, 5,5 nM, 6 nM, 6,5 nM, 7 nM, 7,5 nM, 8 nM, 8,5 nM, 9 nM, 9,5 nM, 10 nM, 20 nM, 30 nM, 40 nM, 50 nM, 60 nM, 70 nM, 80 nM, o 90 nM, en donde el límite inferior es menor que el límite superior. En algunas modalidades, la K_D del anticuerpo es cualquiera de alrededor de 10 nM, alrededor de 9 nM, alrededor de 8 nM, alrededor de 7 nM, alrededor de 6 nM, alrededor de 5 nM, alrededor de 4 nM, alrededor de 3 nM, alrededor

de 2 nM, alrededor de 1 nM, alrededor de 900 pM, alrededor de 800 pM, alrededor de 700 pM, alrededor de 600 pM, alrededor de 500 pM, alrededor de 400 pM, alrededor de 300 pM, alrededor de 200 pM o alrededor de 100 pM. Se conocen en la técnica diversos métodos para medir la afinidad del anticuerpo, y estos incluyen, por ejemplo, el uso de resonancia de plasmones superficiales o interferometría de biocapas (véase, por ejemplo, el Ejemplo 3 más adelante). En algunas modalidades, la K_D de CD33 se determina a una temperatura de aproximadamente 25 °C. En algunas modalidades, la K_D de CD33 se determina a una temperatura de aproximadamente 4 °C. En algunas modalidades, la K_D se determina mediante el uso de un anticuerpo monovalente (por ejemplo, un Fab) o un anticuerpo de longitud completa en forma monovalente. En algunas modalidades, la K_D se determina mediante el uso de un anticuerpo bivalente y una proteína CD33 recombinante monomérica. En algunas modalidades, los anticuerpos anti-CD33 de la presente descripción tienen una constante de disociación menor (K_D) por CD33 que un anticuerpo anti-CD33 de referencia (por ejemplo, un anticuerpo anti-CD33 que comprende una región variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 3 y una región variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 4). En algunas modalidades, los anticuerpos anti-CD33 de la presente descripción tienen una K_D para una diana (por ejemplo, CD33 humana) al menos alrededor de 5 %, al menos alrededor de 10 %, al menos alrededor de 15 %, al menos alrededor de 20 %, al menos alrededor de 25 %, al menos alrededor de 30 %, al menos alrededor de 35 %, al menos alrededor de 40 %, al menos alrededor de 45 %, al menos alrededor de 50 %, al menos alrededor de 55 %, al menos alrededor de 60 %, al menos alrededor de 65 %, al menos alrededor de 70 %, al menos alrededor de 75 %, al menos alrededor de 80 %, al menos alrededor de 85 %, al menos alrededor de 90 %, al menos alrededor de 95 % o al menos alrededor de 99 % menor que la K_D de un anticuerpo anti-CD33 de referencia para la diana (por ejemplo, un anticuerpo anti-CD33 que comprende una región variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 3 y una región variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 4). En algunas modalidades, los anticuerpos anti-CD33 de la presente descripción tienen una K_D para una diana (por ejemplo, CD33 humana) que es al menos alrededor de 1 vez, al menos alrededor de 1,1 veces, al menos alrededor de 1,5 veces, al menos alrededor de 2 veces, al menos alrededor de 3 veces, al menos alrededor de 4 veces, al menos alrededor de 5 veces, al menos alrededor de 6 veces, al menos alrededor de 7 veces, al menos alrededor de 8 veces, al menos alrededor de 9 veces, al menos alrededor de 10 veces, al menos alrededor de 12,5 veces, al menos alrededor de 15 veces, al menos alrededor de 17,5 veces, al menos alrededor de 20 veces, al menos alrededor de 22,5 veces, al menos alrededor de 25 veces, al menos alrededor de 27,5 veces, al menos alrededor de 30 veces,

al menos alrededor de 50 veces o al menos alrededor de 100 veces menor que la K_D de un anticuerpo anti-CD33 de referencia para la diana (por ejemplo, un anticuerpo anti-CD33 que comprende una región variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 3 y una región variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 4). En algunas modalidades, los anticuerpos anti-CD33 de la presente descripción tienen una K_D para CD33 humana al menos 7 veces mayor que un anticuerpo anti-CD33 con una región variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 3 y una región variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 4. En algunas modalidades, los anticuerpos anti-CD33 de la presente descripción tienen una K_D para CD33 humana al menos 1,8 veces mayor que un anticuerpo anti-CD33 con una región variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 3 y una región variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 4. En algunas modalidades, la afinidad se mide mediante resonancia de plasmones superficiales. En algunas modalidades, la afinidad se mide a una temperatura de aproximadamente 25 °C. En algunas modalidades, la afinidad se mide a una temperatura de aproximadamente 4 °C. En algunas modalidades, la afinidad se mide con el enfoque experimental tal como se describe en los Ejemplos más adelante.

Los anticuerpos anti-CD33 de la presente descripción pueden disminuir el nivel celular (por ejemplo, el nivel en la superficie celular) de CD33 con una concentración eficaz media máxima (EC_{50}) (por ejemplo, al medirse *in vitro* mediante el uso de células dendríticas primarias humanas) en el intervalo picomolar. En determinadas modalidades, la EC_{50} del anticuerpo es de alrededor de 0,1 pM a alrededor de 500 pM. En determinadas modalidades, la EC_{50} del anticuerpo es de alrededor de 1 pM a alrededor de 250 pM. En determinadas modalidades, la EC_{50} del anticuerpo es de alrededor de 27 pM a alrededor de 40 pM. En determinadas modalidades, la EC_{50} del anticuerpo es de alrededor de 78 pM a alrededor de 40 pM. En algunas modalidades, la EC_{50} del anticuerpo es igual o menor que alrededor de 500 pM, 400 pM, 300 pM, 250 pM, 225 pM, 200 pM, 175 pM, 150 pM, 125 pM, 100 pM, 75 pM, 50 pM, 25 pM, 10 pM, 1 pM o 0,5 pM. En algunas modalidades, la EC_{50} del anticuerpo es menor que alrededor de 74,3 pM. En algunas modalidades, la EC_{50} del anticuerpo es igual o mayor que alrededor de 0,1 pM, 0,5 pM, 1 pM, 10 pM, 25 pM, 50 pM, 75 pM, 100 pM, 125 pM, 150 pM, 175 pM, 200 pM, 225 pM, 250 pM, 300 pM o 400 pM. Es decir, la EC_{50} del anticuerpo puede encontrarse en cualquier intervalo con un límite superior de alrededor de 500 pM, 400 pM, 300 pM, 250 pM, 225 pM, 200 pM, 175 pM, 150 pM, 125 pM, 100 pM, 75 pM, 50 pM, 25 pM, 10 pM, 1 pM o 0,5 pM, y un límite inferior seleccionado independientemente de alrededor de 0,1 pM, 0,5 pM, 1 pM, 10 pM, 25 pM, 50 pM, 75 pM, 100 pM, 125 pM, 150 pM, 175 pM, 200 pM, 225 pM, 250 pM, 300 pM o 400 pM, en donde el

límite inferior es menor que el límite superior. En algunas modalidades, la EC₅₀ del anticuerpo es cualquiera de alrededor de 1 pM, 2 pM, 3 pM, 4 pM, 5 pM, 6 pM, 7 pM, 8 pM, 9 pM, 10 pM, 15 pM, 20 pM, 25 pM, 30 pM, 35 pM, 40 pM, 45 pM, 50 pM, 55 pM, 60 pM, 65 pM, 70 pM, 75 pM, 80 pM, 85 pM, 90 pM, 95 pM, 100 pM, 105 pM, 110 pM, 115 pM, 120 pM, 125 pM, 130 pM, 135 pM, 140 pM, 145 pM, 150 pM, 155 pM, 160 pM, 165 pM, 170 pM, 175 pM, 180 pM, 185 pM, 190 pM, 195 pM, o 200 pM. Se conocen en la técnica diversos métodos para medir la EC₅₀ del anticuerpo, y estos incluyen, por ejemplo, citometría de flujo (véase, por ejemplo, el Ejemplo 3 más adelante). En algunas modalidades, la EC₅₀ se mide *in vitro* mediante el uso de células dendríticas primarias humanas. En algunas modalidades, la EC₅₀ se mide *in vitro* mediante el uso de monocitos primarios humanos. En algunas modalidades, la EC₅₀ se mide *in vitro* mediante el uso de macrófagos primarios humanos. En algunas modalidades, la EC₅₀ se mide *in vitro* mediante el uso de células cultivadas transfectadas con CD33 humana. En algunas modalidades, la EC₅₀ se mide a una temperatura de aproximadamente 4 °C. En algunas modalidades, la EC₅₀ se mide a una temperatura de aproximadamente 25 °C. En algunas modalidades, la EC₅₀ se mide a una temperatura de aproximadamente 35 °C. En algunas modalidades, la EC₅₀ se mide a una temperatura de aproximadamente 37 °C. En algunas modalidades, la EC₅₀ se determina mediante el uso de un anticuerpo monovalente (por ejemplo, un Fab) o un anticuerpo de longitud completa en forma monovalente. En algunas modalidades, la EC₅₀ se determina mediante el uso de anticuerpos que contienen regiones constantes que demuestran una unión al receptor de Fc potenciada. En algunas modalidades, la EC₅₀ se determina mediante el uso de anticuerpos que contienen regiones constantes que demuestran una unión al receptor de Fc disminuida.

En algunas modalidades, los anticuerpos anti-CD33 de la presente descripción disminuyen el nivel celular (por ejemplo, disminuyen o reducen el nivel en superficie celular) de CD33 con una EC₅₀ menor (por ejemplo, medida *in vitro* con células dendríticas primarias humanas) que un anticuerpo anti-CD33 de referencia (por ejemplo, un anticuerpo anti-CD33 que comprende una región variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 3 y una región variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 4). En algunas modalidades, los anticuerpos anti-CD33 de la presente descripción disminuyen el nivel celular (por ejemplo, disminuyen o reducen el nivel en la superficie celular) de CD33 con una EC₅₀ al menos alrededor de 5 %, al menos alrededor de 10 %, al menos alrededor de 15 %, al menos alrededor de 20 %, al menos alrededor de 25 %, al menos alrededor de 30 %, al menos alrededor de 35 %, al menos alrededor de 40 %, al menos alrededor de 45 %, al menos alrededor de 50 %, al menos alrededor de 55 %, al menos alrededor de 60 %, al menos alrededor de 65 %, al menos alrededor de 70 %, al menos alrededor de 75 %, al menos alrededor de 80 %, al

menos alrededor de 85 %, al menos alrededor de 90 %, al menos alrededor de 95 % o al menos alrededor de 99 % menor que la EC_{50} de un anticuerpo anti-CD33 de referencia (por ejemplo, un anticuerpo anti-CD33 que comprende una región variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 3 y una región variable de

5 cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 4). En algunas modalidades, los anticuerpos anti-CD33 de la presente descripción disminuyen el nivel celular (por ejemplo, disminuye o reduce el nivel en la superficie celular) de CD33 con una EC_{50} que es al menos alrededor de 1 vez, al menos alrededor de 1,1 veces, al menos

10 alrededor de 1,5 veces, al menos alrededor de 2 veces, al menos alrededor de 3 veces, al menos alrededor de 4 veces, al menos alrededor de 5 veces, al menos alrededor de 6 veces, al menos alrededor de 7 veces, al menos alrededor de 8 veces, al menos alrededor de 9 veces, al menos alrededor de 10 veces, al menos alrededor de 12,5 veces, al menos

15 alrededor de 15 veces, al menos alrededor de 17,5 veces, al menos alrededor de 20 veces, al menos alrededor de 22,5 veces, al menos alrededor de 25 veces, al menos alrededor de 27,5 veces, al menos alrededor de 30 veces, al menos alrededor de 50 veces o al menos alrededor de 100 veces menor que la EC_{50} de un anticuerpo anti-CD33 de referencia (por

20 ejemplo, un anticuerpo anti-CD33 que comprende una región variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 3 y una región variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 4). En algunas modalidades, los anticuerpos anti-CD33 de la presente descripción tienen una EC_{50} al menos 1,2 veces a 1,6 veces o 1,1 veces a 1,6 veces menor que un anticuerpo anti-CD33

25 con una región variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 3 y una región variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 4. En algunas modalidades, la EC_{50} se mide *in vitro* mediante el uso de células dendríticas humanas primarias. En algunas modalidades, la EC_{50} se mide *in vitro* mediante el uso de monocitos humanos primarios. En algunas

30 modalidades, la EC_{50} se mide *in vitro* mediante el uso de macrófagos humanos primarios. En algunas modalidades, la EC_{50} se mide *in vitro* mediante el uso de células cultivadas transfectadas con CD33 humana. En algunas modalidades, la EC_{50} se mide mediante citometría de flujo. En algunas modalidades, la EC_{50} se mide a una temperatura de aproximadamente 25 °C. En

35 algunas modalidades, la EC_{50} se mide a una temperatura de aproximadamente 35 °C. En algunas modalidades, la EC_{50} se mide a una temperatura de aproximadamente 37 °C. En algunas modalidades, la EC_{50} se determina mediante el uso de anticuerpos que contienen regiones constantes que demuestran una unión al receptor de Fc potenciada. En algunas

modalidades, la EC_{50} se determina mediante el uso de anticuerpos que contienen regiones constantes que demuestran una unión al receptor de Fc disminuida. En algunas modalidades, la EC_{50} se mide mediante el uso del enfoque experimental descrito en el

Ejemplo 3 que figura más adelante.

Puede utilizarse cualquier ensayo a base de células *in vitro* o modelo *in vivo* adecuado descrito en la presente o conocido en la técnica para medir la inhibición de la interacción (por ejemplo, unión) entre CD33 y uno o más ligandos de CD33. En algunas modalidades,

- 5 los anticuerpos anti-CD33 de la presente descripción inhiben la interacción (por ejemplo, unión) entre CD33 y uno o más ligandos de CD33 al menos 21 %, al menos 22 %, al menos 23 %, al menos 24 %, al menos 25 %, al menos 26 %, al menos 27 %, al menos 28 %, al menos 29 %, al menos 30 %, al menos 31 %, al menos 32 %, al menos 33 %, al menos 34 %, al menos 35 %, al menos 36 %, al menos 37 %, al menos 38 %, al menos 39 %, al
 - 10 menos 40 %, al menos 41 %, al menos 42 %, al menos 43 %, al menos 44 %, al menos 45 %, al menos 46 %, al menos 47 %, al menos 48 %, al menos 49 %, al menos 50 %, al menos 51 %, al menos 52 %, al menos 53 %, al menos 54 %, al menos 55 %, al menos 56 %, al menos 57 %, al menos 58 %, al menos 59 %, al menos 60 %, al menos 61 %, al menos 62 %, al menos 63 %, al menos 64 %, al menos 65 %, al menos 66 %, al menos
 - 15 67 %, al menos 68 %, al menos 69 %, al menos 70 %, al menos 71 %, al menos 72 %, al menos 73 %, al menos 74 %, al menos 75 %, al menos 76 %, al menos 77 %, al menos 78 %, al menos 79 %, al menos 80 %, al menos 81 %, al menos 82 %, al menos 83 %, al menos 84 %, al menos 85 %, al menos 86 %, al menos 87 %, al menos 88 %, al menos 89 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al
 - 20 menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o más a concentraciones de saturación de anticuerpo mediante el uso de cualquier ensayo *in vitro* o ensayo de cultivo a base de células descritos en la presente o conocidos en la técnica.
- En algunas modalidades, los anticuerpos anti-CD33 de la presente descripción inhiben la agrupación de CD33 en la superficie celular. En algunas modalidades, los anticuerpos anti-
- 25 CD33 de la presente descripción inhiben una o más actividades de una proteína CD33, inclusive, de modo no taxativo, contrarrestar uno o más de la fosforilación de Tyr-340 y Tyr-358 con una tirosina cinasa de la familia Src, tal como LCK y FYN; reclutar y unirse a las fosfatasa de proteína específicas de tirosina SHP1 y SHP2; reclutar y unirse a PLC-
 - 30 gamma1, que actúa como factor de intercambio de nucleótidos de guanina para Dynamin-1; reclutar y unirse a la proteína que contiene el dominio SH2 (por ejemplo, Crkl); reclutar y unirse a la tirosina cinasa esplénica Syk; reclutar y unirse a la proteína 2 de unión al receptor del factor de crecimiento SH3-SH2-SH3 (Grb2); reclutar y unirse a múltiples proteínas que contienen SH2; fosforilar Ser-307 y Ser-342 mediante la proteína cinasa C; expresar de
 - 35 forma modulada una o más citocinas antiinflamatorias, IL-4, IL-10, IL-13, IL-35, IL-16, TGF-beta, IL-1Ra, G-CSF y receptores solubles para TNF, IFN-beta1a, IFN-beta1b o IL-6 en monocitos, macrófagos, linfocitos T, células dendríticas, neutrófilos y/o microglía; disminuir la movilización del calcio intracelular; expresar en forma modulada una o más citocinas

proinflamatorias IFN- α 4, IFN- β , IL-1 β , TNF- α , IL-6, IL-8, CRP, integrantes de la familia IL-20, LIF, IFN-gamma, OSM, CNTF, GM-CSF, IL-11, IL-12, IL-17, IL-18, IL-23, CXCL10, IL-33, CRP, IL-33, MCP-1 y MIP-1-beta en monocitos, macrófagos, linfocitos T, células dendríticas, neutrófilos y/o microglía; expresar en forma modulada una o más proteínas que se

5 seleccionan de C1qa, C1qB, C1qC, C1s, C1R, C4, C2, C3, ITGB2, HMOX1, LAT2, CASP1, CSTA, VSIG4, MS4A4A, C3AR1, GPX1, TyroBP, ALOX5AP, ITGAM, SLC7A7, CD4, ITGAX, PYCARD, CD14, CD16, HLA-DR y CCR2; inhibir la fosforilación extracelular cinasa regulada por señales (ERK, por su sigla en inglés); disminuir la fosforilación de tirosina en múltiples proteínas celulares; expresar en forma modulada el receptor 7 de quimiocina C-C (CCR7);

10 inhibir la quimiotaxia celular microglial hacia CCL19 y CCL21 que expresan las células; activar la fosfoinositida 3-cinasa; reducir el crecimiento celular de monocitos, macrófagos, linfocitos T, células dendríticas y/o microglía; reducir la proliferación de linfocitos T mediante células dendríticas, células dendríticas derivadas de médula ósea, monocitos, microglía, microglía M1, microglía M1 activada, microglía M2, macrófagos, macrófagos M1,

15 macrófagos M1 y/o macrófagos M2 activados; inhibir la producción de osteoclastos, disminuir la velocidad de la osteoclastogénesis, o ambas; disminuir la supervivencia de neutrófilos, células dendríticas, células dendríticas derivadas de médula ósea, macrófagos, macrófagos M1, macrófagos M1 activados, macrófagos M2, monocitos, osteoclastos, linfocitos T, linfocitos T cooperadores, linfocitos T citotóxicos, granulocitos, microglía,

20 microglía M1, microglía M1 activada y/o microglía M2; disminuir la proliferación de neutrófilos, células dendríticas, células dendríticas derivadas de médula ósea, macrófagos, macrófagos M1, macrófagos M1 activados, macrófagos M2, monocitos, osteoclastos, linfocitos T, linfocitos T cooperadores, linfocitos T citotóxicos, granulocitos, microglía, microglía M1, microglía M1 activada y/o microglía M2; inhibir la migración de neutrófilos,

25 células dendríticas, células dendríticas derivadas de médula ósea, macrófagos, macrófagos M1, macrófagos M1 activados, macrófagos M2, monocitos, osteoclastos, linfocitos T, linfocitos T cooperadores, linfocitos T citotóxicos, granulocitos, microglía, microglía M1, microglía M1 activada y/o microglía M2; disminuir una o más funciones de neutrófilos, células dendríticas, células dendríticas derivadas de médula ósea, macrófagos, macrófagos

30 M1, macrófagos M1 activados, macrófagos M2, monocitos, osteoclastos, linfocitos T, linfocitos T cooperadores, linfocitos T citotóxicos, granulocitos, microglía, microglía M1, microglía M1 activada y/o microglía M2; inhibir la maduración de neutrófilos, células dendríticas, células dendríticas derivadas de médula ósea, macrófagos, macrófagos M1, macrófagos M1 activados, macrófagos M2, monocitos, osteoclastos, linfocitos T, linfocitos T

35 cooperadores, linfocitos T citotóxicos, granulocitos, microglía, microglía M1, microglía M1 activada y/o microglía M2; aumentar la muerte y apoptosis celular de monocitos, macrófagos, linfocitos T, células dendríticas, neutrófilos y/o microglía; reducir la actividad

fagocítica de monocitos, macrófagos, linfocitos T, células dendríticas, neutrófilos y/o microglía; reducir la proliferación de monocitos, macrófagos, linfocitos T, células dendríticas, neutrófilos y/o microglía; reducir la funcionalidad general de monocitos, macrófagos, linfocitos T, células dendríticas, neutrófilos y/o microglía, fosforilar un receptor que contiene

5 ITAM; fosforilar una molécula de señalización que medie la señalización de ITAM; reducir la activación de los receptores de reconocimiento de patrones; reducir la activación de receptores de tipo Toll; reducir la activación de depuración asociada a daños de los restos celulares y proteicos; interactuar entre CD33 y uno o más de sus ligandos; interactuar entre CD33 y un correceptor tal como CD64; reducir uno o más tipos de depuración que se

10 selecciona de depuración neuronal apoptótica, depuración de desecho tisular nervioso, depuración de sinapsis disfuncional, depuración de desecho tisular que no sea nervioso, depuración de bacterias y otros cuerpos extraños, depuración de proteínas que provocan enfermedades y depuración de células tumorales; inhibir la fagocitosis de uno o más de neuronas apoptóticas, desecho tisular nervioso, desecho tisular no nervioso, bacterias, otros

15 cuerpos extraños, proteínas que provocan enfermedades, péptidos que provocan enfermedades, ácido nucleico que provoca enfermedades, lípidos que provocan enfermedades o células tumorales; inhibir la depuración de un ácido nucleico que provoca enfermedades, tal como el ácido nucleico que provoca enfermedades que es ARN de expansión de repetición GGCCCC (G2C4) de antisentido; activar la depuración de una

20 proteína que provoca enfermedades, que se selecciona de beta amiloidea, placas beta amiloideas, proteína precursora amiloidea o fragmentos de esta, Tau, IAPP, sinucleína alfa, TDP-43, proteína FUS, C9orf72 (marco abierto de lectura 72 del cromosoma 9), proteína c9RAN, proteína priónica, PrPSc, huntingtina, calcitonina, superóxido dismutasa, ataxina, ataxina 1, ataxina 2, ataxina 3, ataxina 7, ataxina 8, ataxina 10, cuerpo de Lewy, factor

25 natriurético atrial, polipéptido amiloideo de islotes, insulina, apolipoproteína AI, amiloidea A en suero, medina, prolactina, transtirretina, lisozima, microglobulina beta 2, gelsolina, queratoepitelina, cistatina, cadena ligera de inmunoglobulina AL, proteína S-IBM, productos de traducción no ATG asociados a la repetición (RAN), péptidos de repetición dipeptídica (DPR), péptidos de repetición de glicina-alanina (GA), péptidos de repetición de glicina-

30 prolina (GP), péptidos de repetición de glicina-arginina (GR), péptidos de repetición de prolina-alanina (PA), ubiquitina y péptidos de repetición de prolina-arginina (PR); inhibición de la respuesta inmunitaria beneficiosa a diferentes tipos de cáncer que se seleccionan de cáncer de vejiga, cáncer encefálico, cáncer de mama, cáncer de colon, cáncer de recto, cáncer de endometrio, cáncer de riñón, cáncer de células renales, cáncer de pelvis renal,

35 leucemia, carcinoma broncopulmonar, melanoma, linfoma no hodgkiniano, leucemia mieloide aguda, cáncer de páncreas, cáncer de próstata, cáncer de ovario, fibrosarcoma y cáncer de tiroides; inhibición de la respuesta inmunitaria beneficiosa a diferentes tipos de

trastornos nerviosos que se seleccionan de demencia, demencia frontotemporal, enfermedad de Alzheimer, demencia vascular, demencia mixta, enfermedad de Creutzfeldt-Jakob, hidrocefalia normotensiva, esclerosis lateral amiotrófica, corea de Huntington, tauopatía, enfermedad de Nasu-Hakola, accidente cerebrovascular, traumatismo agudo,

5 traumatismo crónico, temblor hereditario, enfermedad de Behcet, enfermedad de Parkinson, demencia con cuerpos de Lewy, atrofia de múltiples sistemas, síndrome de Shy-Drager, parálisis supranuclear progresiva, degeneración ganglionar basal cortical, encefalomiелitis diseminada aguda, trastornos granulomatosos, sarcoidosis, enfermedades propias de la edad, convulsiones, lesión de la médula espinal, lesión encefálica traumática, degeneración

10 macular relacionada con la edad, glaucoma, retinitis pigmentaria, degeneración de la retina y esclerosis múltiple; inhibición de la respuesta inmunitaria beneficiosa a diferentes tipos de trastornos inflamatorios e infecciosos que se seleccionan de lupus, colitis aguda y crónica, cicatrización de heridas, enfermedad de Crohn, enfermedad intestinal inflamatoria, colitis ulcerosa, obesidad, malaria, infección de las vías respiratorias, sepsis, infección ocular,

15 infección sistémica, lupus, artritis, baja densidad ósea, osteoporosis, osteogénesis, osteopetrosis y enfermedad de Paget de los huesos; unirse al ligando de CD33 en las células tumorales; unirse al ligando de CD33 en las células dendríticas, células dendríticas derivadas de médula ósea, monocitos, microglía, linfocitos T, neutrófilos y/o macrófagos; inhibir la eliminación de células tumorales mediante uno o más de microglía, macrófagos,

20 células dendríticas, células dendríticas derivadas de médula ósea, neutrófilos, linfocitos T, linfocitos T cooperadores o linfocitos T citotóxicos; inhibir la proliferación contra células tumorales de uno o más de microglía, macrófagos, células dendríticas, células dendríticas derivadas de médula ósea, neutrófilos, linfocitos T, linfocitos T cooperadores o linfocitos T citotóxicos; inhibir la actividad de metástasis contra células tumorales de uno o más de

25 microglía, macrófagos, células dendríticas, células dendríticas derivadas de médula ósea, neutrófilos, linfocitos T, linfocitos T cooperadores o linfocitos T citotóxicos; promover las células dendríticas inmunosupresoras, macrófagos inmunosupresores, células supresoras mieloides, macrófagos asociados a tumores o linfocitos T reguladores; inhibir uno o más receptores que contienen motivos de ITAM, tal como TREM1, TREM2, FcγR, DAP10 y

30 DAP12; inhibir uno o más receptores que contienen el motivo D/Ex0–2YxxL/IX6–8YxxL/I (SEQ ID NO: 104); inhibir la señalización mediante uno o más receptores de reconocimiento de patrones (PRR, por su sigla en inglés), tal como receptores que identifican patrones moleculares asociados a patógenos (PAMP) y receptores que identifican patrones moleculares asociados a daños (DAMP, por su sigla en inglés); inhibir la señalización

35 mediante uno o más receptores de tipo Toll; inhibir la vía de señalización de JAK-STAT; inhibir el potenciador de cadena ligera capa de factor nuclear de los linfocitos B activados (NFκB); inhibir la movilización de PLCγ/PKC/calcio; inhibir la señalización de PI3K/Akt,

Ras/MAPK; expresar en forma reducida uno o más receptores inflamatorios, tal como CD86, que se expresa en uno o más de microglía, macrófagos, células dendríticas, células dendríticas derivadas de médula ósea, neutrófilos, linfocitos T, linfocitos T cooperadores o linfocitos T citotóxicos; aumentar la expresión de uno o más genes que dependen de CD33; normalizar la expresión génica interrumpida que depende de CD33; y disminuir la expresión de uno o más genes que dependen de ITAM, tal como factores de transcripción de NFAT.

En algunas modalidades, los anticuerpos anti-CD33 de la presente descripción presentan una o más actividades de una proteína CD33, que incluyen, de modo no taxativo, aumento de la cantidad de linfocitos T CD3⁺ que infiltran tumores; disminución del nivel celular de CD33 en células mieloides CD14⁺, tales como células mieloides CD14⁺ que infiltran tumores y células mieloides CD14⁺ presentes en la sangre; reducción de la cantidad de células mieloides CD14⁺, tales como células mieloides CD14⁺ que infiltran tumores y células mieloides CD14⁺ presentes en la sangre; reducción del nivel de PD-L1, PD-L2, B7-H7, B7-H3, CD200R, CD163 y/o CD206 en una o más células, tales como células supresoras mieloides (MDSC); disminución de la velocidad de crecimiento tumoral de tumores sólidos; reducción del volumen tumoral; aumento de la eficacia de uno o más inhibidores de PD-1; aumento de la eficacia de una o más terapias inhibitoras del punto de control y/o terapias inmunomoduladoras, tales como terapias inhibitoras del punto de control y/o terapias inmunomoduladoras que se dirigen a uno o más de CTL4, la vía de adenosina, PD-L1, PD-L2, OX40, TIM3, LAG3, o cualquier combinación de estos; aumento de la eficacia de uno o más quimioterápicos, opcionalmente en donde el uno o más quimioterápicos son gemcitabina, capecitabina, antraciclinas, doxorubicina (Adriamycin®), epirubicina (Ellence®), taxanos, paclitaxel (Taxol®), docetaxel (Taxotere®), 5-fluorouracilo (5-FU), ciclofosfamida (Cytosan®), carboplatino (Paraplatin®), oxaliplatino (Eloxatin®), leucovorina, temazolamida (Temodar®) y cualquier combinación de estos; aumento de la proliferación de linfocitos T en presencia de células supresoras mieloides (MDSC); inhibición de la diferenciación, supervivencia y/o una o más funciones de las células supresoras mieloides (MDSC); y destrucción de células mieloides no tumorigénicas inmunosupresoras que expresan CD33 y/o células que expresan CD14 no tumorigénicas en tumores sólidos y vasos sanguíneos asociados cuando se conjugan a un químico o toxina radiactiva.

En algunas modalidades, los anticuerpos anti-CD33 inhiben la interacción (por ejemplo, unión) entre una proteína CD33 de la presente descripción y uno o más ligandos de CD33 que incluyen, de modo no taxativo, ligandos de CD33 expresados en eritrocitos, ligandos de CD33 expresados en células bacterianas, ligandos de CD33 expresados en células apoptóticas, ligandos de CD33 expresados en células tumorales, ligandos de CD33 expresados en virus, ligandos de CD33 expresados en células dendríticas, ligandos de CD33 expresados en células nerviosas, ligandos de CD33 expresados en células gliales,

ligandos de CD33 expresados en microglía, ligandos de CD33 expresados en astrocitos, ligandos de CD33 en placas beta amiloideas, ligandos de CD33 en ovillos de Tau, ligandos de CD33 en proteínas que provocan enfermedades, ligandos de CD33 en péptidos que provocan enfermedades, ligandos de CD33 expresados en macrófagos, ligandos de CD33 expresados en linfocitos citolíticos naturales, ligandos de CD33 expresados en linfocitos T, ligandos de CD33 expresados en linfocitos T cooperadores, ligandos de CD33 expresados en linfocitos T citotóxicos, ligandos de CD33 expresados en linfocitos B, ligandos de CD33 expresados en células dendríticas inmunosupresoras incrustadas en tumores, ligandos de CD33 expresados en macrófagos inmunosupresores incrustados en tumores, ligandos de CD33 expresados en células supresoras mieloides, ligandos de CD33 expresados en linfocitos T reguladores, mucinas secretadas, ácido siálico, glucolípidos que contienen ácido siálico, glucoproteínas que contienen ácido siálico, glucolípidos que contienen ácido siálico alfa-2,6 enlazados, glucoproteínas que contienen ácido siálico alfa-2,6 enlazadas, glucolípidos que contienen ácido siálico alfa-2,3 enlazados, glucoproteínas que contienen ácido siálico alfa-2,3 enlazadas, glucoproteína de alfa-1-ácido (AGP), proteína CD24 y gangliósidos.

En algunas modalidades, los anticuerpos anti-CD33 de la presente descripción se unen a una proteína CD33 de la presente descripción expresada en la superficie de la célula y los anticuerpos no marcados inhiben la interacción (por ejemplo, unión) entre la proteína CD33 y uno o más ligandos de CD33. En algunas modalidades, los anticuerpos anti-CD33 de la presente descripción que se unen a una proteína CD33 de la presente inhiben la interacción (por ejemplo, unión) entre la proteína CD33 y uno o más ligandos de CD33 al reducir los niveles eficaces de CD33 disponibles para la interacción con estas proteínas ya sea en la superficie celular o dentro de la célula. En algunas modalidades, los anticuerpos anti-CD33 de la presente descripción que se unen a una proteína CD33 de la presente inhiben la interacción (por ejemplo, unión) entre la proteína CD33 y uno o más ligandos de CD33 al inducir la degradación de CD33.

Tal como se utiliza en la presente, el nivel de CD33 puede hacer referencia al nivel de expresión de genes que codifican CD33; al nivel de expresión de una o más transcripciones que codifican CD33; al nivel de expresión de la proteína CD33; y/o a la cantidad de proteína CD33 presente dentro de células y/o en la superficie celular. Es posible utilizar cualquier método conocido en la técnica para medir el nivel de expresión génica, transcripción, traducción y/o abundancia o localización de proteínas para determinar el nivel de CD33. Además, los anticuerpos anti-CD33 de la presente descripción pueden utilizarse para prevenir, reducir el riesgo o tratar la demencia, demencia frontotemporal, enfermedad de Alzheimer, demencia vascular, demencia mixta, enfermedad de Creutzfeldt-Jakob, hidrocefalia normotensiva, esclerosis lateral amiotrófica, corea de Huntington, tauopatía,

enfermedad de Nasu-Hakola, accidente cerebrovascular, traumatismo agudo, traumatismo crónico, lupus, colitis aguda y crónica, artritis reumatoide, cicatrización de heridas, enfermedad de Crohn, enfermedad intestinal inflamatoria, colitis ulcerosa, obesidad, malaria, temblor hereditario, lupus del sistema nervioso central, enfermedad de Behcet, enfermedad

5 de Parkinson, demencia con cuerpos de Lewy, atrofia multisistémica, síndrome de Shy-Drager, parálisis supranuclear progresiva, degeneración ganglionar corticobasal, encefalomiелitis aguda diseminada, trastornos granulomatosos, sarcoidosis, enfermedades relacionadas con el envejecimiento, convulsiones, lesión de la médula espinal, lesión

10 encefálica traumática, degeneración macular relacionada con la edad, glaucoma, retinitis pigmentaria, degeneración de la retina, infección de las vías respiratorias, sepsis, infección ocular, infección sistémica, lupus, artritis, esclerosis múltiple, baja densidad ósea, osteoporosis, osteogénesis, osteopetrosis, enfermedad de Paget de los huesos, cáncer, que incluye cáncer de vejiga, cáncer encefálico, cáncer de mama, cáncer de colon, cáncer de recto, cáncer de endometrio, cáncer de riñón, cáncer de células renales, cáncer de pelvis

15 renal, leucemia, carcinoma broncopulmonar, melanoma, linfoma no hodgkiniano, cáncer de páncreas, cáncer de próstata, cáncer de ovario, fibrosarcoma, leucemia linfoblástica aguda (ALL), leucemia linfocítica crónica (CLL), leucemia mieloide crónica (CML), mieloma múltiple, policitemia vera, trombocitosis esencial, mielofibrosis primaria o idiopática, mieloesclerosis primaria o idiopática, tumores derivados de células

20 mieloides, tumores que expresan CD33, cáncer de tiroides, infecciones, herpes del CNS, infecciones parasitarias, infección con tripanosomas, infección con *Cruzi*, infección por *Pseudomonas aeruginosa*, infección por *Leishmania donovani*, infección por *Streptococcus* grupo B, infección por *Campylobacter jejuni*, infección por *Neisseria meningitidis*, VIH de tipo I y/o *Haemophilus influenzae*. En algunas modalidades, los anticuerpos anti-CD33 de la

25 presente descripción pueden utilizarse para inducir o promover la supervivencia, maduración, funcionalidad, migración o proliferación de una o más células inmunitarias en un individuo que lo necesite; o para disminuir la actividad, funcionalidad o supervivencia de linfocitos T reguladores, células dendríticas inmunosupresoras incrustadas en tumores, macrófagos inmunosupresores incrustados en tumores, células supresoras mieloides,

30 macrófagos asociados a tumores, células de leucemia mieloide aguda (AML), células de leucemia linfocítica crónica (CLL) y/o células de leucemia mieloide crónica (CML) en un individuo que lo necesita. En algunas modalidades, los anticuerpos anti-CD33 de la presente descripción son anticuerpos monoclonales.

En algunas modalidades, un anticuerpo anti-CD33 aislado de la presente descripción

35 disminuye el nivel celular de CD33 (por ejemplo, el nivel en la superficie celular, el nivel intracelular y/o el nivel total). En algunas modalidades, un anticuerpo anti-CD33 aislado de la presente descripción induce la regulación por disminución de CD33. En algunas

modalidades, un anticuerpo anti-CD33 aislado de la presente descripción induce la escisión de CD33. En algunas modalidades, un anticuerpo anti-CD33 aislado de la presente descripción induce la internalización de CD33. En algunas modalidades, un anticuerpo anti-CD33 aislado de la presente descripción induce la liberación de CD33. En algunas modalidades, un anticuerpo anti-CD33 aislado de la presente descripción induce la degradación de CD33. En algunas modalidades, un anticuerpo anti-CD33 aislado de la presente descripción induce la desensibilización de CD33. En algunas modalidades, un anticuerpo anti-CD33 aislado de la presente descripción actúa como un ligando mimético para activar CD33 de forma transitoria. En algunas modalidades, un anticuerpo anti-CD33 aislado de la presente descripción actúa como un ligando mimético y activa CD33 de forma transitoria antes de inducir una disminución del nivel celular de CD33 y/o la inhibición de la interacción (por ejemplo, unión) entre CD33 y uno o más ligandos de CD33. En algunas modalidades, un anticuerpo anti-CD33 aislado de la presente descripción actúa como un ligando mimético y activa CD33 de forma transitoria antes de inducir la degradación de CD33. En algunas modalidades, un anticuerpo anti-CD33 aislado de la presente descripción actúa como un ligando mimético y activa CD33 de forma transitoria antes de inducir la escisión de CD33. En algunas modalidades, un anticuerpo anti-CD33 aislado de la presente descripción actúa como un ligando mimético y activa CD33 de forma transitoria antes de inducir la internalización de CD33. En algunas modalidades, un anticuerpo anti-CD33 aislado de la presente descripción actúa como un ligando mimético y activa CD33 de forma transitoria antes de inducir la liberación de CD33. En algunas modalidades, un anticuerpo anti-CD33 aislado de la presente descripción actúa como un ligando mimético y activa CD33 de forma transitoria antes de inducir la regulación por disminución de la expresión de CD33. En algunas modalidades, un anticuerpo anti-CD33 aislado de la presente descripción actúa como un ligando mimético y activa CD33 de forma transitoria antes de inducir la desensibilización de CD33.

En algunas modalidades, un anticuerpo anti-CD33 aislado de la presente descripción es un anticuerpo humano, un anticuerpo humanizado, un anticuerpo biespecífico, un anticuerpo monoclonal, un anticuerpo multivalente o un anticuerpo quimérico. Se hallan en la presente descripción ejemplos de descripciones de estos anticuerpos.

En algunas modalidades, los anticuerpos anti-CD33 de la presente descripción se unen a una CD33 humana o a un homólogo de esta, que incluye, de modo no taxativo, una proteína CD33 de mamífero. En algunas modalidades, los anticuerpos anti-CD33 de la presente descripción se unen específicamente a CD33 humana. En algunas modalidades, los anticuerpos anti-CD33 de la presente descripción se unen a CD33 humana y no tienen reactividad cruzada con ortólogos u homólogos de CD33 de otras especies. En algunas modalidades, los anticuerpos anti-CD33 de la presente descripción se unen a CD33 de ser

humano pero no se unen a CD33 de macaco cangrejero. En algunas modalidades, los anticuerpos anti-CD33 de la presente descripción pueden unirse tanto a CD33 de ser humano como a CD33 de macaco cangrejero.

En algunas modalidades, los anticuerpos anti-CD33 de la presente descripción se unen a una proteína CD33 de la presente descripción expresada en la superficie de una célula y modulan (por ejemplo, inducen o inhiben) una o más actividades de CD33 de la presente descripción luego de unirse a la proteína CD33 expresada en la superficie. En algunas modalidades, los anticuerpos anti-CD33 de la presente descripción son anticuerpos inertes.

10 Regiones de unión de anticuerpos anti-CD33

En algunas modalidades, los anticuerpos anti-CD33 de la presente descripción pueden unirse a un epítipo conformacional. En algunas modalidades, los anticuerpos anti-CD33 de la presente descripción pueden unirse a un epítipo de CD33 discontinuo. En algunas modalidades, el epítipo de CD33 discontinuo comprende dos o más péptidos, tres o más péptidos, cuatro o más péptidos, cinco o más péptidos, seis o más péptidos, siete o más péptidos, ocho o más péptidos, nueve o más péptidos o 10 o más péptidos. En algunas modalidades, los anticuerpos anti-CD33 de la presente descripción pueden unirse al epítipo de CD33 que comprende uno o más péptidos. Tal como se describe en la presente, los epítopos de CD33 pueden comprender uno o más péptidos que comprenden cinco o más, seis o más, siete o más, ocho o más, nueve o más, 10 o más, 11 o más, 12 o más, 13 o más, 14 o más, 15 o más, 16 o más, 17 o más, 18 o más, 19 o más o 20 o más residuos de aminoácidos de la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 1, o cinco o más, seis o más, siete o más, ocho o más, nueve o más, 10 o más, 11 o más, 12 o más, 13 o más, 14 o más, 15 o más, 16 o más, 17 o más, 18 o más, 19 o más o 20 o más residuos de aminoácidos en una proteína CD33 de mamífero que corresponde a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 1.

En algunas modalidades, los anticuerpos anti-CD33 de la presente descripción se unen a un epítipo de CD33 humana que es igual o se superpone con el epítipo de CD33 unido por el anticuerpo anti-CD33 que comprende una región variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 3 y una región variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 4. En algunas modalidades, los anticuerpos anti-CD33 de la presente descripción se unen esencialmente al mismo epítipo de CD33 unido por un anticuerpo anti-CD33 que comprende una región variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 3 y una región variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 4. En algunas modalidades, los anticuerpos anti-CD33 de la presente descripción inhiben de manera competitiva la unión de un anticuerpo anti-CD33 que comprende una región variable

de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 3 y una región variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 4. En algunas modalidades, los anticuerpos anti-CD33 de la presente descripción compiten con un anticuerpo anti-CD33 que comprende una región variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 3 y una región variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 4 para unirse a CD33 (por ejemplo, CD33 humana).

En algunas modalidades, los anticuerpos anti-CD33 de la presente descripción inhiben de manera competitiva la unión de al menos un anticuerpo que se selecciona de cualquiera de los anticuerpos enumerados en las **Tablas 7, 8, 9, 10, 11 y 12**. En algunas modalidades, los anticuerpos anti-CD33 de la presente descripción inhiben en forma competitiva la unión de al menos un anticuerpo que se selecciona de 6C7H1, 6C7H2, 6C7H3, 6C7H4, 6C7H5, 6C7H6, 6C7H7, 6C7H8, 6C7H9, 6C7H10, 6C7H11, 6C7H12, 6C7H13, 6C7H14, 6C7H15, 6C7H16, 6C7H17, 6C7H18, 6C7H19, 6C7H20, 6C7H21, 6C7H22, 6C7H23, 6C7H24, 6C7H25, 6C7H26, 6C7H27, 6C7H28, 6C7H29, 6C7H30, 6C7H31, 6C7H32, 6C7H33, 6C7H34, 6C7H35, 6C7H36, 6C7H37, 6C7H38, 6C7H39, 6C7H40, 6C7H41, 6C7H42, 6C7H43, 6C7H44, 6C7H45, 6C7H46, 6C7H47, 6C7H48, 6C7H49, 6C7H50, 6C7H51, 6C7H52, 6C7H53 y 6C7H54, y cualquier combinación de estos. En algunas modalidades, un anticuerpo anti-CD33 de la presente descripción compite con uno o más anticuerpos que se seleccionan de 6C7H1, 6C7H2, 6C7H3, 6C7H4, 6C7H5, 6C7H6, 6C7H7, 6C7H8, 6C7H9, 6C7H10, 6C7H11, 6C7H12, 6C7H13, 6C7H14, 6C7H15, 6C7H16, 6C7H17, 6C7H18, 6C7H19, 6C7H20, 6C7H21, 6C7H22, 6C7H23, 6C7H24, 6C7H25, 6C7H26, 6C7H27, 6C7H28, 6C7H29, 6C7H30, 6C7H31, 6C7H32, 6C7H33, 6C7H34, 6C7H35, 6C7H36, 6C7H37, 6C7H38, 6C7H39, 6C7H40, 6C7H41, 6C7H42, 6C7H43, 6C7H44, 6C7H45, 6C7H46, 6C7H47, 6C7H48, 6C7H49, 6C7H50, 6C7H51, 6C7H52, 6C7H53 y 6C7H54, y cualquier combinación de estos, para unirse a CD33 cuando el anticuerpo anti-CD33 reduce la unión de uno o más anticuerpos que se seleccionan de 6C7H1, 6C7H2, 6C7H3, 6C7H4, 6C7H5, 6C7H6, 6C7H7, 6C7H8, 6C7H9, 6C7H10, 6C7H11, 6C7H12, 6C7H13, 6C7H14, 6C7H15, 6C7H16, 6C7H17, 6C7H18, 6C7H19, 6C7H20, 6C7H21, 6C7H22, 6C7H23, 6C7H24, 6C7H25, 6C7H26, 6C7H27, 6C7H28, 6C7H29, 6C7H30, 6C7H31, 6C7H32, 6C7H33, 6C7H34, 6C7H35, 6C7H36, 6C7H37, 6C7H38, 6C7H39, 6C7H40, 6C7H41, 6C7H42, 6C7H43, 6C7H44, 6C7H45, 6C7H46, 6C7H47, 6C7H48, 6C7H49, 6C7H50, 6C7H51, 6C7H52, 6C7H53 y 6C7H54, y cualquier combinación de estos a CD33 en una cantidad que varía de alrededor de 50 % a 100 %, en comparación con la unión a CD33 en ausencia del anticuerpo anti-CD33. En algunas modalidades, un anticuerpo anti-CD33 de la presente descripción compite con uno o más anticuerpos que se seleccionan de 6C7H1, 6C7H2, 6C7H3, 6C7H4, 6C7H5, 6C7H6, 6C7H7, 6C7H8, 6C7H9, 6C7H10, 6C7H11,

6C7H12, 6C7H13, 6C7H14, 6C7H15, 6C7H16, 6C7H17, 6C7H18, 6C7H19, 6C7H20, 6C7H21, 6C7H22, 6C7H23, 6C7H24, 6C7H25, 6C7H26, 6C7H27, 6C7H28, 6C7H29, 6C7H30, 6C7H31, 6C7H32, 6C7H33, 6C7H34, 6C7H35, 6C7H36, 6C7H37, 6C7H38, 6C7H39, 6C7H40, 6C7H41, 6C7H42, 6C7H43, 6C7H44, 6C7H45, 6C7H46, 6C7H47, 6C7H48, 6C7H49, 6C7H50, 6C7H51, 6C7H52, 6C7H53 y 6C7H54, y cualquier combinación de estos para unirse a CD33 cuando el anticuerpo anti-CD33 reduce la unión de uno o más anticuerpos que se seleccionan de 6C7H1, 6C7H2, 6C7H3, 6C7H4, 6C7H5, 6C7H6, 6C7H7, 6C7H8, 6C7H9, 6C7H10, 6C7H11, 6C7H12, 6C7H13, 6C7H14, 6C7H15, 6C7H16, 6C7H17, 6C7H18, 6C7H19, 6C7H20, 6C7H21, 6C7H22, 6C7H23, 6C7H24, 6C7H25, 6C7H26, 6C7H27, 6C7H28, 6C7H29, 6C7H30, 6C7H31, 6C7H32, 6C7H33, 6C7H34, 6C7H35, 6C7H36, 6C7H37, 6C7H38, 6C7H39, 6C7H40, 6C7H41, 6C7H42, 6C7H43, 6C7H44, 6C7H45, 6C7H46, 6C7H47, 6C7H48, 6C7H49, 6C7H50, 6C7H51, 6C7H52, 6C7H53 y 6C7H54, y cualquier combinación de estos a CD33 en al menos 50 %, al menos 55 %, al menos 60 %, al menos 65 %, al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 95 % o 100 %, en comparación con la unión a CD33 sin el anticuerpo anti-CD33. En algunas modalidades, un anticuerpo anti-CD33 de la presente descripción reduce la unión de uno o más anticuerpos que se seleccionan de 6C7H1, 6C7H2, 6C7H3, 6C7H4, 6C7H5, 6C7H6, 6C7H7, 6C7H8, 6C7H9, 6C7H10, 6C7H11, 6C7H12, 6C7H13, 6C7H14, 6C7H15, 6C7H16, 6C7H17, 6C7H18, 6C7H19, 6C7H20, 6C7H21, 6C7H22, 6C7H23, 6C7H24, 6C7H25, 6C7H26, 6C7H27, 6C7H28, 6C7H29, 6C7H30, 6C7H31, 6C7H32, 6C7H33, 6C7H34, 6C7H35, 6C7H36, 6C7H37, 6C7H38, 6C7H39, 6C7H40, 6C7H41, 6C7H42, 6C7H43, 6C7H44, 6C7H45, 6C7H46, 6C7H47, 6C7H48, 6C7H49, 6C7H50, 6C7H51, 6C7H52, 6C7H53 y 6C7H54, y cualquier combinación de estos a CD33 en un 100 % indica que el anticuerpo anti-CD33 básicamente bloquea por completo la unión de uno o más anticuerpos que se seleccionan de 6C7H1, 6C7H2, 6C7H3, 6C7H4, 6C7H5, 6C7H6, 6C7H7, 6C7H8, 6C7H9, 6C7H10, 6C7H11, 6C7H12, 6C7H13, 6C7H14, 6C7H15, 6C7H16, 6C7H17, 6C7H18, 6C7H19, 6C7H20, 6C7H21, 6C7H22, 6C7H23, 6C7H24, 6C7H25, 6C7H26, 6C7H27, 6C7H28, 6C7H29, 6C7H30, 6C7H31, 6C7H32, 6C7H33, 6C7H34, 6C7H35, 6C7H36, 6C7H37, 6C7H38, 6C7H39, 6C7H40, 6C7H41, 6C7H42, 6C7H43, 6C7H44, 6C7H45, 6C7H46, 6C7H47, 6C7H48, 6C7H49, 6C7H50, 6C7H51, 6C7H52, 6C7H53 y 6C7H54, y cualquier combinación de estos a CD33. En algunas modalidades, el anticuerpo anti-CD33 y el uno o más anticuerpos que se seleccionan de 6C7H1, 6C7H2, 6C7H3, 6C7H4, 6C7H5, 6C7H6, 6C7H7, 6C7H8, 6C7H9, 6C7H10, 6C7H11, 6C7H12, 6C7H13, 6C7H14, 6C7H15, 6C7H16, 6C7H17, 6C7H18, 6C7H19, 6C7H20, 6C7H21, 6C7H22, 6C7H23, 6C7H24, 6C7H25, 6C7H26, 6C7H27, 6C7H28, 6C7H29, 6C7H30, 6C7H31, 6C7H32, 6C7H33, 6C7H34, 6C7H35, 6C7H36, 6C7H37, 6C7H38, 6C7H39, 6C7H40, 6C7H41, 6C7H42, 6C7H43, 6C7H44, 6C7H45,

6C7H46, 6C7H47, 6C7H48, 6C7H49, 6C7H50, 6C7H51, 6C7H52, 6C7H53 y 6C7H54 y cualquier combinación de estos se encuentran presentes en una cantidad que corresponde a un cociente de 10:1, un cociente de 9:1, un cociente de 8:1, un cociente de 7:1, un cociente de 6:1, un cociente de 5:1, un cociente de 4:1, un cociente de 3:1, un cociente de 2:1, un cociente de 1:1, un cociente de 0,75:1, un cociente de 0,5:1, un cociente de 0,25:1, un cociente de 0,1:1, un cociente de 0,075:1, un cociente de 0,050:1, un cociente de 0,025:1, un cociente de 0,01:1, un cociente de 0,0075: , un cociente de 0,0050:1, un cociente de 0,0025:1, un cociente de 0,001:, un cociente de 0,00075:1, un cociente de 0,00050:1, un cociente de 0,00025:1, un cociente de 0,0001:, un cociente de 1:10, un cociente de 1:9, un cociente de 1:8, un cociente de 1:7, un cociente de 1:6, un cociente de 1:5, un cociente de 1:4, un cociente de 1:3, un cociente de 1:2, un cociente de 1:0,75, un cociente de 1:0,5, un cociente de 1:0,25, un cociente de 1:0,1, un cociente de 1:0,075, un cociente de 1:0,050, un cociente de 1:0,025, un cociente de 1:0,01, un cociente de 1:0,0075, un cociente de 1:0,0050, un cociente de 1:0,0025, un cociente de 1:0,001, un cociente de 1:0,00075, un cociente de 1:0,00050, un cociente de 1:0,00025 o un cociente de 1:0,0001 del anticuerpo anti-CD33 respecto a uno o más anticuerpos que se seleccionan de 6C7H1, 6C7H2, 6C7H3, 6C7H4, 6C7H5, 6C7H6, 6C7H7, 6C7H8, 6C7H9, 6C7H10, 6C7H11, 6C7H12, 6C7H13, 6C7H14, 6C7H15, 6C7H16, 6C7H17, 6C7H18, 6C7H19, 6C7H20, 6C7H21, 6C7H22, 6C7H23, 6C7H24, 6C7H25, 6C7H26, 6C7H27, 6C7H28, 6C7H29, 6C7H30, 6C7H31, 6C7H32, 6C7H33, 6C7H34, 6C7H35, 6C7H36, 6C7H37, 6C7H38, 6C7H39, 6C7H40, 6C7H41, 6C7H42, 6C7H43, 6C7H44, 6C7H45, 6C7H46, 6C7H47, 6C7H48, 6C7H49, 6C7H50, 6C7H51, 6C7H52, 6C7H53 y 6C7H54, y cualquier combinación de estos. En algunas modalidades, el anticuerpo anti-CD33 se encuentra presente en exceso en una cantidad que varía de alrededor de 1,5 veces a 100 veces, o mayor que 100 veces en comparación con la cantidad de uno o más anticuerpos que se seleccionan de 6C7H1, 6C7H2, 6C7H3, 6C7H4, 6C7H5, 6C7H6, 6C7H7, 6C7H8, 6C7H9, 6C7H10, 6C7H11, 6C7H12, 6C7H13, 6C7H14, 6C7H15, 6C7H16, 6C7H17, 6C7H18, 6C7H19, 6C7H20, 6C7H21, 6C7H22, 6C7H23, 6C7H24, 6C7H25, 6C7H26, 6C7H27, 6C7H28, 6C7H29, 6C7H30, 6C7H31, 6C7H32, 6C7H33, 6C7H34, 6C7H35, 6C7H36, 6C7H37, 6C7H38, 6C7H39, 6C7H40, 6C7H41, 6C7H42, 6C7H43, 6C7H44, 6C7H45, 6C7H46, 6C7H47, 6C7H48, 6C7H49, 6C7H50, 6C7H51, 6C7H52, 6C7H53 y 6C7H54, y cualquier combinación de estos. En algunas modalidades, el anticuerpo anti-CD33 se encuentra presente en una cantidad que es de alrededor de 2 veces, 3 veces, 4 veces, 5 veces, 6 veces, 7 veces, 8 veces, 9 veces, 10 veces, 15 veces, 20 veces, 25 veces, 30 veces, 35 veces, 40 veces, 45 veces, 50 veces, 55 veces, 60 veces, 65 veces, 70 veces, 75 veces, 80 veces, 85 veces, 90 veces, 95 veces o 100 veces en exceso en comparación con la cantidad de uno o más anticuerpos que se seleccionan de 6C7H1, 6C7H2, 6C7H3, 6C7H4, 6C7H5, 6C7H6, 6C7H7,

6C7H8, 6C7H9, 6C7H10, 6C7H11, 6C7H12, 6C7H13, 6C7H14, 6C7H15, 6C7H16, 6C7H17, 6C7H18, 6C7H19, 6C7H20, 6C7H21, 6C7H22, 6C7H23, 6C7H24, 6C7H25, 6C7H26, 6C7H27, 6C7H28, 6C7H29, 6C7H30, 6C7H31, 6C7H32, 6C7H33, 6C7H34, 6C7H35, 6C7H36, 6C7H37, 6C7H38, 6C7H39, 6C7H40, 6C7H41, 6C7H42, 6C7H43, 6C7H44, 5 6C7H45, 6C7H46, 6C7H47, 6C7H48, 6C7H49, 6C7H50, 6C7H51, 6C7H52, 6C7H53 y 6C7H54, y cualquier combinación de estos.

En algunas modalidades, los anticuerpos anti-CD33 de la presente descripción se unen a un epítipo de CD33 humana que es igual o se superpone con el epítipo de CD33 unido por al menos un anticuerpo que se selecciona de cualquiera de los anticuerpos enumerados en las 10 **Tablas 7, 8, 9, 10, 11 y 12**. En algunas modalidades, los anticuerpos anti-CD33 de la presente descripción se unen a un epítipo de CD33 humana que es el mismo o se superpone con el epítipo de CD33 unido por al menos un anticuerpo que se selecciona de 6C7H1, 6C7H2, 6C7H3, 6C7H4, 6C7H5, 6C7H6, 6C7H7, 6C7H8, 6C7H9, 6C7H10, 6C7H11, 6C7H12, 6C7H13, 6C7H14, 6C7H15, 6C7H16, 6C7H17, 6C7H18, 6C7H19, 6C7H20, 15 6C7H21, 6C7H22, 6C7H23, 6C7H24, 6C7H25, 6C7H26, 6C7H27, 6C7H28, 6C7H29, 6C7H30, 6C7H31, 6C7H32, 6C7H33, 6C7H34, 6C7H35, 6C7H36, 6C7H37, 6C7H38, 6C7H39, 6C7H40, 6C7H41, 6C7H42, 6C7H43, 6C7H44, 6C7H45, 6C7H46, 6C7H47, 6C7H48, 6C7H49, 6C7H50, 6C7H51, 6C7H52, 6C7H53 y 6C7H54.

En algunas modalidades, los anticuerpos anti-CD33 de la presente descripción se unen 20 esencialmente al mismo epítipo de CD33 unido por al menos un anticuerpo que se selecciona de cualquiera de los anticuerpos enumerados en las **Tablas 7, 8, 9, 10, 11 y 12**.

En algunas modalidades, los anticuerpos anti-CD33 de la presente descripción se unen esencialmente al mismo epítipo de CD33 unido por al menos un anticuerpo que se selecciona de 6C7H1, 6C7H2, 6C7H3, 6C7H4, 6C7H5, 6C7H6, 6C7H7, 6C7H8, 6C7H9, 25 6C7H10, 6C7H11, 6C7H12, 6C7H13, 6C7H14, 6C7H15, 6C7H16, 6C7H17, 6C7H18, 6C7H19, 6C7H20, 6C7H21, 6C7H22, 6C7H23, 6C7H24, 6C7H25, 6C7H26, 6C7H27, 6C7H28, 6C7H29, 6C7H30, 6C7H31, 6C7H32, 6C7H33, 6C7H34, 6C7H35, 6C7H36, 6C7H37, 6C7H38, 6C7H39, 6C7H40, 6C7H41, 6C7H42, 6C7H43, 6C7H44, 6C7H45, 6C7H46, 6C7H47, 6C7H48, 6C7H49, 6C7H50, 6C7H51, 6C7H52, 6C7H53 y 6C7H54. Los 30 ejemplos de métodos detallados para mapear un epítipo al cual se une un anticuerpo se proporcionan en Morris (1996) «Epitope Mapping Protocols», en *Methods in Molecular Biology* vol. 66 (Humana Press, Totowa, NJ).

En algunas modalidades, los anticuerpos anti-CD33 de la presente descripción compiten con uno o más anticuerpos que se seleccionan de 6C7H1, 6C7H2, 6C7H3, 6C7H4, 6C7H5, 35 6C7H6, 6C7H7, 6C7H8, 6C7H9, 6C7H10, 6C7H11, 6C7H12, 6C7H13, 6C7H14, 6C7H15, 6C7H16, 6C7H17, 6C7H18, 6C7H19, 6C7H20, 6C7H21, 6C7H22, 6C7H23, 6C7H24, 6C7H25, 6C7H26, 6C7H27, 6C7H28, 6C7H29, 6C7H30, 6C7H31, 6C7H32, 6C7H33,

6C7H34, 6C7H35, 6C7H36, 6C7H37, 6C7H38, 6C7H39, 6C7H40, 6C7H41, 6C7H42, 6C7H43, 6C7H44, 6C7H45, 6C7H46, 6C7H47, 6C7H48, 6C7H49, 6C7H50, 6C7H51, 6C7H52, 6C7H53 y 6C7H54, y cualquier combinación de estos para unirse a CD33 (por ejemplo, CD33 humana).

- 5 Se puede usar cualquier ensayo competitivo adecuado o ensayo de unión a CD33 que se conozca en la técnica, tal como el análisis BIAcore, ensayos ELISA o citometría de flujo, para determinar si un anticuerpo anti-CD33 compete con uno o más anticuerpos que se seleccionan de 6C7H1, 6C7H2, 6C7H3, 6C7H4, 6C7H5, 6C7H6, 6C7H7, 6C7H8, 6C7H9, 6C7H10, 6C7H11, 6C7H12, 6C7H13, 6C7H14, 6C7H15, 6C7H16, 6C7H17, 6C7H18, 10 6C7H19, 6C7H20, 6C7H21, 6C7H22, 6C7H23, 6C7H24, 6C7H25, 6C7H26, 6C7H27, 6C7H28, 6C7H29, 6C7H30, 6C7H31, 6C7H32, 6C7H33, 6C7H34, 6C7H35, 6C7H36, 6C7H37, 6C7H38, 6C7H39, 6C7H40, 6C7H41, 6C7H42, 6C7H43, 6C7H44, 6C7H45, 6C7H46, 6C7H47, 6C7H48, 6C7H49, 6C7H50, 6C7H51, 6C7H52, 6C7H53 y 6C7H54, y cualquier combinación de estos para unirse a CD33. En un ejemplo de ensayo competitivo, 15 la CD33 inmovilizada o células que expresan CD33 en la superficie celular se incuban en una solución que comprende un primer anticuerpo marcado que se une a CD33 (por ejemplo, primate no humano o humano) y un segundo anticuerpo no marcado que se evalúa para determinar su capacidad de competir con el primer anticuerpo por la unión a CD33. El segundo anticuerpo puede estar presente en un sobrenadante de hibridomas. Como 20 testigo, se incubaba CD33 inmovilizada o células que expresan CD33 en una solución que comprende el primer anticuerpo marcado, pero no el segundo anticuerpo no marcado. Después de la incubación en condiciones que permitan la unión del primer anticuerpo a CD33, se elimina el exceso de anticuerpo no unido y se mide la cantidad de marcador asociado a CD33 inmovilizada o células que expresan CD33. Si la cantidad de marcador 25 asociado a CD33 inmovilizada o células que expresan CD33 se reduce sustancialmente en la muestra de prueba en comparación con la muestra de referencia, esto indica que el segundo anticuerpo compete con el primer anticuerpo por la unión a CD33. Véase Harlow y Lane (1988) *Antibodies: A Laboratory Manual* cap. 14 (Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, NY).

30

Regiones variables de cadena pesada y de cadena ligera del anticuerpo anti-CD33

- En algunas modalidades, los anticuerpos anti-CD33 de la presente descripción comprenden una región variable de cadena pesada que comprende una o más (por ejemplo, una o más, dos o más, o las tres) HVR que se seleccionan de HVR-H1, HVR-H2 y HVR-H3 (como se muestra en la **Tabla 7**). En algunas modalidades, la región variable de cadena pesada 35 comprende una HVR-H1, una HVR-H2 y una HVR-H3 (como se muestra en la **Tabla 7**). En algunas modalidades, los anticuerpos anti-CD33 de la presente descripción comprenden

una región variable de cadena ligera que comprende una o más (por ejemplo, una o más, dos o más, o las tres) HVR que se seleccionan de HVR-L1, HVR-L2 y HVR-L3 (como se muestra en la **Tabla 8**). En algunas modalidades, la región variable de cadena pesada comprende una HVR-L1, una HVR-L2 y una HVR-L3 (como se muestra en la **Tabla 8**).

- 5 En algunas modalidades, los anticuerpos anti-CD33 de la presente descripción comprenden (a) una región variable de cadena ligera que comprende al menos una, dos o tres HVR que se seleccionan de HVR-L1, HVR-L2 y HVR-L3 de cualquiera de los anticuerpos que se seleccionan de 6C7H1, 6C7H2, 6C7H3, 6C7H4, 6C7H5, 6C7H6, 6C7H7, 6C7H8, 6C7H9, 6C7H10, 6C7H11, 6C7H12, 6C7H13, 6C7H14, 6C7H15, 6C7H16, 6C7H17, 6C7H18, 6C7H19, 6C7H20, 6C7H21, 6C7H22, 6C7H23, 6C7H24, 6C7H25, 6C7H26, 6C7H27, 6C7H28, 6C7H29, 6C7H30, 6C7H31, 6C7H32, 6C7H33, 6C7H34, 6C7H35, 6C7H36, 6C7H37, 6C7H38, 6C7H39, 6C7H40, 6C7H41, 6C7H42, 6C7H43, 6C7H44, 6C7H45, 6C7H46, 6C7H47, 6C7H48, 6C7H49, 6C7H50, 6C7H51, 6C7H52, 6C7H53, 6C7H54, y cualquier combinación de estos; y/o (b) una región variable de cadena pesada que comprende al menos una, dos o tres HVR que se seleccionan de HVR-H1, HVR-H2 y HVR-H3 de cualquiera de los anticuerpos que se seleccionan de 6C7H1, 6C7H2, 6C7H3, 6C7H4, 6C7H5, 6C7H6, 6C7H7, 6C7H8, 6C7H9, 6C7H10, 6C7H11, 6C7H12, 6C7H13, 6C7H14, 6C7H15, 6C7H16, 6C7H17, 6C7H18, 6C7H19, 6C7H20, 6C7H21, 6C7H22, 6C7H23, 6C7H24, 6C7H25, 6C7H26, 6C7H27, 6C7H28, 6C7H29, 6C7H30, 6C7H31, 6C7H32, 6C7H33, 6C7H34, 6C7H35, 6C7H36, 6C7H37, 6C7H38, 6C7H39, 6C7H40, 6C7H41, 6C7H42, 6C7H43, 6C7H44, 6C7H45, 6C7H46, 6C7H47, 6C7H48, 6C7H49, 6C7H50, 6C7H51, 6C7H52, 6C7H53, 6C7H54 y cualquier combinación de estos. En algunas modalidades, los anticuerpos anti-CD33 de la presente descripción comprenden al menos una, dos, tres, cuatro, cinco o seis HVR que se seleccionan de (i) HVR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de un anticuerpo que se selecciona de 6C7H1, 6C7H2, 6C7H3, 6C7H4, 6C7H5, 6C7H6, 6C7H7, 6C7H8, 6C7H9, 6C7H10, 6C7H11, 6C7H12, 6C7H13, 6C7H14, 6C7H15, 6C7H16, 6C7H17, 6C7H18, 6C7H19, 6C7H20, 6C7H21, 6C7H22, 6C7H23, 6C7H24, 6C7H25, 6C7H26, 6C7H27, 6C7H28, 6C7H29, 6C7H30, 6C7H31, 6C7H32, 6C7H33, 6C7H34, 6C7H35, 6C7H36, 6C7H37, 6C7H38, 6C7H39, 6C7H40, 6C7H41, 6C7H42, 6C7H43, 6C7H44, 6C7H45, 6C7H46, 6C7H47, 6C7H48, 6C7H49, 6C7H50, 6C7H51, 6C7H52, 6C7H53 y 6C7H54; (ii) HVR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de un anticuerpo que se selecciona de 6C7H1, 6C7H2, 6C7H3, 6C7H4, 6C7H5, 6C7H6, 6C7H7, 6C7H8, 6C7H9, 6C7H10, 6C7H11, 6C7H12, 6C7H13, 6C7H14, 6C7H15, 6C7H16, 6C7H17, 6C7H18, 6C7H19, 6C7H20, 6C7H21, 6C7H22, 6C7H23, 6C7H24, 6C7H25, 6C7H26, 6C7H27, 6C7H28, 6C7H29, 6C7H30, 6C7H31, 6C7H32, 6C7H33, 6C7H34, 6C7H35, 6C7H36, 6C7H37, 6C7H38, 6C7H39, 6C7H40, 6C7H41, 6C7H42, 6C7H43, 6C7H44, 6C7H45, 6C7H46, 6C7H47, 6C7H48, 6C7H49, 6C7H50,

6C7H51, 6C7H52, 6C7H53 y 6C7H54; (iii) HVR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de un anticuerpo que se selecciona de 6C7H1, 6C7H2, 6C7H3, 6C7H4, 6C7H5, 6C7H6, 6C7H7, 6C7H8, 6C7H9, 6C7H10, 6C7H11, 6C7H12, 6C7H13, 6C7H14, 6C7H15, 6C7H16, 6C7H17, 6C7H18, 6C7H19, 6C7H20, 6C7H21, 6C7H22, 6C7H23, 6C7H24, 6C7H25, 6C7H26, 6C7H27, 6C7H28, 6C7H29, 6C7H30, 6C7H31, 6C7H32, 6C7H33, 6C7H34, 6C7H35, 6C7H36, 6C7H37, 6C7H38, 6C7H39, 6C7H40, 6C7H41, 6C7H42, 6C7H43, 6C7H44, 6C7H45, 6C7H46, 6C7H47, 6C7H48, 6C7H49, 6C7H50, 6C7H51, 6C7H52, 6C7H53 y 6C7H54; (iv) HVR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de un anticuerpo que se selecciona de 6C7H1, 6C7H2, 6C7H3, 6C7H4, 6C7H5, 6C7H6, 6C7H7, 6C7H8, 6C7H9, 6C7H10, 6C7H11, 6C7H12, 6C7H13, 6C7H14, 6C7H15, 6C7H16, 6C7H17, 6C7H18, 6C7H19, 6C7H20, 6C7H21, 6C7H22, 6C7H23, 6C7H24, 6C7H25, 6C7H26, 6C7H27, 6C7H28, 6C7H29, 6C7H30, 6C7H31, 6C7H32, 6C7H33, 6C7H34, 6C7H35, 6C7H36, 6C7H37, 6C7H38, 6C7H39, 6C7H40, 6C7H41, 6C7H42, 6C7H43, 6C7H44, 6C7H45, 6C7H46, 6C7H47, 6C7H48, 6C7H49, 6C7H50, 6C7H51, 6C7H52, 6C7H53 y 6C7H54; (v) HVR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de un anticuerpo que se selecciona de 6C7H1, 6C7H2, 6C7H3, 6C7H4, 6C7H5, 6C7H6, 6C7H7, 6C7H8, 6C7H9, 6C7H10, 6C7H11, 6C7H12, 6C7H13, 6C7H14, 6C7H15, 6C7H16, 6C7H17, 6C7H18, 6C7H19, 6C7H20, 6C7H21, 6C7H22, 6C7H23, 6C7H24, 6C7H25, 6C7H26, 6C7H27, 6C7H28, 6C7H29, 6C7H30, 6C7H31, 6C7H32, 6C7H33, 6C7H34, 6C7H35, 6C7H36, 6C7H37, 6C7H38, 6C7H39, 6C7H40, 6C7H41, 6C7H42, 6C7H43, 6C7H44, 6C7H45, 6C7H46, 6C7H47, 6C7H48, 6C7H49, 6C7H50, 6C7H51, 6C7H52, 6C7H53 y 6C7H54; y (vi) HVR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de un anticuerpo que se selecciona de 6C7H1, 6C7H2, 6C7H3, 6C7H4, 6C7H5, 6C7H6, 6C7H7, 6C7H8, 6C7H9, 6C7H10, 6C7H11, 6C7H12, 6C7H13, 6C7H14, 6C7H15, 6C7H16, 6C7H17, 6C7H18, 6C7H19, 6C7H20, 6C7H21, 6C7H22, 6C7H23, 6C7H24, 6C7H25, 6C7H26, 6C7H27, 6C7H28, 6C7H29, 6C7H30, 6C7H31, 6C7H32, 6C7H33, 6C7H34, 6C7H35, 6C7H36, 6C7H37, 6C7H38, 6C7H39, 6C7H40, 6C7H41, 6C7H42, 6C7H43, 6C7H44, 6C7H45, 6C7H46, 6C7H47, 6C7H48, 6C7H49, 6C7H50, 6C7H51, 6C7H52, 6C7H53 y 6C7H54. En algunas modalidades, la HVR-L1, HVR-L2, HVR-L3, HVR-H1, HVR-H2 y HVR-H3 comprenden CDR de EU o de Kabat, CDR de Chothia o secuencias CDR de contacto de un anticuerpo que se selecciona de 6C7H1, 6C7H2, 6C7H3, 6C7H4, 6C7H5, 6C7H6, 6C7H7, 6C7H8, 6C7H9, 6C7H10, 6C7H11, 6C7H12, 6C7H13, 6C7H14, 6C7H15, 6C7H16, 6C7H17, 6C7H18, 6C7H19, 6C7H20, 6C7H21, 6C7H22, 6C7H23, 6C7H24, 6C7H25, 6C7H26, 6C7H27, 6C7H28, 6C7H29, 6C7H30, 6C7H31, 6C7H32, 6C7H33, 6C7H34, 6C7H35, 6C7H36, 6C7H37, 6C7H38, 6C7H39, 6C7H40, 6C7H41, 6C7H42, 6C7H43, 6C7H44, 6C7H45, 6C7H46, 6C7H47, 6C7H48, 6C7H49, 6C7H50, 6C7H51, 6C7H52, 6C7H53 y 6C7H54 y cualquier combinación de estos.

En algunas modalidades, los anticuerpos anti-CD33 de la presente descripción comprenden un dominio variable de cadena ligera y un dominio variable de cadena pesada, en donde el dominio variable de cadena ligera comprende uno o más de: (a) una HVR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 47; (b) una HVR-L2 que
 5 comprende una secuencia de aminoácidos que se selecciona de las SEQ ID NO: 52-55; y (c) una HVR-L3 que comprende una secuencia de aminoácidos que se selecciona de las SEQ ID NO: 58-62; y/o en donde el dominio variable de cadena pesada comprende uno o más de: (a) una HVR-H1 que comprende una secuencia de aminoácidos que se selecciona de las SEQ ID NO: 8-30; (b) una HVR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la
 10 SEQ ID NO: 33; y (c) una HVR-H3 que comprende una secuencia de aminoácidos que se selecciona de las SEQ ID NO: 38-40.

En algunas modalidades, los anticuerpos anti-CD33 de la presente descripción comprenden un dominio variable de cadena pesada y un dominio variable de cadena ligera, en donde (a) la HVR-H1 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:8, la HVR-H2
 15 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:33, la HVR-H3 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:38, la HVR-L1 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:47, la HVR-L2 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:52, y la HVR-L3 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:58; (b) la HVR-H1 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:8, la HVR-H2
 20 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:33, la HVR-H3 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:39, la HVR-L1 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:47, la HVR-L2 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:53, y la HVR-L3 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:58; (c) la HVR-H1 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:9, la HVR-H2
 25 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:33, la HVR-H3 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:39, la HVR-L1 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:47, la HVR-L2 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:54 y la HVR-L3 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:58; (d) la HVR-H1 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:9, la HVR-H2
 30 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:33, la HVR-H3 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:39, la HVR-L1 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:47, la HVR-L2 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:53, y la HVR-L3 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:58; (e) la HVR-H1 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:9, la HVR-H2
 35 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:33, la HVR-H3 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:39, la HVR-L1 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:47, la HVR-L2 comprende la secuencia de aminoácidos de la

[illegible]

[illegible]

secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:39, la HVR-L1 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:47, la HVR-L2 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:53 y la HVR-L3 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:60;

(jj) la HVR-H1 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:23, la HVR-H2

5 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:33, la HVR-H3 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:39, la HVR-L1 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:47, la HVR-L2 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:53, y la HVR-L3 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:62;

(kk) la HVR-H1 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:30, la HVR-H2

10 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:33, la HVR-H3 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:39, la HVR-L1 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:47, la HVR-L2 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:53 y la HVR-L3 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:59;

(ll) la HVR-H1 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:30, la HVR-H2

15 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:33, la HVR-H3 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:39, la HVR-L1 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:47, la HVR-L2 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:53, y la HVR-L3 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:61;

(mm) la HVR-H1 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:28, la HVR-H2

20 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:33, la HVR-H3 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:39, la HVR-L1 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:47, la HVR-L2 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:53 y la HVR-L3 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:59; y

(nn) la HVR-H1 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:28, la HVR-H2

25 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:33, la HVR-H3 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:39, la HVR-L1 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:47, la HVR-L2 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:53, y la HVR-L3 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:61.

En algunas modalidades, los anticuerpos anti-CD33 de la presente descripción comprenden

30 una región variable de cadena ligera de cualquiera de los anticuerpos que se seleccionan de 6C7H1, 6C7H2, 6C7H3, 6C7H4, 6C7H5, 6C7H6, 6C7H7, 6C7H8, 6C7H9, 6C7H10, 6C7H11, 6C7H12, 6C7H13, 6C7H14, 6C7H15, 6C7H16, 6C7H17, 6C7H18, 6C7H19, 6C7H20, 6C7H21, 6C7H22, 6C7H23, 6C7H24, 6C7H25, 6C7H26, 6C7H27, 6C7H28, 6C7H29, 6C7H30, 6C7H31, 6C7H32, 6C7H33, 6C7H34, 6C7H35, 6C7H36, 6C7H37, 6C7H38,

35 6C7H39, 6C7H40, 6C7H41, 6C7H42, 6C7H43, 6C7H44, 6C7H45, 6C7H46, 6C7H47, 6C7H48, 6C7H49, 6C7H50, 6C7H51, 6C7H52, 6C7H53 y 6C7H54; y/o una región variable de cadena pesada de cualquiera de los anticuerpos que se seleccionan de 6C7H1, 6C7H2,

6C7H3, 6C7H4, 6C7H5, 6C7H6, 6C7H7, 6C7H8, 6C7H9, 6C7H10, 6C7H11, 6C7H12, 6C7H13, 6C7H14, 6C7H15, 6C7H16, 6C7H17, 6C7H18, 6C7H19, 6C7H20, 6C7H21, 6C7H22, 6C7H23, 6C7H24, 6C7H25, 6C7H26, 6C7H27, 6C7H28, 6C7H29, 6C7H30, 6C7H31, 6C7H32, 6C7H33, 6C7H34, 6C7H35, 6C7H36, 6C7H37, 6C7H38, 6C7H39, 6C7H40, 6C7H41, 6C7H42, 6C7H43, 6C7H44, 6C7H45, 6C7H46, 6C7H47, 6C7H48, 6C7H49, 6C7H50, 6C7H51, 6C7H52, 6C7H53 y 6C7H54. En algunas modalidades, los anticuerpos anti-CD33 de la presente descripción comprenden una región variable de cadena ligera de cualquiera de los anticuerpos que se enumeran en la **Tabla 11** o que se seleccionan de 6C7H1, 6C7H2, 6C7H3, 6C7H4, 6C7H5, 6C7H6, 6C7H7, 6C7H8, 6C7H9, 6C7H10, 6C7H11, 6C7H12, 6C7H13, 6C7H14, 6C7H15, 6C7H16, 6C7H17, 6C7H18, 6C7H19, 6C7H20, 6C7H21, 6C7H22, 6C7H23, 6C7H24, 6C7H25, 6C7H26, 6C7H27, 6C7H28, 6C7H29, 6C7H30, 6C7H31, 6C7H32, 6C7H33, 6C7H34, 6C7H35, 6C7H36, 6C7H37, 6C7H38, 6C7H39, 6C7H40, 6C7H41, 6C7H42, 6C7H43, 6C7H44, 6C7H45, 6C7H46, 6C7H47, 6C7H48, 6C7H49, 6C7H50, 6C7H51, 6C7H52, 6C7H53 y 6C7H54; y/o una región variable de cadena pesada de cualquiera de los anticuerpos que se enumeran en la **Tabla 12** o que se seleccionan de 6C7H1, 6C7H2, 6C7H3, 6C7H4, 6C7H5, 6C7H6, 6C7H7, 6C7H8, 6C7H9, 6C7H10, 6C7H11, 6C7H12, 6C7H13, 6C7H14, 6C7H15, 6C7H16, 6C7H17, 6C7H18, 6C7H19, 6C7H20, 6C7H21, 6C7H22, 6C7H23, 6C7H24, 6C7H25, 6C7H26, 6C7H27, 6C7H28, 6C7H29, 6C7H30, 6C7H31, 6C7H32, 6C7H33, 6C7H34, 6C7H35, 6C7H36, 6C7H37, 6C7H38, 6C7H39, 6C7H40, 6C7H41, 6C7H42, 6C7H43, 6C7H44, 6C7H45, 6C7H46, 6C7H47, 6C7H48, 6C7H49, 6C7H50, 6C7H51, 6C7H52, 6C7H53 y 6C7H54.

En algunas modalidades, los anticuerpos anti-CD33 de la presente descripción comprenden una región variable de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos que se selecciona de cualquiera de las SEQ ID NO:94-103; y/o un dominio variable de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos que se selecciona de cualquiera de las SEQ ID NO:65-93. En algunas modalidades, el dominio variable de cadena ligera comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 94; y el dominio variable de cadena pesada comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 65. En algunas modalidades, el dominio variable de cadena ligera comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 94; y el dominio variable de cadena pesada comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 66. En algunas modalidades, el dominio variable de cadena ligera comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 95; y el dominio variable de cadena pesada comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 65. En algunas modalidades, el dominio variable de cadena ligera comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 95; y el dominio variable de cadena pesada comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 67. En algunas modalidades, el dominio

[illegible]

[illegible]

[illegible]

secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 101; y el dominio variable de cadena pesada
 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 83. En algunas modalidades, el
 dominio variable de cadena ligera comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID
 NO: 103; y el dominio variable de cadena pesada comprende la secuencia de aminoácidos
 5 de la SEQ ID NO: 83. En algunas modalidades, el dominio variable de cadena ligera
 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 100; y el dominio variable de
 cadena pesada comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 92. En algunas
 modalidades, el dominio variable de cadena ligera comprende la secuencia de aminoácidos
 de la SEQ ID NO: 102; y el dominio variable de cadena pesada comprende la secuencia de
 10 aminoácidos de la SEQ ID NO: 92. En algunas modalidades, el dominio variable de cadena
 ligera comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 100; y el dominio variable
 de cadena pesada comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 93. En
 algunas modalidades, el dominio variable de cadena ligera comprende la secuencia de
 aminoácidos de la SEQ ID NO: 102; y el dominio variable de cadena pesada comprende la
 15 secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 93. En algunas modalidades, el dominio
 variable de cadena ligera comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 100; y
 el dominio variable de cadena pesada comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ
 ID NO: 83. En algunas modalidades, el dominio variable de cadena ligera comprende la
 secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 102; y el dominio variable de cadena pesada
 20 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 83.
 En algunas modalidades, se proporciona un anticuerpo anti-CD33, en donde el anticuerpo
 comprende una V_H tal como en cualquiera de las modalidades que se proporcionaron
 anteriormente y una V_L como en cualquiera de las modalidades que se proporcionaron
 anteriormente. En algunas modalidades, se proporcionan en la presente anticuerpos anti-
 25 CD33, en donde el anticuerpo comprende una V_H tal como en cualquiera de las modalidades
 que se proporcionaron anteriormente y una V_L como en cualquiera de las modalidades que
 se proporcionaron anteriormente. En una modalidad, un anticuerpo anti-CD33 de la presente
 descripción comprende una secuencia V_H que se selecciona de la SEQ ID NO: 65, 66, 67,
 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92
 30 y 93; y la secuencia V_L que se selecciona de la SEQ ID NO: 94, 95, 96, 97, 98, 99, 100, 101,
 102 y 103, que incluye las modificaciones postraduccionales de esas secuencias. En
 algunas modalidades, el anticuerpo anti-CD33 comprende la secuencia V_H y la secuencia V_L
 de un anticuerpo que se selecciona de 6C7H1, 6C7H2, 6C7H3, 6C7H4, 6C7H5, 6C7H6,
 6C7H7, 6C7H8, 6C7H9, 6C7H10, 6C7H11, 6C7H12, 6C7H13, 6C7H14, 6C7H15, 6C7H16,
 35 6C7H17, 6C7H18, 6C7H19, 6C7H20, 6C7H21, 6C7H22, 6C7H23, 6C7H24, 6C7H25,
 6C7H26, 6C7H27, 6C7H28, 6C7H29, 6C7H30, 6C7H31, 6C7H32, 6C7H33, 6C7H34,
 6C7H35, 6C7H36, 6C7H37, 6C7H38, 6C7H39, 6C7H40, 6C7H41, 6C7H42, 6C7H43,

6C7H44, 6C7H45, 6C7H46, 6C7H47, 6C7H48, 6C7H49, 6C7H50, 6C7H51, 6C7H52, 6C7H53 y 6C7H54.

En algunas modalidades, se proporcionan en la presente anticuerpos anti-CD33, en donde el anticuerpo comprende una V_H tal como en cualquiera de las modalidades que se proporcionaron anteriormente y una V_L como en cualquiera de las modalidades que se proporcionaron anteriormente. En algunas modalidades, un anticuerpo anti-CD33 de la presente descripción comprende una secuencia V_H que se selecciona de la SEQ ID NO: 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92 y 93; y la secuencia V_L que se selecciona de la SEQ ID NO: 94, 95, 96, 97, 98, 99, 100, 101, 102 y 103, que incluye las modificaciones postraduccionales de esas secuencias. En algunas modalidades, el anticuerpo anti-CD33 comprende la secuencia V_H y la secuencia V_L de un anticuerpo que se selecciona de 6C7H1, 6C7H2, 6C7H3, 6C7H4, 6C7H5, 6C7H6, 6C7H7, 6C7H8, 6C7H9, 6C7H10, 6C7H11, 6C7H12, 6C7H13, 6C7H14, 6C7H15, 6C7H16, 6C7H17, 6C7H18, 6C7H19, 6C7H20, 6C7H21, 6C7H22, 6C7H23, 6C7H24, 6C7H25, 6C7H26, 6C7H27, 6C7H28, 6C7H29, 6C7H30, 6C7H31, 6C7H32, 6C7H33, 6C7H34, 6C7H35, 6C7H36, 6C7H37, 6C7H38, 6C7H39, 6C7H40, 6C7H41, 6C7H42, 6C7H43, 6C7H44, 6C7H45, 6C7H46, 6C7H47, 6C7H48, 6C7H49, 6C7H50, 6C7H51, 6C7H52, 6C7H53 y 6C7H54.

En otro aspecto, un anticuerpo anti-CD33 de la presente descripción comprende una secuencia de dominio variable de cadena pesada (V_H) que tiene al menos 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92 o 93. En determinadas modalidades, una secuencia V_H que tiene al menos 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92 o 93 contiene sustituciones (por ejemplo, sustituciones conservadoras), inserciones o deleciones con respecto a la secuencia de referencia, pero un anticuerpo anti-CD33 que comprende tal secuencia conserva la capacidad de unirse a CD33. En determinadas modalidades, se sustituyó, se insertó y/o se eliminó un total de 1 a 10 aminoácidos en la SEQ ID NO: 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92 o 93. En determinadas modalidades, se sustituyó, se insertó y/o se eliminó un total de 1 a 5 aminoácidos en la SEQ ID NO: 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92 o 93. En determinadas modalidades, las sustituciones, inserciones o deleciones ocurren en regiones fuera de las HVR (es decir, en las FR). Opcionalmente, el anticuerpo anti-CD33 comprende la secuencia V_H de la SEQ ID NO: 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73,

74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92 o 93, inclusive las modificaciones postraduccionales de esa secuencia. En una modalidad particular, la V_H comprende una, dos o tres HVR que se seleccionan de: (a) HVR-H1 que comprende una secuencia de aminoácidos de una HVR-H1 que se muestra en la Tabla 7; (b) HVR-H2 que
 5 comprende una secuencia de aminoácidos de una HVR-H1 que se muestra en la Tabla 7; (c) HVR-H3 que comprende una secuencia de aminoácidos de una HVR-H3 que se muestra en la Tabla 7.

En otro aspecto, un anticuerpo anti-CD33 de la presente descripción comprende un dominio variable de cadena ligera (V_L) que tiene al menos 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de identidad de secuencia con la secuencia de
 10 aminoácidos de la SEQ ID NO: 94, 95, 96, 97, 98, 99, 100, 101, 102 o 103. En determinadas modalidades, una secuencia V_L que tiene al menos 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 94, 95, 96, 97, 98, 99, 100, 101, 102 o 103 contiene sustituciones (por ejemplo, sustituciones
 15 conservadoras), inserciones o deleciones con respecto a la secuencia de referencia, pero un anticuerpo anti-CD33 que comprende tal secuencia conserva la capacidad de unirse a CD33. En algunas modalidades, se sustituyó, se insertó y/o se eliminó un total de 1 a 10 aminoácidos en la SEQ ID NO: 94, 95, 96, 97, 98, 99, 100, 101, 102 o 103. En determinadas modalidades, se sustituyó, se insertó y/o se eliminó un total de 1 a 5 aminoácidos en la SEQ
 20 ID NO: 94, 95, 96, 97, 98, 99, 100, 101, 102 o 103. En determinadas modalidades, las sustituciones, inserciones o eliminaciones ocurren en regiones fuera de las HVR (es decir, en las FR). Opcionalmente, el anticuerpo anti-CD33 comprende la secuencia V_L de la SEQ ID NO: 94, 95, 96, 97, 98, 99, 100, 101, 102 o 103, que incluye las modificaciones postraduccionales de esas secuencias. En una modalidad particular, la V_L comprende una,
 25 dos o tres HVR que se seleccionan de (a) HVR-L1 que comprende una secuencia de aminoácidos de una HVR-L1 que se muestra en la Tabla 8; (b) HVR-L2 que comprende una secuencia de aminoácidos de una HVR-L2 que se muestra en la Tabla 8; y (c) HVR-L3 que comprende una secuencia de aminoácidos de una HVR-L3 que se muestra en la Tabla 8. En algunas modalidades, se proporcionan en la presente anticuerpos anti-CD33 que
 30 comprenden (a) HVR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:8; (b) HVR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:33; (c) HVR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:38; (d) HVR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:47; (e) HVR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:52; y (f) HVR-L3 que comprende la
 35 secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:58. En algunas modalidades, el anticuerpo anti-CD33 es un anticuerpo monoclonal anti-CD33 6C7H1. En algunas modalidades, el anticuerpo anti-CD33 es un anticuerpo monoclonal anti-CD33 6C7H2. En algunas

modalidades, el anticuerpo anti-CD33 es un anticuerpo monoclonal anti-CD33 6C7H3. En algunas modalidades, el anticuerpo anti-CD33 es un anticuerpo monoclonal anti-CD33 6C7H4. En algunas modalidades, el anticuerpo anti-CD33 es un anticuerpo monoclonal anti-CD33 6C7H5. En algunas modalidades, el anticuerpo anti-CD33 es un anticuerpo monoclonal anti-CD33 6C7H6. En algunas modalidades, el anticuerpo anti-CD33 es un anticuerpo monoclonal anti-CD33 6C7H7.

En algunas modalidades, se proporcionan en la presente anticuerpos anti-CD33 que comprenden (a) HVR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:8; (b) HVR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:33; (c) HVR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:39; (d) HVR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:47; (e) HVR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:53; y (f) HVR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:58. En algunas modalidades, el anticuerpo anti-CD33 es un anticuerpo monoclonal anti-CD33 6C7H8.

En algunas modalidades, se proporcionan en la presente anticuerpos anti-CD33 que comprenden (a) HVR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:9; (b) HVR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:33; (c) HVR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:39; (d) HVR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:47; (e) HVR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:54; (f) y HVR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:58. En algunas modalidades, el anticuerpo anti-CD33 es un anticuerpo monoclonal anti-CD33 6C7H9.

En algunas modalidades, se proporcionan en la presente anticuerpos anti-CD33 que comprenden (a) HVR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:9; (b) HVR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:33; (c) HVR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:39; (d) HVR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:47; (e) HVR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:53; y (f) HVR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:58. En algunas modalidades, el anticuerpo anti-CD33 es un anticuerpo monoclonal anti-CD33 6C7H10.

En algunas modalidades, se proporcionan en la presente anticuerpos anti-CD33 que comprenden (a) HVR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:9; (b) HVR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:33; (c) HVR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:39; (d) HVR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:47; (e) HVR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:55; y (f) HVR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:58. En algunas modalidades, el anticuerpo

anti-CD33 es un anticuerpo monoclonal anti-CD33 6C7H11.

En algunas modalidades, se proporcionan en la presente anticuerpos anti-CD33 que comprenden (a) HVR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:10; (b) HVR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:33; (c) HVR-H3
5 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:39; (d) HVR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:47; (e) HVR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:53; y (f) HVR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:58. En algunas modalidades, el anticuerpo anti-CD33 es un anticuerpo monoclonal anti-CD33 6C7H12.

10 En algunas modalidades, se proporcionan en la presente anticuerpos anti-CD33 que comprenden (a) HVR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:11; (b) HVR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:33; (c) HVR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:39; (d) HVR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:47; (e) HVR-L2 que comprende
15 la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:53; y (f) HVR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:58. En algunas modalidades, el anticuerpo anti-CD33 es un anticuerpo monoclonal anti-CD33 6C7H13.

En algunas modalidades, se proporcionan en la presente anticuerpos anti-CD33 que comprenden (a) HVR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:12; (b) HVR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:33; (c) HVR-H3
20 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:39; (d) HVR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:47; (e) HVR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:53; y (f) HVR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:58. En algunas modalidades, el anticuerpo anti-CD33 es un anticuerpo monoclonal anti-CD33 6C7H14.

En algunas modalidades, se proporcionan en la presente anticuerpos anti-CD33 que comprenden (a) HVR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:13; (b) HVR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:33; (c) HVR-H3
30 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:39; (d) HVR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:47; (e) HVR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:53; y (f) HVR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:58. En algunas modalidades, el anticuerpo anti-CD33 es un anticuerpo monoclonal anti-CD33 6C7H15.

En algunas modalidades, se proporcionan en la presente anticuerpos anti-CD33 que
35 comprenden (a) HVR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:14; (b) HVR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:33; (c) HVR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:39; (d) HVR-L1 comprende

la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:47; (e) HVR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:53; y (f) HVR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:58. En algunas modalidades, el anticuerpo anti-CD33 es un anticuerpo monoclonal anti-CD33 6C7H16.

- 5 En algunas modalidades, se proporcionan en la presente anticuerpos anti-CD33 que comprenden (a) HVR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:15; (b) HVR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:33; (c) HVR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:39; (d) HVR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:47; (e) HVR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:53; y (f) HVR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:58. En algunas modalidades, el anticuerpo anti-CD33 es un anticuerpo monoclonal anti-CD33 6C7H17.

- En algunas modalidades, se proporcionan en la presente anticuerpos anti-CD33 que comprenden (a) HVR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:16; (b) HVR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:33; (c) HVR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:39; (d) HVR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:47; (e) HVR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:53; y (f) HVR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:58. En algunas modalidades, el anticuerpo anti-CD33 es un anticuerpo monoclonal anti-CD33 6C7H18.

- En algunas modalidades, se proporcionan en la presente anticuerpos anti-CD33 que comprenden (a) HVR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:17; (b) HVR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:33; (c) HVR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:39; (d) HVR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:47; (e) HVR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:53; y (f) HVR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:58. En algunas modalidades, el anticuerpo anti-CD33 es un anticuerpo monoclonal anti-CD33 6C7H19.

- En algunas modalidades, se proporcionan en la presente anticuerpos anti-CD33 que comprenden (a) HVR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:18; (b) HVR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:33; (c) HVR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:39; (d) HVR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:47; (e) HVR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:53; y (f) HVR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:58. En algunas modalidades, el anticuerpo anti-CD33 es un anticuerpo monoclonal anti-CD33 6C7H20.

En algunas modalidades, se proporcionan en la presente anticuerpos anti-CD33 que

comprenden (a) HVR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:19; (b) HVR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:33; (c) HVR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:39; (d) HVR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:47; (e) HVR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:53; y (f) HVR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:58. En algunas modalidades, el anticuerpo anti-CD33 es un anticuerpo monoclonal anti-CD33 6C7H21.

En algunas modalidades, se proporcionan en la presente anticuerpos anti-CD33 que comprenden (a) HVR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:20; (b) HVR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:33; (c) HVR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:39; (d) HVR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:47; (e) HVR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:53; y (f) HVR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:58. En algunas modalidades, el anticuerpo anti-CD33 es un anticuerpo monoclonal anti-CD33 6C7H22.

En algunas modalidades, se proporcionan en la presente anticuerpos anti-CD33 que comprenden (a) HVR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:21; (b) HVR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:33; (c) HVR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:39; (d) HVR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:47; (e) HVR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:53; y (f) HVR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:58. En algunas modalidades, el anticuerpo anti-CD33 es un anticuerpo monoclonal anti-CD33 6C7H23.

En algunas modalidades, se proporcionan en la presente anticuerpos anti-CD33 que comprenden (a) HVR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:22; (b) HVR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:33; (c) HVR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:39; (d) HVR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:47; (e) HVR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:53; y (f) HVR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:58. En algunas modalidades, el anticuerpo anti-CD33 es un anticuerpo monoclonal anti-CD33 6C7H24.

En algunas modalidades, se proporcionan en la presente anticuerpos anti-CD33 que comprenden (a) HVR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:23; (b) HVR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:33; (c) HVR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:39; (d) HVR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:47; (e) HVR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:53; y (f) HVR-L3 que comprende la

secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:58. En algunas modalidades, el anticuerpo anti-CD33 es un anticuerpo monoclonal anti-CD33 6C7H25.

En algunas modalidades, se proporcionan en la presente anticuerpos anti-CD33 que comprenden (a) HVR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:24; (b) HVR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:33; (c) HVR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:39; (d) HVR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:47; (e) HVR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:53; y (f) HVR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:58. En algunas modalidades, el anticuerpo anti-CD33 es un anticuerpo monoclonal anti-CD33 6C7H26.

En algunas modalidades, se proporcionan en la presente anticuerpos anti-CD33 que comprenden (a) HVR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:25; (b) HVR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:33; (c) HVR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:39; (d) HVR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:47; (e) HVR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:53; y (f) HVR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:58. En algunas modalidades, el anticuerpo anti-CD33 es un anticuerpo monoclonal anti-CD33 6C7H27.

En algunas modalidades, se proporcionan en la presente anticuerpos anti-CD33 que comprenden (a) HVR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:26; (b) HVR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:33; (c) HVR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:39; (d) HVR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:47; (e) HVR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:53; y (f) HVR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:58. En algunas modalidades, el anticuerpo anti-CD33 es un anticuerpo monoclonal anti-CD33 6C7H28.

En algunas modalidades, se proporcionan en la presente anticuerpos anti-CD33 que comprenden (a) HVR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:27; (b) HVR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:33; (c) HVR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:39; (d) HVR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:47; (e) HVR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:53; y (f) HVR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:58. En algunas modalidades, el anticuerpo anti-CD33 es un anticuerpo monoclonal anti-CD33 6C7H29.

En algunas modalidades, se proporcionan en la presente anticuerpos anti-CD33 que comprenden (a) HVR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:28; (b) HVR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:33; (c) HVR-H3

que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:39; (d) HVR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:47; (e) HVR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:53; y (f) HVR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:58. En algunas modalidades, el anticuerpo anti-CD33 es un anticuerpo monoclonal anti-CD33 6C7H30.

En algunas modalidades, se proporcionan en la presente anticuerpos anti-CD33 que comprenden (a) HVR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:29; (b) HVR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:33; (c) HVR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:39; (d) HVR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:47; (e) HVR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:53; y (f) HVR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:59. En algunas modalidades, el anticuerpo anti-CD33 es un anticuerpo monoclonal anti-CD33 6C7H31. En algunas modalidades, el anticuerpo anti-CD33 es un anticuerpo monoclonal anti-CD33 6C7H39. En algunas modalidades, el anticuerpo anti-CD33 es un anticuerpo monoclonal anti-CD33 6C7H49.

En algunas modalidades, se proporcionan en la presente anticuerpos anti-CD33 que comprenden (a) HVR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:29; (b) HVR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:33; (c) HVR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:39; (d) HVR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:47; (e) HVR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:53; y (f) HVR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:60. En algunas modalidades, el anticuerpo anti-CD33 es un anticuerpo monoclonal anti-CD33 6C7H32. En algunas modalidades, el anticuerpo anti-CD33 es un anticuerpo monoclonal anti-CD33 6C7H40. En algunas modalidades, el anticuerpo anti-CD33 es un anticuerpo monoclonal anti-CD33 6C7H43.

En algunas modalidades, se proporcionan en la presente anticuerpos anti-CD33 que comprenden (a) HVR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:29; (b) HVR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:33; (c) HVR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:39; (d) HVR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:47; (e) HVR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:53; y (f) HVR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:61. En algunas modalidades, el anticuerpo anti-CD33 es un anticuerpo monoclonal anti-CD33 6C7H33. En algunas modalidades, el anticuerpo anti-CD33 es un anticuerpo monoclonal anti-CD33 6C7H41. En algunas modalidades, el anticuerpo anti-CD33 es un anticuerpo monoclonal anti-CD33 6C7H50.

En algunas modalidades, se proporcionan en la presente anticuerpos anti-CD33 que comprenden (a) HVR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:29;

- (b) HVR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:33; (c) HVR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:39; (d) HVR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:47; (e) HVR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:53; y (f) HVR-L3 que comprende la
- 5 secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:62. En algunas modalidades, el anticuerpo anti-CD33 es un anticuerpo monoclonal anti-CD33 6C7H34. En algunas modalidades, el anticuerpo anti-CD33 es un anticuerpo monoclonal anti-CD33 6C7H42. En algunas modalidades, el anticuerpo anti-CD33 es un anticuerpo monoclonal anti-CD33 6C7H44. En algunas modalidades, se proporcionan en la presente anticuerpos anti-CD33 que
- 10 comprenden (a) HVR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:30; (b) HVR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:33; (c) HVR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:40; (d) HVR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:47; (e) HVR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:53; y (f) HVR-L3 que comprende la
- 15 secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:59. En algunas modalidades, el anticuerpo anti-CD33 es un anticuerpo monoclonal anti-CD33 6C7H35. En algunas modalidades, se proporcionan en la presente anticuerpos anti-CD33 que comprenden (a) HVR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:30; (b) HVR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:33; (c) HVR-H3
- 20 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:40; (d) HVR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:47; (e) HVR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:53; y (f) HVR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:60. En algunas modalidades, el anticuerpo anti-CD33 es un anticuerpo monoclonal anti-CD33 6C7H36.
- 25 En algunas modalidades, se proporcionan en la presente anticuerpos anti-CD33 que comprenden (a) HVR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:30; (b) HVR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:33; (c) HVR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:40; (d) HVR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:47; (e) HVR-L2 que comprende
- 30 la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:53; y (f) HVR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:61. En algunas modalidades, el anticuerpo anti-CD33 es un anticuerpo monoclonal anti-CD33 6C7H37. En algunas modalidades, se proporcionan en la presente anticuerpos anti-CD33 que comprenden (a) HVR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:30;
- 35 (b) HVR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:33; (c) HVR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:40; (d) HVR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:47; (e) HVR-L2 que comprende

la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:53; y (f) HVR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:62. En algunas modalidades, el anticuerpo anti-CD33 es un anticuerpo monoclonal anti-CD33 6C7H38.

En algunas modalidades, se proporcionan en la presente anticuerpos anti-CD33 que comprenden (a) HVR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:30; (b) HVR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:33; (c) HVR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:39; (d) HVR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:47; (e) HVR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:53; y (f) HVR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:60. En algunas modalidades, el anticuerpo anti-CD33 es un anticuerpo monoclonal anti-CD33 6C7H45.

En algunas modalidades, se proporcionan en la presente anticuerpos anti-CD33 que comprenden (a) HVR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:30; (b) HVR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:33; (c) HVR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:39; (d) HVR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:47; (e) HVR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:53; y (f) HVR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:62. En algunas modalidades, el anticuerpo anti-CD33 es un anticuerpo monoclonal anti-CD33 6C7H46.

En algunas modalidades, se proporcionan en la presente anticuerpos anti-CD33 que comprenden (a) HVR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:23; (b) HVR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:33; (c) HVR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:39; (d) HVR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:47; (e) HVR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:53; y (f) HVR-L3 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:60. En algunas modalidades, el anticuerpo anti-CD33 es un anticuerpo monoclonal anti-CD33 6C7H47.

En algunas modalidades, se proporcionan en la presente anticuerpos anti-CD33 que comprenden (a) HVR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:23; (b) HVR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:33; (c) HVR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:39; (d) HVR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:47; (e) HVR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:53; y (f) HVR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:62. En algunas modalidades, el anticuerpo anti-CD33 es un anticuerpo monoclonal anti-CD33 6C7H48.

En algunas modalidades, se proporcionan en la presente anticuerpos anti-CD33 que comprenden (a) HVR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:30;

(b) HVR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:33; (c) HVR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:39; (d) HVR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:47; (e) HVR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:53; y (f) HVR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:59. En algunas modalidades, el anticuerpo anti-CD33 es un anticuerpo monoclonal anti-CD33 6C7H51.

En algunas modalidades, se proporcionan en la presente anticuerpos anti-CD33 que comprenden (a) HVR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:30; (b) HVR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:33; (c) HVR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:39; (d) HVR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:47; (e) HVR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:53; y (f) HVR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:61. En algunas modalidades, el anticuerpo anti-CD33 es un anticuerpo monoclonal anti-CD33 6C7H52.

En algunas modalidades, se proporcionan en la presente anticuerpos anti-CD33 que comprenden (a) HVR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:23; (b) HVR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:33; (c) HVR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:39; (d) HVR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:47; (e) HVR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:53; y (f) HVR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:59. En algunas modalidades, el anticuerpo anti-CD33 es un anticuerpo monoclonal anti-CD33 6C7H53.

En algunas modalidades, se proporcionan en la presente anticuerpos anti-CD33 que comprenden (a) HVR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:23; (b) HVR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:33; (c) HVR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:39; (d) HVR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:47; (e) HVR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:53; y (f) HVR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:61. En algunas modalidades, el anticuerpo anti-CD33 es un anticuerpo monoclonal anti-CD33 6C7H54.

En la presente se proporcionan anticuerpos anti-CD33. Los anticuerpos que se proporcionan son útiles, por ejemplo, para el diagnóstico o el tratamiento de enfermedades, afecciones o trastornos mediados por CD33 y/o asociados a CD33.

En algunas modalidades, el anticuerpo anti-CD33 de acuerdo con cualquiera de las modalidades anteriores es un anticuerpo monoclonal, que incluye un anticuerpo humanizado y/o humano. En algunas modalidades, el anticuerpo anti-CD33 es un fragmento de anticuerpo, por ejemplo, un Fv, Fab, Fab', scFv, dicuerpo o un fragmento F(ab')₂. En

algunas modalidades, el anticuerpo anti-CD33 es un anticuerpo considerablemente completo, por ejemplo, un anticuerpo de IgG1, un anticuerpo de IgG2a u otra clase o isotipo de anticuerpo tal como se define en la presente.

En algunas modalidades, un anticuerpo anti-CD33 de acuerdo con cualquiera de las

- 5 modalidades que anteceden pueden incorporar cualquiera de las características, individuales o combinadas, tal como se describen a continuación:

Afinidad de unión del anticuerpo anti-CD33

En algunas modalidades de cualquiera de los anticuerpos que se proporcionan en la

- 10 presente, el anticuerpo tiene una constante de disociación (K_d) de $< 1 \mu\text{M}$, $< 100 \text{ nM}$, $< 10 \text{ nM}$, $< 1 \text{ nM}$, $< 0,1 \text{ nM}$, $< 0,01 \text{ nM}$ o $< 0,001 \text{ nM}$ (por ejemplo, 10^{-8} M o menos, por ejemplo, de 10^{-8} M a 10^{-13} M , por ejemplo, de 10^{-9} M a 10^{-13} M). Las constantes de disociación se pueden determinar a través de cualquier técnica analítica, inclusive cualquier técnica bioquímica o biofísica tal como ELISA, resonancia por plasmones superficiales (SPR), interferometría de biocapas (véase, por ejemplo, Octet System de ForteBio), calorimetría de
- 15 valoración isotérmica (ITC, por su sigla en inglés), calorimetría de barrido diferencial (DSC, por su sigla en inglés), dicroísmo circular (CD, por su sigla en inglés), análisis de flujo detenido y análisis colorimétrico o fluorescente de fusión de proteínas. En una modalidad, la K_d se mide con un ensayo de unión al antígeno radiomarcado (RIA). En algunas modalidades, un RIA se lleva a cabo con la versión Fab de un anticuerpo de interés y su
- 20 antígeno, por ejemplo, tal como se describe en Chen et ál. *J. Mol. Biol.* 293:865-881(1999)). En algunas modalidades, la K_d se mide con un ensayo de resonancia por plasmones superficiales BIACORE, por ejemplo, un ensayo con BIACORE -2000 o BIACORE -3000 (BIAcore, Inc., Piscataway, NJ) se lleva a cabo a 25°C con chips CM5 de antígeno inmovilizado a ~ 10 unidades de respuesta (RU, por su sigla en inglés). En algunas
- 25 modalidades, la K_D se determina con un anticuerpo monovalente (por ejemplo, un Fab) o un anticuerpo completo. En algunas modalidades, la K_D se determina mediante un anticuerpo completo en forma monovalente.

Fragmentos de anticuerpos

- 30 En algunas modalidades de cualquiera de los anticuerpos que se proporcionan en la presente, el anticuerpo es un fragmento de anticuerpo. Los fragmentos de anticuerpos incluyen, entre otros, fragmentos Fab, Fab', Fab'-SH, F (ab')₂, Fv y scFv, y otros fragmentos descritos a continuación. Para acceder a una reseña sobre determinados fragmentos de anticuerpos, véase Hudson et ál. *Nat. Med.* 9:129-134 (2003). Para acceder a una reseña de
- 35 fragmentos scFv, véase, por ejemplo, WO 93/16185; y las patentes estadounidenses n.º 5571894 y 5587458. Para acceder a una exposición sobre los fragmentos Fab y F (ab')₂ que comprenden residuos del epítipo de unión al receptor de rescate y que tienen una

mayor semivida *in vivo*, véase la patente estadounidense n.º 5869046.

Los dicuerpos son fragmentos de anticuerpos con dos sitios de unión al antígeno que pueden ser bivalentes o biespecíficos. Véase, por ejemplo, EP404097; WO 1993/01161; Hudson et ál. *Nat. Med.* 9:129-134 (2003). También se describen tricuerpos y tetracuerpos

- 5 en Hudson et ál. *Nat. Med.* 9:129-134 (2003). Los anticuerpos de dominio único son fragmentos de anticuerpos que comprenden todo o una porción del dominio variable de cadena pesada o todo o una porción del dominio variable de cadena ligera de un anticuerpo. En ciertas modalidades, un anticuerpo de dominio único es un anticuerpo de dominio único humano (véase, por ejemplo, la patente estadounidense n.º 6248516).
- 10 Los fragmentos de anticuerpos pueden prepararse mediante diversas técnicas, que incluyen de modo no taxativo la digestión proteolítica de un anticuerpo intacto, así como la producción por células hospedadoras recombinantes (por ejemplo, *E. coli* o fago), como se describe en la presente.

Anticuerpos quiméricos y humanizados

- 15 En algunas modalidades de cualquiera de los anticuerpos que se proporcionan en la presente, el anticuerpo es un anticuerpo quimérico. Se describen determinados anticuerpos quiméricos, por ejemplo, en la patente estadounidense n.º 4816567. En un ejemplo, un anticuerpo quimérico comprende una región variable no humana (por ejemplo, una región variable derivada de un ratón, rata, hámster, conejo o primate no humano, como un mono) y
- 20 una región constante humana. En un ejemplo adicional, un anticuerpo quimérico es un anticuerpo «con conmutación de clase», en el que la clase o subclase se cambió con respecto a la del anticuerpo original. Los anticuerpos quiméricos incluyen fragmentos de unión al antígeno de estos.

- En algunas modalidades de cualquiera de los anticuerpos que se proporcionan en la
- 25 presente, el anticuerpo es un anticuerpo humanizado. Normalmente, un anticuerpo no humano se humaniza para reducir la inmunogenicidad en humanos, al tiempo que retiene la especificidad y afinidad del anticuerpo original no humano. En determinadas modalidades, un anticuerpo humanizado es considerablemente no inmunogénico en humanos. En determinadas modalidades, un anticuerpo humanizado tiene considerablemente la misma
- 30 afinidad por una diana que un anticuerpo de otra especie de la cual deriva el anticuerpo humanizado. Véase, por ejemplo, las patentes estadounidenses n.º 5530101, 5693761; 5693762; y 5585089. En determinadas modalidades, se identifican los aminoácidos de un dominio variable de anticuerpo que se pueden modificar sin disminuir la afinidad natural del dominio de unión al antígeno mientras se reduce su inmunogenicidad. Véase, por ejemplo,
- 35 las patentes estadounidenses n.º 5766886 y 5869619. En general, un anticuerpo humanizado comprende uno o más dominios variables en los que las HVR (o partes de estas) se derivan de un anticuerpo no humano, y las FR (o partes de estas) se derivan de

secuencias de anticuerpos humanos. Un anticuerpo humanizado comprende también opcionalmente al menos una parte de una región constante humana. En algunas modalidades, algunos residuos de FR en un anticuerpo humanizado se sustituyen con los residuos correspondientes de un anticuerpo no humano (por ejemplo, el anticuerpo del que se derivan los residuos de HVR), por ejemplo, para restaurar o mejorar la especificidad o afinidad del anticuerpo.

Los anticuerpos humanizados y los métodos para elaborarlos se reseñan, por ejemplo, en Almagro et ál. *Front. Biosci.* 13:161 9-1633 (2008), y se describen además, por ejemplo, en las patentes estadounidenses n.º 5821337, 7527791, 6982321 y 7087409. Las regiones de armazón humanas que se pueden usar para la humanización incluyen, de modo no taxativo: regiones de armazón que se seleccionan con el método «de mejor ajuste» (véase, por ejemplo, Sims et ál. *J. Immunol.* 151:2296 (1993)), regiones de armazón derivadas de la secuencia de consenso de anticuerpos humanos de un subgrupo particular de regiones variables de cadena ligera o pesada (véase, por ejemplo, Carter et ál. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 89:4285 (1992); y Presta et ál., *J. Immunol.* 151:2623 (1993)), regiones de armazón maduras humanas (con mutación somática) o regiones de armazón de estirpe germinal humana (véase, por ejemplo, Almagro y Fransson, *Front. Biosci.* 13:1619-1633 (2008)); y regiones de armazón derivadas del cribado de bibliotecas de FR (véase, por ejemplo, Baca et ál. *J. Biol. Chem.* 272:10678-10684 (1997) y Rosok et ál. *J. Biol. Chem.* 271:22611-22618 (1996)).

Anticuerpos humanos

En algunas modalidades de cualquiera de los anticuerpos que se proporcionan en la presente, el anticuerpo es un anticuerpo humano. Los anticuerpos humanos pueden producirse mediante diversos métodos que se conocen en la técnica. Los anticuerpos humanos se describen en general en van Dijk et ál. *Curr. Opin. Pharmacol.* 5:368-74 (2001) y Lonberg *Curr. Opin. Immunol.* 20:450-459 (2008).

Los anticuerpos humanos se pueden preparar administrando un inmunógeno a un animal transgénico que se ha modificado para producir anticuerpos humanos intactos o anticuerpos intactos con regiones variables humanas en respuesta al estímulo antigénico. Uno puede modificar cepas de ratón que carezcan de la producción de anticuerpos de ratón con fragmentos grandes del locus de Ig humana anticipando que tales ratones producirán anticuerpos humanos en ausencia de anticuerpos de ratón. Los fragmentos de Ig humana grandes pueden conservar la gran diversidad genética variable así como la regulación adecuada de la producción y la expresión de anticuerpos. Al explotar el mecanismo del ratón para la diversificación y selección de anticuerpos y la falta de tolerancia inmunitaria a las proteínas humanas, el repertorio de anticuerpos humanos reproducido en estas cepas de

ratón puede proporcionar anticuerpos totalmente humanos de mayor afinidad contra cualquier antígeno de interés, inclusive antígenos humanos. Con tecnología de hibridomas, se pueden producir y seleccionar MAb humanos específicos para un antígeno con la especificidad deseada. Se describen ciertos métodos de ejemplo en la patente

5 estadounidense n.º 5545807, EP 546073 y EP 546073. Véanse también, por ejemplo, las patentes estadounidenses n.º 6075181 y 6150584 que describen la tecnología XENOMOUSE™; la patente estadounidense n.º 5770429 que describe la tecnología de HUMAB®; la patente estadounidense n.º 7041870 que describe la tecnología de K-M MOUSE® y la publicación de solicitud de patente estadounidense n.º US 2007/0061900, que

10 describe la tecnología VELOCIMOUSE®. Las regiones variables humanas a partir de anticuerpos intactos generados por tales animales pueden modificarse adicionalmente, por ejemplo, combinando con una región constante humana diferente.

Los anticuerpos humanos también se pueden hacer por métodos basados en hibridoma. Se han descrito estirpes celulares de mieloma humano y heteromieloma de ratón y humano

15 para la producción de anticuerpos monoclonales humanos. (Véase, *por ejemplo*, Kozbor *J. Immunol.* 133:3001 (1984) y Boerner et ál. *J. Immunol.* 147:86 (1991)). También se describen anticuerpos humanos generados mediante tecnología de hibridoma de linfocitos B humanos en Li et ál. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 103:3557-3562 (2006). Los métodos adicionales incluyen los descritos, por ejemplo, en la patente estadounidense n.º 7189826

20 (que describe la producción de anticuerpos monoclonales de IgM humana a partir de estirpes celulares de hibridoma). La tecnología de hibridoma humano (tecnología Trioma) se describe en Vollmers et ál. *Histology and Histopathology* 20(3):927-937 (2005) y Vollmers et ál. *Methods and Findings in Experimental and Clinical Pharmacology* 27(3):185-91 (2005).

Los anticuerpos humanos también pueden generarse aislando secuencias de dominio

25 variable de clon Fv seleccionadas de bibliotecas de presentación en fagos derivadas de humanos. Estas secuencias de dominio variable luego se pueden combinar con un dominio constante humano deseado. Las técnicas para seleccionar anticuerpos humanos de las bibliotecas de anticuerpos se describen a continuación.

En algunas modalidades de cualquiera de los anticuerpos que se proporcionan en la

30 presente, el anticuerpo es un anticuerpo humano que se aísla mediante métodos *in vitro* y/o cribado de bibliotecas combinatorias para los anticuerpos con la actividad o actividades deseadas. Los ejemplos adecuados incluyen, de modo no taxativo, expresión en fagos (CAT, Morphosys, Dyax, Biosite/Medarex, Xoma, Symphogen, Alexion (antes Proliferon), Affimed), expresión en ribosoma (CAT), expresión en levaduras (Adimab) y similares. En

35 determinados métodos de expresión en fagos, se clonan repertorios de genes de VH y VL por separado mediante reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y se recombinan de forma aleatoria en bibliotecas de fagos que luego pueden analizarse en busca de fagos de

unión a antígenos, tal como se describe en Winter et ál. *Ann. Rev. Immunol.* 12: 433-455 (1994). Por ejemplo, se conocen una variedad de métodos en la técnica para generar bibliotecas de expresión en fagos y cribar dichas bibliotecas en busca de anticuerpos que posean las características de unión deseadas. Véase también Sidhu et ál. *J. Mol. Biol.* 338(2): 299-310, 2004; Lee et ál. *J. Mol. Biol.* 340(5): 1073-1093, 2004; Fellouse *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 101(34):12467-12472 (2004); y Lee et ál. *J. Immunol. Methods* 284(-2):119-132 (2004). Normalmente los fagos expresan fragmentos de anticuerpos, como fragmentos Fv de monocatenarios (scFv) o como fragmentos Fab. Las bibliotecas de orígenes inmunizados le proporcionan al inmunógeno anticuerpos de gran afinidad sin el requisito de construcción de hibridomas. De manera alternativa, el repertorio sin inmunización puede clonarse (por ejemplo, a partir de un ser humano) para proporcionar una única fuente de anticuerpos para un amplio espectro de xenoantígenos y autoantígenos sin ningún tipo de inmunización, tal como se describe en Griffiths et ál. *EMBO J.* 12: 725-734 (1993). Por último, también se pueden elaborar bibliotecas sin inmunización de manera sintética mediante la clonación de segmentos génicos V sin reorganización de células madre y mediante el uso de cebadores de PCR que comprenden secuencias aleatorias para codificar las regiones HVR3 muy variables y para lograr la reorganización *in vitro*, como se describe en Hoogenboom et ál. *J. Mol. Biol.*, 227: 381-388, 1992. Las publicaciones de patente que describen bibliotecas de fagos de anticuerpos humanos incluyen, por ejemplo: la patente estadounidense n.º 5750373 y las patentes estadounidenses n.º 2007/0292936 y 2009/0002360. Los anticuerpos aislados de bibliotecas de anticuerpos humanos se consideran anticuerpos humanos o fragmentos de anticuerpos humanos en la presente.

Regiones constantes que incluyen regiones Fc

En determinadas modalidades, el anticuerpo anti-CD33 es un anticuerpo antagonista. En determinadas modalidades, el anticuerpo anti-CD33 es un anticuerpo agonista o un anticuerpo inerte. En algunas modalidades, los anticuerpos anti-CD33 de la presente descripción son de la clase IgG, la clase IgM o la clase IgA. En algunas modalidades, los anticuerpos anti-CD33 de la presente descripción son de la clase IgG y tienen un isotipo de IgG1, IgG2, IgG3 o IgG4. En algunas modalidades de cualquiera de los anticuerpos que se proporcionan en la presente, el anticuerpo comprende un Fc. En algunas modalidades, el Fc es un isotipo de IgG1, IgG2, IgG3 y/o IgG4 humana. En algunas modalidades, el anticuerpo es de la clase IgG, la clase IgM o la clase IgA.

En determinadas modalidades, la región Fc comprende las variantes Fc que se enumeran en la **Tabla E**, a continuación. La variante Fc puede ser con o sin el residuo de lisina de extremo C, tal como se muestra en la **Tabla E**.

Tabla E: Variantes de Fc humano

Variante de Fc humano	Secuencia de aminoácidos	La SEQ ID NO:
IgG1 - WT	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEP VTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVP SSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHT CPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIE KTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVK GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFL YSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSL SLSPGK	106
IgG1 – WT sin lisina de extremo.	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEP VTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVP SSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHT CPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIE KTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVK GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFL YSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSL SLSPG	107
IgG1 – LALAPS (L234A, L235A y P331S)	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEP VTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVP SSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHT CPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTC VVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPASI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLV KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFF LYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKS LSLSPGK	108
IgG1 – LALAPS (L234A, L235A y P331S) sin lisina de	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEP VTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVP SSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHT CPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTC	109

Variante de Fc humano	Secuencia de aminoácidos	La SEQ ID NO:
extremo.	VVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPASI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLV KGFYPDSIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFF LYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKS LSLSPG	
IgG1 – PS (P331S)	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEP VTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVP SSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHT CPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPASIE KTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVK GFYPDSIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFL YSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSL SLSPGK	110
IgG1 – PS (P331S) sin lisina de extremo.	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEP VTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVP SSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHT CPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPASIE KTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVK GFYPDSIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFL YSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSL SLSPG	111
IgG1 – PSEG (P331S y E430G)	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEP VTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVP SSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHT CPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPASIE KTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVK GFYPDSIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFL	112

Variante de Fc humano	Secuencia de aminoácidos	La SEQ ID NO:
	YSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHGALHNHYTQKSL SLSPGK	
IgG1 – PSEG (P331S y E430G) sin lisina de extremo.	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEP VTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVP SSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHT CPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPASIE KTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVK GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFL YSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHGALHNHYTQKSL SLSPG	113
IgG1 – NSLF (N325S y L328F)	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEP VTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVP SSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHT CPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSSKAFPAPIE KTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVK GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFL YSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSL SLSPGK	114
IgG1 – NSLF (N325S y L328F) sin lisina de extremo.	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEP VTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVP SSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHT CPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSSKAFPAPIE KTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVK GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFL YSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSL SLSPG	115
IgG1 – SELF (S267E y L328F)	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEP VTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVP	116

Variante de Fc humano	Secuencia de aminoácidos	La SEQ ID NO:
	SSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHT CPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVEHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKAFPAPIE KTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVK GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFL YSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSL SLSPGK	
IgG1 – SELF (S267E y L328F) sin lisina de extremo.	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEP VTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTP SSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHT CPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVEHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKAFPAPIE KTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVK GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFL YSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSL SLSPG	117
IgG2	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEP VTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTP SSNFGTQTYTCNVNHHKPSNTKVDKTKVERKCCVECP PCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTF RVVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKT SKTKGQPREPQVYTLPPSRDEMTKNQVSLTCLVKGF YPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSL SPGK	118
IgG2 sin lisina de extremo.	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEP VTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTP SSNFGTQTYTCNVNHHKPSNTKVDKTKVERKCCVECP PCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTF RVVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKT SKTKGQPREPQVYTLPPSRDEMTKNQVSLTCLVKGF YPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSL SPGK	119

Variante de Fc humano	Secuencia de aminoácidos	La SEQ ID NO:
	SKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGF YPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPMLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSL SPG	

Otros anticuerpos anti-CD33, por ejemplo, anticuerpos que se unen específicamente a una proteína CD33 de la presente descripción, pueden identificarse, analizarse y/o caracterizarse para determinar sus propiedades físicas/químicas y/o actividades biológicas mediante diversos ensayos conocidos en la técnica.

Anticuerpos anti-CD33 capaces de unirse a receptores de Fc gamma

En algunas modalidades, los anticuerpos anti-CD33 de la presente descripción conservan la capacidad de unirse a receptores de Fc gamma. En algunas modalidades, estos anticuerpos, cuando tienen la especificidad de epítipo correcta que es compatible con la activación del receptor, pueden tener características que les permitan agruparse y estimular, por ejemplo, de forma transitoria, el receptor de CD33. En algunas modalidades, estos anticuerpos pueden actuar posteriormente como inhibidores a largo plazo de la expresión de CD33 y/o una o más actividades de una proteína CD33 al inducir la degradación de CD33, la desensibilización de CD33, la escisión de CD33, la internalización de CD33, la liberación de CD33, la regulación por disminución de la expresión de CD33 y/o la degradación lisosomal de CD33.

In vivo, los anticuerpos anti-CD33 de la presente descripción pueden agrupar los receptores y activar transitoriamente CD33 mediante cualquiera de uno o más de múltiples mecanismos posibles. Algunos isotipos de anticuerpos humanos, tales como IgG2, tienen, debido a su estructura única, una capacidad intrínseca de agrupar receptores o mantener receptores en una configuración agrupada, mediante lo cual se activan de forma transitoria receptores tales como CD33 sin unirlos a un receptor de Fc (por ejemplo, White et ál., (2015) Cancer Cell 27, 138–148).

En algunas modalidades, otros anticuerpos pueden agrupar receptores (por ejemplo, CD33) al unirlos a receptores de Fcg en células adyacentes. En algunas modalidades, la unión de la región constante Fc de IgG del anticuerpo a los receptores de Fcg puede llevar a la acumulación de los anticuerpos, y los anticuerpos, a su vez, pueden acumular los receptores a los que se unen a través de su región variable (Chu et ál (2008) Mol Immunol, 45:3926-3933; y Wilson et ál (2011) Cancer Cell 19, 101–113). En algunas modalidades, la unión al receptor de FcgR inhibidor de Fcg (FcgRIIB) que no provoca la secreción de citocina,

explosión oxidante, mayor fagocitosis y mayor citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos (ADCC, por su sigla en inglés) es una forma preferida de agrupar anticuerpos *in vivo*, dado que la unión a FcγRIIB no se asocia con efectos adversos de la respuesta inmunitaria.

- 5 Existen otros mecanismos a través de los cuales los anticuerpos anti-CD33 de la presente descripción pueden agrupar receptores. Por ejemplo, los fragmentos de anticuerpos (por ejemplo, fragmentos Fab) que se reticularan juntos pueden utilizarse para agrupar receptores (por ejemplo, CD33) de una forma similar a los anticuerpos con regiones Fc que se unen a receptores de Fcγ, tal como se describió anteriormente. En algunas modalidades, los
 - 10 fragmentos de anticuerpos reticulados (por ejemplo, fragmentos Fab) pueden funcionar transitoriamente como anticuerpos agonistas si inducen la agrupación de receptores en la superficie celular y se unen a un epítipo adecuado en la diana (por ejemplo, CD33). Por lo tanto, en algunas modalidades, los anticuerpos de la presente descripción que se unen a una proteína CD33 pueden incluir anticuerpos que, debido a su especificidad de
 - 15 epítipo, se unen a CD33 y activan de forma transitoria una o más actividades de CD33, por ejemplo, antes de disminuir el nivel celular de CD33, inhibir una o más actividades de CD33 y/o inhibir la interacción (por ejemplo, unión) entre CD33 y uno o más ligandos de CD33. En algunas modalidades, estos anticuerpos pueden unirse al sitio de unión al ligando en CD33 e imitar transitoriamente la acción de un ligando natural, o estimular el antígeno diana para
 - 20 transducir la señal al unirse a uno o más dominios que no son sitios de unión al ligando. En algunas modalidades, estos anticuerpos no interferirían con la unión al ligando. En algunas modalidades, sin importar si los anticuerpos se unen o no se unen al sitio de unión al ligando en CD33, los anticuerpos pueden actuar posteriormente como inhibidores a largo plazo de la expresión de CD33 y/o una o más actividades de una proteína CD33 al inducir la
 - 25 degradación de CD33, la desensibilización de CD33, la escisión de CD33, la internalización de CD33, la liberación de CD33, la regulación por disminución de la expresión de CD33 y/o la degradación lisosomal de CD33.
- En algunas modalidades, un anticuerpo anti-CD33 de la presente descripción es un anticuerpo que induce transitoriamente una o más actividades de una proteína CD33. En
- 30 algunas modalidades, el anticuerpo induce en forma transitoria la una o más actividades luego de la unión a una proteína CD33 que se expresa en una célula. En algunas modalidades, la proteína CD33 madura se expresa en una superficie celular. En algunas modalidades, la una o más actividades de una proteína CD33 que se induce de forma transitoria con los anticuerpos anti-CD33 de la presente descripción pueden incluir, de modo
 - 35 no taxativo, fosforilación de Tyr-340 y Tyr-358 con una tirosina cinasa de la familia Src, tal como LCK y FYN; reclutar y unirse a las fosfatasa de proteína específicas de tirosina SHP1 y SHP2; reclutar y unirse a PLC-gamma1, que actúa como un factor de intercambio de

nucleótidos de guanina para Dynamin-1; reclutar y unirse a la proteína que contiene el dominio SH2 (por ejemplo, Crkl); reclutar y unirse a la tirosina cinasa esplénica Syk; reclutar y unirse a la proteína 2 de unión al receptor de factor de crecimiento SH3-SH2-SH3 (Grb2); reclutar y unirse a múltiples proteínas que contienen SH2; fosforilar Ser-307 y Ser-342 con la

5 proteína cinasa C; expresar en forma modulada una o más citocinas antiinflamatorias, IL-4, IL-10, IL-13, IL-35, IL-16, TGF-beta, IL-1Ra, G-CSF y receptores solubles para TNF, IFN-beta1a, IFN-beta1b o IL-6 en monocitos, macrófagos, linfocitos T, células dendríticas, neutrófilos y/o microglía; disminuir la movilización del calcio intracelular; expresar en forma modulada una o más citocinas proinflamatorias IFN-a4, IFN-b, IL-1 β , TNF- α , IL-6, IL-8, CRP,

10 integrantes de la familia IL-20, LIF, IFN-gamma, OSM, CNTF, GM-CSF, IL-11, IL-12, IL-17, IL-18, IL-23, CXCL10, IL-33, CRP, IL-33, MCP-1 y MIP-1-beta en monocitos, macrófagos, linfocitos T, células dendríticas, neutrófilos y/o microglía; expresar en forma modulada una o más proteínas que se seleccionan de C1qa, C1qB, C1qC, C1s, C1R, C4, C2, C3, ITGB2, HMOX1, LAT2, CASP1, CSTA, VSIG4, MS4A4A, C3AR1, GPX1, TyroBP, ALOX5AP,

15 ITGAM, SLC7A7, CD4, ITGAX, PYCARD, CD14, CD16, HLA-DR y CCR2; inhibir la fosforilación extracelular cinasa regulada por señales (ERK, por su sigla en inglés); disminuir la fosforilación de tirosina en múltiples proteínas celulares; expresar en forma modulada el receptor 7 de quimiocina C-C (CCR7); inhibir la quimiotaxia celular microglial hacia CCL19 y CCL21 que expresan las células; activar la fosfoinositida 3-cinasa; reducir el crecimiento

20 celular de monocitos, macrófagos, linfocitos T, células dendríticas y/o microglía; reducir la proliferación de linfocitos T mediante células dendríticas, células dendríticas derivadas de médula ósea, monocitos, microglía, microglía M1, microglía M1 activada, microglía M2, macrófagos, macrófagos M1, macrófagos M1 y/o macrófagos M2 activados; inhibir la producción de osteoclastos, disminuir la velocidad de la osteoclastogénesis, o ambas;

25 disminuir la supervivencia de neutrófilos, células dendríticas, células dendríticas derivadas de médula ósea, macrófagos, macrófagos M1, macrófagos M1 activados, macrófagos M2, monocitos, osteoclastos, linfocitos T, linfocitos T cooperadores, linfocitos T citotóxicos, granulocitos, microglía, microglía M1, microglía M1 activada y/o microglía M2; disminuir la proliferación de neutrófilos, células dendríticas, células dendríticas derivadas de médula

30 ósea, macrófagos, macrófagos M1, macrófagos M1 activados, macrófagos M2, monocitos, osteoclastos, linfocitos T, linfocitos T cooperadores, linfocitos T citotóxicos, granulocitos, microglía, microglía M1, microglía M1 activada y/o microglía M2; inhibir la migración de neutrófilos, células dendríticas, células dendríticas derivadas de médula ósea, macrófagos, macrófagos M1, macrófagos M1 activados, macrófagos M2, monocitos, osteoclastos,

35 linfocitos T, linfocitos T cooperadores, linfocitos T citotóxicos, granulocitos, microglía, microglía M1, microglía M1 activada y/o microglía M2; disminuir una o más funciones de neutrófilos, células dendríticas, células dendríticas derivadas de médula ósea, macrófagos,

macrófagos M1, macrófagos M1 activados, macrófagos M2, monocitos, osteoclastos, linfocitos T, linfocitos T cooperadores, linfocitos T citotóxicos, granulocitos, microglía, microglía M1, microglía M1 activada y/o microglía M2; inhibir la maduración de neutrófilos, células dendríticas, células dendríticas derivadas de médula ósea, macrófagos, macrófagos

5 M1, macrófagos M1 activados, macrófagos M2, monocitos, osteoclastos, linfocitos T, linfocitos T cooperadores, linfocitos T citotóxicos, granulocitos, microglía, microglía M1, microglía M1 activada y/o microglía M2; aumentar la muerte y apoptosis celular de monocitos, macrófagos, linfocitos T, células dendríticas, neutrófilos y/o microglía; reducir la actividad fagocítica de monocitos, macrófagos, linfocitos T, células dendríticas, neutrófilos

10 y/o microglía; reducir la proliferación de monocitos, macrófagos, linfocitos T, células dendríticas, neutrófilos y/o microglía; reducir la funcionalidad general de monocitos, macrófagos, linfocitos T, células dendríticas, neutrófilos y/o microglía, fosforilar un receptor que contiene ITAM; fosforilar una molécula de señalización que medie la señalización de ITAM; reducir la activación de los receptores de reconocimiento de patrones; reducir la

15 activación de receptores de tipo Toll; reducir la activación de depuración asociada a daños de los restos celulares y proteicos; interactuar entre CD33 y uno o más de sus ligandos; interactuar entre CD33 y un correceptor tal como CD64; reducir uno o más tipos de depuración que se selecciona de depuración neuronal apoptótica, depuración de sinapsis disfuncional, depuración de desechos tisulares nerviosos, depuración de desecho tisular que

20 no sea nervioso, depuración de bacterias u otros cuerpos extraños, depuración de proteínas que provocan enfermedades y depuración de células tumorales; inhibir la fagocitosis de uno o más de neuronas apoptóticas, desecho tisular nervioso, desecho tisular no nervioso, bacterias, otros cuerpos extraños, proteínas que provocan enfermedades, péptidos que provocan enfermedades, ácido nucleico que provoca enfermedades, lípidos que provocan

25 enfermedades o células tumorales; inhibir la depuración de un ácido nucleico que provoca enfermedades, tal como el ácido nucleico que provoca enfermedades que es ARN de expansión de repetición GGCCCC (G2C4) de antisentido; activar la depuración de una proteína que provoca enfermedades, que se selecciona de beta amiloidea, placas beta amiloideas, proteína precursora amiloidea o fragmentos de esta, Tau, IAPP, sinucleína alfa,

30 TDP-43, proteína FUS, C9orf72 (marco abierto de lectura 72 del cromosoma 9), proteína c9RAN, proteína priónica, PrPSc, huntingtina, calcitonina, superóxido dismutasa, ataxina, ataxina 1, ataxina 2, ataxina 3, ataxina 7, ataxina 8, ataxina 10, cuerpo de Lewy, factor natriurético atrial, polipéptido amiloideo de islotes, insulina, apolipoproteína AI, amiloidea A en suero, medina, prolactina, transtirretina, lisozima, microglobulina beta 2, gelsolina,

35 queratoepitelina, cistatina, cadena ligera de inmunoglobulina AL, proteína S-IBM, productos de traducción no ATG asociados a la repetición (RAN), péptidos de repetición dipeptídica (DPR), péptidos de repetición de glicina-alanina (GA), péptidos de repetición de glicina-

prolina (GP), péptidos de repetición de glicina-arginina (GR), péptidos de repetición de prolina-alanina (PA), ubiquitina y péptidos de repetición de prolina-arginina (PR); inhibición de la respuesta inmunitaria beneficiosa a diferentes tipos de cáncer que se seleccionan de cáncer de vejiga, cáncer encefálico, cáncer de mama, cáncer de colon, cáncer de recto,

5 cáncer de endometrio, cáncer de riñón, cáncer de células renales, cáncer de pelvis renal, leucemia, carcinoma broncopulmonar, melanoma, linfoma no hodgkiniano, leucemia mieloide aguda, cáncer de páncreas, cáncer de próstata, cáncer de ovario, fibrosarcoma y cáncer de tiroides; inhibición de la respuesta inmunitaria beneficiosa a diferentes tipos de trastornos nerviosos que se seleccionan de demencia, demencia frontotemporal,

10 enfermedad de Alzheimer, demencia vascular, demencia mixta, enfermedad de Creutzfeldt-Jakob, hidrocefalia normotensiva, esclerosis lateral amiotrófica, corea de Huntington, tauopatía, enfermedad de Nasu-Hakola, accidente cerebrovascular, traumatismo agudo, traumatismo crónico, temblor hereditario, enfermedad de Behcet, enfermedad de Parkinson, demencia con cuerpos de Lewy, atrofia de múltiples sistemas, síndrome de Shy-Drager,

15 parálisis supranuclear progresiva, degeneración ganglionar basal cortical, encefalomiелitis diseminada aguda, trastornos granulomatosos, sarcoidosis, enfermedades propias de la edad, convulsiones, lesión de la médula espinal, lesión encefálica traumática, degeneración macular relacionada con la edad, glaucoma, retinitis pigmentaria, degeneración de la retina y esclerosis múltiple; inhibición de la respuesta inmunitaria beneficiosa a diferentes tipos de

20 trastornos inflamatorios e infecciosos que se seleccionan de lupus, colitis aguda y crónica, cicatrización de heridas, enfermedad de Crohn, enfermedad intestinal inflamatoria, colitis ulcerosa, obesidad, malaria, infección de las vías respiratorias, sepsis, infección ocular, infección sistémica, lupus, artritis, baja densidad ósea, osteoporosis, osteogénesis, osteopetrosis y enfermedad de Paget de los huesos; inhibición de fagocitosis de una o más

25 neuronas apoptóticas, desechos tisulares nerviosos, sinapsis disfuncionales, desechos tisulares que no sean nerviosos, bacterias, otros cuerpos extraños, proteínas que provocan enfermedades, péptidos que provocan enfermedades, ácidos nucleicos que provocan enfermedades o células tumorales, donde los ácidos nucleicos que provocan enfermedades pueden ser un ARN de expansión de repetición GGCCCC (G2C4) de antisentido, las

30 proteínas que provocan enfermedades pueden incluir beta amiloidea, beta amiloidea oligomérica, placas beta amiloideas, proteína precursora amiloidea o fragmentos de esta, Tau, IAPP, sinucleína alfa, TDP-43, proteína FUS, C9orf72 (marco de lectura abierto 72 del cromosoma 9), proteína c9RAN, proteína de prion, PrPSc, huntingtina, calcitonina, superóxido dismutasa, ataxina, ataxina 1, ataxina 2, ataxina 3, ataxina 7, ataxina 8, ataxina

35 10, cuerpos de Lewy, factor natriurético atrial, polipéptido amiloideo de islotes, insulina, apolipoproteína AI, amiloidea A en suero, medina, prolactina, transtirretina, lisozima, microglobulina beta 2, gelsolina, queratoepitelina, cistatina, cadena ligera de

inmunoglobulina AL, proteína S-IBM, productos de traducción no ATG asociados a la repetición (RAN), péptidos de repetición dipeptídica (DPR), péptidos de repetición de glicina-alanina (GA), péptidos de repetición de glicina-prolina (GP), péptidos de repetición de glicina-arginina (GR), péptidos de repetición de prolina-alanina (PA), ubiquitina y péptidos de repetición de prolina-arginina (PR), y las células tumorales pueden ser de un cáncer que se selecciona de cáncer de vejiga, cáncer encefálico, cáncer de mama, cáncer de colon, cáncer de recto, cáncer de endometrio, cáncer de riñón, cáncer de células renales, cáncer de pelvis renal, leucemia, carcinoma broncopulmonar, melanoma, linfoma no hodgkiniano, cáncer de páncreas, cáncer de próstata, cáncer de ovario, fibrosarcoma o cáncer de tiroides; unirse al ligando de CD33 en células tumorales; unirse al ligando de CD33 en células dendríticas, células dendríticas de médula ósea, monocitos, microglía, linfocitos T, neutrófilos y/o macrófagos; inhibir la eliminación de células tumorales con uno o más de microglía, macrófagos, células dendríticas, células dendríticas derivadas de médula ósea, neutrófilos, linfocitos T, linfocitos T cooperadores o linfocitos T citotóxicos; inhibir la actividad de proliferación contra células tumorales de uno o más de microglía, macrófagos, células dendríticas, células dendríticas derivadas de médula ósea, neutrófilos, linfocitos T, linfocitos T cooperadores o linfocitos T citotóxicos; inhibir la actividad de metástasis contra células tumorales de uno o más de microglía, macrófagos, células dendríticas, células dendríticas derivadas de médula ósea, neutrófilos, linfocitos T, linfocitos T cooperadores o linfocitos T citotóxicos; promover las células dendríticas inmunosupresoras, macrófagos inmunosupresores, células supresoras mieloides, macrófagos asociados a tumores o linfocitos T reguladores; inhibir uno o más de receptores que contienen motivos de ITAM, tal como TREM1, TREM2, FcγR, DAP10 y DAP12; inhibir uno o más receptores que contienen el motivo D/Ex0–2YxxL/IX6–8YxxL/I (SEQ ID NO:104); inhibir la señalización de uno o más receptores de reconocimiento de patrones (PRR), tal como receptores que identifican patrones moleculares asociados a patógenos (PAMP) y receptores que identifican patrones moleculares asociados a daños (DAMP); inhibición de la señalización con uno o más receptores tipo Toll; inhibir la vía de señalización JAK-STAT; inhibir el potenciador de cadena ligera kappa de factor nuclear de linfocitos B activados (NFκB); inhibir la movilización de PLCγ/PKC/calcio; inhibir la señalización de PI3K/Akt, Ras/MAPK; expresar en forma modulada uno o más receptores inflamatorios, tal como CD86, que se expresa en uno o más de microglía, macrófagos, células dendríticas, células dendríticas derivadas de médula ósea, neutrófilos, linfocitos T, linfocitos T cooperadores o linfocitos T citotóxicos; aumentar la expresión de uno o más genes que dependen de CD33; normalizar la expresión génica interrumpida que depende de CD33; y disminuir la expresión de uno o más genes que dependen de ITAM, tal como factores de transcripción de NFAT. Los anticuerpos anti-CD33 de la presente descripción pueden evaluarse para determinar su capacidad de inducir de

forma transitoria una o más actividades de una proteína CD33 mediante el uso de cualquier técnica o ensayo adecuado conocido en la técnica y descrito en la presente. Sin importar las actividades que induzcan transitoriamente estos anticuerpos, estos pueden actuar, posteriormente, como inhibidores a largo plazo de la expresión de CD33 y/o una o más actividades de una proteína CD33 al inducir la degradación de CD33, la desensibilización de CD33, la escisión de CD33, la internalización de CD33, la liberación de CD33, la regulación por disminución de la expresión de CD33 y/o la degradación lisosomal de CD33. En algunas modalidades, el anticuerpo de CD33 induce transitoriamente una o más actividades de una proteína CD33, independientemente de la unión a un receptor de Fc.

- 5 Se proporcionan ejemplos y modificaciones de isotipos Fc de anticuerpos en la **Tabla B** que figura a continuación. En algunas modalidades, un anticuerpo anti-CD33 de la presente descripción que puede unirse a un receptor de Fc gamma tiene un isotipo Fc enumerado en la **Tabla B** que figura a continuación.

Tabla B: Ejemplos de isotipos de Fc de anticuerpos anti-CD33 que pueden unirse al

- 15 receptor de Fc gamma

Isotipo Fc	Mutación (esquema de numeración de UE)
IgG1	N297A
IgG1	D265A y N297A
IgG1	D270A
IgG1	L234A y L235A L234A y G237A L234A, L235A y G237A
IgG1	D270A, P238D, L328E, E233D, G237D H268D, P271G y/o A330R
IgG1	P238D, L328E, E233D, G237D, H268D, P271G y A330R
IgG1	P238D, L328E, G237D, H268D, P271G y A330R
IgG1	P238D, S267E, L328F, E233D, G237D, H268D, P271G y A330R
IgG1	P238D, S267E, L328F, G237D, H268D, P271G y A330R
IgG2	V234A y G237A
IgG4	L235A, G237A y E318A
IgG4	S228P y L236E
Híbrido IgG2/4	IgG2 aa 118 a 260 e IgG4 aa 261 a 447
	H268Q y V309L; A330S y P331S
IgG1	C226S, C229S, E233P, L234V y L235A
IgG1	L234F, L235E y P331S

Isotipo Fc	Mutación (esquema de numeración de UE)
IgG2	C232S o C233S
IgG2	A330S y P331S
IgG1	S267E y L328F S267E solo
IgG2	S267E y L328F
IgG4	S267E y L328F
IgG2	HC WT con LC (cadena ligera) Kappa HC C127S con LC Kappa LC Kappa C214S LC Kappa C214S y HC C233S LC Kappa C214S y HC C232S Cualquiera de las mutaciones enumeradas anteriormente junto con mutaciones P330S y P331S Fragmento F(ab') ₂ de IgG1 WT y cualquiera de las mutaciones enumeradas anteriormente
IgG1	Sustituir la región pesada constante 1 (CH1) y la región bisagra de IgG1 con CH1 y región bisagra de IgG2 ASTKGPSVFP LAPCSRSTSE STAALGCLVK DYFPEPVTVS WNSGALTSGV HTFPAVLQSS GLYSLSSVVT VPSSNFGTQT YTCNVDPKPS NTKVDKTVR KCCVECPPCP (SEQ ID NO: 105) Con una LC Kappa
IgG1	Cualquiera de las mutaciones anteriormente enumeradas junto con A330L/A330S, L234F, L235E y/o P331S
IgG1, IgG2 o IgG4	Cualquiera de las mutaciones anteriormente enumeradas junto con M252Y y/o S254T y/o T256E
IgG1 de ratón, IgG2a de ratón, IgG2b de ratón	Para modelos de enfermedad de ratón
IgG4	WT
IgG1	Cualquiera de las mutaciones enumeradas anteriormente junto con E430G, E430S, E430F, E430T, E345K, E345Q, E345R, E345Y, S440Y, S440W y/o

Isotipo Fc	Mutación (esquema de numeración de UE)
	cualquier combinación de estas.
IgG2	Cualquiera de las mutaciones enumeradas anteriormente junto con E430G, E430S, E430F, E430T, E345K, E345Q, E345R, E345Y, S440Y, S440W y/o cualquier combinación de estas.

- Además de los isotipos descritos en la Tabla B, y sin pretender limitarse a la teoría, se considera que los anticuerpos con isotipos de IgG1 o IgG3 humanos y mutantes de estos (por ejemplo, Strohl (2009) Current Opinion in Biotechnology 2009, 20:685–691) que se unen a los receptores de Fcγ I, IIA, IIC, IIIA, IIIB en receptores humanos y/o de Fcγ I, III y IV en ratones, también pueden actuar como anticuerpos agonistas transitorios.
- En algunas modalidades, el anticuerpo de unión al receptor de Fc gamma es de la clase IgG, la clase IgM o la clase IgA. En algunas modalidades, el anticuerpo de unión al receptor de Fc gamma tiene un isotipo IgG1, IgG2, IgG3 o IgG4. En algunas modalidades, el anticuerpo comprende una o más (por ejemplo, una o más, dos o más, tres o más, cuatro o más, cinco o más, seis o más, siete o más, ocho o más, nueve o más, 10 o más, 11 o más, 12 o más, o las trece) sustituciones de aminoácidos en la región Fc en una posición de residuo que se selecciona del grupo que consiste en: C127S, L234A, L234F, L235A, L235E, S267E, K322A, L328F, A330S, P331S, E345R, E430G, S440Y en cualquier combinación (posición de residuo de acuerdo con la numeración de EU). En algunas modalidades, la región Fc tiene una sustitución de aminoácidos en la posición E430G. En algunas modalidades, la región Fc comprende una sustitución de aminoácidos en las posiciones L234A, L235A y P331A. En algunas modalidades, la región Fc comprende una sustitución de aminoácidos en las posiciones L234A, L235A, P331A. En algunas modalidades, la región Fc tiene una sustitución de aminoácidos en las posiciones K322A y E430G. En algunas modalidades, la región Fc tiene una sustitución de aminoácidos en las posiciones P331S y E430G. En algunas modalidades, la región Fc comprende una sustitución de aminoácidos en las posiciones A330S, P331S y E430G. En algunas modalidades, la región Fc comprende una sustitución de aminoácidos en las posiciones K322A, A330S y P331S. En algunas modalidades, la región Fc comprende una sustitución de aminoácidos en las posiciones K322A, P331S y E430G. En algunas modalidades, la región Fc comprende una sustitución de aminoácidos en las posiciones A330S, P331S y E430G. En algunas modalidades, la región Fc tiene una sustitución de aminoácidos en las posiciones S267E y L328F. En algunas modalidades, la región Fc tiene una sustitución de aminoácidos en la posición C127S. En algunas modalidades, la región Fc comprende una sustitución de aminoácidos en las posiciones E345R, E430G y S440Y. En algunas modalidades, la región

Fc tiene la sustitución de aminoácidos en la posición P331S. En algunas modalidades, la región Fc comprende una sustitución de aminoácidos en las posiciones L234A, L235A y P331S. En algunas modalidades, la región Fc tiene una sustitución de aminoácidos en las posiciones S267E y L328F. En algunas modalidades, la numeración de las sustituciones de aminoácidos que anteceden es de acuerdo con la numeración EU.

En determinadas modalidades, el anticuerpo de unión al receptor de Fc gamma tiene un isotipo de IgG2. En algunas modalidades, el anticuerpo de unión al receptor de Fc gamma contiene una región constante de IgG2 humana. En algunas modalidades, la región constante de IgG2 humana incluye una región Fc. En algunas modalidades, el anticuerpo de unión al receptor de Fc gamma se une a un receptor de Fc inhibidor. En determinadas modalidades, el receptor de Fc inhibidor es el receptor inhibidor de Fc-gamma IIB (FcγIIB). En algunas modalidades, la región Fc contiene una o más modificaciones. Por ejemplo, en algunas modalidades, la región Fc contiene una o más sustituciones de aminoácidos (por ejemplo, con respecto a una región Fc natural del mismo isotipo). En algunas modalidades, la una o más sustituciones de aminoácidos se seleccionan de V234A (Alegre et ál., (1994) *Transplantation* 57:1537-1543. 31; Xu et ál., (2000) *Cell Immunol*, 200:16-26), G237A (Cole et ál. (1999) *Transplantation*, 68:563-571), H268Q, V309L, A330S, P331S (US 2007/0148167; Armour et ál. (1999) *Eur J Immunol* 29: 2613-2624; Armour et ál. (2000) *The Haematology Journal* 1(Suppl.1):27; Armour et ál. (2000) *The Haematology Journal* 1(Supl. 1):27), C232S y/o C233S (White et ál.(2015) *Cancer Cell* 27, 138–148), S267E, L328F (Chu et ál., (2008) *Mol Immunol*, 45:3926-3933), M252Y, S254T y/o T256E, donde la posición de aminoácidos es de acuerdo con la convención de la numeración de EU.

En algunas modalidades, el anticuerpo de unión al receptor de Fc gamma tiene un isotipo de IgG2 con un dominio constante de cadena pesada que contiene una sustitución de aminoácidos C127S, donde la posición del aminoácido es de acuerdo con la convención de numeración de EU (White et ál., (2015) *Cancer Cell* 27, 138-148; Lightle et ál., (2010) *PROTEIN SCIENCE* 19:753-762; y WO2008079246).

En algunas modalidades, el anticuerpo de unión al receptor de Fc gamma tiene un isotipo de IgG2 con un dominio constante de cadena ligera Kappa que contiene una sustitución de aminoácidos C214S, donde la posición del aminoácido es de acuerdo con la convención de numeración de EU (White et ál., (2015) *Cancer Cell* 27, 138-148; Lightle et ál., (2010) *PROTEIN SCIENCE* 19:753-762; y WO2008079246).

En determinadas modalidades, el anticuerpo de unión al receptor de Fc gamma tiene un isotipo de IgG1. En algunas modalidades, el anticuerpo de unión al receptor de Fc gamma contiene una región constante de IgG1 de ratón. En algunas modalidades, el anticuerpo de unión al receptor de Fc gamma contiene una región constante de IgG1 humana. En algunas modalidades, la región constante de IgG1 humana incluye una región Fc. En algunas

modalidades, el anticuerpo de unión al receptor de Fc gamma se une a un receptor de Fc inhibidor. En determinadas modalidades, el receptor de Fc inhibidor es el receptor inhibidor de Fc-gamma IIB (FcγIIB). En algunas modalidades, la región Fc contiene una o más modificaciones. Por ejemplo, en algunas modalidades, la región Fc contiene una o más

5 sustituciones de aminoácidos (por ejemplo, con respecto a una región Fc natural del mismo isotipo). En algunas modalidades, la una o más sustituciones de aminoácidos se seleccionan de N297A (Bolt S et ál. (1993) *Eur J Immunol* 23:403-411), D265A (Shields et ál. (2001) *R. J. Biol. Chem.* 276, 6591–6604), D270A, L234A, L235A (Hutchins et ál. (1995) *Proc Natl Acad Sci USA*, 92:11980-11984; Alegre et ál., (1994) *Transplantation* 57:1537-

10 1543. 31; Xu et ál., (2000) *Cell Immunol*, 200:16-26), G237A (Alegre et ál. (1994) *Transplantation* 57:1537-1543. 31; Xu et ál. (2000) *Cell Immunol*, 200:16-26), P238D, L328E, E233D, G237D, H268D, P271G, A330R, C226S, C229S, E233P, L234V, L234F, L235E (McEarchern et ál., (2007) *Blood*, 109:1185-1192), P331S (Sazinsky et ál., (2008) *Proc Natl Acad Sci USA* 2008, 105:20167-20172), S267E, L328F, A330L, M252Y, S254T,

15 T256E, N297Q, P238S, P238A, A327Q, A327G, P329A, K322A y/o T394D, donde la posición de aminoácidos es de acuerdo con la convención de numeración de EU.

En algunas modalidades, el anticuerpo incluye un dominio constante de cadena pesada 1(CH1) y región bisagra de isotipo IgG2 (White et ál., (2015) *Cancer Cell* 27, 138–148). En determinadas modalidades, el CH1 y región bisagra del isotipo IgG2 contienen la secuencia

20 de aminoácidos
ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSG
LYSLSSVTVPSNFGTQTYTCNVDPKPSNTKVDKTVKCCVECPPCP (SEQ ID NO:
105). En algunas modalidades, la región Fc del anticuerpo contiene una sustitución de aminoácido S267E, una sustitución de aminoácido L328F, o ambas, y/o una sustitución de

25 aminoácido N297A o N297Q, donde la posición del aminoácido es de acuerdo con la convención de numeración de EU.

En determinadas modalidades, el anticuerpo de unión al receptor de Fc gamma tiene un isotipo de IgG4. En algunas modalidades, el anticuerpo de unión al receptor de Fc gamma contiene una región constante de IgG4 humana. En algunas modalidades, la región

30 constante de IgG4 humana incluye una región Fc. En algunas modalidades, el anticuerpo de unión al receptor de Fc gamma se une a un receptor de Fc inhibidor. En determinadas modalidades, el receptor de Fc inhibidor es el receptor inhibidor de Fc-gamma IIB (FcγIIB). En algunas modalidades, la región Fc contiene una o más modificaciones. Por ejemplo, en algunas modalidades, la región Fc contiene una o más sustituciones de aminoácidos (por

35 ejemplo, con respecto a una región Fc natural del mismo isotipo). En algunas modalidades, la una o más sustituciones de aminoácidos se seleccionan de L235A, G237A, S228P, L236E (Reddy et ál., (2000) *J Immunol*, 164:1925-1933), S267E, E318A, L328F, M252Y, S254T y/o

T256E, donde la posición del aminoácido es según la convención de numeración de EU.

En determinadas modalidades, el anticuerpo de unión al receptor de Fc gamma tiene un isotipo híbrido de IgG2/4. En algunas modalidades, el anticuerpo de unión al receptor de Fc gamma incluye una secuencia de aminoácidos que contiene los aminoácidos 118 a 260 de acuerdo con la numeración de EU de IgG2 humana y los aminoácidos 261-447 de acuerdo con la numeración de EU de IgG4 humana (WO 1997/11971; WO 2007/106585).

En determinadas modalidades, el anticuerpo contiene una región constante de IgG4 de ratón (Bartholomaeus, et ál. (2014). J. Immunol. 192, 2091-2098).

En algunas modalidades, la región Fc también contiene una o más sustituciones de aminoácidos adicionales seleccionadas del grupo que consiste en A330L, L234F; L235E o P331S de acuerdo con la numeración de EU; y cualquier combinación de estas.

En determinadas modalidades, el anticuerpo contiene una o más sustituciones de aminoácidos en la región Fc en una posición de residuos que se selecciona de C127S, L234A, L234F, L235A, L235E, S267E, K322A, L328F, A330S, P331S, E345R, E430G, S440Y y cualquier combinación de estos, donde la numeración de los residuos es de acuerdo con la numeración de EU. En algunas modalidades, la región Fc contiene una sustitución de aminoácidos en las posiciones E430G, L234A, L235A y P331S, donde la numeración de la posición del residuo es de acuerdo con la numeración de EU. En algunas modalidades, la región Fc contiene una sustitución de aminoácidos en las posiciones E430G y P331S, donde la numeración de la posición del residuo es de acuerdo con la numeración de EU. En algunas modalidades, la región Fc contiene una sustitución de aminoácidos en las posiciones E430G y K322A, donde la numeración de la posición del residuo es de acuerdo con la numeración de EU. En algunas modalidades, la región Fc contiene una sustitución de aminoácidos en las posiciones E430G, A330S y P331S, donde la numeración de la posición del residuo es de acuerdo con la numeración de EU. En algunas modalidades, la región Fc contiene una sustitución de aminoácidos en las posiciones E430G, K322A y A330S, donde la numeración de la posición del residuo es de acuerdo con la numeración de EU. En algunas modalidades, la región Fc contiene una sustitución de aminoácidos en las posiciones E430G, K322A y P331S, donde la numeración de la posición del residuo es de acuerdo con la numeración de EU. En algunas modalidades, la región Fc contiene una sustitución de aminoácidos en las posiciones S267E y L328F, donde la numeración de la posición del residuo es de acuerdo con la numeración de EU. En algunas modalidades, la región Fc contiene una sustitución de aminoácidos en la posición C127S, donde la numeración de la posición del residuo es de acuerdo con la numeración de EU. En algunas modalidades, la

región Fc contiene una sustitución de aminoácidos en las posiciones E345R, E430G y S440Y, donde la numeración de la posición del residuo es de acuerdo con la numeración de EU. En algunas modalidades, la región Fc comprende una sustitución de aminoácidos en las posiciones L234A, L235A y P331S, en donde la numeración de la posición del residuo es de acuerdo con la numeración EU.

Anticuerpos inertes

Otra clase de anticuerpos anti-CD33 de la presente descripción incluye anticuerpos inertes. Tal como se usa en la presente, los anticuerpos «inertes» hacen referencia a anticuerpos que se unen específicamente a su antígeno diana (por ejemplo, CD33) pero no modulan (por ejemplo, disminuyen/inhiben o activan/inducen) la función del antígeno. Por ejemplo, en el caso de CD33, los anticuerpos inertes no modulan el nivel celular de CD33, no modulan la interacción (por ejemplo, la unión) entre CD33 y uno o más ligandos de CD33, o no modulan una o más actividades de una proteína CD33. En algunas modalidades, los anticuerpos que no tienen la capacidad de agrupar CD33 en la superficie celular pueden ser anticuerpos inertes, incluso aunque tengan una especificidad para el epítipo compatible con la activación del receptor.

En algunas modalidades, los anticuerpos que se unen a una proteína CD33 pueden incluir anticuerpos que se unen a CD33 pero, debido a su especificidad para el epítipo, o características, no aumentan el nivel celular de CD33 y/o inhiben la interacción (por ejemplo, la unión) entre CD33 y uno o más ligandos de CD33. En algunas modalidades, estos anticuerpos pueden utilizarse como carga, por ejemplo, para el transporte de toxinas (por ejemplo, quimioterápicos) hacia células tumorales. Por lo tanto, en algunas modalidades, los anticuerpos de la presente descripción son anticuerpos inertes que se unen a CD33 pero son incapaces de disminuir el nivel celular de CD33, inhibir la interacción (por ejemplo, unión) entre CD33 y uno o más ligandos de CD33 o inducir una o más actividades de una proteína CD33.

Los anticuerpos que disminuyen o no disminuyen el nivel celular de CD33 en las células pueden combinarse con una región Fc inerte que presenta una unión reducida a uno o más receptores de Fcg. Los ejemplos de estas regiones Fc y modificaciones se proporcionan en la Tabla C que figura a continuación. En algunas modalidades, el anticuerpo con una región Fc inerte tiene un isotipo Fc enumerado en la Tabla C que figura a continuación.

Anticuerpos anti-CD33 inhibidores

Una tercera clase de anticuerpos anti-CD33 de la presente descripción incluye anticuerpos que bloquean o inhiben de otra forma una o más actividades de CD33. En algunas modalidades, los anticuerpos que se unen a una proteína CD33 pueden incluir anticuerpos

que reducen el nivel celular de CD33 (por ejemplo, el nivel en la superficie celular de CD33), inhiben la interacción (por ejemplo, la unión) entre CD33 y/o uno o más ligandos de CD33 e inhiben una o más actividades de una proteína CD33. Estos anticuerpos inhiben una o más actividades de una proteína CD33 ya sea al evitar la interacción (por ejemplo, unión) entre

5 CD33 y uno o más ligandos de CD33 o al evitar la transducción de señales del dominio extracelular de CD33 en el citoplasma celular en presencia de uno o más ligandos de CD33. Los anticuerpos también pueden inhibir una o más actividades de una proteína CD33 al disminuir el nivel en la superficie celular de CD33 al inducir la degradación de CD33, la desensibilización de CD33, la escisión de CD33, la internalización de CD33, la liberación de

10 CD33, la regulación por disminución de la expresión de CD33 y/o la degradación lisosomal de CD33. En algunas modalidades, estos anticuerpos anti-CD33 pueden no activar transitoriamente CD33.

En algunas modalidades, los anticuerpos anti-CD33 de la presente descripción pueden tener la especificidad para el epítipo de un anticuerpo anti-CD33 agonista transitorio de la

15 presente descripción, pero tienen un dominio Fc que no puede unirse a receptores de Fcγ y, por lo tanto, es incapaz de agruparse transitoriamente y activar CD33, por ejemplo.

En algunas modalidades, los anticuerpos anti-CD33 de la presente descripción tienen, de modo no taxativo, una o más de las siguientes actividades: la capacidad para disminuir la unión de una proteína CD33 a uno o más ligandos de CD33, tales como glucolípidos que

20 contienen ácido siálico o glucoproteínas que contienen ácido siálico, la capacidad para disminuir la unión de un supresor de la proteína de señalización de citocina (SOCS) (por ejemplo, proteína SOCS3) a una proteína CD33, la capacidad para aumentar la degradación proteasomal de una proteína CD33, la capacidad para reducir la expresión funcional de

CD33 en la superficie de células dendríticas circulantes, macrófagos, monocitos, linfocitos T

25 y/o microglía, la capacidad de disminuir la fosforilación de Tyr-340 y Tyr-358 mediante una tirosina cinasa de la familia Src, tal como LCK y FYN, la capacidad para disminuir el reclutamiento y la unión a las proteínas fosfatasa específicas para la tirosina SHP1 y SHP2, la capacidad para disminuir el reclutamiento y unión a PLC-g1, que actúa como un

nucleótido de guanina, factor de intercambio para Dynamin-1, la capacidad para disminuir el

30 reclutamiento y unión a Crkl, la capacidad para disminuir el reclutamiento y unión a la tirosina cinasa esplénica Syk, la capacidad para disminuir el reclutamiento y unión a la proteína 2 unida al receptor del factor de crecimiento SH3-SH2-SH3 (Grb2), la capacidad para disminuir el reclutamiento y unión a múltiples proteínas que contienen SH2, la

capacidad para aumentar la movilización de calcio intracelular, la capacidad para modular la

35 producción de citocinas proinflamatorias IL-1β, IL-8 y TNF-α, la capacidad para disminuir la activación de fosfoinositida 3-cinasa, la capacidad para aumentar el crecimiento de monocitos, macrófagos, células dendríticas, linfocitos T y/o microglía, la capacidad para

- aumentar la supervivencia de monocitos, macrófagos, células dendríticas, linfocitos T y/o microglía, la capacidad para aumentar la fosforilación de tirosina en múltiples proteínas celulares, la capacidad para aumentar la actividad fagocítica de monocitos, macrófagos, células dendríticas y/o microglía, la capacidad para aumentar la proliferación celular de monocitos, macrófagos, células dendríticas, linfocitos T y/o microglías, la capacidad para aumentar la fosforilación de moléculas de señalización que median la señalización de ITAM, la capacidad para aumentar la función de los receptores de reconocimiento de patrones, la capacidad de aumentar la función de receptores tipo Toll, la capacidad para aumentar la función de receptores de patrones moleculares asociados a daños (DAMP), la capacidad para modular la expresión del receptor de quimiocina C-C 7 (CCR7), y la capacidad para aumentar la depuración de desechos celulares y proteicos.

- En algunas modalidades, los anticuerpos anti-CD33 de la presente descripción tienen una región Fc que presenta una unión reducida a uno o más receptores de Fcγ. Los ejemplos de estas regiones Fc y modificaciones se proporcionan en la Tabla C que figura a continuación.
- En algunas modalidades, el anticuerpo tiene un isotipo Fc enumerado en la Tabla C que figura a continuación.

Isotipos de Fc del anticuerpo con unión reducida a receptores de Fc gamma

- En algunas modalidades, los anticuerpos anti-CD33 con unión reducida a receptores de Fc gamma tienen un isotipo de Fc enumerado en la **Tabla C** que figura a continuación.

Tabla C: Ejemplos de isotipos de Fc de anticuerpos anti-CD33 con unión reducida al receptor de Fc gamma

Isotipo Fc	Mutación (esquema de numeración de UE)
IgG1	N297A o N297Q y/o D270A
IgG1	D265A, D270A y/o N297A
IgG1	L234A y L235A
IgG2	V234A y G237A
IgG4	F235A, G237A y E318A E233P y/o F234V N297A o N297Q
IgG4	S228P, L236E S241P S241P y L248E S228P, F234A y L235A
IgG2	H268Q y V309L y A330S y P331S
IgG1	C220S y C226S y C229S y P238S

Isotipo Fc	Mutación (esquema de numeración de UE)
IgG1	C226S y C229S y E233P y L234V, y L235A
IgG1	E233P y L234V y L235A y con eliminación de G236 P238A D265A N297A A327Q o A327G P329A
IgG1	K322A, L234A y L235A
IgG1	L234F y L235E y P331S
IgG1 o IgG4	T394D
IgG2	C232S o C233S N297A o N297Q
IgG2	V234A y G237A y P238S y H268A y V309L y A330S y P331S
IgG1, IgG2 o IgG4	modificaciones delta a, b, c, ab, ac, g
IgG1	Cualquiera de las mutaciones anteriormente enumeradas junto con A330L o L234F y/o L235E y/o P331S.
IgG1, IgG2 o IgG4	Cualquiera de las mutaciones anteriormente enumeradas junto con M252Y y/o S254T y/o T256E

En determinadas modalidades, el anticuerpo anti-CD33 tiene un isotipo de IgG1. En algunas modalidades, el anticuerpo contiene una región constante de IgG1 de ratón. En algunas modalidades, el anticuerpo contiene una región constante de IgG1 humana. En algunas modalidades, la región constante de IgG1 humana incluye una región Fc. En algunas modalidades, la región Fc contiene una o más modificaciones. Por ejemplo, en algunas modalidades, la región Fc contiene una o más sustituciones de aminoácidos (por ejemplo, con respecto a una región Fc natural del mismo isotipo).

- En algunas modalidades, la una o más sustituciones de aminoácidos se seleccionan de
- 5 N297A, N297Q (Bolt S et ál. (1993) *Eur J Immunol* 23:403-411), D265A, D270A, L234A, L235A (McEarchern et ál., (2007) *Blood*, 109:1185-1192), C226S, C229S (McEarchern et ál., (2007) *Blood*, 109:1185-1192), P238S (Davis et ál., (2007) *J Rheumatol*, 34:2204-2210), E233P, L234V (McEarchern et ál., (2007) *Blood*, 109:1185-1192), P238A, A327Q, A327G, P329A (Shields RL, et ál., (2001) *J Biol Chem.* 276(9):6591-604), K322A, L234F, L235E
- 10 (Hezareh, et ál., (2001) *J Virol* 75, 12161–12168; Oganessian et ál., (2008). *Acta Crystallographica* 64, 700–704), P331S (Oganessian et ál., (2008) *Acta Crystallographica* 64,
- 15

700–704), T394D (Wilkinson et ál. (2013) *MAbs* 5(3): 406–417), A330L, M252Y, S254T y/o T256E, donde la posición de aminoácidos es de acuerdo con la convención de numeración de EU. En determinadas modalidades, la región Fc también incluye una delección de aminoácido en una posición correspondiente a la glicina 236 de acuerdo con la convención de numeración de EU.

En algunas modalidades, el anticuerpo anti-CD33 tiene un isotipo de IgG1 con una región constante de cadena pesada que contiene una sustitución de aminoácido C220S de acuerdo con la convención de numeración de EU. En algunas modalidades, la región Fc también contiene una o más sustituciones de aminoácidos adicionales que se seleccionan de A330L, L234F; L235E y/o P331S de acuerdo con la convención de numeración de EU. En determinadas modalidades, el anticuerpo anti-CD33 tiene un isotipo de IgG2. En algunas modalidades, el anticuerpo anti-CD33 contiene una región constante de IgG2 humana. En algunas modalidades, la región constante de IgG2 humana incluye una región Fc. En algunas modalidades, la región Fc contiene una o más modificaciones. Por ejemplo, en algunas modalidades, la región Fc contiene una o más sustituciones de aminoácidos (por ejemplo, con respecto a una región Fc natural del mismo isotipo). En algunas modalidades, la una o más sustituciones de aminoácidos se seleccionan de P238S, V234A, G237A, H268A, H268Q, H268E, V309L, N297A, N297Q, V309L, A330S, P331S, C232S, C233S, M252Y, S254T y/o T256E, en las que la posición de aminoácidos es de acuerdo con la convención de numeración de EU (Vafa O. et ál., (2014) *Methods* 65:114–126).

En determinadas modalidades, el anticuerpo anti-CD33 tiene un isotipo de IgG4. En algunas modalidades, el anticuerpo anti-CD33 contiene una región constante de IgG4 humana. En algunas modalidades, la región constante de IgG4 humana incluye una región Fc. En algunas modalidades, la región Fc contiene una o más modificaciones. Por ejemplo, en algunas modalidades, la región Fc contiene una o más sustituciones de aminoácidos (por ejemplo, con respecto a una región Fc natural del mismo isotipo). En algunas modalidades, la una o más sustituciones de aminoácidos se seleccionan de E233P, F234V, L235A, G237A, E318A (Hutchins et ál. (1995) *Proc Natl Acad Sci USA*, 92:11980-11984), S228P, L234A/F234A, L236E, S241P, L248E (Reddy et ál., (2000) *J Immunol*, 164:1925-1933; Angal et ál., (1993) *Mol Immunol*. 30(1):105-8; US 8614299 B2; Vafa O. et ál., (2014) *Methods* 65:114–126), T394D, M252Y, S254T, T256E, N297A y/o N297Q, donde la posición del aminoácido es de acuerdo con la convención de numeración de EU. En algunas modalidades, el anticuerpo tiene un isotipo de IgG4 y comprende una sustitución de aminoácido S228P en la posición de residuo 228, una sustitución de aminoácido F234A en la posición de residuo 234 y una sustitución de aminoácido L235A en la posición de residuo 235 (la posición del residuo es de acuerdo con la numeración de EU).

En algunas modalidades, la región Fc también contiene una o más sustituciones de

aminoácidos adicionales seleccionadas de M252Y, S254T y/o T256E, en las que la posición de aminoácido es de acuerdo con la convención de numeración de EU.

Mutaciones de IgG adicionales

En algunas modalidades, una o más de las variantes de IgG1 descritas en la presente se pueden combinar con una mutación A330L (Lazar et ál., (2006) Proc Natl Acad Sci USA, 103:4005-4010) o una o más de las mutaciones L234F, L235E y/o P331S (Sazinsky et ál., (2008) Proc Natl Acad Sci USA, 105:20167-20172), en las que la posición de aminoácido es de acuerdo con la convención de numeración de EU, para eliminar la activación de complemento. En algunas modalidades, las variantes de IgG descritas en la presente pueden combinarse con una o más mutaciones para potenciar la semivida del anticuerpo anti-CD33 en suero humano (por ejemplo, mutaciones M252Y, S254T, T256E de acuerdo con la convención de numeración de EU) (Dall'Acqua et ál., (2006) J Biol Chem, 281:23514-23524; y Strohl et ál., (2009) Current Opinion in Biotechnology, 20:685-691).

En algunas modalidades, una variante de IgG4 de la presente descripción se puede combinar con una mutación de S228P de acuerdo con la convención de numeración de EU (Angal et ál., (1993) Mol Immunol, 30:105-108) y/o con una o más mutaciones descritas en Peters et ál., (2012) J Biol Chem. 13;287(29):24525-33) para potenciar la estabilización del anticuerpo.

Anticuerpos biespecíficos

Determinados aspectos de la presente descripción hacen referencia a anticuerpos biespecíficos que se unen a uno o más dominios en una proteína CD33 de la presente descripción y un segundo antígeno. Se conocen en la técnica métodos para generar anticuerpos biespecíficos y se describen en la presente. En algunas modalidades, los anticuerpos biespecíficos de la presente descripción se unen a uno o más residuos de aminoácidos de una proteína CD33 de la presente descripción, tal como uno o más residuos de aminoácidos de CD33 humana (SEQ ID NO: 1), o residuos de aminoácidos en una proteína CD33 que corresponde a los residuos de aminoácidos de la SEQ ID NO: 1. En algunas modalidades, los anticuerpos biespecíficos de la presente descripción reconocen un primer antígeno y un segundo antígeno. En algunas modalidades, el primer antígeno es una proteína CD33 o una variante de origen natural de esta. En algunas modalidades, el segundo antígeno también es una proteína CD33 o una variante de origen natural de esta. En algunas modalidades, el segundo antígeno es un antígeno que facilita el transporte a través de la barrera hematoencefálica (véase, por ejemplo, Gabathuler R., Neurobiol. Dis. 37 (2010) 48-57). Estos segundos antígenos incluyen, de modo no taxativo, un receptor de transferrina (TR), un receptor de insulina (HIR), un receptor de factor de crecimiento tipo insulina (IGFR), las proteínas relacionadas al receptor de lipoproteínas de baja densidad 1 y 2 (LPR-1 y 2), un receptor de toxina de difteria, CRM197, un anticuerpo de dominio simple

de llama, TMEM 30(A), un domino de transducción de proteína, TAT, Syn-B, penetratina, un péptido poliarginina, péptidos Angiopep tales como ANG1005 (véase, por ejemplo, Gabathuler, 2010) y otras proteínas de la superficie celular enriquecidas en células endoteliales de la barrera hematoencefálica (véase, por ejemplo, Daneman et ál., PLoS One. 29 de octubre de 2010;5(10):e13741). En algunas modalidades, el segundo antígeno es una proteína que provoca enfermedades que incluye, de modo no taxativo, beta amiloidea, beta amiloidea oligomérica, placas beta amiloideas, proteína precursora amiloidea o fragmentos de esta, Tau, IAPP, sinucleína alfa, TDP-43, proteína FUS, C9orf72 (marco de lectura abierto 72 del cromosoma 9), proteína c9RAN, proteína priónica, PrPSc, huntingtina, calcitonina, superóxido dismutasa, ataxina, ataxina 1, ataxina 2, ataxina 3, ataxina 7, ataxina 8, ataxina 10, cuerpos de Lewy, factor natriurético atrial, polipéptido amiloideo de islotes, insulina, apolipoproteína AI, amiloidea A en suero, medina, prolactina, transtirretina, lisozima, microglobulina beta 2, gelsolina, queratoepitelina, cistatina, cadena ligera de inmunoglobulina AL, proteína S-IBM, productos de traducción no ATG asociados a la repetición (RAN), péptidos de repetición dipeptídica (DPR), péptidos de repetición de glicina-alanina (GA), péptidos de repetición de glicina-prolina (GP), péptidos de repetición de glicina-arginina (GR), péptidos de repetición de prolina-alanina (PA), ubiquitina y péptidos de repetición de prolina-arginina (PR). En algunas modalidades, el segundo antígeno es uno o más ligandos y/o proteínas expresadas en células inmunitarias, que incluyen, de modo no taxativo, CD40, OX40, ICOS, CD28, CD137/4-1BB, CD27, GITR, PD-L1, CTLA4, PD-L2, PD-1, B7-H3, B7-H4, HVEM, LIGHT, BTLA, CD38, TIGIT, VISTA, KIR, GAL9, TIM1, TIM3, TIM4, A2AR, LAG3, DR5, CD39, CD70, CD73, TREM1, TREM2, Siglec-5, Siglec-7, Siglec-9, Siglec-11, SirpA, CD47, receptor de CSF1, CD3 fosfatidilserina. En algunas modalidades, el segundo antígeno es una proteína, lípido, polisacárido o glucolípido expresado en una o más células tumorales.

Fragmentos de anticuerpos

Determinados aspectos de la presente descripción hacen referencia a fragmentos de anticuerpos que se unen a uno o más de una proteína CD33 de la presente descripción, una variante de origen natural de una proteína CD33 humana y una variante de enfermedad de una proteína CD33. En algunas modalidades, el fragmento de anticuerpo es un fragmento Fab, Fab', Fab'-SH, F(ab')₂, Fv o scFv.

En algunas modalidades, el fragmento de anticuerpo se utiliza junto con un segundo anticuerpo de CD33 y/o con uno o más anticuerpos que se unen específicamente a una proteína que provoca enfermedades que se selecciona de: beta amiloidea, beta amiloidea oligomérica, placas beta amiloideas, proteína precursora amiloidea o fragmentos de esta, Tau, IAPP, sinucleína alfa, TDP-43, proteína FUS, C9orf72 (marco de lectura abierto 72 del cromosoma 9), proteína c9RAN, proteína priónica, PrPSc, huntingtina, calcitonina,

- superóxido dismutasa, ataxina, ataxina 1, ataxina 2, ataxina 3, ataxina 7, ataxina 8, ataxina 10, cuerpos de Lewy, factor natriurético atrial, polipéptido amiloideo de islotes, insulina, apolipoproteína AI, amiloidea A en suero, medina, prolactina, transtirretina, lisozima, microglobulina beta 2, gelsolina, queratoepitelina, cistatina, cadena ligera de
- 5 inmunoglobulina AL, proteína S-IBM, productos de traducción no ATG asociados a la repetición (RAN), péptidos de repetición dipeptídica (DPR), péptidos de repetición de glicina-alanina (GA), péptidos de repetición de glicina-prolina (GP), péptidos de repetición de glicina-arginina (GR), péptidos de repetición de prolina-alanina (PA), ubiquitina y péptidos de repetición de prolina-arginina (PR), y cualquier combinación de estos; o con uno o más
- 10 anticuerpos que se unen a una proteína inmunomoduladora que se selecciona del grupo que consiste en: CD40, OX40, ICOS, CD28, CD137/4-1BB, CD27, GITR, PD-L1, CTLA4, PD-L2, PD-1, B7-H3, B7-H4, HVEM, LIGHT, BTLA, CD38, TIGIT, VISTA, KIR, GAL9, TIM1, TIM3, TIM4, A2AR, LAG3, DR5, CD39, CD70, CD73, TREM1, TREM2, CD47, receptor de CSF-1, Siglec-5, Siglec-7, Siglec-9, Siglec-11, fosfatidilserina, y cualquier combinación de estos.
- 15 En algunas modalidades, los fragmentos de anticuerpo de la presente descripción pueden ser fragmentos funcionales que se unen al mismo epítipo que cualquiera de los anticuerpos anti-CD33 de la presente descripción. En algunas modalidades, los fragmentos de anticuerpo son versiones en miniatura de los anticuerpos anti-CD33 o fragmentos de anticuerpo de la presente descripción que tienen el mismo epítipo del anticuerpo de longitud
- 20 completa correspondiente, pero tienen un peso molecular mucho menor. Estos fragmentos de anticuerpo anti-CD33 miniaturizados pueden tener mejor capacidad de penetración cerebral y una semivida más breve, lo que resulta favorable para la obtención de imágenes y uso diagnóstico (ver, por ejemplo, Lütje S et ál., *Bioconjug Chem.* 19 de febrero de 2014;25(2):335-41; Tavaré R et ál., *Proc Natl Acad Sci U S A.* 21 de enero de
- 25 2014;111(3):1108-13; y Wiehr S et ál., *Prostate.* 2014 May;74(7):743-55). Por consiguiente, en algunas modalidades, los fragmentos de anticuerpo anti-CD33 de la presente descripción tienen mejor penetración encefálica en comparación con sus anticuerpos completos correspondientes y/o tener una semivida menor en comparación con sus anticuerpos completos correspondientes.
- 30 Armazones de anticuerpos
- Cualquiera de los anticuerpos descritos en la presente incluye también un armazón. En algunas modalidades, el armazón es un armazón de inmunoglobulina humana. Por ejemplo, en algunas modalidades, un anticuerpo (por ejemplo, un anticuerpo anti-CD33) comprende HVR como en cualquiera de las modalidades anteriores y también comprende un armazón
- 35 humano aceptor, por ejemplo, un armazón de inmunoglobulina humana o un armazón de consenso humano. Los armazones de inmunoglobulina humana pueden ser parte del anticuerpo humano o se puede humanizar un anticuerpo no humano mediante el reemplazo

de uno o más armazones endógenos con una o más regiones de armazón humanas. Las regiones de armazón humanas que se pueden usar para humanización incluyen, de modo no taxativo, regiones de armazón que se seleccionan con el método «de mejor ajuste» (véase, por ejemplo, Sims et ál. *J. Immunol.* 151:2296 (1993)), regiones de armazón derivadas de la secuencia de consenso de anticuerpos humanos de un subgrupo particular de regiones variables de cadena ligera o pesada (véase, por ejemplo, Carter et ál. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 89:4285 (1992); y Presta et ál. *J. Immunol.*, 151:2623 (1993)), regiones de armazón maduras humanas (con mutación somática) o regiones de armazón de estirpe germinal humana (véase, por ejemplo, Almagro y Fransson, *Front. Biosci.* 13:1619-1633 (2008)); y regiones de armazón que derivan del cribado de bibliotecas de FR (véase, por ejemplo, Baca et ál., *J. Biol. Chem.* 272:10678-10684 (1997) y Rosok et ál., *J. Biol. Chem.* 271:22611-22618 (1996)).

Anticuerpos completos

En algunas modalidades, los anticuerpos anti-CD33 de la presente descripción comprenden cadenas pesadas completas que comprenden las secuencias de cadena pesada variable que se describieron anteriormente y cadenas ligeras completas que comprenden secuencias de cadena ligera variable que se describieron anteriormente. En determinadas modalidades, un anticuerpo anti-CD33 comprende una secuencia de cadena pesada completa de la SEQ ID NO: 120 o 121, y una secuencia de cadena ligera completa de la SEQ ID NO: 122.

Actividades de CD33

Expresión modulada de proteínas relacionadas con el sistema inmunitario

En algunas modalidades, los anticuerpos anti-CD33 de la presente descripción pueden modular la expresión de PD-L1, PD-L2, B7-H2, B7-H3, CD200R, CD163 y/o CD206 después de unirse a una proteína CD33 expresada en una célula. La expresión modulada (por ejemplo, aumentada o disminuida) puede incluir, de modo no taxativo, una modulación en la expresión génica, una modulación en la expresión transcripcional o una modulación en la expresión proteica. Es posible utilizar cualquier método conocido en la técnica para determinar la expresión génica, transcripcional (por ejemplo, ARNm) y/o proteínica. Por ejemplo, es posible emplear un análisis de transferencia Northern para determinar niveles de expresión génica de mediadores antiinflamatorios, RT-PCR para determinar el nivel de transcripción de mediadores antiinflamatorios y transferencia Western para determinar los niveles proteicos de mediadores antiinflamatorios.

Tal como se utiliza en la presente, PD-L1, PD-L2, B7-H2, B7-H3, CD200R, CD163 y/o CD206 pueden tener una expresión modulada si se modula (por ejemplo, aumenta o

disminuye) su expresión en una o más células de un sujeto tratado con anticuerpos anti-CD33 de la presente descripción, en comparación con la expresión de PD-L1, PD-L2, B7-H2, B7-H3, CD200R, CD163 y/o CD206 expresados en una o más células de un sujeto correspondiente que no se trató con el anticuerpo. En algunas modalidades, un anticuerpo anti-CD33 de la presente descripción puede modular la expresión de PD-L1, PD-L2, B7-H2, B7-H3, CD200R, CD163 y/o CD206 en una o más células de un sujeto, por ejemplo, al menos 10 %, al menos 15 %, al menos 20 %, al menos 25 %, al menos 30 %, al menos 35 %, al menos 40 %, al menos 45 %, al menos 50 %, al menos 55 %, al menos 60 %, al menos 65 %, al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 95 %, al menos 100 %, al menos 110 %, al menos 115 %, al menos 120 %, al menos 125 %, al menos 130 %, al menos 135 %, al menos 140 %, al menos 145 %, al menos 150 %, al menos 160 %, al menos 170 %, al menos 180 %, al menos 190 % o al menos 200 %, en comparación con la expresión de PD-L1, PD-L2, B7-H3, CD200R, CD163 y/o CD206 en una o más células de un sujeto correspondiente que no se trató con el anticuerpo. En otras modalidades, un anticuerpo anti-CD33 de la presente descripción modula la expresión de PD-L1, PD-L2, B7-H2, B7-H3, CD200R, CD163 y/o CD206 en una o más células de un sujeto, por ejemplo, al menos 1,5 veces, al menos 1,6 veces, al menos 1,7 veces, al menos 1,8 veces, al menos 1,9 veces, al menos 2,0 veces, al menos 2,1 veces, al menos 2,15 veces, al menos 2,2 veces, al menos 2,25 veces, al menos 2,3 veces, al menos 2,35 veces, al menos 2,4 veces, al menos 2,45 veces, al menos 2,5 veces, al menos 2,55 veces, al menos 3,0 veces, al menos 3,5 veces, al menos 4,0 veces, al menos 4,5 veces, al menos 5,0 veces, al menos 5,5 veces, al menos 6,0 veces, al menos 6,5 veces, al menos 7,0 veces, al menos 7,5 veces, al menos 8,0 veces, al menos 8,5 veces, al menos 9,0 veces, al menos 9,5 veces o al menos 10 veces, en comparación con la expresión de PD-L1, PD-L2, B7-H2, B7-H3, CD200R, CD163 y/o CD206 en una o más células de un sujeto correspondiente que no se trató con el anticuerpo.

En algunas modalidades, los anticuerpos anti-CD33 de la presente descripción son útiles para prevenir, reducir el riesgo o tratar afecciones y/o enfermedades asociadas con un nivel anómalo de PD-L1, PD-L2, B7-H2, B7-H3, CD200R, CD163 y/o CD206, que incluyen, de modo no taxativo, demencia, demencia frontotemporal, enfermedad de Alzheimer, demencia vascular, demencia mixta, enfermedad de Creutzfeldt-Jakob, hidrocefalia normotensiva, esclerosis lateral amiotrófica, corea de Huntington, tauopatía, enfermedad de Nasu-Hakola, accidente cerebrovascular, traumatismo agudo, traumatismo crónico, lupus, colitis aguda y crónica, artritis reumatoide, cicatrización de heridas, enfermedad de Crohn, enfermedad intestinal inflamatoria, colitis ulcerosa, obesidad, malaria, temblor hereditario, lupus del sistema nervioso central, enfermedad de Behcet, enfermedad de Parkinson, demencia con cuerpos de Lewy, atrofia multisistémica, síndrome de Shy-Drager, parálisis supranuclear

- progresiva, degeneración gangliónica corticobasal, encefalomiелitis aguda diseminada, trastornos granulomatosos, sarcoidosis, enfermedades relacionadas con el envejecimiento, convulsiones, lesión de la médula espinal, lesión encefálica traumática, degeneración macular relacionada con la edad, glaucoma, retinitis pigmentaria, degeneración de la retina,
- 5 infección de las vías respiratorias, sepsis, infección ocular, infección sistémica, lupus, artritis, esclerosis múltiple, baja densidad ósea, osteoporosis, osteogénesis, osteopetrosis, enfermedad de Paget de los huesos, y cáncer, que incluye cáncer de vejiga, cáncer encefálico, cáncer de mama, cáncer de colon, cáncer de recto, cáncer de endometrio, cáncer de riñón, cáncer de células renales, cáncer de pelvis renal, leucemia, carcinoma
- 10 broncopulmonar, melanoma, linfoma no hodgkiniano, cáncer de páncreas, cáncer de próstata, cáncer de ovario, fibrosarcoma, leucemia linfoblástica aguda (ALL), leucemia linfocítica aguda (ALL), leucemia linfocítica crónica (CLL), leucemia mieloide crónica (CML), mieloma múltiple, policitemia vera, trombocitosis esencial, mielofibrosis primaria o idiopática, mieloesclerosis primaria o idiopática, tumores derivados de células mieloides, tumores que
- 15 expresan CD33, cáncer de tiroides, infecciones, herpes del CNS, infecciones parasitarias, infección con tripanosomas, infección por *Cruzi*, infección por *Pseudomonas aeruginosa*, infección por *Leishmania donovani*, infección por *Streptococcus* grupo B, infección por *Campylobacter jejuni*, infección por *Neisseria meningitidis*, VIH de tipo I e *Haemophilus influenzae*.
- 20 En algunas modalidades, un anticuerpo anti-CD33 de la presente descripción puede modular (por ejemplo, aumentar) la expresión de uno o más tipos de microglía de etapa 2 asociadas con enfermedades neurodegenerativas (marcadores de microglía asociada a enfermedades (DAM)). Microglía asociada a enfermedades hace referencia a microglía que presenta un aumento en la expresión de ApoE3, Tyrobp, B2m, Trem2, Cst7, Ctsl, Lpl, Cd9,
- 25 Axl, Csf1, Ccl6, Itgax, Clec7a, Lilrb4, Timp2 y una disminución en la expresión de moléculas homeostáticas microgliales Cx3cr1 y P2ry12 o P2ry13 en comparación con microglía en reposo o no activada.
- Por consiguiente, en algunas modalidades, un anticuerpo anti-CD33 de la presente descripción puede aumentar la expresión de uno o más marcadores DAM ApoE3, Tyrobp,
- 30 B2m, Trem2, Cst7, Ctsl, Lpl, Cd9, Axl, Csf1, Ccl6, Itgax, Clec7a, Lilrb4, Timp2 o cualquier combinación de estos en una o más células de un individuo en al menos 10 %, al menos 15 %, al menos 20 %, al menos 25 %, al menos 30 %, al menos 35 %, al menos 40 %, al menos 45 %, al menos 50 %, al menos 55 %, al menos 60 %, al menos 65 %, al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 95 %, al
- 35 menos 100 %, al menos 110 %, al menos 115 %, al menos 120 %, al menos 125 %, al menos 130 %, al menos 135 %, al menos 140 %, al menos 145 %, al menos 150 %, al menos 160 %, al menos 170 %, al menos 180 %, al menos 190 % o al menos 200 %, por

ejemplo, en comparación con la expresión de uno o más marcadores DAM, tal como ApoE3, Tyrobp, B2m, Trem2, Cst7, Ctsl, Lpl, Cd9, Axl, Csf1, Ccl6, Itgax, Clec7a, Lilrb4, Timp2, y cualquier combinación de estos, en una o más células de un individuo correspondiente que no reciba tratamiento con el anticuerpo anti-CD33. Véase Keren-Shaul et ál. Cell 169:1276-1290 (2017), que se incorpora a la presente en su totalidad mediante referencia. En otras modalidades, un anticuerpo anti-CD33 de la presente descripción modula (por ejemplo, aumenta) la expresión de uno o más marcadores DAM, tal como ApoE3, Tyrobp, B2m, Trem2, Cst7, Ctsl, Lpl, Cd9, Axl, Csf1, Ccl6, Itgax, Clec7a, Lilrb4, Timp2, Trem2, y cualquier combinación de estos en una o más células de un individuo en al menos 1,5 veces, al menos 1,6 veces, al menos 1,7 veces, al menos 1,8 veces, al menos 1,9 veces, al menos 2,0 veces, al menos 2,1 veces, al menos 2,15 veces, al menos 2,2 veces, al menos 2,25 veces, al menos 2,3 veces, al menos 2,35 veces, al menos 2,4 veces, al menos 2,45 veces, al menos 2,5 veces, al menos 2,55 veces, al menos 3,0 veces, al menos 3,5 veces, al menos 4,0 veces, al menos 4,5 veces, al menos 5,0 veces, al menos 5,5 veces, al menos 6,0 veces, al menos 6,5 veces, al menos 7,0 veces, al menos 7,5 veces, al menos 8,0 veces, al menos 8,5 veces, al menos 9,0 veces, al menos 9,5 veces o al menos 10 veces, por ejemplo, en comparación con la expresión de uno o más marcadores DAM, tal como ApoE3, Tyrobp, B2m, Trem2, Cst7, Ctsl, Lpl, Cd9, Axl, Csf1, Ccl6, Itgax, Clec7a, Lilrb4, Timp2 y cualquier combinación de estos en una o más células de un individuo correspondiente que no recibe tratamiento con el anticuerpo anti-CD33. En algunas modalidades, el marcador DAM es Cst7. En algunas modalidades, el marcador DAM es Ccl6. En algunas modalidades, el marcador DAM es Itgax. En algunas modalidades, la modulación es un aumento en la expresión. En algunas modalidades, el aumento en la cantidad de DAM o la expresión de esta se asocia al aumento en la actividad fagocítica de la microglía, inclusive un aumento en la actividad fagocítica de la microglía sin actividad inflamatoria. En algunas modalidades, un anticuerpo anti-CD33 de la presente descripción genera un aumento en la cantidad o la expresión de DAM al liberar o eludir una limitación impuesta a la actividad de la microglía con al menos una molécula de punto de control de la microglía.

En la presente se proporcionan además métodos para determinar si un individuo responde o no a un tratamiento con un anticuerpo anti-CD33 que comprende las etapas de: (a) medir el nivel de uno o más tipos de microglía de etapa 2 asociada a marcadores de enfermedades neurodegenerativas (DAM), tal como ApoE3, Tyrobp, B2m, Trem2, Cst7, Ctsl, Lpl, Cd9, Axl, Csf1, Ccl6, Itgax, Clec7a, Lilrb4, Timp2, y cualquier combinación de estos en una muestra de un individuo obtenida de dicho individuo antes del tratamiento, (b) medir el nivel de uno o más tipos de microglía de etapa 2 asociada a marcadores de enfermedades neurodegenerativas (DAM), tal como ApoE3, Tyrobp, B2m, Trem2, Cst7, Ctsl, Lpl, Cd9, Axl,

Csf1, Ccl6, Itgax, Clec7a, Liltrb4, Timp2, y cualquier combinación de estos en una muestra de un individuo obtenida de dicho individuo en un momento posterior al primer tratamiento, y (c) comparar el nivel medido en la etapa ii) con el nivel medido en la etapa i) en donde una diferencia entre dichos niveles indica que dicho individuo responde o no responde. En algunas modalidades, la diferencia entre dichos niveles es un aumento e indica que dicho individuo responde. En algunas modalidades, la diferencia entre dichos niveles es una disminución o ningún cambio e indica que dicho individuo no responde. En algunas modalidades, el marcador DAM es Cst7. En algunas modalidades, el marcador DAM es Ccl6. En algunas modalidades, el marcador DAM es Itgax.

10 *Potenciación o normalización de la capacidad de las células dendríticas derivadas de médula ósea de inducir la proliferación de linfocitos T específicos para el antígeno*

En algunas modalidades, los anticuerpos anti-CD33 de la presente descripción pueden potenciar y/o normalizar la capacidad de las células dendríticas derivadas de médula ósea de inducir la proliferación de linfocitos T específicos para el antígeno después de unirse a una proteína CD33 expresada en una célula.

En algunas modalidades, los anticuerpos anti-CD33 antagonistas de la presente descripción pueden potenciar y/o normalizar la capacidad de las células dendríticas derivadas de médula ósea de inducir la proliferación de linfocitos T específicos para el antígeno en una o más células dendríticas derivadas de médula ósea de un sujeto, por ejemplo, al menos 10

20 %, al menos 15 %, al menos 20 %, al menos 25 %, al menos 30 %, al menos 35 %, al menos 40 %, al menos 45 %, al menos 50 %, al menos 55 %, al menos 60 %, al menos 65 %, al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 95 %, al menos 100 %, al menos 110 %, al menos 115 %, al menos 120 %, al menos 125 %, al menos 130 %, al menos 135 %, al menos 140 %, al menos 145 %, al menos 150
25 %, al menos 160 %, al menos 170 %, al menos 180 %, al menos 190 % o al menos 200 %, en comparación con capacidad de las células dendríticas derivadas de médula ósea de inducir la proliferación de linfocitos T específicos para el antígeno en una o más células dendríticas derivadas de médula ósea de un sujeto correspondiente que no se trató con el anticuerpo. En otras modalidades, un anticuerpo anti-CD33 antagonista puede potenciar y/o
30 normalizar la capacidad de las células dendríticas derivadas de médula ósea de inducir la proliferación de linfocitos T específicos para el antígeno en una o más células dendríticas derivadas de médula ósea de un sujeto, por ejemplo, al menos 1,5 veces, al menos 1,6 veces, al menos 1,7 veces, al menos 1,8 veces, al menos 1,9 veces, al menos 2,0 veces, al menos 2,1 veces, al menos 2,15 veces, al menos 2,2 veces, al menos 2,25 veces, al menos
35 2,3 veces, al menos 2,35 veces, al menos 2,4 veces, al menos 2,45 veces, al menos 2,5 veces, al menos 2,55 veces, al menos 3,0 veces, al menos 3,5 veces, al menos 4,0 veces, al menos 4,5 veces, al menos 5,0 veces, al menos 5,5 veces, al menos 6,0 veces, al menos

6,5 veces, al menos 7,0 veces, al menos 7,5 veces, al menos 8,0 veces, al menos 8,5 veces, al menos 9,0 veces, al menos 9,5 veces o al menos 10 veces, en comparación con la capacidad de las células dendríticas derivadas de médula ósea de inducir la proliferación de linfocitos T específicos para el antígeno en una o más células dendríticas derivadas de médula ósea de un sujeto correspondiente que no se trató con el anticuerpo.

En algunas modalidades, los anticuerpos anti-CD33 de la presente descripción son beneficiosos para prevenir, reducir el riesgo o tratar afecciones y/o enfermedades asociadas con la capacidad disminuida o desregulada de células dendríticas derivadas de médula ósea para inducir la proliferación de linfocitos T específicos para el antígeno, que incluyen, de modo no taxativo, demencia, demencia frontotemporal, enfermedad de Alzheimer, demencia vascular, demencia mixta, enfermedad de Creutzfeldt-Jakob, hidrocefalia normotensiva, esclerosis lateral amiotrófica, corea de Huntington, tauopatía, enfermedad de Nasu-Hakola, accidente cerebrovascular, traumatismo agudo, traumatismo crónico, lupus, colitis aguda y crónica, artritis reumatoide, cicatrización de heridas, enfermedad de Crohn, enfermedad intestinal inflamatoria, colitis ulcerosa, obesidad, malaria, temblor hereditario, lupus del sistema nervioso central, enfermedad de Behcet, enfermedad de Parkinson, demencia con cuerpos de Lewy, atrofia multisistémica, síndrome de Shy-Drager, parálisis supranuclear progresiva, degeneración gangliónica corticobasal, encefalomielitis aguda diseminada, trastornos granulomatosos, sarcoidosis, enfermedades relacionadas con el envejecimiento, convulsiones, lesión de la médula espinal, lesión encefálica traumática, degeneración macular relacionada con la edad, glaucoma, retinitis pigmentaria, degeneración de la retina, infección de las vías respiratorias, sepsis, infección ocular, infección sistémica, lupus, artritis, esclerosis múltiple, baja densidad ósea, osteoporosis, osteogénesis, osteopetrosis, enfermedad de Paget de los huesos, y cáncer, que incluye cáncer de vejiga, cáncer encefálico, cáncer de mama, cáncer de colon, cáncer de recto, cáncer de endometrio, cáncer de riñón, cáncer de células renales, cáncer de pelvis renal, leucemia, carcinoma broncopulmonar, melanoma, linfoma no hodgkiniano, cáncer de páncreas, cáncer de próstata, cáncer de ovario, fibrosarcoma, leucemia linfoblástica aguda (ALL), leucemia linfocítica aguda (ALL), leucemia linfocítica crónica (CLL), leucemia mieloide crónica (CML), mieloma múltiple, policitemia vera, trombocitosis esencial, mielofibrosis primaria o idiopática, mieloesclerosis primaria o idiopática, tumores derivados de células mieloides, tumores que expresan CD33, cáncer de tiroides, infecciones, herpes del CNS, infecciones parasitarias, infección con tripanosomas, infección con *Cruzi*, infección por *Pseudomonas aeruginosa*, infección por *Leishmania donovani*, infección por *Streptococcus* grupo B, infección por *Campylobacter jejuni*, infección por *Neisseria meningitidis*, HIV de tipo I e *Haemophilus influenzae*.

Proliferación y supervivencia de células que expresan CD33

En algunas modalidades, los anticuerpos anti-CD33 de la presente descripción pueden aumentar la proliferación, supervivencia y/o función de células dendríticas, macrófagos, monocitos, neutrófilos, osteoclastos, células de Langerhans de la piel, células de Kupffer, linfocitos T, linfocitos T cooperadores, linfocitos T citotóxicos y células microgliales después de la unión a la proteína CD33 expresada en una célula.

Las células microgliales son un tipo de células gliales que son los macrófagos que se encuentran en el cerebro y la médula espinal y, por lo tanto, actúan como la principal forma de defensa inmunitaria activa en el sistema nervioso central (SNC). Las células microgliales constituyen el 20 % de la población total de células gliales dentro del cerebro. Las células microgliales depuran constantemente el SNC para detectar placas, neuronas dañadas y agentes infecciosos. El cerebro y la médula espinal se consideran órganos con «privilegio inmunitario» en el sentido de que se separan del resto del cuerpo mediante una serie de células endoteliales conocidas como la barrera hematoencefálica, que evita que la mayoría de los patógenos alcancen el tejido nervioso vulnerable. En el caso de que los agentes infecciosos se introduzcan directamente en el cerebro o crucen la barrera hematoencefálica, las células microgliales deben reaccionar rápidamente para limitar la inflamación y destruir los agentes infecciosos antes de que dañen el tejido neuronal sensible. Debido a la falta de disponibilidad de anticuerpos del resto del cuerpo (pocos anticuerpos son lo suficientemente pequeños para cruzar la barrera hematoencefálica), la microglía debe ser capaz de reconocer cuerpos externos, absorberlos y actuar como células que presentan antígenos que activan linfocitos T. Dado que este proceso debe realizarse rápidamente para evitar un daño posiblemente fatal, las células microgliales son extremadamente sensibles a cambios patológicos incluso pequeños en el SNC. Alcanzan sensibilidad, en parte, al tener canales de potasio peculiares que responden a cambios incluso pequeños en el potasio extracelular. Tal como se usa en la presente, los macrófagos de la presente descripción incluyen, de modo no taxativo, macrófagos M1, macrófagos M1 activados y macrófagos M2. Tal como se usa en la presente, las células microgliales de la presente descripción incluyen, de modo no taxativo, células microgliales M1, células microgliales M1 activadas y células microgliales M2.

En algunas modalidades, los anticuerpos anti-CD33 de la presente descripción pueden aumentar la expresión de CD80, CD83 y/o CD86 en células dendríticas, monocitos y/o macrófagos.

Tal como se usa en la presente, la velocidad de proliferación, supervivencia y/o función de macrófagos, células dendríticas, monocitos, linfocitos T, neutrófilos y/o microglía puede incluir una mayor expresión de la velocidad de proliferación, supervivencia y/o función de células dendríticas, macrófagos, monocitos, neutrófilos, osteoclastos, células de Langerhans de la piel, células de Kupffer y/o microglía en un sujeto tratado con un anticuerpo anti-CD33

de la presente descripción es mayor que la velocidad de proliferación, supervivencia y/o función de células dendríticas, macrófagos, monocitos, osteoclastos, células de Langerhans de la piel, células de Kupffer, linfocitos T, neutrófilos y/o microglía en un sujeto correspondiente que no se trató con el anticuerpo. En algunas modalidades, un anticuerpo anti-CD33 de la presente descripción puede aumentar la velocidad de proliferación, supervivencia y/o función de células dendríticas, macrófagos, monocitos, osteoclastos, células de Langerhans de la piel, células de Kupffer, linfocitos T y/o microglía en un sujeto, por ejemplo, al menos 10 %, al menos 15 %, al menos 20 %, al menos 25 %, al menos 30 %, al menos 35 %, al menos 40 %, al menos 45 %, al menos 50 %, al menos 55 %, al menos 60 %, al menos 65 %, al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 95 %, al menos 100 %, al menos 110 %, al menos 115 %, al menos 120 %, al menos 125 %, al menos 130 %, al menos 135 %, al menos 140 %, al menos 145 %, al menos 150 %, al menos 160 %, al menos 170 %, al menos 180 %, al menos 190 % o al menos 200 %, en comparación con la velocidad de proliferación, supervivencia y/o función de células dendríticas, macrófagos, monocitos, osteoclastos, células de Langerhans de la piel, células de Kupffer, linfocitos T y/o microglía en un sujeto correspondiente que no se trató con el anticuerpo. En algunas modalidades, un anticuerpo anti-CD33 de la presente descripción puede aumentar la velocidad de proliferación, supervivencia y/o función de células dendríticas, macrófagos, monocitos, osteoclastos, células de Langerhans de la piel, células de Kupffer, linfocitos T y/o microglía en un sujeto, al menos 1,5 veces, al menos 1,6 veces, al menos 1,7 veces, al menos 1,8 veces, al menos 1,9 veces, al menos 2,0 veces, al menos 2,1 veces, al menos 2,15 veces, al menos 2,2 veces, al menos 2,25 veces, al menos 2,3 veces, al menos 2,35 veces, al menos 2,4 veces, al menos 2,45 veces, al menos 2,5 veces, al menos 2,55 veces, al menos 3,0 veces, al menos 3,5 veces, al menos 4,0 veces, al menos 4,5 veces, al menos 5,0 veces, al menos 5,5 veces, al menos 6,0 veces, al menos 6,5 veces, al menos 7,0 veces, al menos 7,5 veces, al menos 8,0 veces, al menos 8,5 veces, al menos 9,0 veces, al menos 9,5 veces o al menos 10 veces, en comparación con la velocidad de proliferación, supervivencia y/o función de células dendríticas, macrófagos, monocitos, osteoclastos, células de Langerhans de la piel, células de Kupffer, linfocitos T y/o microglía en un sujeto correspondiente que no se trató con el anticuerpo.

En algunas modalidades, los anticuerpos anti-CD33 de la presente descripción son favorables para prevenir, reducir el riesgo o tratar afecciones y/o enfermedades asociadas con una reducción de la proliferación, supervivencia, mayor apoptosis y/o función de células dendríticas, neutrófilos, macrófagos, monocitos, osteoclastos, células de Langerhans de la piel, células de Kupffer, linfocitos T y/o microglías, que incluyen, de modo no taxativo, demencia, demencia frontotemporal, enfermedad de Alzheimer, demencia vascular,

- demencia mixta, enfermedad de Creutzfeldt-Jakob, hidrocefalia normotensiva, esclerosis lateral amiotrófica, corea de Huntington, tauopatía, enfermedad de Nasu-Hakola, accidente cerebrovascular, traumatismo agudo, traumatismo crónico, lupus, colitis aguda y crónica, artritis reumatoide, cicatrización de heridas, enfermedad de Crohn, enfermedad intestinal
- 5 inflamatoria, colitis ulcerosa, obesidad, malaria, temblor hereditario, lupus del sistema nervioso central, enfermedad de Behcet, enfermedad de Parkinson, demencia con cuerpos de Lewy, atrofia multisistémica, síndrome de Shy-Drager, parálisis supranuclear progresiva, degeneración gangliónica corticobasal, encefalomiелitis aguda diseminada, trastornos granulomatosos, sarcoidosis, enfermedades relacionadas con el envejecimiento,
- 10 convulsiones, lesión de la médula espinal, lesión encefálica traumática, degeneración macular relacionada con la edad, glaucoma, retinitis pigmentaria, degeneración de la retina, infección de las vías respiratorias, sepsis, infección ocular, infección sistémica, lupus, artritis, esclerosis múltiple, baja densidad ósea, osteoporosis, osteogénesis, osteopetrosis, enfermedad de Paget de los huesos, y cáncer, que incluye cáncer de vejiga, cáncer
- 15 encefálico, cáncer de mama, cáncer de colon, cáncer de recto, cáncer de endometrio, cáncer de riñón, cáncer de células renales, cáncer de pelvis renal, leucemia, carcinoma broncopulmonar, melanoma, linfoma no hodgkiniano, cáncer de páncreas, cáncer de próstata, cáncer de ovario, fibrosarcoma, leucemia linfoblástica aguda (ALL), leucemia linfocítica crónica (CLL), leucemia mieloide crónica (CML),
- 20 mieloma múltiple, policitemia vera, trombocitosis esencial, mielofibrosis primaria o idiopática, mieloesclerosis primaria o idiopática, tumores derivados de células mieloides, tumores que expresan CD33, cáncer de tiroides, infecciones, herpes del SNC, infecciones parasitarias, infección con tripanosomas, infección con C I e Haemophilus influenzae.

Activación de células inmunitarias dependiente de CD33

- 25 En algunas modalidades, los anticuerpos anti-CD33 antagonistas de la presente descripción pueden aumentar la actividad de linfocitos T citotóxicos, linfocitos T cooperadores, o ambos. En algunas modalidades, los anticuerpos anti-CD33 antagonistas de la presente descripción son favorables para prevenir, reducir el riesgo o tratar afecciones y/o enfermedades asociadas con una menor actividad de linfocitos T citotóxicos, linfocitos T cooperadores, o
- 30 ambos, lo que incluye, de modo no taxativo, tumores, que incluyen tumores sólidos, tales como cáncer de vejiga, cáncer encefálico, cáncer de mama, cáncer de colon, cáncer rectal, cáncer de endometrio, cáncer de riñón, cáncer de células renales, cáncer de pelvis renal, leucemia, carcinoma broncopulmonar, melanoma, linfoma no hodgkiniano, cáncer de páncreas, cáncer de próstata, cáncer de ovario, fibrosarcoma y cáncer de tiroides.
- 35 En algunas modalidades, los anticuerpos anti-CD33 antagonistas de la presente descripción pueden inducir un aumento de la proliferación, supervivencia, actividad y/o cantidad de linfocitos T, linfocitos T citotóxicos, linfocitos T CD3⁺, linfocitos T cooperadores, células

dendríticas, macrófagos, monocitos, neutrófilos, osteoclastos, células de Langerhans de la piel, células de Kupffer y/o células microgliales. En algunas modalidades, los anticuerpos anti-CD33 antagonistas de la presente descripción inducen un aumento de la proliferación, supervivencia, actividad y/o cantidad de linfocitos T, linfocitos T citotóxicos, linfocitos T CD3⁺, linfocitos T cooperadores, células dendríticas, macrófagos, monocitos, neutrófilos, osteoclastos, células de Langerhans de la piel, células de Kupffer y/o células microgliales en presencia de células supresoras mieloides (MDSC).

Tal como se usa en la presente, la tasa de proliferación, supervivencia, actividad y/o cantidad de linfocitos T, linfocitos T citotóxicos, linfocitos T CD3⁺, linfocitos T cooperadores, células dendríticas, macrófagos, monocitos, neutrófilos, osteoclastos, células de Langerhans de la piel, células de Kupffer y/o células microgliales puede incluir una tasa mayor si la tasa de proliferación, supervivencia, actividad y/o cantidad de linfocitos T, linfocitos T citotóxicos, linfocitos T CD3⁺, linfocitos T cooperadores, células dendríticas, macrófagos, monocitos, neutrófilos, osteoclastos, células de Langerhans de la piel, células de Kupffer y/o células microgliales en un sujeto tratado con un anticuerpo anti-CD33 de la presente descripción es mayor que la tasa de proliferación, supervivencia, actividad y/o cantidad de linfocitos T, linfocitos T citotóxicos, linfocitos T CD3⁺, linfocitos T cooperadores, células dendríticas, macrófagos, monocitos, neutrófilos, osteoclastos, células de Langerhans de la piel, células de Kupffer y/o células microgliales en un sujeto correspondiente que no se trató con el anticuerpo. En algunas modalidades, un anticuerpo anti-CD33 de la presente descripción puede aumentar la proliferación, supervivencia, actividad y/o cantidad de linfocitos T, linfocitos T citotóxicos, linfocitos T CD3⁺, linfocitos T cooperadores, células dendríticas, macrófagos, monocitos, neutrófilos, osteoclastos, células de Langerhans de la piel, células de Kupffer y/o células microgliales en un sujeto, por ejemplo, al menos 10 %, al menos 15 %, al menos 20 %, al menos 25 %, al menos 30 %, al menos 35 %, al menos 40 %, al menos 45 %, al menos 50 %, al menos 55 %, al menos 60 %, al menos 65 %, al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 95 %, al menos 100 %, al menos 110 %, al menos 115 %, al menos 120 %, al menos 125 %, al menos 130 %, al menos 135 %, al menos 140 %, al menos 145 %, al menos 150 %, al menos 160 %, al menos 170 %, al menos 180 %, al menos 190 % o al menos 200 %, en comparación con el nivel de proliferación, supervivencia, actividad y/o cantidad de linfocitos T, linfocitos T citotóxicos, linfocitos T CD3⁺, linfocitos T cooperadores, células dendríticas, macrófagos, monocitos, neutrófilos, osteoclastos, células de Langerhans de la piel, células de Kupffer y/o células microgliales en un sujeto correspondiente que no fue tratado con el anticuerpo. En algunas modalidades, un anticuerpo anti-CD33 de la presente descripción puede aumentar la proliferación, supervivencia, actividad y/o cantidad de linfocitos T, linfocitos T citotóxicos, linfocitos T CD3⁺, linfocitos T cooperadores, células dendríticas,

macrófagos, monocitos, neutrófilos, osteoclastos, células de Langerhans de la piel, células de Kupffer y/o células microgliales en un sujeto, por ejemplo, al menos 1,5 veces, al menos 1,6 veces, al menos 1,7 veces, al menos 1,8 veces, al menos 1,9 veces, al menos 2,0 veces, al menos 2,1 veces, al menos 2,15 veces, al menos 2,2 veces, al menos 2,25 veces, al menos 2,3 veces, al menos 2,35 veces, al menos 2,4 veces, al menos 2,45 veces, al menos 2,5 veces, al menos 2,55 veces, al menos 3,0 veces, al menos 3,5 veces, al menos 4,0 veces, al menos 4,5 veces, al menos 5,0 veces, al menos 5,5 veces, al menos 6,0 veces, al menos 6,5 veces, al menos 7,0 veces, al menos 7,5 veces, al menos 8,0 veces, al menos 8,5 veces, al menos 9,0 veces, al menos 9,5 veces o al menos 10 veces, en comparación con el nivel de proliferación, supervivencia, actividad y/o cantidad de linfocitos T, linfocitos T citotóxicos, linfocitos T CD3⁺, linfocitos T cooperadores, células dendríticas, macrófagos, monocitos, neutrófilos, osteoclastos, células de Langerhans de la piel, células de Kupffer y/o células microgliales en un sujeto correspondiente que no fue tratado con el anticuerpo.

15 *Inhibición dependiente de CD33 de células inmunitarias asociadas con tumores*

En algunas modalidades, los anticuerpos anti-CD33 agonistas de la presente descripción pueden disminuir la actividad, disminuir la proliferación, disminuir la supervivencia, disminuir la funcionalidad, disminuir la infiltración a tumores u órganos linfoides (por ejemplo, el bazo y ganglios linfáticos), la cantidad de células mieloides CD14⁺, disminuir la velocidad de crecimiento tumoral, reducir el volumen tumoral, reducir o inhibir la diferenciación, supervivencia y/o una o más funciones de las células supresoras mieloides (MDSC) y/o promover la apoptosis de linfocitos T reguladores o células dendríticas inhibitorias inmunosupresoras incrustadas en tumores, macrófagos asociados con tumores o células supresoras mieloides. En algunas modalidades, los anticuerpos anti-CD33 agonistas de la presente descripción son favorables para prevenir, reducir el riesgo o tratar afecciones y/o enfermedades asociadas con la actividad de uno o más tipos de células supresoras inmunitarias, que incluyen, de modo no taxativo, tumores, que incluyen tumores sólidos que no expresan CD33, tal como cáncer de vejiga, cáncer encefálico, cáncer de mama, cáncer de colon, cáncer de recto, cáncer de endometrio, cáncer de riñón, cáncer de células renales, cáncer de pelvis renal, leucemia, carcinoma broncopulmonar, melanoma, linfoma no hodgkiniano, cáncer de páncreas, cáncer de próstata, cáncer de ovario, fibrosarcoma, cáncer de tiroides y tumores sanguíneos que expresan CD33, tales como células de leucemia.

En algunas modalidades, los anticuerpos anti-CD33 antagonistas de la presente descripción pueden disminuir la cantidad de células mieloides CD14⁺, disminuir la velocidad de crecimiento tumoral, reducir el volumen tumoral, o reducir o inhibir la diferenciación, supervivencia y/o una o más funciones de las células supresoras mieloides (MDSC).

En algunas modalidades, un anticuerpo anti-CD33 de la presente descripción puede disminuir la cantidad de células mieloides CD14⁺, disminuir la velocidad de crecimiento tumoral, reducir el volumen tumoral o reducir o inhibir la diferenciación, supervivencia y/o una o más funciones de las células supresoras mieloides (MDSC) en un sujeto, por ejemplo, al menos 10 %, al menos 15 %, al menos 20 %, al menos 25 %, al menos 30 %, al menos 35 %, al menos 40 %, al menos 45 %, al menos 50 %, al menos 55 %, al menos 60 %, al menos 65 %, al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 95 %, al menos 100 %, al menos 110 %, al menos 115 %, al menos 120 %, al menos 125 %, al menos 130 %, al menos 135 %, al menos 140 %, al menos 145 %, al menos 150 %, al menos 160 %, al menos 170 %, al menos 180 %, al menos 190 % o al menos 200 %, en comparación con la cantidad de células mieloides CD14⁺, la velocidad de crecimiento tumoral, el volumen tumoral, o nivel de diferenciación, supervivencia y/o una o más funciones de las células supresoras mieloides (MDSC) en un sujeto correspondiente que no fue tratado con el anticuerpo. En otras modalidades, un anticuerpo anti-CD33 de la presente descripción puede disminuir la cantidad de células mieloides CD14⁺, disminuir la velocidad de crecimiento tumoral, reducir el volumen tumoral, o reducir o inhibir la diferenciación, supervivencia y/o una o más funciones de las células supresoras mieloides (MDSC) en un sujeto, por ejemplo, al menos 1,5 veces, al menos 1,6 veces, al menos 1,7 veces, al menos 1,8 veces, al menos 1,9 veces, al menos 2,0 veces, al menos 2,1 veces, al menos 2,15 veces, al menos 2,2 veces, al menos 2,25 veces, al menos 2,3 veces, al menos 2,35 veces, al menos 2,4 veces, al menos 2,45 veces, al menos 2,5 veces, al menos 2,55 veces, al menos 3,0 veces, al menos 3,5 veces, al menos 4,0 veces, al menos 4,5 veces, al menos 5,0 veces, al menos 5,5 veces, al menos 6,0 veces, al menos 6,5 veces, al menos 7,0 veces, al menos 7,5 veces, al menos 8,0 veces, al menos 8,5 veces, al menos 9,0 veces, al menos 9,5 veces o al menos 10 veces, en comparación con la cantidad de células mieloides CD14⁺, velocidad de crecimiento tumoral, volumen tumoral o nivel de diferenciación, supervivencia y/o una o más funciones de las células supresoras mieloides (MDSC) en un sujeto correspondiente que no fue tratado con el anticuerpo.

Mayor eficacia de las terapias inhibitoras del punto de control

En algunas modalidades, los anticuerpos anti-CD33 antagonistas de la presente descripción pueden aumentar la eficacia de una o más terapias inhibitoras del punto de regulación y terapias inmunomoduladoras, tales como inhibidores de PD-1 o terapias que se dirigen a uno o más de CTL4, la vía de adenosina, PD-L1, PD-L2, OX40, TIM3 y/o LAG3. En algunas modalidades, un anticuerpo anti-CD33 de la presente descripción puede aumentar la eficacia de una o más terapias inhibitoras del punto de regulación y/o terapias inmunomoduladoras, tales como inhibidores de PD-1 o terapias que se dirigen a uno o más de CTL4, la vía de adenosina, PD-L1, PD-L2, OX40, TIM3 y/o LAG3 en un sujeto que recibe

una o más terapias, por ejemplo, al menos 10 %, al menos 15 %, al menos 20 %, al menos 25 %, al menos 30 %, al menos 35 %, al menos 40 %, al menos 45 %, al menos 50 %, al menos 55 %, al menos 60 %, al menos 65 %, al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 95 %, al menos 100 %, al menos 110 %, al menos 115 %, al menos 120 %, al menos 125 %, al menos 130 %, al menos 135 %, al menos 140 %, al menos 145 %, al menos 150 %, al menos 160 %, al menos 170 %, al menos 180 %, al menos 190 % o al menos 200 %, en comparación con el nivel de eficacia de una o más terapias inhibitoras del punto de regulación y/o terapias inmunomoduladoras, tales como inhibidores de PD-1 o terapias que se dirigen a uno o más de CTL4, la vía de adenosina, PD-L1, PD-L2, OX40, TIM3 y/o LAG3 en un sujeto correspondiente que recibe estas terapias no se trató con el anticuerpo. En algunas modalidades, un anticuerpo anti-CD33 de la presente descripción puede aumentar la eficacia de una o más terapias inhibitoras del punto de regulación y/o terapias inmunomoduladoras, tales como inhibidores de PD-1 o terapias que se dirigen a uno o más de CTL4, la vía de adenosina, PD-L1, PD-L2, OX40, TIM3 y/o LAG3 en un sujeto que recibe estas terapias, por ejemplo, al menos 1,5 veces, al menos 1,6 veces, al menos 1,7 veces, al menos 1,8 veces, al menos 1,9 veces, al menos 2,0 veces, al menos 2,1 veces, al menos 2,15 veces, al menos 2,2 veces, al menos 2,25 veces, al menos 2,3 veces, al menos 2,35 veces, al menos 2,4 veces, al menos 2,45 veces, al menos 2,5 veces, al menos 2,55 veces, al menos 3,0 veces, al menos 3,5 veces, al menos 4,0 veces, al menos 4,5 veces, al menos 5,0 veces, al menos 5,5 veces, al menos 6,0 veces, al menos 6,5 veces, al menos 7,0 veces, al menos 7,5 veces, al menos 8,0 veces, al menos 8,5 veces, al menos 9,0 veces, al menos 9,5 veces o al menos 10 veces, en comparación con el nivel de eficacia de una o más terapias inhibitoras del punto de regulación y/o terapias inmunomoduladoras, tales como inhibidores de PD-1 o terapias que se dirigen a uno o más de CTL4, la vía de adenosina, PD-L1, PD-L2, OX40, TIM3 y/o LAG3 en un sujeto correspondiente que recibe estas terapias y no se trató con el anticuerpo.

Aumento de la eficacia de los quimioterápicos

En algunas modalidades, los anticuerpos anti-CD33 antagonistas de la presente descripción pueden aumentar la eficacia de uno o más quimioterápicos, tales como gemcitabina, capecitabina, antraciclinas, doxorubicina (Adriamycin®), epirubicina (Ellence®), taxanos, paclitaxel (Taxol®), docetaxel (Taxotere®), 5-fluorouracilo (5-FU), ciclofosfamida (Cytosan®), carboplatino (Paraplatin®), oxaliplatino (Eloxatin®), leucovorina y/o temozolomida (Temodar®).

En algunas modalidades, un anticuerpo anti-CD33 de la presente descripción puede aumentar la eficacia de uno o más quimioterápicos en un sujeto que recibe estas terapias, por ejemplo, al menos 10 %, al menos 15 %, al menos 20 %, al menos 25 %, al menos 30 %, al menos 35 %, al menos 40 %, al menos 45 %, al menos 50 %, al menos 55 %, al

menos 60 %, al menos 65 %, al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 95 %, al menos 100 %, al menos 110 %, al menos 115 %, al menos 120 %, al menos 125 %, al menos 130 %, al menos 135 %, al menos 140 %, al menos 145 %, al menos 150 %, al menos 160 %, al menos 170 %, al menos 180 %, al menos 190 % o al menos 200 %, en comparación con el nivel de eficacia de uno o más quimioterépicos en un sujeto correspondiente que recibe estas terapias y no se trató con el anticuerpo. En otras modalidades, un anticuerpo anti-CD33 de la presente descripción puede aumentar la eficacia de uno o más quimioterépicos en un sujeto que recibe estas terapias, por ejemplo, al menos 1,5 veces, al menos 1,6 veces, al menos 1,7 veces, al menos 1,8 veces, al menos 1,9 veces, al menos 2,0 veces, al menos 2,1 veces, al menos 2,15 veces, al menos 2,2 veces, al menos 2,25 veces, al menos 2,3 veces, al menos 2,35 veces, al menos 2,4 veces, al menos 2,45 veces, al menos 2,5 veces, al menos 2,55 veces, al menos 3,0 veces, al menos 3,5 veces, al menos 4,0 veces, al menos 4,5 veces, al menos 5,0 veces, al menos 5,5 veces, al menos 6,0 veces, al menos 6,5 veces, al menos 7,0 veces, al menos 7,5 veces, al menos 8,0 veces, al menos 8,5 veces, al menos 9,0 veces, al menos 9,5 veces o al menos 10 veces, en comparación con el nivel de la eficacia de uno o más quimioterépicos en un sujeto correspondiente que recibe estas terapias y no se trató con el anticuerpo.

Preparación de anticuerpos

Los anticuerpos anti-CD33 de la presente descripción pueden abarcar anticuerpos policlonales, anticuerpos monoclonales, anticuerpos humanizados y quiméricos, anticuerpos humanos, fragmentos de anticuerpos (por ejemplo, Fab, Fab'-SH, Fv, scFv y F(ab')₂), anticuerpos biespecíficos y poliespecíficos, anticuerpos multivalentes, anticuerpos heteroconjugados, anticuerpos conjugados, anticuerpos derivados de bibliotecas, anticuerpos con funciones efectoras modificadas, proteínas de fusión que contienen una parte de anticuerpo y cualquier otra configuración modificada de la molécula de inmunoglobulina que incluye un sitio de reconocimiento de antígeno, tal como un epítipo con residuos aminoácidos de una proteína CD33 de la presente descripción, lo que incluye variantes de glucosilación de anticuerpos, variantes de secuencia de aminoácidos de anticuerpos y anticuerpos modificados de forma covalente. Los anticuerpos anti-CD33 pueden ser humanos, murinos, de rata o de cualquier otro origen (lo que incluye anticuerpos quiméricos o humanizados).

(1) Anticuerpos policlonales

En general, los anticuerpos policlonales, tales como anticuerpos anti-CD33 policlonales, se generan en animales mediante múltiples inyecciones subcutáneas (sc) o intraperitoneales (ip) del antígeno pertinente y un adyuvante. Puede ser útil conjugar el antígeno pertinente (por ejemplo, una proteína CD33 recombinante o purificada de la presente descripción) a

una proteína que es inmunogénica en la especie a inmunizar, por ejemplo, hemocianina de lapa californiana (KLH), albúmina en suero, tiroglobulina bovina o inhibidor de tripsina de soja, con un agente bifuncional o de derivación, por ejemplo, éster de maleimidobenzilsulfosuccinimida (conjugación mediante residuos cisteína), N-
 5 hidroxisuccinimida (mediante residuos lisina), glutaraldehído, anhídrido succínico, SOCl_2 o $\text{R}^1\text{N}=\text{C}=\text{NR}$, en donde R y R^1 son independientemente grupos alquilo inferiores. Los ejemplos de adyuvantes que pueden utilizarse incluyen el adyuvante completo de Freund y el adyuvante MPL-TDM (monofosforil lípido A, dicorinomicolato de trehalosa sintético). El protocolo de inmunización puede ser seleccionado por un experto en la técnica sin excesiva
 10 experimentación.

Los animales se inmunizan contra el antígeno deseado, conjugados inmunogénicos o derivados, mediante la combinación, por ejemplo, de 100 μg (para conejos) o 5 μg (para ratones) de la proteína o conjugado con 3 volúmenes de adyuvante completo de Freund y la inyección de la solución por vía intradérmica en múltiples sitios. Un mes después, se aplica
 15 un refuerzo de 1/5 o 1/10 de la cantidad original de péptido o conjugado en adyuvante completo de Freund a los animales mediante inyección subcutánea en múltiples sitios. Entre siete y catorce días después, se extrajeron muestras de sangre de los animales y se evaluó el suero para determinar la valoración del anticuerpo. Los animales se estimulan hasta que la valoración se estabiliza. También es posible producir los conjugados en cultivo
 20 de células recombinantes, tal como fusiones de proteínas. Asimismo, los agentes de acumulación, tal como alumbre, son adecuados para potenciar la respuesta inmunitaria.

(2) Anticuerpos monoclonales

Se obtienen anticuerpos monoclonales, tales como anticuerpos anti-CD33 monoclonales, a partir de una población de anticuerpos considerablemente homogéneos, es decir, los
 25 anticuerpos individuales que comprenden la población son idénticos, excepto por posibles modificaciones postraduccionales (por ejemplo, isomerizaciones, amidaciones) y/o mutaciones de origen natural que pueden estar presentes en cantidades menores. Por lo tanto, el modificador «monoclonal» indica que la naturaleza del anticuerpo no es una mezcla de anticuerpos discretos.

30 Por ejemplo, los anticuerpos anti-CD33 monoclonales pueden elaborarse mediante el uso del método de hibridoma descrito por primera vez por Kohler et ál., Nature, 256:495 (1975), o pueden elaborarse mediante métodos de ADN recombinante (patente estadounidense n.º 4 816 567).

En el método de hibridoma, se inmuniza a un ratón u otro animal hospedador adecuado, tal
 35 como un hámster, como se describió anteriormente en la presente para generar linfocitos que producen o son capaces de producir anticuerpos que se unirán de forma específica a la proteína utilizada para la inmunización (por ejemplo, una proteína CD33 purificada o

recombinante de la presente descripción). De manera alternativa, es posible la inmunización *in vitro* de linfocitos. Luego, los linfocitos se fusionan con células de mieloma con un agente de fusión adecuado, tal como polietilenglicol, para formar una célula de hibridoma (Goding, *Monoclonal Antibodies: Principles and Practice*, pág. 59-103 (Academic Press, 1986)).

Normalmente, el inmunizante incluye la proteína antigénica (por ejemplo, una proteína CD33 purificada o recombinante de la presente descripción) o una variante de fusión de esta. En general, se utilizan linfocitos de sangre periférica («PBL», por su sigla en inglés) si se desean células de origen humano y células del bazo o de ganglios linfáticos si se desean fuentes mamíferas no humanas. Entonces los linfocitos se fusionan con una estirpe celular inmortalizada con un agente de fusión adecuado, tal como polietilenglicol, para formar una célula de hibridoma. Goding, *Monoclonal Antibodies: Principles and Practice*, Academic Press (1986), pág. 59-103.

En general, las estirpes celulares inmortalizadas son células de mamífero transformadas, particularmente, células de mieloma de origen roedor, bovino o humano. Por lo general, se emplean estirpes celulares de mieloma de rata o ratón. Las células de hibridoma preparadas de esta manera se cultivan en un medio adecuado que preferentemente contiene una o más sustancias que inhiben el crecimiento o la supervivencia de las células originales de mieloma no fusionadas. Por ejemplo, si las células de mieloma originales carecen de la enzima hipoxantina guanina fosforribosiltransferasa (HGPRT o HPRT), el medio de cultivo para los hibridomas incluye normalmente hipoxantina, aminopterina y timidina (medio HAT), sustancias que previenen el crecimiento de células con deficiencia de HGPRT.

Las células de mieloma inmortalizadas preferidas son aquellas que se fusionan de forma eficiente, soportan producción a nivel elevado estable de un anticuerpo de las células que producen el anticuerpo seleccionadas y son sensibles a un medio tal como medio HAT. Entre ellas, se prefieren las estirpes de mieloma murinas, tales como las derivadas de tumores de ratón MOPC-21 y MPC-11 (disponibles de Salk Institute Cell Distribution Center, San Diego, California, EUA), así como células SP-2 y derivados de estas (por ejemplo, X63-Ag8-653) (disponibles de American Type Culture Collection, Manassas, Virginia, EUA). También se han descrito estirpes celulares de heteromieloma de humano-ratón y mieloma humano para la producción de anticuerpos monoclonales humanos (Kozbor, *J. Immunol.*, 133:3001 (1984); Brodeur et ál., *Monoclonal Antibody Production Techniques and Applications*, pág. 51-63 (Marcel Dekker, Inc., Nueva York, 1987)).

Se somete a ensayo el medio de cultivo en el que se cultivan las células de hibridoma para determinar la producción de anticuerpos monoclonales dirigidos contra el antígeno (por ejemplo, una proteína CD33 de la presente descripción). Preferentemente, la especificidad

de unión de los anticuerpos monoclonales producidos por las células de hibridoma se determina mediante inmunoprecipitación o mediante un ensayo de unión *in vitro*, tal como un radioinmunoensayo (RIA) o un ensayo por inmunoadsorción ligado a enzimas (ELISA).

Es posible someter a ensayo el medio de cultivo en el que se cultivan células de hibridoma para determinar la presencia de anticuerpos monoclonales dirigidos contra el antígeno deseado (por ejemplo, una proteína CD33 de la presente descripción). Preferentemente, es posible determinar la afinidad y la especificidad de unión del anticuerpo monoclonal mediante inmunoprecipitación o mediante un ensayo de unión *in vitro*, tal como un radioinmunoensayo (RIA) o un ensayo ligado a enzimas (ELISA). Tales técnicas y ensayos son conocidos en la técnica. Por ejemplo, la afinidad de unión se puede determinar mediante el análisis de Scatchard de Munson et ál., *Anal. Biochem.*, 107:220 (1980). Luego de que se identifican las células de hibridoma que producen anticuerpos de la especificidad, afinidad y/o actividad deseadas, los clones se pueden subclonar por procedimientos de limitación de dilución y se pueden cultivar por métodos habituales (Goding, *supra*). Los medios de cultivo adecuados para este propósito incluyen, por ejemplo, medio D-MEM o RPMI-1640. Además, es posible cultivar las células de hibridoma *in vivo* como tumores en un mamífero.

Se separan en forma adecuada los anticuerpos monoclonales secretados por los subclones del medio de cultivo, fluido de ascitis o suero mediante procedimientos de purificación de inmunoglobulina convencionales, tales como, por ejemplo, cromatografía con proteína A-sefarosa, cromatografía en hidroxilapatita, electroforesis en gel, diálisis, cromatografía por afinidad y otros métodos anteriormente descritos.

Los anticuerpos monoclonales anti-CD33 también pueden producirse mediante métodos de ADN recombinante, tales como los descritos en la patente estadounidense n.º 4 816 567 y como se describió anteriormente. El ADN que codifica los anticuerpos monoclonales se aísla y se secuencia fácilmente mediante el uso de procedimientos convencionales (por ejemplo, mediante el uso de sondas de oligonucleótidos que se unen específicamente a genes que codifican las cadenas pesadas y ligeras de anticuerpos murinos). Las células de hibridoma sirven como una fuente preferida de dicho ADN. Una vez aislado, el ADN se puede colocar en vectores de expresión, que luego se transfectan en células hospedadoras, tales como células de *E. coli*, células COS de simio, células de ovario de hámster chino (CHO, por su sigla en inglés) o células de mieloma que no producen de otra forma proteínas de inmunoglobulina, para sintetizar los anticuerpos monoclonales deseados en dichas células hospedadoras recombinantes. Los artículos de análisis sobre expresión recombinante en bacterias de ADN que codifican el anticuerpo incluyen Skerra et ál., *Curr. Opin. Immunol.*, 5:256-262 (1993) y Plückerthun, *Immunol. Rev.* 130:151-188 (1992).

En determinadas modalidades, es posible aislar anticuerpos anti-CD33 de bibliotecas de

fagos de anticuerpos generadas con las técnicas descritas en McCafferty et ál., *Nature*, 348:552-554 (1990). Clackson et ál., *Nature*, 352:624-628 (1991) y Marks et ál., *J. Mol. Biol.*, 222:581-597 (1991) describieron el aislamiento de anticuerpos murinos y humanos, respectivamente, de bibliotecas de fagos. Las publicaciones posteriores describen la

5 producción de anticuerpos humanos de afinidad elevada (intervalo nanomolar (nM)) mediante transposición de cadena (Marks et ál., *Bio/Technology*, 10:779-783 (1992)), así como infección combinatoria y recombinación *in vivo* como una estrategia para construir bibliotecas de fagos muy grandes (Waterhouse et ál., *Nucl. Acids Res.*, 21:2265-2266 (1993)). Por lo tanto, estas técnicas son alternativas viables a las técnicas de hibridoma de

10 anticuerpo monoclonal tradicionales para el aislamiento de anticuerpos monoclonales de especificidad deseada (por ejemplo, aquellos que se unen a la proteína CD33 de la presente descripción).

También se pueden modificar los anticuerpos que codifican ADN o fragmentos de estos, por ejemplo, mediante la sustitución de la secuencia de codificación para dominios constantes

15 de cadena pesada y ligera humana en lugar de las secuencias murinas homólogas (patente estadounidense n.º 4 816 567; Morrison et ál., *Proc. Natl Acad. Sci. USA*, 81:6851 (1984)), o mediante la unión en forma covalente a la secuencia que codifica la inmunoglobulina, todo o parte de la secuencia de codificación para un polipéptido que no sea la inmunoglobulina. Normalmente, tales polipéptidos que no sean inmunoglobulina se sustituyen con los

20 dominios constantes de un anticuerpo, o se sustituyen con los dominios variables de un sitio de combinación de antígeno de un anticuerpo para crear un anticuerpo bivalente quimérico que comprende un sitio de combinación de antígeno que tiene especificidad por un antígeno y otro sitio de combinación de antígeno que tiene especificidad para un antígeno diferente. Los anticuerpos monoclonales descritos en la presente (por ejemplo, anticuerpos anti-CD33

25 de la presente descripción o fragmentos de estos) pueden ser monovalentes y su preparación es conocida en la técnica. Por ejemplo, un método implica la expresión recombinante de la cadena ligera de inmunoglobulina y una cadena pesada modificada. La cadena pesada se trunca generalmente en cualquier punto de la región Fc para evitar la reticulación de la cadena pesada. Alternativamente, los residuos de cisteína pertinentes se

30 pueden sustituir con otro residuo de aminoácido o se eliminan para evitar la reticulación. Los métodos *in vitro* también son adecuados para preparar anticuerpos monovalentes. La digestión de anticuerpos para producir fragmentos de estos, particularmente fragmentos Fab, se puede lograr usando técnicas habituales, conocidas en la técnica.

También es posible preparar *in vitro* anticuerpos anti-CD33 quiméricos o híbridos con

35 métodos conocidos en la química de proteínas sintéticas, que incluyen aquellos que implican reticulantes. Por ejemplo, las inmunotoxinas pueden construirse usando una reacción de intercambio de disulfuro o formando un enlace tioéter. Los ejemplos de reactivos adecuados

para este propósito incluyen iminotiolato y metil-4-mercaptobutirimidato.

(3) Anticuerpos humanizados

Los anticuerpos anti-CD33 de la presente descripción o fragmentos de anticuerpo de estos también pueden incluir anticuerpos humanizados o humanos. Las formas humanizadas de anticuerpos no humanos (por ejemplo, murinos) son inmunoglobulinas quiméricas, cadenas de inmunoglobulina o fragmentos de estas (tales como Fab, Fab'-SH, Fv, scFv, F(ab')₂ u otras subsecuencias de unión al antígeno de anticuerpos) que contienen secuencias mínimas derivadas de inmunoglobulina no humana. Los anticuerpos humanizados incluyen inmunoglobulinas humanas (anticuerpo receptor) en las que se reemplazan residuos de una región determinante de la complementariedad (CDR) del receptor con residuos de una CDR de una especie no humana (anticuerpo donante), tal como ratón, rata o conejo, con la especificidad, afinidad y capacidad deseadas. En algunos casos, los residuos de armazón Fv de la inmunoglobulina humana se reemplazan con los residuos no humanos correspondientes. Los anticuerpos humanizados también pueden comprender residuos que no se encuentran ni en el anticuerpo receptor ni en las secuencias de armazón o CDR importadas. En general, el anticuerpo humanizado comprende considerablemente todos de al menos uno, y normalmente dos, dominios variables, en los que todas o considerablemente todas las regiones CDR corresponden a aquellas de una inmunoglobulina no humana y todas o considerablemente todas las regiones FR son aquellas de una secuencia de consenso de inmunoglobulina humana. El anticuerpo humanizado comprende de forma óptima también al menos una parte de una región constante (Fc) de inmunoglobulina, normalmente la de una inmunoglobulina humana. Jones et ál., *Nature* 321: 522-525 (1986); Riechmann et ál., *Nature* 332: 323-329 (1988) y Presta, *Curr. Opin. Structure Biol.* 2: 593-596 (1992).

Los métodos para humanizar anticuerpos que no sean humanos se conocen en la técnica. En términos generales, un anticuerpo humanizado tiene uno o más residuos de aminoácidos introducidos en este desde una fuente no humana. Usualmente se hace referencia a estos residuos aminoácidos no humanos como residuos «importados», que normalmente se toman de un dominio variable «importado». La humanización se puede llevar a cabo esencialmente conforme al método de Winter y sus colaboradores, Jones et ál., *Nature* 321:522-525 (1986); Riechmann et ál., *Nature* 332:323-327 (1988); Verhoeyen et ál., *Science* 239:1534-1536 (1988), o mediante la sustitución de CDR de roedor o secuencias de CDR para las secuencias correspondientes de un anticuerpo humano. Por consiguiente, dichos anticuerpos «humanizados» son anticuerpos quiméricos (patente estadounidense n.º 4 816 567), en los que se sustituyó bastante menos que un dominio variable humano intacto con la secuencia correspondiente de una especie no humana. En la práctica, los anticuerpos humanizados normalmente son anticuerpos humanos en los que algunos

residuos de CDR y posiblemente algunos residuos de FR se sustituyen con residuos de sitios análogos en anticuerpos de roedores.

La elección de dominios variables humanos, tanto ligeros como pesados, para usar en la fabricación de los anticuerpos humanizados es muy importante para reducir la antigenicidad.

- 5 De acuerdo con el llamado método «de mejor ajuste», la secuencia del dominio variable de un anticuerpo de roedor se analiza comparándola con la biblioteca completa de secuencias humanas de dominio variable conocidas. La secuencia humana que esté más próxima a la del roedor se acepta entonces como el armazón humano (FR) para el anticuerpo humanizado. Sims et ál., *J. Immunol.*, 151:2296 (1993); Chothia et ál., *J. Mol. Biol.*, 196:901
10 (1987). Otro método utiliza un armazón particular derivado de la secuencia consenso de todos los anticuerpos humanos de un subgrupo particular de cadenas ligeras o pesadas. Se puede usar el mismo armazón para varios anticuerpos humanizados diferentes. Carter et ál., *Proc. Nat'l Acad. Sci. USA* 89:4285 (1992); Presta et ál., *J. Immunol.* 151:2623 (1993). Asimismo, es importante que los anticuerpos se humanicen con retención de afinidad
15 elevada por el antígeno y otras propiedades biológicas favorables. Para lograr este objetivo, de acuerdo con un método preferido, los anticuerpos humanizados se preparan mediante un proceso de análisis de las secuencias originales y diversos productos humanizados conceptuales mediante el uso de modelos tridimensionales de las secuencias originales y humanizadas. Los modelos tridimensionales de inmunoglobulina se encuentran disponibles
20 comúnmente y resultan familiares para el experto en la técnica. Hay disponibles programas informáticos que ilustran y muestran estructuras tridimensionales probables de conformación de secuencias de inmunoglobulina candidatas seleccionadas. La inspección de estas visualizaciones permite el análisis del posible papel de los residuos en el funcionamiento de la secuencia de inmunoglobulina candidata, es decir, el análisis de residuos que influyen en
25 la capacidad de la inmunoglobulina candidata para unirse a su antígeno. De esa forma, es posible seleccionar y combinar residuos de FR de las secuencias de importación y receptoras, de forma que se logre la característica del anticuerpo deseada, tal como una mayor afinidad por el antígeno o antígenos diana (por ejemplo, proteínas CD33 de la presente descripción). En general, los residuos de CDR están directamente y más
30 sustancialmente involucrados en influir en la unión al antígeno.
- Se contemplan varias formas del anticuerpo anti-CD33 humanizado. Por ejemplo, el anticuerpo anti-CD33 humanizado puede ser un fragmento de anticuerpo, tal como Fab, que se conjuga opcionalmente con uno o más agentes citotóxicos para generar un inmunoconjugado. De manera alternativa, el anticuerpo anti-CD33 humanizado puede ser
35 un anticuerpo intacto, tal como un anticuerpo IgG1 intacto.

(4) Fragmentos de anticuerpo

En determinadas modalidades, el uso de fragmentos de anticuerpo anti-CD33 tiene ventajas

con respecto al uso de anticuerpos anti-CD33 completos. Los tamaños menores de fragmento hacen posible la eliminación rápida y mejor penetración cerebral.

Se han desarrollado varias técnicas para la producción de fragmentos de anticuerpos.

Tradicionalmente, dichos fragmentos se derivaron mediante digestión proteolítica de

5 anticuerpos intactos (véase, por ejemplo, Morimoto et ál., *J. Biochem. Biophys. Method.* 24:107-117 (1992); y Brennan et ál., *Science* 229:81 (1985)). No obstante, en la actualidad, estos fragmentos pueden producirse directamente mediante células hospedadoras recombinantes, por ejemplo, con ácidos nucleicos que codifican anticuerpos anti-CD33 de la presente descripción. Todos los fragmentos de anticuerpo Fab, Fv y scFv pueden
10 expresarse y secretarse en *E. coli*, lo que permite la producción directa de grandes cantidades de dichos fragmentos. También pueden aislarse fragmentos de anticuerpo anti-CD33 de las bibliotecas de fagos de anticuerpos, tal como se mencionó anteriormente. De manera alternativa, es posible recuperar directamente fragmentos Fab'-SH de *E. coli* y acoplarlos químicamente para formar fragmentos F(ab')₂ (Carter et ál., *Bio/Technology*
15 10:163-167 (1992)). De acuerdo con otro enfoque, los fragmentos F(ab')₂ se pueden aislar directamente del cultivo de células hospedadoras recombinantes. Se describe la producción de fragmentos de anticuerpo Fab y F(ab')₂ con mayores semividas *in vivo* en la patente estadounidense n.º 5 869 046. En otras modalidades, el anticuerpo de elección es un fragmento Fv de cadena simple (scFv). Véanse WO 93/16185, la patente estadounidense
20 n.º 5 571 894 y la patente estadounidense n.º 5 587 458. El fragmento de anticuerpo anti-CD33 también puede ser un «anticuerpo lineal», por ejemplo, tal como se describe en la patente estadounidense 5 641 870. Estos fragmentos de anticuerpo lineal pueden ser monoespecíficos o biespecíficos.

(5) Anticuerpos biespecíficos y poliespecíficos

25 Los anticuerpos biespecíficos (BsAb) son anticuerpos que tienen especificidades de unión para al menos dos epítopos diferentes, que incluyen aquellos en la misma proteína o en otra proteína (por ejemplo, una o más proteínas CD33 de la presente descripción). De manera alternativa, es posible armar una parte de un BsAb para unión al antígeno CD33 diana, y otra parte puede combinarse con un brazo que se une a una segunda proteína. Dichos
30 anticuerpos pueden derivar de anticuerpos de longitud completa o fragmentos de anticuerpos (por ejemplo, anticuerpos biespecíficos de F(ab')₂).

Los métodos para elaborar anticuerpos biespecíficos son conocidos en la técnica. La producción tradicional de anticuerpos biespecíficos de longitud completa se basa en la coexpresión de dos pares de cadena pesada y cadena ligera de inmunoglobulina, en los que

35 las dos cadenas tienen especificidades diferentes. Millstein et ál., *Nature*, 305:537-539 (1983). Debido a la distribución aleatoria de las cadenas pesada y ligera de inmunoglobulina, estos hibridomas (cuadromas) producen una posible mezcla de 10

moléculas de anticuerpo diferentes, de las que solo una tiene la estructura biespecífica correcta. La purificación de la molécula correcta, que generalmente se realiza mediante pasos de cromatografía de afinidad, es bastante engorrosa y los rendimientos del producto son bajos. Se tratan procedimientos similares en WO 93/08829 y en Traunecker et ál.,

5 *EMBO J.*, 10:3655-3659 (1991).

De acuerdo con un enfoque diferente, los dominios variables de anticuerpo con las especificidades de unión deseadas (puntos de combinación de anticuerpo y antígeno) se fusionan a secuencias de dominio constante de inmunoglobulina. La fusión se produce, preferentemente, con un dominio constante de cadena pesada de inmunoglobulina que
10 comprende al menos parte de las regiones bisagra, C_H2 y C_H3. Se prefiere que la primera región constante de cadena pesada (C_H1) contenga el sitio necesario para la unión con la cadena ligera, presente en al menos una de las fusiones. Los ADN que codifican las fusiones de cadena pesada de inmunoglobulina y, si así se desea, cadena ligera de inmunoglobulina se insertan en vectores de expresión separados y se transfectan
15 conjuntamente en un organismo hospedador adecuado. Esto brinda una gran flexibilidad para ajustar las proporciones mutuas de los tres fragmentos de polipéptidos en modalidades en las que relaciones desiguales de las tres cadenas polipeptídicas en la construcción producen rendimientos óptimos. Sin embargo, es posible insertar las secuencias de codificación para dos o las tres cadenas de polipéptidos en un vector de expresión cuando la
20 expresión de al menos dos cadenas de polipéptidos en cocientes iguales da como resultado altos rendimientos o cuando los cocientes no tienen una importancia particular.

En una modalidad preferida de este enfoque, los anticuerpos biespecíficos están compuestos por una cadena pesada de inmunoglobulina híbrida con una primera especificidad de unión en un grupo y un par de cadena pesada-cadena ligera de
25 inmunoglobulina híbrida (que brinda una segunda especificidad de unión) en el otro grupo. Se observó que esta estructura asimétrica facilita la separación del compuesto biespecífico deseado de combinaciones de cadena de inmunoglobulina no deseadas, dado que la presencia de una cadena ligera de inmunoglobulina en únicamente la mitad de las moléculas biespecíficas implica una vía sencilla de separación. Este enfoque se describe en
30 WO 94/04690. Para obtener más detalles sobre la generación de anticuerpos biespecíficos véase, por ejemplo, Suresh et ál., *Methods in Enzymology* 121: 210 (1986).

Conforme a otro enfoque descrito en WO 96/27011 o la patente estadounidense n.º 5 731 168, es posible modificar la interfaz entre un par de moléculas de anticuerpo para maximizar el porcentaje de heterodímeros que se recuperan de un cultivo de células
35 recombinantes. La interfaz preferida comprende al menos una parte de la región C_H3 de un domino constante de anticuerpo. En este método, se remplazan una o más cadenas laterales pequeñas de aminoácidos de la interfaz de la primera molécula de anticuerpo con

cadenas laterales más grandes (por ejemplo, tirosina o triptófano). Se crean «cavidades» compensatorias de tamaño idéntico o similar a la cadena o cadenas laterales grandes en la interfaz de la segunda molécula de anticuerpo mediante el remplazo de las cadenas laterales de aminoácidos grandes con cadenas más pequeñas (por ejemplo, alanina o treonina). Esto provee un mecanismo para aumentar el rendimiento del heterodímero respecto a otros productos finales no deseados, tales como homodímeros.

Se han descrito en la bibliografía técnicas para generar anticuerpos biespecíficos a partir de fragmentos de anticuerpos. Por ejemplo, los anticuerpos biespecíficos pueden prepararse usando enlace químico. Brennan et ál., *Science* 229:81 (1985), describen un procedimiento en donde se escinden de forma proteolítica anticuerpos intactos para generar fragmentos $F(ab')_2$. Estos fragmentos se reducen en presencia de arsenito de sodio, formador de complejos de ditiol, para estabilizar los ditiolos vecinales y prevenir la formación de disulfuro intermolecular. Los fragmentos Fab' generados se convierten luego en derivados de tionitrobenzoato (TNB). Entonces, se reconvierte uno de los derivados de Fab'-TNB en el derivado Fab'-TNB para formar el anticuerpo biespecífico. Los anticuerpos biespecíficos producidos pueden usarse como agentes para la inmovilización selectiva de enzimas.

Es posible recuperar directamente fragmentos Fab' de *E. coli* y acoplarlos químicamente para formar anticuerpos biespecíficos. Shalaby et ál., *J. Exp. Med.* 175: 217-225 (1992), describe la producción de moléculas $F(ab')_2$ de anticuerpo biespecífico completamente humanizadas. Cada fragmento Fab' se secretó independientemente de *E. coli* y se sometió a acoplamiento químico directo *in vitro* para formar el anticuerpo biespecífico. El anticuerpo biespecífico así formado fue capaz de unirse a las células que sobreexpresan el receptor ErbB2 y los linfocitos T humanos normales, así como desencadenar la actividad lítica de los linfocitos citotóxicos humanos contra dianas de tumores de mama humanos.

También se han descrito diversas técnicas para elaborar y aislar fragmentos de anticuerpos bivalentes directamente del cultivo celular recombinante. Por ejemplo, se han producido heterodímeros bivalentes usando cremalleras de leucina. Kostelny et ál., *J. Immunol.*, 148(5):1547-1553 (1992). Los péptidos de cremallera de leucina de las proteínas Fos y Jun se unieron a las partes Fab' de dos anticuerpos diferentes mediante fusión de genes. Los homodímeros de anticuerpos se redujeron en la región bisagra para formar monómeros y luego se reoxidaron para formar los heterodímeros de anticuerpos. La tecnología de «dicuerpo» que se describe en Hollinger et ál., *Proc. Nat'l Acad. Sci. USA*, 90: 6444-6448 (1993), brinda un mecanismo alternativo para producir fragmentos de anticuerpos bivalentes/biespecíficos. Los fragmentos comprenden un dominio variable de cadena pesada (V_H) conectado a un dominio variable de cadena ligera (V_L) mediante un conector que es demasiado corto para permitir el apareamiento entre ambos dominios en la misma cadena. Por consiguiente, se obliga a los dominios de V_H y V_L de un fragmento a

emparejarse con los dominios de V_L y V_H complementarios de otro fragmento, y de ese modo se forman dos sitios de unión al antígeno. También se ha informado otra estrategia para producir fragmentos de anticuerpo biespecífico/bivalente mediante el uso de dímeros Fv monocatenarios (sFv). Véase Gruber et ál., *J. Immunol.*, 152:5368 (1994).

- 5 También se contemplan anticuerpos con más de dos valencias. Por ejemplo, se pueden preparar anticuerpos triespecíficos. Tutt et ál., *J. Immunol.* 147:60 (1991).

Los ejemplos de anticuerpos biespecíficos pueden unirse a dos epítopos diferentes en una molécula dada (por ejemplo, una proteína CD33 de la presente descripción). De manera alternativa, un brazo que se dirige a un componente de señalización de CD33 puede

- 10 combinarse con un brazo que se une a una molécula desencadenante en un leucocito, tal como una molécula de receptor de linfocito T (por ejemplo, CD2, CD3, CD28 o B7), o receptores de Fc para IgG (FcγR), tales como FcγRI (CD64), FcγRII (CD32) y FcγRIII (CD16), con el fin de enfocar los mecanismos de defensa celular en la célula que expresa la proteína particular. Los anticuerpos biespecíficos se pueden usar también para localizar
- 15 agentes citotóxicos en células que expresen una proteína particular. Dichos anticuerpos poseen un brazo de unión a proteínas y un brazo que se une a un agente citotóxico o un quelante de radionúclidos, como EOTUBE, DPTA, DOTA o TETA. Otro anticuerpo biespecífico de interés se une a la proteína de interés y además se une al factor tisular (TF).

(6) Anticuerpos multivalentes

- 20 Un anticuerpo multivalente puede ser internalizado (y/o catabolizado) más rápidamente que un anticuerpo bivalente por una célula que expresa un antígeno al cual se unen los anticuerpos. Los anticuerpos anti-CD33 de la presente descripción, o fragmentos de anticuerpos de estos, pueden ser anticuerpos multivalentes (que no pertenecen a la clase IgM) con tres o más sitios de unión al antígeno (por ejemplo, anticuerpos tetravalentes), los
- 25 que se pueden producir fácilmente mediante expresión recombinante de ácidos nucleicos que codifican las cadenas polipeptídicas del anticuerpo. El anticuerpo multivalente puede comprender un dominio de dimerización y tres o más sitios de unión al antígeno. El dominio de dimerización preferido comprende una región Fc o una región bisagra. En dicho caso, el anticuerpo comprenderá una región Fc y tres o más sitios de unión al antígeno hacia el
- 30 extremo amino respecto a la región Fc. El anticuerpo multivalente preferido de la presente contiene tres a alrededor de ocho sitios de unión al antígeno, pero contiene preferentemente cuatro. El anticuerpo multivalente contiene al menos una cadena de polipéptidos (y, preferentemente, dos cadenas de polipéptidos), en donde la cadena o cadenas de polipéptidos comprenden dos o más dominios variables. Por ejemplo, la cadena o cadenas
- 35 de polipéptidos pueden comprender VD1-(X1) n -VD2-(X2) n -Fc, en donde VD1 es un primer dominio variable, VD2 es un segundo dominio variable, Fc es una cadena polipeptídica de una región Fc, X1 y X2 representan un aminoácido o polipéptido, y n es 0 o 1. De manera

similar, la cadena o cadenas de polipéptidos pueden comprender V_H-C_H1-conector flexible-V_H-C_H1-cadena de región Fc; o V_H-C_H1-V_H-C_H1-cadena de región Fc. Preferentemente, el anticuerpo multivalente de la presente también comprende al menos dos (y preferentemente, cuatro) polipéptidos de dominio variable de cadena ligera. El anticuerpo multivalente de la presente puede, por ejemplo, comprender de alrededor de dos a alrededor de ocho polipéptidos de dominio variable de cadena ligera. Los polipéptidos de dominio variable de cadena ligera contemplados en la presente comprenden un dominio variable de cadena ligera y, opcionalmente, también comprenden un dominio CL. Los anticuerpos multivalentes pueden reconocer el antígeno de CD33 así como, de modo no taxativo, antígenos adicionales, un antígeno de péptido beta A, un antígeno de proteína sinucleína alfa, un antígeno de proteína Tau, un antígeno de proteína TDP-43, un antígeno de proteína priónica, un antígeno de proteína huntingtina o RAN, antígeno de productos de traducción, que incluyen las repeticiones dipeptídicas (péptidos DPR) compuestas por glicina-alanina (GA), glicina-prolina (GP), glicina-arginina (GR), prolina-alanina (PA) o prolina-arginina (PR), receptor de insulina, factor de crecimiento similar a insulina, receptor de transferrina o cualquier otro antígeno que facilite la transferencia del anticuerpo a través de la barrera hematoencefálica.

(7) Anticuerpos heteroconjugados

El alcance de la presente descripción también abarca anticuerpos heteroconjugados. Los anticuerpos heteroconjugados están compuestos por dos anticuerpos unidos de forma covalente (por ejemplo, anticuerpos anti-CD33 de la presente descripción o fragmentos de anticuerpo de estos). Por ejemplo, uno de los anticuerpos en el heteroconjugado puede acoplarse a avidina, el otro a biotina. Se han propuesto tales anticuerpos, por ejemplo, para seleccionar células no deseadas como dianas de células del sistema inmunitario, patente estadounidense n.º 4 676 980, y se han utilizado para el tratamiento de la infección por VIH. Publicaciones internacionales n.º WO 91/00360, WO 92/200373 y EP 0308936. Se contempla que los anticuerpos puedan prepararse *in vitro* mediante el uso de métodos conocidos en la química de proteínas sintéticas, que incluyen aquellos que implican agentes de reticulación. Por ejemplo, es posible construir inmunotoxinas mediante el uso de una reacción de intercambio de disulfuro o mediante la formación de un enlace tioéter. Los ejemplos de reactivos adecuados con este fin incluyen iminotiolato y metil-4-mercaptobutirimidato y los descritos, por ejemplo, en la patente estadounidense n.º 4 676 980. Los anticuerpos heteroconjugados se pueden producir mediante el uso de cualquier método de reticulación conveniente. Los reticulantes adecuados son ampliamente conocidos en la técnica y se describen en la patente estadounidense n.º 4 676 980 junto con múltiples técnicas de reticulación.

(8) Modificación de la función efectora

También puede desearse modificar un anticuerpo anti-CD33 de la presente descripción para modificar la función efectora y/o para aumentar la semivida en suero del anticuerpo. Por ejemplo, es posible modificar o mutar el sitio de unión al receptor de Fc en la región constante para eliminar o reducir la afinidad de unión a determinados receptores de Fc, tales como FcγRI, FcγRII y/o FcγRIII. En algunas modalidades, la función efectora se ve impedida al eliminar la N-glucosilación de la región Fc (por ejemplo, en el dominio CH 2 de IgG) del anticuerpo. En algunas modalidades, la función efectora se impide mediante la modificación de regiones tales como 233-236, 297 y/o 327-331 de IgG humana, tal como se describe en PCT WO 99/58572 y Armour et ál., *Molecular Immunology* 40: 585-593 (2003); Reddy et ál., *J. Immunology* 164:1925-1933 (2000).

Para aumentar la semivida en suero del anticuerpo, se puede incorporar un epítipo de unión al receptor de rescate en el anticuerpo (especialmente un fragmento de anticuerpo) tal como se describe, por ejemplo, en la patente estadounidense 5 739 277. Tal como se usa en la presente, la expresión «*epítipo de unión al receptor de rescate*» se refiere a un epítipo de la región Fc de una molécula IgG (por ejemplo, IgG₁, IgG₂, IgG₃ o IgG₄) que es responsable de aumentar la semivida en suero *in vivo* de la molécula de IgG.

(9) Otras modificaciones de secuencias de aminoácidos

También se contemplan modificaciones de la secuencia de aminoácidos de anticuerpos anti-CD33 de la presente descripción o fragmentos de anticuerpo de estos. Por ejemplo, se puede desear mejorar la afinidad de unión y/u otras propiedades biológicas de los anticuerpos o fragmentos de anticuerpos. Las variantes de secuencia de aminoácidos de los anticuerpos o fragmentos de anticuerpo se preparan mediante la introducción de cambios de nucleótidos apropiados en el ácido nucleico que codifica los anticuerpos o fragmentos de anticuerpo, o mediante síntesis peptídica. Tales modificaciones incluyen, por ejemplo, deleciones de residuos y/o inserciones en estos y/o sustituciones de estos en las secuencias de aminoácidos del anticuerpo. Se lleva a cabo cualquier combinación de deleción, inserción y sustitución para lograr la construcción final, siempre y cuando la construcción final posea las características deseadas (es decir, la capacidad de unión o interacción física con una proteína CD33 de la presente descripción). Los cambios de aminoácidos también pueden alterar procesos postraduccionales del anticuerpo, tal como al cambiar la cantidad o posición de sitios de glucosilación.

Un método útil para identificar determinados residuos o regiones del anticuerpo anti-CD33 que representan ubicaciones preferidas para mutagénesis se denomina «mutagénesis de barrido de alanina», tal como lo describieron Cunningham y Wells en *Science*, 244:1081-1085 (1989). En este caso, se identifica un residuo o grupo de residuos diana (por ejemplo, residuos cargados tales como arg, asp, his, lys y glu) y se reemplazan con un aminoácido neutro o de carga negativa (más preferentemente, alanina o polialanina) para afectar la

interacción de los aminoácidos con el antígeno diana. Aquellas ubicaciones de aminoácidos que demuestran sensibilidad funcional a las sustituciones luego son refinadas al introducir otras variantes o variantes adicionales en los sitios de sustitución o para estos. Por lo tanto, mientras que el sitio para introducir una variación de secuencia de aminoácidos está

5 predeterminada, la naturaleza de la mutación en sí no necesita estarlo. Por ejemplo, para analizar el rendimiento de una mutación en un sitio dado, se llevó a cabo una determinación de alanina o mutación aleatoria en una región o codón diana y se analizan las variantes de anticuerpo expresadas para determinar la actividad deseada.

Las inserciones de secuencias de aminoácidos incluyen fusiones de extremos amino (N) y/o
10 carboxilo (C) que varían en cuanto a longitud de un residuo a polipéptidos que contienen cien residuos o más, así como también inserciones intrasecuencia de un único residuo o de múltiples residuos de aminoácidos. Los ejemplos de inserciones terminales incluyen un anticuerpo con un residuo de metionilo del extremo N o el anticuerpo fusionado a un
15 fusión al extremo N o C del anticuerpo a una enzima o un polipéptido que aumenta la semivida en suero del anticuerpo.

Otro tipo de variante es una variante de sustitución de aminoácido. En estas variantes, se reemplaza al menos un residuo de aminoácido en la molécula del anticuerpo por un residuo diferente. Los sitios de mayor interés para mutagénesis con sustitución incluyen las
20 regiones hipervariables, pero también se contemplan alteraciones de FR. En la **Tabla D** a continuación se muestran sustituciones conservadoras con el encabezado «sustituciones preferidas». Si dichas sustituciones produjeran un cambio de la actividad biológica, podrían introducirse más cambios sustanciales, denominados «sustituciones ilustrativas» en la **Tabla D**, o tal como se describen adicionalmente más adelante con referencia a las clases de
25 aminoácidos, y se analizarían los productos.

Tabla D: Sustituciones de aminoácidos

Residuo original	Ejemplos de sustituciones	Sustituciones preferidas
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

Residuo original	Ejemplos de sustituciones	Sustituciones preferidas
His (H)	asn; gln; lys; arg	arg
Ile (I)	leu; val; met; ala; phe; norleucina	leu
Leu (L)	norleucina; ile; val; met; ala; phe	ile
Lys (K)	arg; gln; asn	arg
Met (M)	leu; phe; ile	leu
Phe (F)	leu; val; ile; ala; tyr	tyr
Pro (P)	ala	ala
Ser (S)	thr	thr
Thr (T)	Ser	ser
Trp (W)	tyr; phe	tyr
Tyr (Y)	trp; phe; thr; ser	phe
Val (V)	ile; leu; met; phe; ala; norleucina	leu

Las modificaciones considerables en las propiedades biológicas del anticuerpo se logran mediante la selección de sustituciones que difieren significativamente en su efecto de mantener (a) la estructura de la cadena principal del polipéptido en el área de sustitución, por ejemplo, como una conformación de lámina o hélice, (b) la carga o hidrofobicidad de la molécula en el sitio diana, o (c) el volumen de la cadena lateral. Los residuos de origen natural se dividen en grupos basándose en las propiedades comunes de las cadenas laterales:

(1) hidrofóbica: norleucina, met, ala, val, leu, ile;

10 2) hidrofílicos neutros: cys, ser, thr;

(3) ácidos: asp, glu;

(4) básicos: asn, gln, his, lys, arg;

5) residuos que afectan la orientación de la cadena: gly, pro; y

(6) aromáticos: trp, tyr, phe.

15 Las sustituciones no conservadoras implican el intercambio de un miembro de una de estas clases por otra clase.

También puede sustituirse cualquier residuo de cisteína no implicado en mantener la conformación adecuada del anticuerpo, generalmente con serina, para mejorar la estabilidad oxidativa de la molécula y prevenir la reticulación anómala. Por el contrario, es posible
20 agregar uno o más enlaces de cisteína al anticuerpo para mejorar su estabilidad (particularmente, en los casos en los que el anticuerpo es un fragmento de anticuerpo, tal como un fragmento Fv).

Un tipo particularmente preferido de variante de sustitución implica la sustitución de uno o más residuos de región hipervariable de un anticuerpo original (por ejemplo, un anticuerpo anti-CD33 humanizado o humano). Generalmente, la o las variantes resultantes seleccionadas para un desarrollo adicional tendrán mejores propiedades biológicas en comparación con el anticuerpo original a partir del cual se generan. Una forma conveniente para generar tales variantes de sustitución implica la maduración por afinidad con expresión en fagos. En resumen, se mutan varios sitios de región hipervariable (por ejemplo, 6-7 sitios) para generar todas las sustituciones de aminoácidos posibles en cada sitio. Las variantes de anticuerpos así generadas se expresan de forma monovalente a partir de partículas de fago filamentosas como fusiones al producto del gen III de M13 envasado dentro de cada partícula. Luego se analizan las variantes expresadas en fagos para detectar su actividad biológica (por ejemplo, su afinidad de unión), tal como se describe en la presente. Con el fin de identificar los posibles sitios de la región hipervariable para la modificación, se puede realizar mutagénesis de barrido de alanina para identificar los residuos de región hipervariable que contribuyen de forma significativa con la unión al antígeno. De manera alternativa o adicional, puede ser favorable analizar una estructura cristalina del complejo de antígeno y anticuerpo para identificar los puntos de contacto entre el anticuerpo y el antígeno (por ejemplo, una proteína CD33 de la presente descripción). Tales residuos de contacto y residuos próximos son candidatos para la sustitución según las técnicas desarrolladas en la presente. Una vez que se generan tales variantes, se somete el panel de variantes a análisis tal como se describe en la presente y se pueden seleccionar anticuerpos con propiedades superiores en uno o más ensayos pertinentes para el desarrollo adicional.

Otro tipo de variante de aminoácido del anticuerpo altera el patrón de glucosilación original del anticuerpo. Al mencionar alteraciones, se hace referencia a la eliminación de uno o más restos de carbohidratos que se encuentran en el anticuerpo y/o a la adición de uno o más sitios de glucosilación que no se encuentran presentes en el anticuerpo.

Usualmente, la glucosilación de los anticuerpos es N-glucosilación u O-glucosilación. N-ligada se refiere a la unión de la porción de carbohidrato a la cadena lateral de un residuo de asparagina. Las secuencias tripeptídicas asparagina-X-serina y asparagina-X-treonina, donde X es cualquier aminoácido excepto prolina, son las secuencias de reconocimiento para la unión enzimática de la porción de carbohidrato a la cadena lateral de asparagina. Por lo tanto, la presencia de cualquiera de estas secuencias de tripéptidos en un polipéptido crea un posible sitio de glucosilación. La glucosilación O-ligada se refiere a la unión de uno de los azúcares de N-acetilgalactosamina, galactosa, o xilosa a un hidroxiaminoácido, más comúnmente serina o treonina, aunque 5-hidroxiprolina o 5-hidroxilisina pueden también ser usados.

La adición de sitios de glucosilación al anticuerpo se logra convenientemente mediante la alteración de la secuencia de aminoácidos de forma tal que contenga una o más de las secuencias de tripéptidos descritas anteriormente (para los sitios de glucosilación unidos a N). La alteración también se puede realizar mediante la adición, o sustitución, de uno o más
 5 residuos de serina o treonina, a la secuencia del anticuerpo original (para los sitios de glucosilación unidos a O).

Las moléculas de ácido nucleico que codifican las variantes de secuencia de aminoácidos del anticuerpo anti-IgE se preparan con una diversidad de métodos conocidos en la técnica. Estos métodos incluyen, de modo no taxativo, aislamiento de una fuente natural (en el caso
 10 de variantes de secuencia de aminoácidos de origen natural) o preparación mediante mutagénesis mediada por oligonucleótidos (o dirigida al sitio), mutagénesis por PCR y mutagénesis de casete de una versión variante o no variante preparada anteriormente de los anticuerpos (por ejemplo, anticuerpos anti-CD33 de la presente descripción) o fragmentos de anticuerpos.

15 (10) *Conjugados de anticuerpos*

Los anticuerpos anti-CD33 de la presente descripción, o fragmentos de anticuerpos de estos, pueden conjugarse a un marcador detectable, una toxina o un medicamento. Puede utilizarse cualquier método adecuado conocido en la técnica para conjugar moléculas, tal como un marcador detectable, una toxina o un medicamento, a anticuerpos.

20 Por ejemplo, la conjugación de fármaco implica acoplar un fármaco o una carga útil citotóxica activa biológica (anticancerosa) a un anticuerpo que se dirija específicamente a un determinado marcador de tumor (por ejemplo, una proteína que, idealmente, se encuentre únicamente dentro de células tumorales o sobre estas). Los anticuerpos rastrean estas proteínas en el cuerpo y se acoplan a la superficie de las células cancerosas. La reacción
 25 bioquímica entre el anticuerpo y la proteína diana (antígeno) desencadena una señal en la célula tumoral, que luego absorbe o internaliza el anticuerpo junto con la citotoxina. Luego de internalizarse el ADC, se libera el fármaco citotóxico y elimina mata el cáncer. Debido a este direccionamiento, idealmente, el fármaco tiene efectos secundarios menores y proporciona una ventana terapéutica más amplia que otros quimioterápicos. Se conocen en
 30 la técnica métodos para conjugar anticuerpos (véase, por ejemplo, Jane de Lartigue, OncLive 5 de julio de 2012; ADC Review on antibody-drug conjugates; y Ducry et ál., (2010). *Bioconjugate Chemistry* 21 (1): 5-13).

En algunas modalidades, un anticuerpo anti-CD33 de la presente descripción puede conjugarse a una toxina que se selecciona de ricina, cadena A de ricina, doxorubicina,
 35 daunorubicina, un maitansinoide, taxol, bromuro de etidio, mitomicina, etopósido, tenopósido, vincristina, vinblastina, colchicina, dihidroxiantracinadiona, actinomicina, toxina de difteria, exotoxina *Pseudomonas* (PE) A, PE40, abrina, cadena A de abrina, cadena A de

modeccina, alfa-sarcina, gelonina, mitogelina, retstrictocina, fenomicina, enomicina, curicina, crotina, caliqueamicina, inhibidor de *Saponaria officinalis*, glucocorticoide, auristatina, auromicina, itrio, bismuto, combrestatina, duocarmicinas, dolastatina, cc1065 y un cisplatino.

(11) *Otras modificaciones de anticuerpos*

- 5 Es posible modificar adicionalmente los anticuerpos anti-CD33 de la presente descripción, o fragmentos de anticuerpo de estos, para que contengan restos no proteináceos adicionales conocidos en la técnica y disponibles. Preferentemente, los restos adecuados para derivación del anticuerpo son polímeros solubles en agua. Los ejemplos no taxativos de polímeros solubles en agua incluyen, de modo no taxativo, polietilenglicol (PEG),
- 10 copolímeros de etilenglicol/propilenglicol, carboximetilcelulosa, dextrano, alcohol polivinílico, polivinilpirrolidona, poli-1, 3-dioxolano, poli-1,3,6-trioxano, copolímero de etileno/anhídrido maleico, poliaminoácidos (ya sea homopolímeros o copolímeros aleatorios) y dextrano o poli(n-vinilpirrolidona)polietilenglicol, homopolímeros de polipropilenglicol, copolímeros de óxido de polipropileno/óxido de etileno, polioles polioxietilados (por ejemplo, glicerol), alcohol
- 15 polivinílico y mezclas de estos. El polietilenglicol propionaldehído puede tener ventajas en la fabricación debido a su estabilidad en el agua. El polímero puede ser de cualquier peso molecular y puede ser ramificado o no ramificado. La cantidad de polímeros unidos al anticuerpo puede variar y, en caso de unión de más de un polímero, estos pueden ser la misma molécula o moléculas diferentes. En general, la cantidad y/o tipo de polímeros
- 20 utilizados para la derivación se puede determinar con base en consideraciones que incluyen, de modo no taxativo, las propiedades o funciones particulares del anticuerpo que se mejorará, si el derivado de anticuerpo se utilizará en un tratamiento en condiciones definidas, etc. Tales técnica y otras formulaciones adecuadas se describen en *Remington: The Science and Practice of Pharmacy*, 20° Ed., Alfonso Gennaro, Ed., Philadelphia College
- 25 of Pharmacy and Science (2000).

Ensayos de unión y otros ensayos.

Es posible evaluar la actividad de unión al antígeno de los anticuerpos anti-CD33 de la presente descripción, por ejemplo, mediante métodos conocidos tales como ELISA, resonancia por plasmones superficiales (SPR), inmunoelectrotransferencia, etc.

- 30 En algunas modalidades, es posible utilizar ensayos competitivos para identificar un anticuerpo que compite con cualquiera de los anticuerpos descritos en la presente. En algunas modalidades, los ensayos competitivos se pueden utilizar para identificar un anticuerpo que compita con cualquiera de los anticuerpos que se enumeran en las **Tablas 7, 8, 9, 10, 11 y 12**, o que se seleccionan de 6C7H1, 6C7H2, 6C7H3, 6C7H4, 6C7H5, 6C7H6,
- 35 6C7H7, 6C7H8, 6C7H9, 6C7H10, 6C7H11, 6C7H12, 6C7H13, 6C7H14, 6C7H15, 6C7H16, 6C7H17, 6C7H18, 6C7H19, 6C7H20, 6C7H21, 6C7H22, 6C7H23, 6C7H24, 6C7H25, 6C7H26, 6C7H27, 6C7H28, 6C7H29, 6C7H30, 6C7H31, 6C7H32, 6C7H33, 6C7H34,

- 6C7H35, 6C7H36, 6C7H37, 6C7H38, 6C7H39, 6C7H40, 6C7H41, 6C7H42, 6C7H43, 6C7H44, 6C7H45, 6C7H46, 6C7H47, 6C7H48, 6C7H49, 6C7H50, 6C7H51, 6C7H52, 6C7H53 y 6C7H54 para unirse a CD33. En determinadas modalidades, tal anticuerpo competitivo se une al mismo epítipo (por ejemplo, un epítipo lineal o conformacional) que se une con cualquiera de los anticuerpos que se enumeran en las **Tablas 7, 8, 9, 10, 11 y 12**, o que se seleccionan de 6C7H1, 6C7H2, 6C7H3, 6C7H4, 6C7H5, 6C7H6, 6C7H7, 6C7H8, 6C7H9, 6C7H10, 6C7H11, 6C7H12, 6C7H13, 6C7H14, 6C7H15, 6C7H16, 6C7H17, 6C7H18, 6C7H19, 6C7H20, 6C7H21, 6C7H22, 6C7H23, 6C7H24, 6C7H25, 6C7H26, 6C7H27, 6C7H28, 6C7H29, 6C7H30, 6C7H31, 6C7H32, 6C7H33, 6C7H34, 6C7H35, 6C7H36, 6C7H37, 6C7H38, 6C7H39, 6C7H40, 6C7H41, 6C7H42, 6C7H43, 6C7H44, 6C7H45, 6C7H46, 6C7H47, 6C7H48, 6C7H49, 6C7H50, 6C7H51, 6C7H52, 6C7H53 y 6C7H54. Los ejemplos de métodos detallados para mapear un epítipo al cual se une un anticuerpo se proporcionan en Morris (1996) «Epitope Mapping Protocols», en *Methods in Molecular Biology* tomo 66 (Humana Press, Totowa, NJ).
- En un ejemplo de ensayo competitivo, la CD33 inmovilizada o células que expresan CD33 en una superficie celular se incuban en una solución que comprende un primer anticuerpo marcado que se une a CD33 (por ejemplo, de primate no humano o humano) y un segundo anticuerpo sin marcar que se evalúa para determinar su capacidad de competir con el primer anticuerpo por la unión a CD33. El segundo anticuerpo puede estar presente en un sobrenadante de hibridomas. Como testigo, se incuba CD33 inmovilizada o células que expresan CD33 en una solución que comprende el primer anticuerpo marcado, pero no el segundo anticuerpo no marcado. Después de incubar en condiciones que permitan la unión del primer anticuerpo a CD33, se elimina el exceso de anticuerpo no unido y se mide la cantidad de marcador asociado a CD33 inmovilizada o células que expresan CD33. Si la cantidad de marcador asociado a CD33 inmovilizada o células que expresan CD33 se reduce considerablemente en la muestra de prueba en comparación con la muestra de referencia, esto indica que el segundo anticuerpo compite con el primer anticuerpo por la unión a CD33. Véase Harlow y Lane (1988) *Antibodies: A Laboratory Manual* cap. 14 (Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, NY).
- Ácidos nucleicos, vectores y células hospedadoras**
- Los anticuerpos anti-CD33 de la presente descripción pueden producirse con composiciones y métodos recombinantes, por ejemplo, tal como se describe en la patente estadounidense n.º 4 816 567. En algunas modalidades, se proporcionan ácidos nucleicos aislados que poseen una secuencia de nucleótidos que codifica cualquiera de los anticuerpos anti-CD33 de la presente descripción. Tales ácidos nucleicos pueden codificar una secuencia de aminoácidos que comprende la V_L y/o una secuencia de aminoácidos que comprende la V_H del anticuerpo anti-CD33 (por ejemplo, las cadenas ligera y pesada del anticuerpo). En

algunas modalidades, se proporcionan uno o más vectores (por ejemplo, vectores de expresión) que comprenden estos ácidos nucleicos. En algunas modalidades, también se proporciona una célula hospedadora que comprende dicho ácido nucleico. En algunas modalidades, la célula hospedadora comprende (por ejemplo, se transdujo con): (1) un

5 vector que comprende un ácido nucleico que codifica una secuencia de aminoácidos que comprende la V_L del anticuerpo y una secuencia de aminoácidos que comprende la V_H del anticuerpo, o (2) un primer vector que comprende un ácido nucleico que codifica una secuencia de aminoácidos que comprende la V_L del anticuerpo y un segundo vector que

10 comprende un ácido nucleico que codifica una secuencia de aminoácidos que comprende la V_H del anticuerpo. En algunas modalidades, la célula hospedadora es eucariota, por ejemplo, una célula de ovario de hámster chino (CHO) o una célula linfóide (por ejemplo, una célula Y0, NS0, Sp20). Las células hospedadoras de la presente descripción también incluyen, de modo no taxativo, células aisladas, células cultivadas *in vitro* y células cultivadas *ex vivo*.

15 Se proporcionan métodos para producir un anticuerpo anti-CD33 de la presente descripción. En algunas modalidades, el método incluye el cultivo de una célula hospedadora de la presente descripción que comprende un ácido nucleico que codifica el anticuerpo anti-CD33 en condiciones adecuadas para la expresión del anticuerpo. En algunas modalidades, se extrae el anticuerpo posteriormente de la célula hospedadora (o el medio de cultivo de célula

20 hospedadora).

Para la producción recombinante de un anticuerpo anti-CD33 de la presente descripción, un ácido nucleico que codifica el anticuerpo anti-CD33 se aísla y se inserta en uno o más vectores para una clonación y/o expresión adicional en una célula hospedadora. Ese ácido nucleico puede aislarse y secuenciarse fácilmente mediante procedimientos convencionales

25 (por ejemplo, mediante el uso de sondas de oligonucleótidos que puedan unirse específicamente a genes que codifiquen las cadenas ligeras y pesadas del anticuerpo). Los vectores adecuados que comprenden una secuencia de ácido nucleico que codifica cualquiera de los anticuerpos anti-CD33 de la presente descripción, o fragmentos de estos, polipéptidos (que incluyen anticuerpos) descritos en la presente incluyen, de modo no

30 taxativo, vectores de clonación y vectores de expresión. Los vectores de clonación adecuados se pueden elaborar de acuerdo con técnicas habituales, o se pueden seleccionar de una gran cantidad de vectores de clonación disponibles en la técnica. Aunque el vector de clonación seleccionado puede variar de acuerdo con la célula hospedadora que se desea utilizar, los vectores de clonación útiles generalmente son capaces de autorreplicarse,

35 pueden poseer una única diana para una endonucleasa de restricción particular y/o pueden portar genes para un marcador que se pueden utilizar en la selección de clones que comprenden el vector. Los ejemplos adecuados incluyen plásmidos y virus bacterianos, por

ejemplo, pUC18, pUC19, Bluescript (por ejemplo, pBS SK+) y sus derivados, mpl8, mpl9, pBR322, pMB9, ColE1, pCR1, RP4, ADN de fago y vectores lanzadera tales como pSA3 y pAT28. Estos y muchos otros vectores de clonación están disponibles en proveedores comerciales como BioRad, Strategene e Invitrogen.

- 5 Las células hospedadoras adecuadas para la clonación o expresión de vectores que codifican anticuerpos incluyen células procariotas o eucariotas. Por ejemplo, los anticuerpos anti-CD33 de la presente descripción pueden producirse en bacterias, en particular cuando no son necesarias la glucosilación y la función efectora de Fc. Para la expresión de fragmentos y polipéptidos de anticuerpos en bacterias, remitirse, por ejemplo, a las patentes
10 estadounidenses n.º 5 648 237, 5 789 199 y 5 840 523. Después de la expresión, el anticuerpo se puede aislar de la pasta de células bacterianas en una fracción soluble y se puede purificar de manera adicional.

Además de los procariotas, los microorganismos eucariotas, tales como hongos filamentosos o levadura, son hospedadores de clonación o de expresión adecuados para los
15 vectores que codifican anticuerpos, que incluyen cepas de hongos y levadura cuyas vías de glucosilación se han «humanizado», dando lugar a la producción de un anticuerpo con un patrón de glucosilación parcial o completamente humano (por ejemplo, Gerngross, *Nat. Biotech.* 22:1409-1414 (2004); y Li et ál. *Nat. Biotech.* 24:210-215 (2006)).

- Las células hospedadoras adecuadas para la expresión del anticuerpo glucosilado también
20 pueden derivar de organismos multicelulares (invertebrados y vertebrados). Los ejemplos de células de invertebrados incluyen células vegetales y de insectos. Se han identificado diversas cepas de baculovirus que se pueden utilizar junto con células de insectos, en particular para la transfección de células de *Spodoptera frugiperda*. También se pueden utilizar cultivos de células vegetales como hospedadores (por ejemplo, las patentes
25 estadounidenses n.º 5 959 177, 6 040 498, 6 420 548, 7 125 978 y 6 417 429, que describen la tecnología PLANTIBODIES™ para producir anticuerpos en plantas transgénicas).

También pueden utilizarse como hospedadoras las células de los vertebrados. Por ejemplo, las líneas celulares de mamíferos que se adaptan para el crecimiento en suspensión pueden ser útiles. Otros ejemplos de estirpes celulares hospedadoras de mamíferos útiles son las
30 estirpes de células CV1 de riñón de mono transformadas por SV40 (COS-7), estirpes embrionarias humanas de riñón (293 o células 293 como se describe, por ejemplo, en Graham et ál. *J. Gen Virol.* 36:59 (1977)); células de riñón de cría de hámster (BHK, por su sigla en inglés), células de sertoli de ratón (células TM4 como se describe, por ejemplo, en Mather, *Biol. Reprod.* 23:243-251, 1980); células de riñón de mono (CV1), células de riñón
35 de mono verde africano (VERO-76), células de carcinoma de cuello uterino humano (HELA), células de riñón canino (MDCK; células de hígado de rata y búfalo (BRL 3A); células de pulmón humano (W138); células de hígado humano (Hep G2); tumor de mama de ratón

(MMT 060562); células TRI, como se describe, por ejemplo, en Mather et ál. *Annals N.Y. Acad. Sci.* 383:44-68 (1982); células MRC 5; y células FS4. Otras estirpes celulares hospedadoras de mamífero útiles incluyen células de ovario de hámster chino (CHO), que incluyen células CHO DHFR- (Urlaub et ál. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 77:4216 (1980)); y

5 estirpes de células de mieloma tales como Y0, NS0 y Sp2/0. Se puede acceder a un análisis de determinadas estirpes celulares hospedadoras de mamíferos adecuadas para la producción de anticuerpos, por ejemplo, en Yazaki y Wu, *Methods in Molecular Biology*, tomo 248 (B.K.C. Lo, ed., Humana Press, Totowa, NJ), pág. 255-268 (2003).

Composiciones y métodos para formular composiciones farmacéuticas

- 10 En la presente se proporcionan composiciones farmacéuticas y/o formulaciones farmacéuticas que comprenden los anticuerpos anti-CD33 de la presente descripción y un excipiente farmacéuticamente aceptable.
- En algunas modalidades, los excipientes farmacéuticamente aceptables son preferentemente no tóxicos para los receptores en las dosis y concentraciones que se
- 15 empleen. Los anticuerpos que se describen en la presente se pueden formular en preparaciones en formas sólidas, semisólidas, líquidas o gaseosas. Los ejemplos de dichas formulaciones incluyen, de modo no taxativo, comprimidos, cápsulas, polvos, gránulos, ungüentos, soluciones, supositorios, inyecciones, inhaladores, geles, microesferas y aerosoles. Los excipientes farmacéuticamente aceptables pueden incluir, de acuerdo con la
- 20 formulación deseada, excipientes de diluyentes farmacéuticamente aceptables, no tóxicos, que son vehículos comúnmente utilizados para formular composiciones farmacéuticas para su administración a animales o seres humanos. En determinadas modalidades, la composición farmacéutica puede comprender materiales de formulación para modificar, mantener o conservar, por ejemplo, el pH, osmolaridad, viscosidad, claridad, color,
- 25 isotonicidad, olor, esterilidad, estabilidad, velocidad de disolución o liberación, adsorción o penetración de la composición.
- En determinadas modalidades, los excipientes farmacéuticamente aceptables incluyen, de modo no taxativo, aminoácidos (tales como glicina, glutamina, asparagina, arginina o lisina); antimicrobianos; antioxidantes (tales como ácido ascórbico, sulfito de sodio o
- 30 hidrogenosulfito de sodio); amortiguadores (tales como borato, bicarbonato, Tris-HCl, citratos, fosfatos u otros ácidos orgánicos); espesantes (tales como manitol o glicina); quelantes (tales como ácido etilendiamintetraacético (EDTA)); agentes que forman complejos (tales como cafeína, polivinilpirrolidona, beta-ciclodextrina o hidroxipropil-beta-ciclodextrina); rellenos; monosacáridos; disacáridos; y otros carbohidratos (tales como
- 35 glucosa, manosa o dextrinas); proteínas (tales como albúmina de suero, gelatina o inmunoglobulinas); colorantes, aromatizantes y diluyentes; emulsionantes; polímeros hidrofílicos (tales como polivinilpirrolidona); polipéptidos de bajo peso molecular; contraiones

- formadores de sales (tal como sodio); conservantes (tales como cloruro de benzalconio, ácido benzoico, ácido salicílico, timerosal, alcohol fenetílico, metilparabeno, propilparabeno, clorhexidina, ácido sórbico o peróxido de hidrógeno); solventes (tales como glicerina, propilenglicol o polietilenglicol); alcoholes de azúcar (tales como manitol o sorbitol); agentes
- 5 de suspensión; tensioactivos o humectantes (tales como plurónicos, PEG, ésteres de sorbitán, polisorbato, tales como polisorbato 20, polisorbato 80, triton, trometamina, lecitina, colesterol, tilioxapal); potenciadores de la estabilidad (tales como sacarosa o sorbitol); potenciadores de la tonicidad (tales como haluros de metales alcalinos, preferentemente cloruro de sodio o potasio, manitol sorbitol); vehículos de administración; diluyentes;
- 10 excipientes y/o adyuvantes farmacéuticos. Otros ejemplos de formulaciones que son adecuadas para diversos tipos de administración se pueden encontrar en *Remington: The Science and Practice of Pharmacy*, Pharmaceutical Press 22° ed. (2013). Para una breve reseña de los métodos para la administración de fármacos, ver Langer, *Science* 249:1527-1533 (1990).
- 15 Las formulaciones adecuadas para la administración parenteral incluyen soluciones inyectables estériles isotónicas acuosas y no acuosas que pueden comprender antioxidantes, amortiguadores, bacteriostáticos y solutos que convierten a la formulación isotónica con la sangre del receptor deseado; y suspensiones estériles acuosas y no acuosas que pueden incluir agentes de suspensión, solubilizantes, espesantes,
- 20 estabilizantes y conservantes.
- Es posible optimizar las formulaciones para retención y estabilización en el cerebro o en el sistema nervioso central. Cuando se administra el agente al espacio craneal, se puede desear la retención del agente en el espacio y que no se difunda o atraviese la barrera hematoencefálica de otra forma. Las técnicas de estabilización incluyen reticulación,
- 25 formación de multímeros o enlace a grupos tales como polietilenglicol, poliacrilamida, excipientes proteínicos neutros, etc., para lograr un aumento del peso molecular.
- Otras estrategias para aumentar la retención incluyen la captación del anticuerpo, tal como un anticuerpo anti-CD33 de la presente descripción, en un implante biodegradable o bioerosionable. La velocidad de transporte a través de la matriz polimérica y la
- 30 biodegradación del implante controlan la velocidad de liberación del agente terapéuticamente activo. Los implantes pueden ser partículas, láminas, parches, placas, fibras, microcápsulas y similares, y pueden ser de cualquier tamaño o forma compatible con el sitio de inserción seleccionado. Las composiciones poliméricas biodegradables que se pueden emplear pueden ser éteres o ésteres orgánicos que, cuando se degradan, generan
- 35 productos con degradación fisiológicamente aceptable, lo que incluye los monómeros. También resultan útiles anhídridos, amidas, ortoésteres o similares, solos o en combinación con otros monómeros. Los polímeros serán polímeros de condensación. Los polímeros se

pueden encontrar reticulados o no reticulados. Son de particular interés los polímeros de ácidos carboxílicos hidroxialifáticos, ya sean homopolímeros o copolímeros, así como los polisacáridos. Los poliésteres de interés incluyen polímeros de ácido D-láctico, ácido L-láctico, ácido láctico racémico, ácido glicólico, policaprolactona y combinaciones de estos.

- 5 Los polisacáridos de interés incluyen alginato de calcio y celulosas funcionalizadas, en particular, ésteres de carboximetilcelulosa caracterizados por no ser solubles en agua, un peso molecular de alrededor de 5 kD a 500 kD, etc. También se pueden emplear hidrogeles biodegradables en los implantes de la presente descripción. Usualmente, los hidrogeles son un material copolimérico caracterizado por la capacidad de absorción de un líquido. Se
- 10 describen ejemplos de hidrogeles biodegradables que se pueden emplear en Heller, en: *Hydrogels in Medicine and Pharmacy*, N. A. Peppes ed., tomo III, CRC Press, Boca Raton, Fla., 1987, pág. 137-149.

Dosis farmacéuticas

- Es posible administrar composiciones farmacéuticas de la presente descripción que
- 15 contienen un anticuerpo anti-CD33 de la presente descripción a un individuo que requiera tratamiento con el anticuerpo, preferentemente un ser humano, de acuerdo con métodos conocidos, tales como la administración intravenosa como bolo o mediante infusión continua durante un período de tiempo, mediante vía intramuscular, intraperitoneal, intracerebroespinal, intracraneal, intraespinal, subcutánea, intraarticular, intrasinovial,
 - 20 intratecal, oral, tópica o por inhalación.

- Las dosis y la concentración de fármaco deseada de las composiciones farmacéuticas de la presente descripción pueden variar conforme al uso particular previsto. El experto en la técnica podrá determinar la dosis o la vía de administración adecuadas. Los experimentos en animales sirven como guías para determinar dosis eficaces para el tratamiento de
- 25 humanos. Es posible aumentar gradualmente las dosis eficaces para otras especies de acuerdo con los principios descritos en Mordenti, J. y Chappell, W. «The Use of Interspecies Scaling in Toxicokinetics», en *Toxicokinetics and New Drug Development*, Yacobi et ál., Eds, Pergamon Press, Nueva York 1989, pág.42-46.

- En el caso de administración *in vivo* de cualquiera de los anticuerpos anti-CD33 de la presente descripción, las cantidades de dosis normales pueden variar de alrededor de 10
- 30 ng/kg hasta alrededor de 100 mg/kg del peso corporal de un individuo o más por día y preferentemente de alrededor de 1 mg/kg/día a alrededor de 10 mg/kg/día, en función de la vía de administración. En el caso de administraciones repetidas durante el transcurso de varios días o más, de acuerdo con la gravedad de la enfermedad, trastorno o afección a
 - 35 tratar, el tratamiento se mantiene hasta que se logra una reducción deseada de síntomas. Un ejemplo de esquema de administración puede incluir la administración de una dosis inicial de un anticuerpo anti-CD33 de alrededor de 2 mg/kg, seguido por una dosis de

mantenimiento semanal de alrededor de 1 mg/kg cada dos semanas. Pueden ser útiles otros esquemas de administración, de acuerdo con el patrón de declive farmacocinético que desee lograr el médico. Por ejemplo, se contempla en la presente la administración a un individuo de una a veintiuna veces a la semana. En determinadas modalidades, es posible

5 utilizar una dosis que varía de alrededor de 3 µg/kg a alrededor de 2 mg/kg (tal como alrededor de 3 µg/kg, alrededor de 10 µg/kg, alrededor de 30 µg/kg, alrededor de 100 µg/kg, alrededor de 300 µg/kg, alrededor de 1 mg/kg y alrededor de 2/mg/kg). En determinadas modalidades, la frecuencia de dosis es tres veces al día, dos veces al día, una vez al día, una vez cada dos días, una vez por semana, una vez cada dos semanas, una vez cada

10 cuatro semanas, una vez cada cinco semanas, una vez cada seis semanas, una vez cada siete semanas, una vez cada ocho semanas, una vez cada nueve semanas, una vez cada diez semanas o una vez al mes, una vez cada dos meses, una vez cada tres meses o más. Es posible controlar la evolución de la terapia mediante ensayos y técnicas convencionales. El esquema de administración, que incluye el anticuerpo anti-CD33 administrado, puede

15 variar en el transcurso del tiempo independientemente de la dosis utilizada. Es posible determinar de forma empírica las dosis para un anticuerpo anti-CD33 particular en individuos que recibieron una o más administraciones del anticuerpo anti-CD33. Los individuos reciben dosis crecientes de un anticuerpo anti-CD33. Para evaluar la eficacia de un anticuerpo anti-CD33, es posible monitorear un síntoma clínico de cualquiera de las

20 enfermedades, trastornos o afecciones de la presente descripción (por ejemplo, demencia frontotemporal, enfermedad de Alzheimer, demencia vascular, convulsiones, distrofia de retina, lesión encefálica traumática, daño de la médula espinal, depresión a largo plazo, enfermedades vasculares ateroscleróticas y síntomas no deseados de envejecimiento normal).

25 La administración de un anticuerpo anti-CD33 de la presente descripción puede ser continua o intermitente, por ejemplo, en función de la condición fisiológica del receptor, de si el fin de la administración es terapéutico o profiláctico, y otros factores conocidos por los expertos en la técnica. La administración de un anticuerpo anti-CD33 puede ser esencialmente continua durante un período de tiempo preseleccionado o puede producirse en una serie de dosis

30 separadas. Se puede encontrar información de referencia respecto a dosis particulares y métodos de administración en la bibliografía, por ejemplo, en las patentes estadounidenses n.º 4 657 760, 5 206 344 o 5 225 212. El alcance de la presente descripción comprende que formulaciones diferentes serán eficaces para tratamientos diferentes y trastornos diferentes,

35 y que la administración deseada para tratar un órgano o tejido específico puede requerir la administración en una forma diferente a aquella para otro órgano o tejido. Asimismo, las dosis se pueden administrar mediante una o más administraciones separadas, o mediante

infusión continua. Para administraciones repetidas durante varios días o más, según la afección, el tratamiento se mantiene hasta que se produce la supresión deseada de los síntomas de la enfermedad. Sin embargo, pueden ser útiles otros esquemas de administración. El progreso de esta terapia se controla fácilmente mediante técnicas y ensayos convencionales.

Usos terapéuticos

Tal como se describe en la presente, los anticuerpos anti-CD33 de la presente descripción pueden ser útiles para prevenir, reducir el riesgo o tratar diversas enfermedades y trastornos.

- 10 Los anticuerpos anti-CD33 de la presente descripción pueden utilizarse para prevenir, reducir el riesgo o tratar la demencia, demencia frontotemporal, enfermedad de Alzheimer, demencia vascular, demencia mixta, enfermedad de Creutzfeldt-Jakob, hidrocefalia normotensiva, esclerosis lateral amiotrófica, corea de Huntington, tauopatía, enfermedad de Nasu-Hakola, accidente cerebrovascular, traumatismo agudo, traumatismo crónico, lupus,
- 15 colitis aguda y crónica, artritis reumatoide, cicatrización de heridas, enfermedad de Crohn, enfermedad intestinal inflamatoria, colitis ulcerosa, obesidad, malaria, temblor hereditario, lupus del sistema nervioso central, enfermedad de Behcet, enfermedad de Parkinson, demencia con cuerpos de Lewy, atrofia multisistémica, síndrome de Shy-Drager, parálisis supranuclear progresiva, degeneración ganglionar corticobasal, encefalomiелitis aguda
- 20 diseminada, trastornos granulomatosos, sarcoidosis, enfermedades relacionadas con el envejecimiento, convulsiones, lesión de la médula espinal, lesión encefálica traumática, degeneración macular relacionada con la edad, glaucoma, retinitis pigmentaria, degeneración de la retina, infección de las vías respiratorias, sepsis, infección ocular, infección sistémica, lupus, artritis, esclerosis múltiple, baja densidad ósea, osteoporosis,
- 25 osteogénesis, osteopetrosis, enfermedad de Paget de los huesos y cáncer, que incluye cáncer de vejiga, cáncer encefálico, cáncer de mama, cáncer de colon, cáncer de recto, cáncer de endometrio, cáncer de riñón, cáncer de células renales, cáncer de pelvis renal, leucemia, carcinoma broncopulmonar, melanoma, linfoma no hodgkiniano, cáncer de páncreas, cáncer de próstata, cáncer de ovario, fibrosarcoma, leucemia linfoblástica aguda
- 30 (ALL), leucemia linfocítica aguda (ALL), leucemia linfocítica crónica (CLL), leucemia mieloide crónica (CML), mieloma múltiple, policitemia vera, trombocitosis esencial, mielofibrosis primaria o idiopática, mielosclerosis primaria o idiopática, tumores derivados de células mieloides, tumores que expresan CD33, cáncer de tiroides, infecciones, herpes del SNC, infecciones parasitarias, infección con tripanosomas, infección por *Cruzi*, infección por
- 35 *Pseudomonas aeruginosa*, infección por *Leishmania donovani*, infección por *Streptococcus* grupo B, infección por *Campylobacter jejuni*, infección por *Neisseria meningitidis*, VIH de tipo I y/o *Haemophilus influenzae*. En algunas modalidades, los anticuerpos de CD33 son

anticuerpos agonistas. En algunas modalidades, los anticuerpos son anticuerpos inertes. En algunas modalidades, los anticuerpos son anticuerpos antagonistas.

En algunas modalidades, la presente descripción proporciona métodos para prevenir,

- 5 reducir el riesgo o tratar la demencia, demencia frontotemporal, enfermedad de Alzheimer, demencia vascular, demencia mixta, enfermedad de Creutzfeldt-Jakob, hidrocefalia normotensiva, esclerosis lateral amiotrófica, corea de Huntington, tauopatía, enfermedad de Nasu-Hakola, accidente cerebrovascular, traumatismo agudo, traumatismo crónico, lupus, colitis aguda y crónica, artritis reumatoide, cicatrización de heridas, enfermedad de Crohn, enfermedad intestinal inflamatoria, colitis ulcerosa, obesidad, malaria, temblor hereditario,
- 10 lupus del sistema nervioso central, enfermedad de Behcet, enfermedad de Parkinson, demencia con cuerpos de Lewy, atrofia multisistémica, síndrome de Shy-Drager, parálisis supranuclear progresiva, degeneración ganglionar corticobasal, encefalomielitis aguda diseminada, trastornos granulomatosos, sarcoidosis, enfermedades relacionadas con el envejecimiento, convulsiones, lesión de la médula espinal, lesión encefálica traumática,
- 15 degeneración macular relacionada con la edad, glaucoma, retinitis pigmentaria, degeneración de retina, infección de las vías respiratorias, sepsis, infección ocular, infección sistémica, lupus, artritis, esclerosis múltiple, baja densidad ósea, osteoporosis, osteogénesis, osteopetrosis, enfermedad de Paget de los huesos, cáncer, cáncer de vejiga, cáncer encefálico, cáncer de mama, cáncer de colon, cáncer de recto, cáncer de
- 20 endometrio, cáncer de riñón, cáncer de células renales, cáncer de pelvis renal, leucemia, carcinoma broncopulmonar, melanoma, linfoma no hodgkiniano, cáncer de páncreas, cáncer de próstata, cáncer de ovario, fibrosarcoma, leucemia linfoblástica aguda (ALL), leucemia linfocítica crónica (CLL), leucemia mieloide crónica (CML), mieloma múltiple, policitemia vera, trombocitosis esencial, mielofibrosis primaria o idiopática,
- 25 mieloesclerosis primaria o idiopática, tumores derivados de células mieloides, tumores que expresan CD33, cáncer de tiroides, infecciones, herpes del SNC, infecciones parasitarias, infección con tripanosomas, infección por Cruzi, infección con *Pseudomonas aeruginosa*, infección con *Leishmania donovani*, infección con *Streptococcus* grupo B, infección con *Campylobacter jejuni*, infección con *Neisseria meningitidis*, VIH de tipo I y/o Haemophilus
- 30 influenzae, al administrar un individuo que lo necesite una cantidad con eficacia terapéutica de un anticuerpo de la presente descripción que disminuya el nivel celular de CD33, inhiba la interacción entre CD33 y uno o más ligandos de CD33, o ambos.

En algunas modalidades, la presente descripción proporciona métodos para prevenir,

- 35 reducir el riesgo o tratar el cáncer, al administrar a un individuo que lo necesite una cantidad con eficacia terapéutica de un anticuerpo de la presente descripción que disminuya el nivel celular de CD33, inhiba la interacción entre CD33 y uno o más ligandos de CD33, o ambos.
- En algunas modalidades, el anticuerpo inhibe una o más actividades que se seleccionan de

CD33: (a) promoción de la proliferación, maduración, migración, diferenciación y/o funcionalidad de uno o más de células dendríticas inmunosupresoras, macrófagos inmunosupresores, neutrófilos inmunosupresores, células supresoras mieloides no tumorigénicas, macrófagos asociados con tumores, células mieloides CD14⁺ no tumorigénicas y linfocitos T reguladores; (b) potenciación de la infiltración de uno o más de células dendríticas inmunosupresoras, macrófagos inmunosupresores, neutrófilos inmunosupresores, células supresoras mieloides no tumorigénicas, macrófagos asociados con tumores y linfocitos T reguladores en tumores; (c) aumento de la cantidad de células inmunosupresoras mieloides/granulocíticas que promueven tumores y/o células mieloides CD14⁺ no tumorigénicas en un tumor, en sangre periférica u otro órgano linfóide; (d) disminución de la activación de linfocitos T específicos para tumores con potencial de eliminación de tumores; (e) disminución de la infiltración de linfocitos T específicos para tumores con potencial de eliminación de tumores; (f) aumento del volumen tumoral; (g) aumento de la velocidad de crecimiento tumoral; (h) aumento de la metástasis; (i) aumento de la tasa de recurrencia tumoral; (j) aumento de la expresión de uno o más ligandos de PD-1; (k) disminución de la eficacia de una o más inmunoterapias que modulan las respuestas de linfocitos T antitumorales, opcionalmente en donde la una o más inmunoterapias son terapias inmunitarias que se dirigen a una o más proteínas que se seleccionan del grupo que consiste en CD40, OX40, ICOS, CD28, CD137/4-1BB, CD27, GITR, PD-L1, CTLA4, PD-L2, PD-1, B7-H3, B7-H4, HVEM, LIGHT, BTLA, CD38, TIGIT, VISTA, KIR, GAL9, TIM1, TIM3, TIM4, A2AR, LAG3, DR5, CD39, CD70, CD73, TREM1, TREM2, Siglec-5, Siglec-7, Siglec-9, Siglec-11, SirpA, CD47, receptor de CSF-1 y cualquier combinación de estos, o de una o más vacunas contra el cáncer; y (l) disminución de la eficacia de uno o más quimioterápicos, opcionalmente en donde el uno o más quimioterápicos son gemcitabina, capecitabina, antraciclinas, doxorubicina (Adriamycin®), epirubicina (Ellence®), taxanos, paclitaxel (Taxol®), docetaxel (Taxotere®), 5-fluorouracilo (5-FU), ciclofosfamida (Cytosan®), carboplatino (Paraplatin®), oxaliplatino (Elotaxin®), leucovorina, temozolmida (Temodar®) y cualquier combinación de estos. En algunas modalidades, el anticuerpo presenta una o más actividades que se seleccionan de: (a) aumento de la cantidad de linfocitos T CD3⁺ infiltrantes de tumores; (b) disminución del nivel celular de CD33 en células mieloides CD14⁺ no tumorigénicas, opcionalmente en donde las células mieloides CD14⁺ no tumorigénicas son células infiltrantes de tumores u opcionalmente en donde las células mieloides CD14⁺ no tumorigénicas están presentes en la sangre; (c) reducción de la cantidad de células mieloides CD14⁺, opcionalmente en donde las células mieloides CD14⁺ no tumorigénicas son células infiltrantes de tumores u, opcionalmente, en donde las células mieloides CD14⁺ no tumorigénicas están presentes en la sangre; (d) reducción del nivel de PD-L1 en una o más células, opcionalmente en donde la una o más células son células supresoras mieloides

- (MDSC) no tumorigénicas; (e) disminución de la velocidad de crecimiento tumoral de tumores sólidos; (f) reducción del volumen tumoral; (g) aumento de la eficacia de uno o más inhibidores de PD-1; (h) aumento de la eficacia de una o más terapias inhibitoras del punto de control y/o terapias inmunomoduladoras, opcionalmente en donde la una o más terapias inhibitoras del punto de control y/o terapias inmunomoduladoras se dirigen a uno o más de CTL4, la vía de adenosina, PD-L1, PD-L2, OX40, TIM3, LAG3, o cualquier combinación de estos; (i) aumento de la eficacia de uno o más quimioterápicos, opcionalmente en donde el uno o más quimioterápicos son gemcitabina, capecitabina, antraciclinas, doxorubicina (Adriamycin®), epirubicina (Ellence®), taxanos, paclitaxel (Taxol®), docetaxel (Taxotere®), 5-fluorouracilo (5-FU), ciclofosfamida (Cytosan®), carboplatino (Paraplatin®), oxaliplatino (Eloxatin®), leucovorina, temozolmida (Temodar®) y cualquier combinación de estos; y (j) eliminación de células mieloides inmunosupresoras que expresan CD33 y/o células que expresan CD14 en tumores sólidos y vasos sanguíneos asociados cuando se conjugan a un químico o toxina radiactiva.
- 15 Tal como se describe en la presente, los anticuerpos anti-CD33 de la presente descripción también pueden utilizarse para inducir y/o promover la supervivencia, maduración, funcionalidad, migración o proliferación de una o más células inmunitarias (por ejemplo, células inmunitarias innatas o células inmunitarias adaptativas). En algunas modalidades, la presente descripción proporciona métodos para inducir o promover la supervivencia, maduración, funcionalidad, migración o proliferación de una o más células inmunitarias en un individuo que lo necesite, al administrar al individuo una cantidad con eficacia terapéutica de un anticuerpo de la presente descripción que disminuya el nivel celular de CD33, inhiba la interacción entre CD33 y uno o más ligandos de CD33, o ambos. En algunas modalidades, la una o más células inmunitarias se seleccionan de células dendríticas, macrófagos, microglía, neutrófilos, linfocitos T, linfocitos T cooperadores, linfocitos T citotóxicos y cualquier combinación de estos.
- 25 En algunas modalidades, el anticuerpo es un anticuerpo anti-CD33 agonista. En algunas modalidades, el anticuerpo es un anticuerpo anti-CD33 agonista transitorio de la presente descripción que inicialmente actúa como un agonista y después actúa como un anticuerpo antagonista a largo plazo. En algunas modalidades, el anticuerpo es un anticuerpo anti-CD33 inerte. En algunas modalidades, el anticuerpo es un anticuerpo anti-CD33 antagonista. En algunas modalidades, el anticuerpo anti-CD33 reduce el nivel celular (por ejemplo, de la superficie celular, intracelulares o totales) de CD33. En algunas modalidades, el anticuerpo anti-CD33 induce la degradación de CD33. En algunas modalidades, el anticuerpo anti-CD33 induce la escisión de CD33. En algunas modalidades, el anticuerpo anti-CD33 induce la internalización de CD33. En algunas modalidades, el anticuerpo anti-CD33 induce la liberación de CD33. En algunas modalidades, el anticuerpo anti-CD33

induce la regulación por disminución de la expresión de CD33. En algunas modalidades, el anticuerpo anti-CD33 inhibe la interacción (por ejemplo, unión) entre CD33 y uno o más ligandos de CD33. En algunas modalidades, el anticuerpo anti-CD33 se activa de forma transitoria y luego induce la degradación de CD33. En algunas modalidades, el anticuerpo anti-CD33 se activa de forma transitoria y después induce la escisión de CD33. En algunas modalidades, el anticuerpo anti-CD33 se activa de forma transitoria y luego induce la internalización de CD33. En algunas modalidades, el anticuerpo anti-CD33 se activa de forma transitoria y luego induce la liberación de CD33. En algunas modalidades, el anticuerpo anti-CD33 activa de forma transitoria y después induce la regulación por disminución de la expresión de CD33. En algunas modalidades, el anticuerpo anti-CD33 activa de forma transitoria y luego induce una expresión menor de CD33. En determinadas modalidades, el individuo tiene un alelo variante de CD33 que tiene un único polimorfismo de nucleótido (SNP) *rs3865444* CC o AC. En determinadas modalidades, el individuo tiene un alelo variante de CD33 que tiene un único polimorfismo de nucleótido (SNP) 2459419 CC o CT.

Tal como se describe en la presente, los anticuerpos anti-CD33 de la presente descripción pueden utilizarse además en la disminución de la actividad, funcionalidad o supervivencia de linfocitos T reguladores, células dendríticas inmunosupresoras incrustadas en tumores, macrófagos inmunosupresores incrustados en tumores, células supresoras mieloides, macrófagos asociados con tumores, células de leucemia mieloide aguda (AML), células de leucemia linfocítica crónica (CLL) y/o células de leucemia mieloide crónica (CML). En algunas modalidades, la presente descripción proporciona métodos para disminuir la actividad, funcionalidad o supervivencia de linfocitos T reguladores, células dendríticas inmunosupresoras incrustadas en tumores, macrófagos inmunosupresores incrustados en tumores, células supresoras mieloides, macrófagos asociados con tumores, células de leucemia mieloide aguda (AML), células de leucemia linfocítica crónica (CLL) o células de leucemia mieloide crónica (CML) en un individuo que lo necesite, al administrar al individuo una cantidad con eficacia terapéutica de un anticuerpo que se une o interactúa con CD33. En algunas modalidades, el anticuerpo se selecciona de un anticuerpo antagonista, un anticuerpo inerte o un anticuerpo agonista. En algunas modalidades, el anticuerpo es un anticuerpo anti-CD33 aislado o un conjugado de anticuerpo anti-CD33 de la presente descripción. En algunas modalidades, el conjugado de anticuerpo anti-CD33 comprende un anticuerpo anti-CD33 conjugado a un marcador detectable, una toxina o un medicamento. Tal como se describe en la presente, los anticuerpos anti-CD33 de la presente descripción pueden utilizarse para disminuir el nivel celular de CD33, inhibir la interacción entre CD33 y uno o más ligandos de CD33, o ambos, en una o más células *in vitro* o *in vivo*. En algunas modalidades, la presente descripción proporciona métodos para disminuir el nivel celular de

CD33, inhibir la interacción entre CD33 y uno o más ligandos de CD33, o ambos, en una o más células de un individuo que lo necesite, al administrar al individuo una cantidad con eficacia terapéutica de un anticuerpo anti-CD33 aislado de la presente descripción. En algunas modalidades, el anticuerpo anti-CD33 reduce el nivel celular de CD33 *in vivo*.

- 5 Tal como se describe en la presente, los anticuerpos anti-CD33 de la presente descripción pueden utilizarse para disminuir el nivel celular de CD33 en una o más células, que incluyen, de modo no taxativo, células dendríticas, células dendríticas derivadas de la médula ósea, monocitos, microglía, linfocitos T y macrófagos y/o estirpes celulares. En algunas modalidades, la presente descripción proporciona métodos para disminuir el nivel celular de
- 10 CD33 en una o más células de un individuo que lo necesite, al administrar al individuo una cantidad con eficacia terapéutica de un anticuerpo anti-CD33 de la presente descripción. En algunas modalidades, la una o más células se seleccionan de células dendríticas, células dendríticas derivadas de la médula ósea, monocitos, microglía, linfocitos T y macrófagos, y cualquier combinación de estas. En algunas modalidades, el anticuerpo anti-CD33 reduce
- 15 el nivel celular de CD33 *in vivo*. El nivel celular de CD33 puede hacer referencia, de modo no taxativo, al nivel de CD33 en la superficie celular, al nivel intracelular de CD33 y al nivel total de CD33. En algunas modalidades, una reducción del nivel celular de CD33 comprende una reducción del nivel de CD33 en la superficie celular. Tal como se usa en la presente, el nivel en superficie celular de CD33 se puede medir con cualquier ensayo celular
- 20 *in vitro* o modelo *in vivo* adecuado descrito en la presente o conocido en la técnica. En algunas modalidades, una reducción del nivel celular de CD33 comprende una reducción del nivel celular de CD33. Tal como se usa en la presente, el nivel intracelular de CD33 se puede medir con cualquier ensayo celular *in vitro* o modelo *in vivo* adecuado descrito en la presente o conocido en la técnica. En algunas modalidades, una reducción del nivel celular
- 25 de CD33 comprende una reducción del nivel total de CD33. Tal como se usa en la presente, el nivel total de CD33 se puede medir con cualquier ensayo celular *in vitro* o modelo *in vivo* adecuado descrito en la presente o conocido en la técnica. En algunas modalidades, los anticuerpos anti-CD33 inducen la degradación de CD33, la escisión de CD33, la internalización de CD33, la liberación de CD33 y/o la regulación por disminución de la
- 30 expresión de CD33. En algunas modalidades, el nivel celular de CD33 se mide en células primarias (por ejemplo, células dendríticas, células dendríticas derivadas de médula ósea, monocitos, microglía, linfocitos T y macrófagos) o en estirpes celulares que utilizan un ensayo celular *in vitro*.

- Otros aspectos de la presente descripción hacen referencia a un método para seleccionar
- 35 un sujeto que lo necesite para el tratamiento con un anticuerpo anti-CD33, donde el método comprende: a. obtener una muestra (por ejemplo, muestra de sangre) del sujeto; b. detectar los alelos de CD33 presentes en el sujeto; y c. seleccionar al sujeto para tratamiento con el

anticuerpo que se une o interactúa con CD33 si el sujeto tiene uno o más alelos de CD33, en donde el uno o más alelos de CD33 se seleccionan del grupo que consiste en *rs3865444*^{AC} y *rs3865444*^{CC}. Otros aspectos de la presente descripción hacen referencia a un método para evaluar la respuesta de un sujeto que lo necesite a un anticuerpo que se

5 une o interactúa con CD33, donde el método comprende: a. medir el nivel de expresión de CD45⁺ y CD14⁺ en células mieloides no tumorigénicas en una muestra de sangre obtenida del sujeto antes de administrarle al sujeto un anticuerpo anti-CD33; b. administrar al sujeto una cantidad con eficacia terapéutica del anticuerpo; y c. medir el nivel de expresión de CD45⁺ y CD14⁺ en células mieloides no tumorigénicas en una muestra de sangre obtenida

10 del sujeto después de la administración del anticuerpo anti-CD33, en donde una reducción del nivel de CD45⁺ CD14⁺ en células mieloides no tumorigénicas después de la administración del anticuerpo anti-CD33 indica que el sujeto responde a la sustancia. Puede utilizarse cualquier método adecuado para obtener una muestra, tal como una muestra de sangre. Además, cabe destacar que puede utilizarse cualquier método conocido para

15 detectar variantes y/o alelos de CD33, tal como análisis de SNP. En algunas modalidades, el método para evaluar la receptividad comprende además administrar una o más cantidades con eficacia terapéutica del anticuerpo. En algunas modalidades, el sujeto es un ser humano.

En algunas modalidades, el individuo tiene una variante de CD33. En algunas modalidades,

20 la variante incluye, de modo no taxativo, uno o más polimorfismos que se seleccionan de: (a) SNP *rs3865444*^{AC}; (b) SNP *rs3865444*^{CC}; (c) SNP *rs35112940*^{GG, AA, AG}; y (d) SNP *rs12459419*^{CC, CT o TT}; y cualquier combinación de estos.

En algunas modalidades, los métodos de la presente descripción pueden implicar además la coadministración de anticuerpos anti-CD33 o anticuerpos anti-CD33 biespecíficos, con

25 anticuerpos que se unen a receptores de reconocimiento de patrones, anticuerpos que se unen a receptores tipo Toll, anticuerpos que se unen a receptores de patrones moleculares asociados a daños (DAMP) y/o anticuerpos que se unen a citocina o anticuerpos contra interleucinas.

En algunas modalidades, los métodos de la presente descripción pueden incluir además

30 administrar al individuo al menos un anticuerpo que se une específicamente a una molécula inhibidora del punto de control y/o una o más terapias contra el cáncer habituales o en investigación. En algunas modalidades, el al menos un anticuerpo que se une específicamente a una molécula inhibidora del punto de control se administra junto con el anticuerpo anti-CD33. En algunas modalidades, el al menos un anticuerpo que se une

35 específicamente a una molécula inhibidora del punto de control se selecciona de un anticuerpo anti-PD-L1, un anticuerpo anti-CTLA4, un anticuerpo anti-PD-L2, un anticuerpo anti-PD-1, un anticuerpo anti-B7-H3, un anticuerpo anti-B7-H4 y un anticuerpo anti-HVEM,

un anticuerpo atenuador de linfocitos B y T (BTLA), un anticuerpo anti-receptor inhibidor de linfocitos citolíticos (KIR), un anticuerpo anti-GAL9, un anticuerpo anti-TIM3, un anticuerpo anti-A2AR, un anticuerpo anti-LAG-3, un anticuerpo antifosfatidilserina, un anticuerpo anti-CD27, un anticuerpo anti-TNF α , un anticuerpo anti-Siglec-5, un anticuerpo anti-Siglec-7, un anticuerpo anti-Siglec-9, un anticuerpo anti-Siglec-11, un anticuerpo anti-TREM1 antagonista, un anticuerpo anti-TREM2 antagonista y cualquier combinación de estos. En algunas modalidades, las terapias contra el cáncer habituales o en investigación se seleccionan de radioterapia, quimioterapia citotóxica, terapia dirigida, terapia con imatinib, terapia con trastuzumab, terapia con etanercept, terapia de transferencia de células adoptivas (ACT), terapia de transferencia de linfocitos T del receptor de antígenos quiméricos (CAR-T), terapia con vacunas y terapia con citocinas.

En algunas modalidades, los métodos de la presente descripción pueden incluir además administrar al individuo al menos un anticuerpo que se une específicamente a una citocina inhibidora. En algunas modalidades, el al menos un anticuerpo que se une específicamente a una citocina inhibidora se administra junto con el anticuerpo anti-CD33. En algunas modalidades, el al menos un anticuerpo que se une específicamente a una citocina inhibidora se selecciona de un anticuerpo anti-CCL2, un anticuerpo anti-CSF-1, un anticuerpo anti-IL-2 y cualquier combinación de estos.

En algunas modalidades, los métodos de la presente descripción pueden incluir además administrar al individuo al menos un anticuerpo agonista que se une específicamente a una proteína estimuladora del punto de control. En algunas modalidades, el al menos un anticuerpo agonista que se une específicamente a una proteína estimuladora del punto de control se administra junto con el anticuerpo anti-CD33. En algunas modalidades, el al menos un anticuerpo agonista que se une específicamente a una proteína estimuladora del punto de control se selecciona de un anticuerpo agonista anti-CD40, un anticuerpo agonista anti-OX40, un anticuerpo agonista anti-ICOS, un anticuerpo agonista anti-CD28, un anticuerpo agonista anti-TREM1, un anticuerpo agonista anti-TREM2, un anticuerpo agonista anti-CD137/4-1BB, un anticuerpo agonista anti-CD27, un anticuerpo anti-proteína relacionada con TNFR inducida por glucocorticoides GITR y cualquier combinación de estos.

En algunas modalidades, los métodos de la presente descripción pueden incluir además administrar al individuo al menos una citocina estimuladora. En algunas modalidades, la al menos una citocina estimuladora se administra junto con el anticuerpo anti-CD33. En algunas modalidades, la al menos una citocina estimuladora se selecciona de IFN- α 4, IFN- β , IL-1 β , TNF- α , IL-6, IL-8, CRP, integrantes de la familia IL-20, LIF, IFN-gamma, OSM, CNTF, GM-CSF, IL-11, IL-12, IL-17, IL-18, IL-23, CXCL10, IL-33, CRP, IL-33, MCP-1, MIP-1-beta, y cualquier combinación de estos.

En algunas modalidades, un sujeto o individuo es un mamífero. Los mamíferos incluyen, de

modo no taxativo, animales domesticados (por ejemplo, vacas, ovejas, gatos, perros y caballos), primates (por ejemplo, seres humanos y primates no humanos, como monos), conejos y roedores (por ejemplo, ratones y ratas). En algunas modalidades, el sujeto o individuo es un ser humano.

5 *Demencia*

La demencia es un síndrome no específico (es decir, un conjunto de signos y síntomas) que se presenta como una pérdida grave de la capacidad cognitiva global en una persona previamente no afectada, más allá de lo que se podría esperar del envejecimiento usual. La demencia puede ser estática como resultado de una lesión cerebral global única.

- 10 Alternativamente, la demencia puede ser progresiva, lo que resulta en una disminución a largo plazo debido a daños o enfermedades en el cuerpo. Si bien la demencia es mucho más común en la población geriátrica, también puede ocurrir antes de los 65 años. Las áreas cognitivas afectadas por la demencia incluyen, entre otras, la memoria, la capacidad de atención, el lenguaje y la resolución de problemas. En general, los síntomas deben estar
- 15 presentes durante al menos seis meses antes de que se diagnostique demencia a una persona.

Las formas ejemplares de demencia incluyen, de modo no taxativo, demencia frontotemporal, enfermedad de Alzheimer, demencia vascular, demencia semántica y demencia con cuerpos de Lewy.

- 20 En algunas modalidades, la administración de un anticuerpo anti-CD33 de la presente descripción puede prevenir, reducir el riesgo y/o tratar la demencia. En algunas modalidades, un anticuerpo anti-CD33 puede modular una o más actividades de CD33 en un individuo que padece demencia.

Demencia frontotemporal

- 25 La demencia frontotemporal (FTD) es una afección resultante del deterioro progresivo del lóbulo frontal del cerebro. Con el tiempo, la degeneración puede avanzar al lóbulo temporal. En segundo lugar solo después de la enfermedad de Alzheimer (EA) en prevalencia, la FTD representa el 20 % de los casos de demencia presenil. Los rasgos clínicos de la FTD incluyen deficiencia de memoria, anomalías de comportamiento, cambios en la personalidad
- 30 e impedimentos en el lenguaje (Cruts, M. & Van Broeckhoven, C., Trends Genet. 24:186-194 (2008); Neary, D., et ál., Neurology 51:1546-1554 (1998); Ratnavalli, E., Brayne, C., Dawson, K. & Hodges, J. R., Neurology 58:1615-1621 (2002)).

- Una parte considerable de los casos de FTD se hereda de forma autosómica dominante, pero incluso en una familia, los síntomas pueden abarcar un espectro que va desde FTD
- 35 con alteraciones del comportamiento, afasia progresiva primaria y degeneración ganglionar cortico-basal. La FTD, como la mayoría de las enfermedades neurodegenerativas, se puede caracterizar por la presencia patológica de agregados proteicos específicos en el cerebro

enfermo. Históricamente, las primeras descripciones de FTD reconocieron la presencia de acumulaciones intraneuronales de proteína Tau hiperfosforilada en ovillos neurofibrilares o cuerpos de Pick. Un papel causal para la proteína Tau asociada a microtúbulos fue respaldado por la identificación de mutaciones en el gen que codifica la proteína Tau en varias familias (Hutton, M., et ál., Nature 393:702-705 (1998). Sin embargo, la mayoría de los cerebros FTD no muestran acumulación de Tau hiperfosforilada pero sí muestran inmunorreactividad a la ubiquitina (Ub) y la proteína de unión al ADN TAR (TDP43) (Neumann, M., et ál., Arch. Neurol. 64:1388-1394 (2007)). Se demostró que la mayoría de los casos de FTD con inclusiones de Ub (FTD-U) portaban mutaciones en el gen de programulina.

En algunas modalidades, la administración de un anticuerpo anti-CD33 de la presente descripción puede prevenir, reducir el riesgo y/o tratar la FTD. En algunas modalidades, la administración de un anticuerpo anti-CD33 puede modular una o más actividades de CD33 en un individuo que padece FTD.

15 *Enfermedad de Alzheimer*

La enfermedad de Alzheimer (EA) es la forma más común de demencia. No existe cura para la enfermedad, que empeora a medida que avanza y, finalmente, conduce a la muerte. Con mayor frecuencia, la EA se diagnostica en personas mayores de 65 años. Sin embargo, la enfermedad de Alzheimer de inicio temprano menos prevalente puede ocurrir mucho antes.

20 Los síntomas comunes de la enfermedad de Alzheimer incluyen síntomas de comportamiento, como dificultad para recordar eventos recientes; síntomas cognitivos, confusión, irritabilidad y agresión, cambios de humor, problemas con el lenguaje y pérdida de la memoria a largo plazo. A medida que avanza la enfermedad, se pierden funciones corporales, lo que finalmente conduce a la muerte. La enfermedad de Alzheimer se desarrolla durante un período de tiempo variable y desconocido antes de volverse completamente aparente, y puede progresar sin ser diagnosticada durante años.

25 En algunas modalidades, la administración de un anticuerpo anti-CD33 de la presente descripción puede prevenir, reducir el riesgo y/o tratar la enfermedad de Alzheimer. En algunas modalidades, la administración de un anticuerpo anti-CD33 puede modular una o más actividades de CD33 en un individuo que padece enfermedad de Alzheimer.

30 *Enfermedad de Parkinson*

La enfermedad de Parkinson, que puede denominarse parkinsonismo idiopático o primario, síndrome rígido hipocinético (SHR) o parálisis agitante, es un trastorno cerebral neurodegenerativo que afecta el control del sistema motor. La muerte progresiva de células que producen dopamina en el cerebro lleva a los síntomas principales de la enfermedad de Parkinson. En la mayoría de los casos, la enfermedad de Parkinson se diagnostica en individuos de más de 50 años de edad. La enfermedad de Parkinson es idiopática (sin causa

conocida) en la mayoría de las personas. Sin embargo, los factores genéticos también influyen en la enfermedad.

Los síntomas de la enfermedad de Parkinson incluyen, de modo no taxativo, temblores de manos, brazos, piernas, mandíbula y cara, rigidez muscular en las extremidades y el tronco, lentitud de movimientos (bradicinesia), inestabilidad postural, dificultad para caminar, problemas neuropsiquiátricos, cambios en el habla o comportamiento, depresión, ansiedad, dolor, psicosis, demencia, alucinaciones y problemas para dormir.

En algunas modalidades, la administración de un anticuerpo anti-CD33 de la presente descripción puede prevenir, reducir el riesgo y/o tratar la enfermedad de Parkinson. En algunas modalidades, la administración de un anticuerpo anti-CD33 puede modular una o más actividades de CD33 en un individuo que padece enfermedad de Parkinson.

Esclerosis lateral amiotrófica (ELA)

Como se usa en este documento, esclerosis lateral amiotrófica (ELA) o enfermedad de la neurona motora o enfermedad de Lou Gehrig se usan indistintamente y se refieren a una enfermedad debilitante con etiología variada caracterizada por debilidad rápidamente progresiva, atrofia muscular y fasciculaciones, espasticidad muscular, dificultad para hablar (disartria), dificultad para tragar (disfagia) y dificultad para respirar (disnea).

Se ha demostrado que la progranulina desempeña una función en la ELA (Schymick, JC et ál., (2007) J Neurol Neurosurg Psychiatry; 78:754-6) y protege contra el daño provocado por proteínas que causan ELA, tales como TDP-43 (Laird, AS et ál., (2010). PLoS ONE 5: e13368). También se demostró que pro-NGF induce la muerte de oligodendrocitos y neuronas corticoespinales mediada por p75 luego de una lesión de médula espinal (Beatty et ál., Neuron (2002),36, págs. 375-386; Giehl et ál, Proc. Natl. Acad. Sci USA (2004), 101, pág. 6226-30).

En algunas modalidades, la administración de un anticuerpo anti-CD33 de la presente descripción puede prevenir, reducir el riesgo y/o tratar la ELA. En algunas modalidades, la administración de un anticuerpo anti-CD33 puede modular una o más actividades de CD33 en un individuo que padece esclerosis lateral amiotrófica.

Corea de Huntington

La corea de Huntington (EH) es una enfermedad neurodegenerativa hereditaria causada por una mutación autosómica dominante en el gen de la huntingtina (HTT). La expansión de una repetición del triplete de citocina-adenina-guanina (CAG) dentro del gen de huntingtina da como resultado la producción de una forma mutante de la proteína huntingtina (Htt) codificada por el gen. Esta proteína huntingtina mutante (mHtt) es tóxica y contribuye a la muerte neuronal. Los síntomas de la corea de Huntington aparecen con mayor frecuencia entre los 35 y los 44 años, aunque pueden aparecer a cualquier edad.

Los síntomas de corea de Huntington incluyen, de modo no taxativo, problemas de control

motor, espasmos, movimientos aleatorios (corea), movimientos oculares anormales, deterioro del equilibrio, convulsiones, dificultad para masticar, dificultad para tragar, problemas cognitivos, alteración del habla, déficit de memoria, dificultades para pensar, insomnio, fatiga, demencia, cambios en la personalidad, depresión, ansiedad y

5 comportamiento compulsivo.

En algunas modalidades, la administración de un anticuerpo anti-CD33 de la presente descripción puede prevenir, reducir el riesgo y/o tratar la corea de Huntington (HD). En algunas modalidades, la administración de un anticuerpo anti-CD33 puede modular una o más actividades de CD33 en un individuo que padece corea de Huntington.

10 *Tauopatía*

Las enfermedades de tauopatía, o tauopatías, son una clase de enfermedad neurodegenerativa causada por la acumulación de la proteína tau asociada a los microtúbulos dentro del cerebro. La enfermedad de Alzheimer (EA) es la tauopatía más conocida e implica una acumulación de proteína tau dentro de las neuronas en forma de

15 ovillos neurofibrilares insolubles (NFT). Otras tauopatías incluyen parálisis supranuclear progresiva, demencia pugilística (encefalopatía traumática crónica), demencia frontotemporal y parkinsonismo vinculado al cromosoma 17, enfermedad de Lytico-Bodig (complejo de demencia y Parkinson de Guam), demencia predominante de ovillos, ganglioglioma y gangliocitoma, meningioangiomas, panencefalitis esclerosante

20 subaguda, encefalopatía principal, esclerosis tuberosa, enfermedad de Hallervorden-Spatz, lipofuscinosis, enfermedad de Pick, degeneración corticobasal, argirofilia granulosa (AGD), corea de Huntington y degeneración lobular frontotemporal.

En algunas modalidades, la administración de un anticuerpo anti-CD33 de la presente descripción puede prevenir, reducir el riesgo y/o tratar la tauopatía. En algunas modalidades,

25 la administración de un anticuerpo anti-CD33 puede modular una o más actividades de CD33 en un individuo que padece una tauopatía.

Esclerosis múltiple

La esclerosis múltiple (EM) también puede denominarse esclerosis diseminada o encefalomiелitis diseminada. La EM es una enfermedad inflamatoria en la que se dañan las

30 vainas grasas de mielina alrededor de los axones del cerebro y la médula espinal, lo que provoca desmielinización y cicatrización, así como un amplio espectro de signos y síntomas.

La EM afecta la capacidad de las células nerviosas del cerebro y la médula espinal para comunicarse entre sí de manera eficaz. Las células nerviosas se comunican enviando señales eléctricas llamadas potenciales de acción por fibras largas llamadas axones, que

35 están contenidas dentro de una sustancia aislante llamada mielina. En la EM, el propio sistema inmunológico del cuerpo ataca y daña la mielina. Cuando se pierde mielina, los axones ya no pueden conducir señales de manera eficaz. El inicio de la EM generalmente

ocurre en adultos jóvenes y es más común en mujeres.

http://en.wikipedia.org/wiki/Multiple_sclerosis - cite_note-pmid18970977-1

Los síntomas de la EM incluyen, de modo no taxativo, cambios en la sensación, como pérdida de sensibilidad u hormigueo; pinchazos o entumecimiento, como hipoestesia y parestesia; debilidad muscular; clonus; espasmos musculares; dificultad para moverse; dificultades con la coordinación y el equilibrio, como ataxia; problemas en el habla, como disartria, o al tragar, como disfagia; problemas visuales, como nistagmo, neuritis óptica que incluye fosfenos y diplopía; fatiga; dolor agudo o crónico; y dificultades de la vejiga y del intestino; deterioro cognitivo de diversos grados; síntomas emocionales de depresión o estado de ánimo inestable; fenómeno de Uhthoff, que es una exacerbación de los síntomas existentes debido a una exposición a temperaturas ambientales más altas de lo habitual; y el signo de Lhermitte, que es una sensación eléctrica que recorre la espalda al doblar el cuello. En algunas modalidades, la administración de un anticuerpo anti-CD33 de la presente descripción puede prevenir, reducir el riesgo y/o tratar la esclerosis múltiple. En algunas modalidades, la administración de un anticuerpo anti-CD33 puede modular una o más actividades de CD33 en un individuo que padece esclerosis múltiple.

Cáncer

Otros aspectos de la presente descripción proporcionan métodos para prevenir, reducir el riesgo o tratar el cáncer, al administrar a un individuo que lo necesite una cantidad con eficacia terapéutica de un anticuerpo anti-CD33 aislado de la presente descripción. Pueden utilizarse en estos métodos cualquiera de los anticuerpos aislados de la presente descripción. En algunas modalidades, el anticuerpo aislado es un anticuerpo agonista de la presente descripción. En otras modalidades, el anticuerpo aislado es un anticuerpo antagonista de la presente descripción. En otras modalidades, el anticuerpo aislado es un anticuerpo inerte de la presente descripción. En otras modalidades, el anticuerpo aislado es un conjugado de anticuerpo de la presente descripción.

Tal como se describe en la presente, se conoce que el microentorno del tumor contiene una infiltración inmunitaria heterogénea, que incluye linfocitos T, macrófagos y células de linaje mieloide/granulocítico. La presencia y actividad de linfocitos T reguladores, células mieloides inmunosupresoras incrustadas en tumores y/o macrófagos M2 en tumores se asocia con un pronóstico deficiente. Por el contrario, la presencia y actividad de linfocitos T citotóxicos es favorable para la terapia contra el cáncer. Se espera que los tratamientos que potencian de forma directa o indirecta de linfocitos T citotóxicos y reducen la cantidad y actividad de las diversas células inmunosupresoras proporcionen beneficios terapéuticos significativos. Un estudio preclínico seminal ha demostrado una sinergia entre fármacos que se dirigen a células inmunosupresoras (por ejemplo, anticuerpos que bloquean CSF1/CSF1R) y anticuerpos que bloquean el punto de control inmunitario que activan linfocitos T citotóxicos,

lo que indica que la manipulación de ambos tipos celulares presenta eficacia en modelos de tumores donde las terapias individuales son poco eficaces (Zhu Y; Cancer Res. 15 de setiembre de 2014; 74(18):5057-69). Por lo tanto, en algunas modalidades, el bloqueo de CD33, que se expresa en células mieloides, subconjunto de linfocitos T y células mieloides asociadas a tumores, puede estimular una respuesta inmunitaria antitumoral favorable, lo que tiene como resultado una respuesta inmunitaria antitumoral terapéutica.

En algunas modalidades, los métodos para prevenir, reducir el riesgo o tratar a un individuo que padece cáncer incluyen además administrar al individuo al menos un anticuerpo que se une específicamente a una molécula inhibidora del punto de control. Los ejemplos de anticuerpos que se unen específicamente a una molécula inhibidora del punto de control incluyen, de modo no taxativo, un anticuerpo anti-PD-L1, un anticuerpo anti-CTLA4, un anticuerpo anti-PD-L2, un anticuerpo anti-PD-1, un anticuerpo anti-B7-H3, un anticuerpo anti-B7-H4 y un anticuerpo anti-HVEM, un anticuerpo anti-BTLA, un anticuerpo anti-GAL9, un anticuerpo anti-TIM3, un anticuerpo anti-A2AR, un anticuerpo anti-LAG-3, un anticuerpo antifosfatidilserina y cualquier combinación de estos. En algunas modalidades, el al menos un anticuerpo que se une específicamente a una molécula inhibidora del punto de control se administra junto un anticuerpo anti-CD33 antagonista de la presente descripción.

En algunas modalidades, un cáncer a prevenir o tratar a través de los métodos de la presente descripción incluye, de modo no taxativo, cáncer de células escamosas (por ejemplo, cáncer de células epiteliales escamosas), carcinoma broncopulmonar que incluye carcinoma microcítico de pulmón, carcinoma broncopulmonar no microcítico, adenocarcinoma del pulmón y carcinoma escamoso del pulmón, cáncer del peritoneo, cáncer hepatocelular, cáncer gástrico o de estómago que incluye cáncer gastrointestinal y cáncer de estroma gastrointestinal, cáncer de páncreas, glioblastoma, cáncer de cuello uterino, cáncer de ovario, cáncer de hígado, cáncer de vejiga, cáncer de las vías urinarias, hepatoma, cáncer de mama, cáncer de colon, cáncer de recto, cáncer colorrectal, carcinoma uterino o del endometrio, carcinoma de las glándulas salivales, cáncer de riñón o renal, cáncer de próstata, cáncer de vulva, cáncer de tiroides, carcinoma hepático, carcinoma anal, carcinoma de pene, melanoma, melanoma de propagación superficial, melanoma lentigo maligno, melanomas lentiginosos acrales, melanomas nodulares, mieloma múltiple y linfoma de linfocitos B; leucemia linfocítica crónica (CLL); leucemia linfoblástica aguda (ALL); leucemia de las células pilosas; leucemia mieloblástica crónica y trastorno linfoproliferativo postrasplante (PTLD), así como la proliferación vascular anómala asociada a facomatosis, edema (tal como el asociado con tumores encefálicos), síndrome de Meigs, cáncer encefálico, así como de vías respiratorias y digestivas altas, y metástasis asociadas. En algunas modalidades, el cáncer es cáncer colorrectal. En algunas modalidades, el cáncer se selecciona de carcinoma broncopulmonar no microcítico, glioblastoma, neuroblastoma,

carcinoma de células renales, cáncer de vejiga, cáncer de ovario, melanoma, carcinoma de mama, cáncer gástrico y carcinoma hepatocelular. En algunas modalidades, el cáncer es carcinoma de mama triple negativo. En algunas modalidades, el cáncer puede ser un cáncer en etapa temprana o un cáncer en etapa tardía. En algunas modalidades, el cáncer puede ser un tumor primario. En algunas modalidades, el cáncer puede ser un tumor metastásico en un segundo sitio derivado de cualquiera de los tipos de cáncer anteriores.

En algunas modalidades, los anticuerpos anti-CD33 de la presente descripción pueden utilizarse para prevenir, reducir el riesgo o tratar el cáncer, lo que incluye, de modo no taxativo, cáncer de vejiga, cáncer de mama, cáncer de colon y rectal, cáncer de endometrio, cáncer de riñón, cáncer de células renales, cáncer de pelvis renal, leucemia, carcinoma broncopulmonar, melanoma, linfoma no hodgkiniano, cáncer de páncreas, cáncer de próstata, cáncer de ovario, fibrosarcoma y cáncer de tiroides.

En algunas modalidades, la presente descripción proporciona métodos para prevenir, reducir el riesgo o tratar a un individuo con cáncer al administrar al individuo una cantidad con eficacia terapéutica de un anticuerpo anti-CD33 de la presente descripción.

En algunas modalidades, el método incluye además administrar al individuo al menos un anticuerpo que se une específicamente a una molécula inhibidora del punto de control inmunitario y/u otra terapia contra el cáncer habitual o en investigación. En algunas modalidades, el al menos un anticuerpo que se une específicamente a una molécula inhibidora del punto de control se administra junto con el anticuerpo anti-CD33 de la presente descripción. En algunas modalidades, el al menos un anticuerpo que se une específicamente a una molécula inhibidora del punto de control se selecciona de un anticuerpo anti-PD-L1, un anticuerpo anti-CTLA4, un anticuerpo anti-PD-L2, un anticuerpo anti-PD-1, un anticuerpo anti-B7-H3, un anticuerpo anti-B7-H4 y un anticuerpo anti-HVEM, un anticuerpo atenuador de linfocitos -B y T (BTLA), un anticuerpo anti-receptor inhibidor de linfocitos citolíticos (KIR), un anticuerpo anti-GAL9, un anticuerpo anti-TIM3, un anticuerpo anti-A2AR, un anticuerpo anti-LAG-3, un anticuerpo antifosfatidilserina, un anticuerpo anti-CD27 y cualquier combinación de estos. En algunas modalidades, la terapia contra el cáncer estándar o en investigación es una o más terapias que se seleccionan de radioterapia, quimioterapia citotóxica, terapia dirigida, imatinib (Gleevec®), trastuzumab (Herceptin®), transferencia de células adoptivas (ACT), transferencia de linfocitos T del receptor de antígeno quimérico (CAR-T), terapia con vacunas y terapia de citocina.

En algunas modalidades, el método incluye además administrar al individuo al menos un anticuerpo que se une específicamente a una citocina inhibidora. En algunas modalidades, el al menos un anticuerpo que se une específicamente a una citocina inhibidora se administra junto el anticuerpo anti-CD33 de la presente descripción. En algunas modalidades, el al menos un anticuerpo que se une específicamente a una citocina

inhibidora se selecciona de un anticuerpo anti-CCL2, un anticuerpo anti-CSF-1, un anticuerpo anti-IL-2 y cualquier combinación de estos.

En algunas modalidades, el método incluye además administrar al individuo al menos un anticuerpo agonista que se une específicamente a una proteína estimuladora del punto de control inmunitario. En algunas modalidades, el al menos un anticuerpo agonista que se une específicamente a una proteína estimuladora del punto de control se administra junto el anticuerpo anti-CD33 de la presente descripción. En algunas modalidades, el al menos un anticuerpo agonista que se une específicamente a una proteína estimuladora del punto de control se selecciona de un anticuerpo agonista anti-CD40,, un anticuerpo agonista anti-OX40, un anticuerpo agonista anti-ICOS, un anticuerpo agonista anti-CD28, un anticuerpo agonista anti-CD137/4-1BB, un anticuerpo agonista anti-CD27, un anticuerpo agonista anti-proteína relacionada con TNFR inducida por glucocorticoides GITR y cualquier combinación de estos.

En algunas modalidades, el método incluye además administrar al individuo al menos una citocina estimuladora. En algunas modalidades, la al menos una citocina estimuladora se administra junto con el anticuerpo anti-CD33 de la presente descripción. En algunas modalidades, la al menos una citocina estimuladora se selecciona de TNF- α , IL-6, IL-8, CRP, integrante de la familia IL-20, LIF, OSM, CNTF, IL-11, IL-12, IL-17, IL-8, CRP, IFN- α , IFN- β , IL-2, IL-18, GM-CSF, G-CSF, y cualquier combinación de estas.

En algunas modalidades, un sujeto o individuo es un mamífero. Los mamíferos incluyen, de modo no taxativo, animales domesticados (por ejemplo, vacas, ovejas, gatos, perros y caballos), primates (por ejemplo, seres humanos y primates no humanos, tal como monos), conejos y roedores (por ejemplo, ratones y ratas). En algunas modalidades, el sujeto o individuo es un ser humano.

Un anticuerpo que se proporciona en la presente (y cualquier medicamento adicional) se puede administrar mediante cualquier medio adecuado, inclusive la administración parenteral, intrapulmonar, intranasal, intralesional, por vía intracerebroespinal, intracraneal, intraespinal, intrasinovial, intratecal, oral, tópica o por inhalación. Las infusiones parenterales incluyen la administración intramuscular, administración intravenosa como un bolo o mediante infusión continua durante un período de tiempo, intraarterial, intraperitoneal o subcutánea. En algunas modalidades, la administración es administración intravenosa. En algunas modalidades, la administración es subcutánea. La administración puede ser mediante cualquier vía adecuada, por ejemplo, mediante inyecciones, como inyecciones intravenosas o subcutáneas, dependiendo en parte de si la administración es breve o crónica. En la presente se contemplan varios esquemas de administración que incluyen, de modo no taxativo, administraciones únicas o múltiples en varios momentos, administración de bolo e infusión por pulsos.

Los anticuerpos que se proporcionan en la presente se formularían, dosificarían y administrarían de una forma coherente con las buenas prácticas médicas. Los factores que deben considerarse en este contexto incluyen el trastorno en particular que se trate, el mamífero particular que se trate, la afección médica del paciente individual, la causa del trastorno, el sitio de administración de la sustancia, el método de administración, el esquema de administración y otros factores conocidos por los médicos. El anticuerpo se formula opcionalmente con una o más sustancias que se utilicen en la actualidad para prevenir o tratar el trastorno en cuestión, aunque esto no es necesario. La cantidad eficaz de tales otras sustancias depende de la cantidad de anticuerpo presente en la formulación, el tipo de trastorno o tratamiento y otros factores tratados anteriormente. Estos se usan generalmente en las mismas dosis y con las vías de administración que se describen en la presente, o aproximadamente del 1 al 99 % de las dosis descritas en este documento, o en cualquier dosis y por cualquier vía que se determine de forma empírica/clínica como apropiada. Para la prevención o el tratamiento de la enfermedad, la dosis apropiada de un anticuerpo de la presente descripción (cuando se usa solo o combinado con uno o más medicamentos adicionales) dependerá del tipo de enfermedad a tratar, el tipo de anticuerpo, la gravedad y el curso de la enfermedad, si el anticuerpo se administra con fines preventivos o terapéuticos, el tratamiento previo, la anamnesis y la respuesta del paciente al anticuerpo, y la discreción del médico tratante. El anticuerpo se administra adecuadamente al paciente una vez o durante una serie de tratamientos.

Según el tipo y la gravedad de la enfermedad, alrededor de 1 $\mu\text{g/kg}$ a 15 mg/kg (por ejemplo, 0,1 mg/kg -10 mg/kg) del anticuerpo puede ser una dosis inicial posible para la administración al paciente, ya sea, por ejemplo, mediante una o más administraciones separadas o por infusión continua. Una dosis diaria típica podría variar de alrededor de 1 $\mu\text{g/kg}$ a 100 mg/kg o más, según los factores mencionados anteriormente. Para administraciones repetidas durante varios días o más, dependiendo de la afección, el tratamiento generalmente se mantendrá hasta que se produzca la supresión deseada de los síntomas de la enfermedad. Un ejemplo de dosis del anticuerpo se encontraría en un intervalo de alrededor de 0,05 mg/kg a alrededor de 10 mg/kg . Por lo tanto, una o más dosis de aproximadamente 0,5 mg/kg , 2,0 mg/kg , 4,0 mg/kg o 10 mg/kg (o cualquier combinación de estas) pueden administrarse al paciente. Tales dosis se pueden administrar en forma intermitente, por ejemplo, cada semana o cada tres semanas (por ejemplo, de modo que el paciente reciba de alrededor de dos a alrededor de veinte o, por ejemplo, alrededor de seis dosis del anticuerpo). En determinadas modalidades, la frecuencia de administración es tres veces al día, dos veces al día, una vez al día, una vez cada dos días, una vez por semana, una vez cada dos semanas, una vez cada cuatro semanas, una vez cada cinco semanas, una vez cada seis semanas, una vez cada siete semanas, una vez cada ocho semanas, una

vez cada nueve semanas, una vez cada diez semanas o una vez al mes, una vez cada dos meses, una vez cada tres meses o más. Se puede administrar una dosis inicial de carga más alta, seguida de una o más dosis más bajas. Sin embargo, pueden ser útiles otros esquemas de administración. El progreso de este tratamiento se controla fácilmente mediante técnicas y ensayos convencionales.

Usos diagnósticos

En algunas modalidades de cualquiera de los anticuerpos, cualquiera de los anticuerpos anti-CD33 que se proporciona en la presente es útil para detectar la presencia de CD33 en una muestra o un individuo. El término «detectar», tal como se usa en la presente, abarca la detección cuantitativa y cualitativa. En la presente se proporcionan métodos para usar los anticuerpos de la presente descripción con fines de diagnóstico, tal como la detección de CD33 en un individuo o en muestras de tejido derivadas de un individuo. En algunas modalidades, el individuo es un ser humano.

El método de detección puede involucrar la cuantificación del anticuerpo unido al antígeno.

La detección de anticuerpos en muestras biológicas se puede producir con cualquier método conocido en la técnica, lo que incluye microscopía con inmunofluorescencia, inmunocitoquímica, inmunohistoquímica, ELISA, análisis FACS, inmunoprecipitación o tomografía por emisión de micropositrones. En determinadas modalidades, el anticuerpo se radiomarca, por ejemplo, con ^{18}F , y luego se detecta con análisis de tomografía por emisión de micropositrones. También es posible cuantificar la unión a anticuerpo en un paciente mediante técnicas no invasivas, tales como tomografía por emisión de positrones (PET), tomografía computarizada con rayos X, tomografía computarizada por emisión de fotón único (SPECT), tomografía computarizada (TC) y tomografía axial computarizada (TAC).

Kits/artículos de fabricación

En la presente se proporcionan artículos de fabricación (por ejemplo, kit) que comprenden un anticuerpo anti-CD33 que se describe en la presente. Un artículo de fabricación puede incluir uno o más recipientes que comprenden un anticuerpo que se describe en la presente. Los recipientes pueden ser cualquier envase adecuado que incluye, de modo no taxativo, viales, botellas, frascos, envases flexibles (por ejemplo, bolsas Mylar o de plástico selladas) y similares. Los recipientes pueden ser dosis unitarias, empaques a granel (por ejemplo, empaques de múltiples dosis) o dosis subunitarias.

En algunas modalidades, los kits pueden incluir además una segunda sustancia. En algunas modalidades, la segunda sustancia es amortiguador o agente de dilución farmacéuticamente aceptable que incluye, de modo no taxativo, agua bacteriostática para inyección (BWFI), solución salina amortiguada con fosfato, solución de Ringer y solución de dextrosa. En algunas modalidades, la segunda sustancia es una sustancia farmacéuticamente activa. En algunas modalidades de cualquiera de los artículos de fabricación, el artículo de

fabricación incluye además instrucciones de uso de acuerdo con los métodos de esta descripción. Las instrucciones generalmente incluyen información sobre la dosis, el esquema de administración y la vía de administración para el tratamiento previsto. En algunas modalidades, estas instrucciones comprenden una descripción de la administración

5 del anticuerpo aislado de la presente descripción (por ejemplo, un anticuerpo anti-CD33 descrito en la presente) para prevenir, reducir el riesgo o tratar a un individuo que padece una enfermedad, trastorno o lesión que se selecciona de demencia, demencia frontotemporal, enfermedad de Alzheimer, demencia vascular, demencia mixta, enfermedad de Creutzfeldt-Jakob, hidrocefalia normotensiva, esclerosis lateral amiotrófica, corea de

10 Huntington, tauopatía, enfermedad de Nasu-Hakola, accidente cerebrovascular, traumatismo agudo, traumatismo crónico, lupus, colitis aguda y crónica, artritis reumatoide, cicatrización de heridas, enfermedad de Crohn, enfermedad intestinal inflamatoria, colitis ulcerosa, obesidad, malaria, temblor hereditario, lupus del sistema nervioso central, enfermedad de Behcet, enfermedad de Parkinson, demencia con cuerpos de Lewy, atrofia multisistémica,

15 síndrome de Shy-Drager, parálisis supranuclear progresiva, degeneración ganglionar corticobasal, encefalomiелitis aguda diseminada, trastornos granulomatosos, sarcoidosis, enfermedades relacionadas con el envejecimiento, convulsiones, lesión de la médula espinal, lesión encefálica traumática, degeneración macular relacionada con la edad, glaucoma, retinitis pigmentaria, degeneración de la retina, infección de las vías respiratorias,

20 sepsis, infección ocular, infección sistémica, lupus, artritis, esclerosis múltiple, baja densidad ósea, osteoporosis, osteogénesis, osteopetrosis, enfermedad de Paget de los huesos, y cáncer, que incluye cáncer de vejiga, cáncer encefálico, cáncer de mama, cáncer de colon, cáncer de recto, cáncer de endometrio, cáncer de riñón, cáncer de células renales, cáncer de pelvis renal, leucemia, carcinoma broncopulmonar, melanoma, linfoma no hodgkiniano,

25 cáncer de páncreas, cáncer de próstata, cáncer de ovario, fibrosarcoma, leucemia linfoblástica aguda (ALL), leucemia linfocítica aguda (ALL), leucemia linfocítica crónica (CLL), leucemia mieloide crónica (CML), mieloma múltiple, policitemia vera, trombocitosis esencial, mielofibrosis primaria o idiopática, mieloesclerosis primaria o idiopática, tumores derivados de células mieloides, tumores que expresan CD33, cáncer de tiroides, infecciones, herpes del SNC, infecciones parasitarias, infección con tripanosomas, infección por *Cruzi*, infección por *Pseudomonas aeruginosa*, infección por *Leishmania donovani*, infección por *Streptococcus* grupo B, infección por *Campylobacter jejuni*, infección por *Neisseria meningitidis*, VIH de tipo I y/o *Haemophilus influenzae*, según cualquiera de los métodos de la presente descripción. En algunas modalidades, las instrucciones incluyen instrucciones

30 para el uso del anticuerpo anti-CD33 y la segunda sustancia (por ejemplo, la segunda sustancia farmacéuticamente activa).

En algunas modalidades, las instrucciones comprenden una descripción de cómo detectar

una proteína CD33, por ejemplo, en un individuo, con una muestra de tejido o en una célula. El kit y/o artículo de fabricación puede comprender además una descripción de la selección de un individuo adecuado para el tratamiento en función de la identificación de si este individuo padece la enfermedad y el estadio de la enfermedad.

- 5 En algunas modalidades, los kits y/o artículos de fabricación pueden incluir además otro anticuerpo de la presente descripción (por ejemplo, al menos un anticuerpo que se une específicamente a una molécula inhibidora del punto de control, al menos un anticuerpo que se une específicamente a una citocina inhibidora y/o al menos un anticuerpo agonista que se une específicamente a una proteína estimuladora del punto de punto) y/o al menos una
- 10 citocina estimuladora. En algunas modalidades, los kits y/o artículos de fabricación pueden incluir además instrucciones para utilizar el anticuerpo y/o citocina estimuladora junto con un anticuerpo anti-CD33 descrito en la presente, instrucciones para utilizar un anticuerpo anti-CD33 descrito en la presente junto con un anticuerpo y/o citocina estimuladora, o
- 15 y/o citocina estimuladora, de acuerdo con cualquiera de los métodos de la presente descripción.

Las instrucciones generalmente incluyen información sobre la dosis, el esquema de administración y la vía de administración para el tratamiento previsto. Los recipientes pueden ser dosis unitarias, empaques a granel (por ejemplo, empaques de múltiples dosis)

- 20 o dosis subunitarias. Las instrucciones suministradas en los kits y/o artículos de fabricación de la presente descripción normalmente son instrucciones escritas en una etiqueta o prospecto (por ejemplo, una hoja de papel incluida en el kit), pero también son aceptables las instrucciones informáticas (por ejemplo, instrucciones cargadas en un disco de almacenamiento óptico o magnético).

- 25 La etiqueta o prospecto indica que la composición se utiliza para el tratamiento, por ejemplo, de una enfermedad de la presente descripción. Se pueden proveer instrucciones para poner en práctica cualquiera de los métodos descritos en la presente.

Los kits y/o artículos de fabricación de la presente descripción se encuentran en un envase adecuado. Los envases adecuados incluyen, de modo no taxativo, viales, botellas, frascos,

- 30 envases flexibles (por ejemplo, bolsas de plástico o Mylar selladas) y similares. También se contemplan envases a utilizar junto con un dispositivo específico, como un inhalador, dispositivo de administración nasal (por ejemplo, un atomizador) o un dispositivo de infusión, como una minibomba. Un kit y/o artículo de fabricación puede tener un puerto de acceso estéril (por ejemplo, el recipiente puede ser una bolsa de solución intravenosa o un vial con
- 35 un tapón que puede perforarse con una aguja de inyección hipodérmica). El recipiente también puede tener un puerto de acceso estéril (por ejemplo, el recipiente puede ser una bolsa de solución intravenosa o un vial con un tapón que se puede perforar con una aguja

de inyección hipodérmica). Al menos un agente activo de la composición es un anticuerpo anti-CD33 descrito en la presente. Además, el recipiente puede comprender un segundo agente farmacéuticamente activo.

Opcionalmente, los kits y/o artículos de fabricación pueden proporcionar componentes

5 adicionales, tales como soluciones amortiguadoras e información interpretativa.

Usualmente, el kit comprende un recipiente y una etiqueta o prospecto en dicho recipiente o asociado a este.

Se comprenderá de forma más detallada la presente descripción con referencia a los siguientes Ejemplos. Sin embargo, no se debería considerar que limitan el alcance de la

10 presente descripción. Todas las citas a lo largo de la descripción se incorporan a la presente expresamente como referencia.

EJEMPLOS

Ejemplo 1: Humanización de un anticuerpo anti-CD33 murino y parámetros de unión de tales variantes humanizadas

El objeto del siguiente Ejemplo fue generar variantes humanizadas de un anticuerpo de ratón CD33 antihumano, 6C7, y caracterizar la unión de los anticuerpos humanizados a CD33. El anticuerpo de ratón 6C7 contenía una región variable de cadena pesada que comprende la secuencia

20 EVKLEESGGGLVQPGGSMKLSCVGSGFTFSNYCMNWVRQSPEKGLEWVAEIRLKSNNYV
TNYVESVKGRFTISRDDSKSRVYLQMNNLRGEDTGFYYCTRDGYYPFAYWGQGLTVTS
A (**SEQ ID NO:3**), y una región variable de cadena ligera que comprende la secuencia de
QLVLTQSSSASFSLGASAKLTCTLSSQHSYTIWYQQQPLKPPKYVMELKKDGSHTGD
GIPDRFSGSSSGADRYLSISNIQPEDEAIYICGVGDTIKEQFVYVFGGGTKVTVL (**SEQ ID**

25 **NO:4**). El anticuerpo 6C7 anti-CD33 se describió anteriormente en WO2016/201388, en donde la región variable de cadena pesada se codificó con la SEQ ID NO:65 y la región variable de cadena ligera se codificó con la SEQ ID NO:242.

El anticuerpo 6C7 anti-CD33 se humanizó mediante el injerto de las CDR del anticuerpo de ratón original en armazones de estirpe germinal humana con secuencia más cercana al anticuerpo de ratón. También se generaron anticuerpos con una o más retromutaciones de armazón. En total, se produjeron 7 anticuerpos humanizados del anticuerpo 6C7 anti-CD33: 6C7H1 a 6C7H7. Las secuencias de región variable de cadena pesada de los anticuerpos anti-CD33 se ilustran en la **Tabla 11** que figura más adelante. Las secuencias de región variable de cadena ligera de los anticuerpos anti-CD33 se ilustran en la **Tabla 12** que figura
35 más adelante.

Se evaluaron los 7 anticuerpos anti-CD33 humanizados de 6C7 para determinar la unión a las células dendríticas primarias mediante citometría de flujo, y se comparó la unión a la de

un anticuerpo quimérico 6C7 anti-CD33 que contenía la secuencia de cadena pesada variable y la secuencia de cadena ligera variable del anticuerpo 6C7 anti-CD33. Se aislaron monocitos humanos de sangre de donantes humanos sanos mediante el uso del cóctel de anticuerpo de aislamiento de monocitos RosetteSep™ (StemCell Technologies). Los monocitos aislados se diferenciaron en células dendríticas con 100 ng/mL de GM-CSF y 100 ng/mL de IL-4 (Peprotech). Las células dendríticas se incubaron con diluciones de los anticuerpos anti-CD33 durante 30 minutos en hielo en la oscuridad, seguido de una incubación de 30 minutos con un anticuerpo secundario anti-IgG humana conjugado con fluorescencia. Las células se lavaron dos veces en amortiguador de FACS (PBS + 2 % de FBS, EDTA 2 mM), y se llevó a cabo una citometría de flujo en un BD FACS Canto. Los datos se analizaron utilizando el software FlowJo (Ashland, OR). Los resultados se muestran en la **Figura 1**.

De los 7 anticuerpos humanizados evaluados para la unión a células dendríticas, solo 5 de los anticuerpos se unieron a las células: 6C7H3, 6C7H4, 6C7H5, 6C7H6 y 6C7H7. Los anticuerpos anti-CD33 6C7H1 y 6C7H2 no se unieron a las células dendríticas en estos experimentos.

Ejemplo 2: Regulación por disminución de CD33 en la superficie celular mediante anticuerpos anti-CD33 humanizados

La finalidad del siguiente Ejemplo fue evaluar si los anticuerpos 6C7 anti-CD33 humanizados (tal como se describió en el **Ejemplo 1** anterior) lograron reducir el nivel de CD33 en superficie celular en células dendríticas primarias humanas. Se aislaron monocitos humanos de sangre de donantes humanos sanos mediante el uso del cóctel de anticuerpo de aislamiento de monocitos RosetteSep™ (StemCell Technologies). Los monocitos aislados se diferenciaron en células dendríticas con 100 ng/mL de GM-CSF y 100 ng/mL de IL-4 (Peprotech). Se colocaron células dendríticas en placas de 96 pocillos a razón de 100 000 células por pocillo, en placas de 24 pocillos a razón de 200 000 células por pocillo, o en placas de 6 pocillos a razón de 500 000 en 2 mL de RPMI complementado con FBS Hyclone al 10 %, glutamina 2 mM, pen/estrep y aminoácidos no esenciales. Se agregaron a los pocillos anticuerpos anti-CD33, o anticuerpos de referencia de isotipo, y se incubaron durante 24 horas a 37 °C con CO₂ al 5 %. La expresión del receptor en la superficie celular se detectó mediante análisis FACS de acuerdo con técnicas habituales. En resumen, se incubaron las células con el clon HIM3-4 anti-CD33-FITC (BD Biosciences) durante 30 minutos en hielo en la oscuridad. Las células se lavaron dos veces en amortiguador de FACS (PBS + 2 % de FBS, EDTA 2 mM), y se llevó a cabo una citometría de flujo en un BD FACS Canto. Se analizaron los datos mediante el uso del software FlowJo (Ashland, OR), y se calculó la expresión superficial de CD33 como porcentaje de la

expresión del receptor con respecto a la expresión en ausencia del anticuerpo. Los resultados se muestran en la **Figura 2**.

Los cuatro anticuerpos anti-CD33 humanizados evaluados (6C7H3, 6C7H5, 6C7H6, 6C7H7), así como el anticuerpo quimérico anti-CD33 6C7 pudieron reducir el nivel en

- 5 superficie de CD33 en la superficie de las células dendríticas, donde el anticuerpo anti-CD33 6C7H5 fue el más potente de los anticuerpos humanizados.

Ejemplo 3: Modificación del anticuerpo anti-CD33 6C7H5 y caracterización de tales anticuerpos modificados

- 10 El fin del siguiente ejemplo fue generar y caracterizar variantes del anticuerpo anti-CD33 6C7H5 que eliminara secuencias que pudieran generar la inestabilidad del anticuerpo, mientras que se mantenía la unión y otras propiedades funcionales deseables del anticuerpo anti-CD33 6C7H5.

- La modificación del anticuerpo anti-CD33 6C7H5 se llevó a cabo con mutagénesis dirigida
15 en las cadenas pesada y/o ligera del anticuerpo humanizado, luego de que las variantes del anticuerpo se expresaran en células de mamífero y se purificaran para análisis posteriores. Se generaron 24 anticuerpos variantes de 6C7H5 que contenían modificaciones en HVR H3 y HVR L2. Se evaluaron estos 24 anticuerpos para determinar la unión a CD33 recombinante mediante ELISA, y solo 1 de los 24 anticuerpos presentó la unión por encima
20 del nivel de referencia (no se muestran los datos). Las secuencias de HVR de región variable de cadena pesada de este anticuerpo, el anticuerpo 6C7H8, se muestran en la **Tabla 7** más adelante. Las secuencias HVR de región variable de cadena ligera de este anticuerpo se muestran en la **Tabla 8** más adelante. Las regiones de armazón de cadena pesada del presente anticuerpo se muestran en la **Tabla 9** más adelante. Las regiones de
25 armazón de cadena ligera del presente anticuerpo se muestran en la **Tabla 10** más adelante. La secuencia de región variable de cadena pesada de este anticuerpo se muestra en la **Tabla 11** más adelante. La secuencia de región variable de cadena ligera de este anticuerpo se muestra en la **Tabla 12** más adelante.

Unión a células dendríticas y CD33 de macaco cangrejero

- 30 Se evaluó el anticuerpo anti-CD33 6C7H8 para determinar la unión a células de mamífero mediante citometría de flujo, con el uso del método descrito en el **Ejemplo 1** que antecede, a una concentración de anticuerpo de 2 µg/mL. Los resultados se muestran en la **Figura 3**. Se descubrió que el anticuerpo anti-CD33 6C7H8 se une a las células dendríticas a un nivel similar al del anticuerpo humanizado original, el anticuerpo anti-CD33 6C7H5, y el
35 anticuerpo quimérico anti-CD33 6C7.

También se evaluó el anticuerpo anti-CD33 6C7H8 para determinar la unión al CD33 de macaco cangrejero mediante ELISA. En resumen, se recubrieron placas para ELISA con

proteína CD33 recombinante humana (Sino Biologicals) o proteína CD33 recombinante de macaco cangrejero (NovoProtein) durante la noche, luego de lo cual se agregaron anticuerpos y se incubaron durante 2 horas. Se detectaron anticuerpos unidos con anticuerpos IgG antihumanos conjugados con peroxidasa de rábano picante (Jackson Immunoresearch) y se desarrolló con TMB. Los resultados se muestran en la **Figura 4** y se resumen en la **Tabla 4** más adelante.

El anticuerpo 6C7H8, su anticuerpo original, 6C7H5, y el anticuerpo quimérico 6C7 se unen todos a CD33 humana de forma similar. En oposición, mientras que el anticuerpo 6C7H5 y el anticuerpo quimérico 6C7 presentaron una unión modesta a CD33 de macaco cangrejero, el anticuerpo anti-CD33 6C7H8 presentó poca unión o ninguna a la CD33 de macaco cangrejero.

Regulación por disminución de CD33 en la superficie

Se evaluó el anticuerpo anti-CD33 6C7H8 para determinar su capacidad de reducir el nivel de CD33 en la superficie de células dendríticas, con el método que se describió en el Ejemplo 2 anteriormente. Los resultados se muestran en la **Figura 5** y se resumen en la **Tabla 1** más adelante.

Tabla 1: Regulación por disminución de CD33 en la superficie celular mediante el Ab quimérico 6C7, 6C7H5 humanizado original y 6C7H8

Anticuerpo	Regulación por disminución del receptor, (EC ₅₀) (pM):
Ab quimérico 6C7	43,0
6C7H5	42,4
6C7H8	77,9

El anticuerpo anti-CD33 6C7H8 redujo el nivel de CD33 en la superficie de células dendríticas, pero presentó una potencia un poco menor en comparación con el anticuerpo humanizado original (anticuerpo 6C7H5) y el anticuerpo quimérico 6C7.

Variantes de 6C7H8 humanizado

Se llevó a cabo una modificación adicional en el anticuerpo anti-CD33 6C7H8 para restaurar la unión y otras propiedades funcionales que contenía el anticuerpo 6C7H5 pero se redujeron en el anticuerpo 6C7H8. Se llevó a cabo la mutagénesis dirigida de HVR H1, HVR L2 y el armazón 1 y el armazón 2 en la cadena pesada del anticuerpo 6C7H8, a partir de los cuales se generaron 35 anticuerpos anti-CD33 adicionales. En un enfoque de modificación

diferente, la mutagénesis dirigida de HVR H1 en el anticuerpo 6C7H8 mediante mutagénesis dirigida aportó 19 anticuerpos anti-CD33 variantes adicionales. Se evaluaron los anticuerpos anti-CD33 para determinar la unión a CD33 recombinante mediante ELISA. Los resultados se muestran en la **Figura 6A** y la **Figura 6B**.

- 5 De los 35 anticuerpos anti-CD33 que contienen modificaciones en HVR H1 y HVR L2, solo 3 anticuerpos presentaron unión a CD33 por encima del nivel de referencia. La unión de estos 3 anticuerpos anti-CD33 (6C7H9, 6C7H10 y 6C7H11) a CD33 se muestra en la **Figura 6A**. Los 19 anticuerpos anti-CD33 que contienen modificaciones en HVR H1, las variantes de anticuerpos 6C7H12 a 6C7H30, presentaron un intervalo de unión a CD33, donde el
- 10 anticuerpo 6C7H25 presentó la unión más potente y algunos anticuerpos, inclusive 6C7H13, 6C7H19, 6C7H27 y 6C7H30, presentaron solamente una unión modesta por encima del nivel de referencia, tal como se muestra en la **Figura 6B**. Las secuencias HVR de región variable de cadena pesada de las variantes de anticuerpo 6C7H9 a 6C7H30 se muestran en la **Tabla 7** más adelante. Las secuencias HVR de región variable de cadena ligera de los
- 15 anticuerpos se muestran en la **Tabla 8** más adelante. Las regiones de armazón de cadena pesada de los anticuerpos se muestran en la **Tabla 9** más adelante. Las regiones de armazón de cadena ligera de los anticuerpos se muestran en la **Tabla 10** más adelante. Las secuencias de región variable de cadena pesada de los anticuerpos se muestran en la **Tabla 11** que figura más adelante. Las secuencias de región variable de cadena ligera de
- 20 los anticuerpos se muestran en la **Tabla 12** que figura más adelante.

Variantes de 6C7H8 humanizado: Parámetros de afinidad

- Los parámetros de afinidad de las variantes de anticuerpo para CD33 humana se midieron con interferometría de biocapas en un ensayo ForteBio de acuerdo con técnicas habituales (Estep et ál. (2013) MAbs 5(2): 270-8) y se compararon con aquellos del anticuerpo original
- 25 (anticuerpo 6C7H8) y el anticuerpo humanizado original (anticuerpo 6C7H5). En resumen, los anticuerpos se capturaron en biosensores de Fc antihumanos (Pall ForteBio). Luego se unió CD33 recombinante humana (10 nM, Sino Biologicals) a la superficie anti-CD33 capturada (200 s de tiempo de asociación, 1200 s de tiempo de disociación). Se usó ajuste local para extraer las constantes de asociación y disociación (k_a y k_d , respectivamente) para
- 30 cada anticuerpo. Las constantes de afinidad aparente (K_D) se calcularon a partir del cociente k_d/k_a . Se muestran los resultados en la **Tabla 2** más adelante.

Tabla 2: Parámetros de afinidad de las variantes de anticuerpos

Anticuerpo	k_a aparente (Ms) ⁻¹	k_d aparente (s ⁻¹)	K_D aparente (nM)
6C7H5	2,75E+05	1,20E-04	0,436
6C7H8	5,72E+05	4,13E-04	0,722

6C7H10	1,47E+06	8,23E-04	0,561
6C7H12	7,49E+05	6,94E-04	0,926
6C7H13	8,01E+05	3,10E-03	3,88
6C7H14	9,91E+05	7,98E-04	0,805
6C7H15	8,01E+05	8,25E-04	1,03
6C7H16	1,30E+06	1,02E-03	0,782
6C7H17	6,13E+05	5,23E-04	0,853
6C7H18	1,05E+06	6,40E-04	0,609
6C7H19	4,79E+06	1,14E-03	0,238
6C7H20	7,39E+05	4,57E-04	0,619
6C7H21	4,98E+05	2,63E-04	0,528
6C7H22	2,41E+06	1,13E-03	0,467
6C7H23	1,24E+06	6,91E-04	0,558
6C7H24	1,37E+06	7,57E-04	0,552
6C7H25	5,29E+05	1,30E-04	0,246
6C7H26	1,32E+06	9,44E-04	0,718
6C7H27	1,34E+06	3,65E-03	2,73
6C7H28	1,13E+06	8,59E-04	0,76
6C7H29	8,75E+05	8,68E-04	0,991
6C7H30	4,65E+06	5,90E-03	1,27

Variantes de 6C7H8 humanizado: Unión a células dendríticas

Se evaluaron variantes de anticuerpo para determinar su unión a células dendríticas humanas primarias, según el método que se describe en el Ejemplo 1, a una concentración de anticuerpo de 2 µg/mL. Los resultados se muestran en la **Figura 7**.

De las tres variantes de anticuerpo con modificaciones en HVR H1 y HVR L2, solo dos anticuerpos, 6C7H10 y 6C7H11, se unieron a las células dendríticas a un nivel similar al del anticuerpo original (6C7H8), el anticuerpo humanizado original (6C7H5) o el anticuerpo quimérico 6C7. La variante de anticuerpo 6C7H9 presentó una reducción considerable en la unión a células dendríticas. De las 19 variantes de anticuerpo anti-CD33 con modificaciones en HVR1, 14 de los anticuerpos unidos a células dendríticas a un nivel similar al del anticuerpo original (6C7H8), el anticuerpo humanizado original (6C7H5) o el anticuerpo quimérico 6C7. Cinco anticuerpos anti-CD33 (6C7H13, 6C7H19, 6C7H22, 6C7H27 y 6C7H30) presentaron una unión que fue menor que 60 % de la de cualquiera de los anticuerpos originales. Si bien las constantes de afinidad aparentes (K_D) de estos cinco anticuerpos anti-CD33 se encontraron dentro de las 10 veces respecto a los anticuerpos

originales, los cinco anticuerpos anti-CD33 que presentaron menor unión a las células tuvieron las constantes de tasa de disociación más rápidas.

Variantes de 6C7H8 humanizado: Regulación por disminución de CD33 en la superficie

- 5 Se evaluaron las variantes de anticuerpo anti-CD33 6C7H9 a 6C7H30 por su capacidad de reducir el nivel de CD33 en la superficie de las células dendríticas, de acuerdo con el método que se describe en el **Ejemplo 2**. Las variantes de anticuerpo anti-CD33 se compararon con el anticuerpo original (6C7H8), el anticuerpo humanizado original (6C7H5) y el anticuerpo quimérico 6C7. Las concentraciones eficaces medias máximas (EC_{50}) y la
- 10 reducción máxima de CD33 se resumen en la **Tabla 3** más adelante. Los resultados de estos estudios para 11 de las variantes de anticuerpos anti CD33 (6C7H10, 6C7H13, 6C7H17, 6C7H19, 6C7H20, 6C7H21, 6C7H22, 6C7H23, 6C7H24, 6C7H25 y 6C7H30) se muestran en la **Figura 8A** y la **Figura 8B**; allí se comparan con el anticuerpo 6C7H8 original, el anticuerpo humanizado 6C7H5 original y el anticuerpo quimérico 6C7.

15

Tabla 3: Regulación por disminución de CD33 en superficie celular mediante el Ab quimérico 6C7, 6C7H5 humanizado original, 6C7H8 y variantes de anticuerpo de 6C7H8

Anticuerpo	Regulación por disminución del receptor, (EC_{50}) (pM):	Múltiplo de aumento en potencia en comparación con 6C7H5	Reducción máxima en CD33 (% restante)
Ab quimérico 6C7	43,0	-	20,6
6C7H5	42,4	-	21,0
6C7H8	77,9	0,5	21,5
6C7H10	777,6	0,1	21,2
6C7H12	159,8	0,3	27,5
6C7H13	3642,9	0,01	nd
6C7H14	164,4	0,3	28,4
6C7H15	251,6	0,2	27,7
6C7H16	305,3	0,1	28,0
6C7H17	51,9	0,8	32,1
6C7H18	148,3	0,3	29,2
6C7H19	nd	nd	nd

Anticuerpo	Regulación por disminución del receptor, (EC₅₀) (pM):	Múltiplo de aumento en potencia en comparación con 6C7H5	Reducción máxima en CD33 (% restante)
6C7H20	40,8	1,0	29,0
6C7H21	34,7	1,2	28,3
6C7H22	1228,0	0,03	nd
6C7H23	120,1	0,4	26,2
6C7H24	319,4	0,1	22,5
6C7H25	27,6	1,6	30,3
6C7H26	174,6	0,2	28,3
6C7H27	1515,1	0,03	nd
6C7H28	146,9	0,3	27,6
6C7H29	134,3	0,3	27,3
6C7H30	nd	nd	nd

nd: los valores no pueden asignarse debido a potencias débiles

Los anticuerpos presentaron un intervalo de potencias para reducir el nivel de CD33 en la superficie de las células dendríticas. Como se esperaba, los anticuerpos anti-CD33 que

5 presentaron una reducción considerable de la unión a las células, ejemplificados con 6C7H13, 6C7H19, 6C7H22, 6C7H27 y 6C7H30, tuvieron potencias considerablemente menores en la regulación por disminución de CD33. Los diez anticuerpos anti-CD33 adicionales presentaron menores potencias en la reducción del nivel de CD33 en la superficie celular (por ejemplo, entre 0,1- y 0,3 veces de mejora en la potencia al reducir el

10 nivel de CD33 en la superficie celular en comparación con lo observado con el anticuerpo humanizado original 6C7H5). Cuatro anticuerpos anti-CD33 (6C7H17, 6C7H20, 6C7H21 y 6C7H25) presentaron potencias similares o apenas mejoradas en la reducción del nivel de CD33 en la superficie celular, con 0,8 a 1,6 veces de mejora en comparación con lo observado con el anticuerpo anti-CD33 humanizado original 6C7H5. Sorprendentemente, las

15 afinidades de varios de los anticuerpos anti-CD33 de potencia similar o mejorada fueron similares a las afinidades de los anticuerpos que presentaron menores potencias en la regulación por disminución de CD33, tal como se ejemplifica con los anticuerpos 6C7H10, 6C7H14, 6C7H16, 6C7H18, 6C7H24, 6C7H26 y 6C7H28. Por tanto, la afinidad de un anticuerpo anti-CD33 por su diana no resultó predictiva por la capacidad del anticuerpo anti-

20 CD33 de regular por disminución CD33 en la superficie de las células.

Si bien los anticuerpos anti-CD33 6C7H17, 6C7H20, 6C7H21 y 6C7H25 tuvieron potencias similares o un poco mejoradas en la regulación por disminución de CD33, en comparación con lo observado con el anticuerpo humanizado original (6C7H5) y el anticuerpo quimérico 6C7, las variantes de anticuerpo anti-CD33 con potencias similares o mejoradas no presentaron una reducción máxima importante en el nivel de CD33.

Variantes de anticuerpos adicionales

Para obtener anticuerpos con una unión y actividades funcionales mejoradas, se llevó a cabo una modificación de los anticuerpos anti-CD33 de la presente descripción mediante mutagénesis dirigida en HVR H1, HVR H3, HVR L2, HVR L3, el armazón de cadena pesada 1, el armazón de cadena pesada 2, el armazón de cadena pesada 3, el armazón de cadena ligera 1 y el armazón de cadena ligera 2, que proporciona 24 variantes de anticuerpo anti-CD33 adicionales (6C7H31 a 6C7H54). Las secuencias HVR de región variable de cadena pesada de las variantes de anticuerpo anti-CD33 6C7H31 a 6C7H54 se muestran en la **Tabla 7** más adelante. Las secuencias HVR de región variable de cadena ligera de los anticuerpos se muestran en la **Tabla 8** más adelante. Las regiones de armazón de cadena pesada de los anticuerpos se muestran en la **Tabla 9** más adelante. Las regiones de armazón de cadena ligera de los anticuerpos se muestran en la **Tabla 10** más adelante. Las secuencias de región variable de cadena pesada de los anticuerpos se muestran en la **Tabla 11** que figura más adelante. Las secuencias de región variable de cadena ligera de los anticuerpos se representan en la **Tabla 12** que figura más adelante.

Variantes de anticuerpos adicionales: Unión a células dendríticas y CD33 de macaco cangrejero

Se evaluaron las variantes de anticuerpos anti-CD33 6C7H31 a 6C7H54 para determinar su unión a las células dendríticas primarias humanas mediante citometría de flujo, de acuerdo con el método que se describe en el Ejemplo 1, a una concentración de anticuerpo de 1 µg/mL. Las variantes de anticuerpos anti-CD33 se compararon con el anticuerpo humanizado original (6C7H5) y el anticuerpo quimérico 6C7. Los resultados de estos estudios se muestran en la **Figura 9**.

De las 24 variantes de anticuerpo anti-CD33 que se evaluaron para determinar su unión a las células dendríticas, 18 variantes de anticuerpos anti-CD33 presentaron una unión a las células dendríticas primarias humanas similar a la observada con el anticuerpo humanizado original (6C7H5) y el anticuerpo quimérico 6C7. Seis anticuerpos anti-CD33 (6C7H31, 6C7H32, 6C7H33, 6C7H34, 6C7H42 y 6C7H43) presentaron una unión un poco menor a estas células.

Las variantes de anticuerpo anti-CD33 se evaluaron adicionalmente por su capacidad de unirse a CD33 de macaco cangrejero en un ensayo ELISA, de acuerdo con el método descrito anteriormente. Las variantes de anticuerpos anti-CD33 se compararon con el

anticuerpo humanizado original (6C7H5) y el anticuerpo quimérico 6C7. Los resultados se resumen en la **Tabla 4** a continuación, y los datos de la unión para 8 de las variantes de anticuerpo anti-CD33 se muestran en las **Figuras 10A y 10B**.

5 **Tabla 4: Unión de las variantes de anticuerpo anti-CD33 a CD33 humana y CD33 de macaco cangrejero**

Anticuerpo	Unión a CD33 humana, (EC ₅₀) (nM):	Unión a CD33 de macaco cangrejero (EC ₅₀) (nM):	Potencia relativa (humano/macaco cangrejero)	Unión máxima relativa (macaco cangrejero/humano)
Ab quimérico 6C7	0,17	2,96	0,06	0,47
6C7H5	0,16	3,84	0,04	0,50
6C7H8	0,21	nd	nd	0,06
6C7H21	0,16	nd	nd	nd
6C7H31	0,21	nd	nd	0,02
6C7H32	0,20	nd	nd	0,01
6C7H33	0,17	nd	nd	0,01
6C7H34	0,17	nd	nd	0,01
6C7H35	0,21	nd	nd	0,04
6C7H36	0,13	4,00	0,03	0,34
6C7H37	0,26	5,62	0,05	0,45
6C7H38	0,21	4,87	0,04	0,36
6C7H39	0,23	nd	nd	0,02
6C7H40	0,19	nd	nd	0,03
6C7H41	0,23	nd	nd	0,13
6C7H42	0,20	nd	nd	0,08
6C7H43	0,17	nd	nd	0,11
6C7H44	0,18	nd	nd	0,09
6C7H45	0,15	nd	nd	0,31
6C7H46	0,19	16,75	0,01	0,23
6C7H47	0,22	0,42	0,52	0,43
6C7H48	0,17	1,19	0,14	0,53
6C7H49	0,30	nd	nd	nd
6C7H50	0,22	nd	nd	0,21

Anticuerpo	Unión a CD33 humana, (EC ₅₀) (nM):	Unión a CD33 de macaco cangrejero (EC ₅₀) (nM):	Potencia relativa (humano/macaco cangrejero)	Unión máxima relativa (macaco cangrejero/humano)
6C7H51	0,19	nd	nd	0,08
6C7H52	0,23	1,70	0,14	0,47
6C7H53	0,18	25,59	0,01	0,39
6C7H54	0,28	0,57	0,49	0,73

nd: valores que no se pudieron calcular debido a la poca unión a CD33 de macaco cangrejero

De las 26 variantes de anticuerpo anti-CD33 evaluadas, 19 no presentaron unión alguna a CD33 de macaco cangrejero o una unión considerablemente menor, en comparación con la observada con el anticuerpo humanizado original (6C7H5) o el anticuerpo quimérico 6C7. Tres anticuerpos anti-CD33 (6C7H36, 6C7H37 y 6C7H38) se unieron a CD33 de macaco cangrejero de forma similar a lo observado con el anticuerpo humanizado original (6C7H5) y el anticuerpo 6C7 quimérico. Cuatro de los anticuerpos anti-CD33 (6C7H47, 6C7H48, 6C7H52 y 6C7H54) presentaron una unión mejorada a CD33 de macaco cangrejero. Un anticuerpo anti-CD33, 6C7H54, presentó sorprendentemente tanto una potencia mejorada como la unión máxima más fuerte a CD33 de macaco cangrejero.

Variantes de anticuerpos adicionales: Parámetros de afinidad

Los parámetros de afinidad del anticuerpo anti-CD33 6C7H54 para CD33 humana y CD33 de macaco cangrejero se midieron con interferometría de biocapas en un ensayo ForteBio, de acuerdo con el método descrito anteriormente. Los resultados se resumen en la **Tabla 5** a continuación.

Tabla 5: Afinidad de unión de 6C7H54 en CD33 humana y CD33 de macaco cangrejero

Antígeno	k _a aparente (Ms) ⁻¹	k _d aparente (s ⁻¹)	K _D aparente (nM)
CD33 humana	5,45E+05	3,32E-05	0,061
CD33 de macaco cangrejero	5,89E+05	1,05E-04	0,178

Se descubrió que el anticuerpo anti-CD33 6C7H54 tuvo de forma inesperada una afinidad mejorada con CD33 humana, en comparación con la observada con el anticuerpo humanizado original (6C7H5) o el anticuerpo quimérico 6C7 (véase la **Tabla 2**). Además, se

descubrió que la afinidad de unión del anticuerpo 6C7H54 por CD33 de macaco cangrejero se encontró dentro de 3 veces de la afinidad de unión de este anticuerpo a CD33 humana.

Variantes de anticuerpos adicionales: Regulación por disminución de CD33 en la superficie

- 5 Las 24 variantes de anticuerpo anti-CD33 (6C7H31 a 6C7H54) se evaluaron adicionalmente para determinar su capacidad de reducir el nivel de CD33 en la superficie de las células dendríticas, de acuerdo con el método que se describió en el **Ejemplo 2** anteriormente. Se compararon las variantes de anticuerpo anti-CD33 con el anticuerpo humanizado original, 6C7H5, y el anticuerpo quimérico 6C7 para determinar su capacidad de reducir el nivel de
- 10 CD33 en la superficie celular en células dendríticas humanas. Las concentraciones eficaces medias máximas (EC_{50}) se resumen en la **Tabla 6** a continuación y los resultados para 3 de las variantes anti-CD33 (6C7H38, 6C7H47 y 6C7H54) se muestran en la **Figura 11**, donde se comparan con el anticuerpo humanizado 6C7H5 original y el anticuerpo quimérico 6C7.
- 15 **Tabla 6: Regulación por disminución de CD33 en la superficie celular mediante las variantes de anticuerpo 6C7H31 a 6C7H54**

Anticuerpo	Regulación por disminución del receptor, (EC_{50}) (pM):	Múltiplo de aumento en potencia en comparación con 6C7H5
Ab quimérico 6C7	43,0	-
6C7H5	42,4	-
6C7H31	67,7	0,6
6C7H32	47,2	0,9
6C7H33	50,0	0,8
6C7H34	60,3	0,7
6C7H35	51,0	0,8
6C7H36	49,1	0,9
6C7H37	59,3	0,7
6C7H38	27,0	1,6
6C7H39	38,7	1,1
6C7H40	37,2	1,1
6C7H41	34,2	1,2
6C7H42	39,4	1,1

6C7H43	49,8	0,9
6C7H44	45,7	0,9
6C7H45	44,5	1,0
6C7H46	61,7	0,7
6C7H47	59,0	0,7
6C7H48	56,3	0,8
6C7H49	69,7	0,6
6C7H50	57,8	0,7
6C7H51	42,4	1,0
6C7H52	47,7	0,9
6C7H53	35,4	1,2
6C7H54	30,2	1,2

Todos los anticuerpos anti-CD33 redujeron CD33 en la superficie de las células dendríticas y presentaron potencias que se encontraron dentro de 2 veces de lo observado con el anticuerpo humanizado original (6C7H5) y el anticuerpo quimérico 6C7. De los dos anticuerpos anti-CD33 que presentaron la unión más fuerte a CD33 de macaco cangrejero (6C7H47 y 6C7H54), el anticuerpo 6C7H54 fue el más potente en la regulación por disminución de CD33 y fue más potente que el anticuerpo humanizado original (6C7H5) y el anticuerpo quimérico 6C7 en la disminución o reducción del nivel de CD33 en la superficie celular en estas células. Todos los anticuerpos presentaron una reducción máxima similar en CD33 (**Figura 11** y no se muestran los datos). De las 24 variantes de anticuerpo anti-CD33 que se generaron con el método de modificación que se describió anteriormente, y de un total de 102 variantes de anticuerpo anti-CD33 generadas en los cuatro procesos de modificación, el anticuerpo anti-CD33 6C7H54 presentó tanto una regulación por disminución potente de CD33 y una reducción máxima del nivel de CD33 en la superficie celular; además, este anticuerpo anti-CD33 presentó de forma inesperada una afinidad mejorada tanto a CD33 humana como a CD33 de macaco cangrejero, en comparación con lo observado con el anticuerpo humanizado original (6C7H5) y el anticuerpo 6C7 quimérico.

Tabla 7: Secuencias HVR-H1, HVR-H2 y HVR-H3 de cadena pesada de anticuerpos anti-CD33

Anticuerpo	HVR-H1	SEQ ID NO:	HVR-H2	SEQ ID NO:	HVR-H3	SEQ ID NO:
6C7H1; 6C7H2;	NYCMN	8	EIRLKSNNYV	33	DGYYVPFA	38

Anticuerpo	HVR-H1	SEQ ID NO:	HVR-H2	SEQ ID NO:	HVR-H3	SEQ ID NO:
6C7H3; 6C7H4; 6C7H5; 6C7H6; 6C7H7			TNYAASVKG		Y	
6C7H8	NYCMN	8	EIRLKSNNYV TNYAASVKG	33	AGYYVPFA Y	39
6C7H9; 6C7H10; 6C7H11	EYAMN	9	EIRLKSNNYV TNYAASVKG	33	AGYYVPFA Y	39
6C7H12	NYGMN	10	EIRLKSNNYV TNYAASVKG	33	AGYYVPFA Y	39
6C7H13	NYFMN	11	EIRLKSNNYV TNYAASVKG	33	AGYYVPFA Y	39
6C7H14	NYAMN	12	EIRLKSNNYV TNYAASVKG	33	AGYYVPFA Y	39
6C7H15	NYSMN	13	EIRLKSNNYV TNYAASVKG	33	AGYYVPFA Y	39
6C7H16	NYLMN	14	EIRLKSNNYV TNYAASVKG	33	AGYYVPFA Y	39
6C7H17	NYYMN	15	EIRLKSNNYV TNYAASVKG	33	AGYYVPFA Y	39
6C7H18	NYHMN	16	EIRLKSNNYV TNYAASVKG	33	AGYYVPFA Y	39
6C7H19	NYRMN	17	EIRLKSNNYV TNYAASVKG	33	AGYYVPFA Y	39
6C7H20	NYPMN	18	EIRLKSNNYV TNYAASVKG	33	AGYYVPFA Y	39
6C7H21	NYQMN	19	EIRLKSNNYV TNYAASVKG	33	AGYYVPFA Y	39
6C7H22	NYTMN	20	EIRLKSNNYV TNYAASVKG	33	AGYYVPFA Y	39

Anticuerpo	HVR-H1	SEQ ID NO:	HVR-H2	SEQ ID NO:	HVR-H3	SEQ ID NO:
6C7H23	NYVMN	21	EIRLKSNNYV TNYAASVKG	33	AGYYVPFA Y	39
6C7H24	NYNMN	22	EIRLKSNNYV TNYAASVKG	33	AGYYVPFA Y	39
6C7H25; 6C7H47; 6C7H48; 6C7H53; 6C7H54	NYEMN	23	EIRLKSNNYV TNYAASVKG	33	AGYYVPFA Y	39
6C7H26	NYIMN	24	EIRLKSNNYV TNYAASVKG	33	AGYYVPFA Y	39
6C7H27	DYTMN	25	EIRLKSNNYV TNYAASVKG	33	AGYYVPFA Y	39
6C7H28	DYSMN	26	EIRLKSNNYV TNYAASVKG	33	AGYYVPFA Y	39
6C7H29	AYSMN	27	EIRLKSNNYV TNYAASVKG	33	AGYYVPFA Y	39
6C7H30	NYWMN	28	EIRLKSNNYV TNYAASVKG	33	AGYYVPFA Y	39
6C7H31; 6C7H32; 6C7H33; 6C7H34	EYDML	29	EIRLKSNNYV TNYAASVKG	33	AGYYVPFA Y	39
6C7H35; 6C7H36; 6C7H37; 6C7H38	EYAML	30	EIRLKSNNYV TNYAASVKG	33	AGYYVPFT Y	40
6C7H39; 6C7H40; 6C7H41; 6C7H42	EYDML	29	EIRLKSNNYV TNYAASVKG	33	AGYYVPFA Y	39
6C7H43; 6C7H44;	EYDML	29	EIRLKSNNYV TNYAASVKG	33	AGYYVPFA Y	39

Anticuerpo	HVR-H1	SEQ ID NO:	HVR-H2	SEQ ID NO:	HVR-H3	SEQ ID NO:
6C7H49; 6C7H50						
6C7H45; 6C7H46; 6C7H51; 6C7H52	EYAML	30	EIRLKSNNYV TNYAASVKG	33	AGYYVPFA Y	39

Tabla 8: Secuencias HVR-L1, HVR-L2 y HVR-L3 de cadena ligera de anticuerpos anti-CD33

Anticuerpo	HVR-L1	SEQ ID NO:	HVR-L2	SEQ ID NO:	HVR-L3	SEQ ID NO:
6C7H1; 6C7H2; 6C7H3; 6C7H4; 6C7H5; 6C7H6; 6C7H7	TLSSQHS TYTIE	47	LKKDGSHT GD	52	GVGDTI KEQFVY V	58
6C7H8; 6C7H10; 6C7H12; 6C7H13; 6C7H14; 6C7H15; 6C7H16; 6C7H17; 6C7H18; 6C7H19; 6C7H20; 6C7H21; 6C7H22; 6C7H23; 6C7H24; 6C7H25; 6C7H26; 6C7H27; 6C7H28; 6C7H29; 6C7H30	TLSSQHS TYTIE	47	LKKEGSHST GD	53	GVGDTI KEQFVY V	58
6C7H9	TLSSQHS TYTIE	47	LKKKGSHST GD	54	GVGDTI KEQFVY V	58
6C7H11	TLSSQHS TYTIE	47	LKKGGSHST GD	55	GVGDTI KEQFVY V	58
6C7H31; 6C7H35;	TLSSQHS	47	LKKEGSHST	53	GVGVTI	59

Anticuerpo	HVR-L1	SEQ ID NO:	HVR-L2	SEQ ID NO:	HVR-L3	SEQ ID NO:
6C7H39; 6C7H49; 6C7H51; 6C7H53	TYTIE		GD		KEQFVY V	
6C7H32; 6C7H36; 6C7H40; 6C7H43; 6C7H45; 6C7H47	TLSSQHS TYTIE	47	LKKEGSHST GD	53	GVGHTI KEQFVY E	60
6C7H33; 6C7H37; 6C7H41; 6C7H50; 6C7H52; 6C7H54	TLSSQHS TYTIE	47	LKKEGSHST GD	53	GVGHTI KEQFVY V	61
6C7H34; 6C7H38; 6C7H42; 6C7H44; 6C7H46; 6C7H48	TLSSQHS TYTIE	47	LKKEGSHST GD	53	GVGLTIK EQFVYV	62

Tabla 9: Secuencias de armazón de cadena pesada de anticuerpos anti-CD33

Anticuerpo	VH FR1	SEQ ID NO:	VH FR2	SEQ ID NO:	VH FR3	SEQ ID NO:	VH FR4	SEQ ID NO:
6C7H1; 6C7H3; 6C7H6	EVQLV ESGG GLVQP GGSLR LSCAA SGFTF S	5	WVRQA PGKGL EWVG	31	RFTISR DDSKN SLYLQ MNSLK TEDTA VYYCA R	34	WGQG TLVTV SS	41
6C7H2; 6C7H5; 6C7H8	EVQLV ESGG GLVQP GGSLR LSCAG SGFTF S	6	WVRQA PGKGL EWVA	32	RFTISR DDSKN SVYLQ MNSLK TEDTG VYYCT R	35	WGQG TLVTV SS	41
6C7H4; 6C7H7	EVQLV ESGG GLVQP GGSLR	6	WVRQA PGKGL EWVA	32	RFTISR DDSKN SLYLQ MNSLK	36	WGQG TLVTV SS	41

Anticuerpo	VH FR1	SEQ ID NO:	VH FR2	SEQ ID NO:	VH FR3	SEQ ID NO:	VH FR4	SEQ ID NO:
	LSCAG SGFTF S				TEDTA VYYCT R			
6C7H9; 6C7H10; 6C7H11	EVQLV ESGG GLVQP GGSLR LSCAA SGFTF S	5	WVRQA PGKGL EWVG	31	RFTISR DDSKN SVYLQ MNSLK TEDTG VYYCT R	35	WGQG TLVTV SS	41
6C7H12; 6C7H13; 6C7H14; 6C7H15; 6C7H16; 6C7H17; 6C7H18; 6C7H19; 6C7H20; 6C7H21; 6C7H22; 6C7H23; 6C7H24; 6C7H25; 6C7H26; 6C7H27; 6C7H28; 6C7H29; 6C7H30; 6C7H47; 6C7H48; 6C7H53; 6C7H54	EVQLV ESGG GLVQP GGSLR LSCAG SGFTF S	6	WVRQA PGKGL EWVA	32	RFTISR DDSKN SVYLQ MNSLK TEDTG VYYCT R	35	WGQG TLVTV SS	41

Anticuerpo	VH FR1	SEQ ID NO:	VH FR2	SEQ ID NO:	VH FR3	SEQ ID NO:	VH FR4	SEQ ID NO:
6C7H31; 6C7H32; 6C7H33; 6C7H34	EVQLV ESGG GLVQP GGSLR LSCAA SGSTF S	7	WVRQA PGKGL EWVG	31	RFTISR DDSKN SVYLQ MNSLK TEDTG VYYCT R	35	WGQG TLVTV SS	41
6C7H35; 6C7H36; 6C7H37; 6C7H38; 6C7H43; 6C7H44; 6C7H45; 6C7H46; 6C7H49; 6C7H50; 6C7H51; 6C7H52	EVQLV ESGG GLVQP GGSLR LSCAA SGFTF S	5	WVRQA PGKGL EWVG	31	RFTISR DDSKN SVYLQ MNSLK TEDTG VYYCT R	35	WGQG TLVTV SS	41
6C7H39; 6C7H40; 6C7H41; 6C7H42	EVQLV ESGG GLVQP GGSLR LSCAA SGFTF S	5	WVRQA PGKGL EWVG	31	RFTISR DDTKN SVYLQ MNSLK TEDTG VYYCT R	37	WGQG TLVTV SS	41

Tabla 10: Secuencias de armazón de cadena ligera de anticuerpos anti-CD33

Anticuerpo	VL FR1	SEQ ID NO:	VL FR2	SEQ ID NO:	VL FR3	SEQ ID NO:	VL FR4	SEQ ID NO:
6C7H1; 6C7H2	QLVL TQSP	42	WHQQ QPEK	48	GIPDR FSGS	56	FGGGTK LTVL	63

Anticuerpo	VL FR1	SEQ ID NO:	VL FR2	SEQ ID NO:	VL FR3	SEQ ID NO:	VL FR4	SEQ ID NO:
	SASA SLGA SVKL TC		GPRY LMK		SSGA ERYLT ISSLQ SEDE ADYY C			
6C7H3; 6C7H4; 6C7H5; 6C7H8; 6C7H10; 6C7H12; 6C7H13; 6C7H14; 6C7H15; 6C7H16; 6C7H17; 6C7H18; 6C7H19; 6C7H20; 6C7H21; 6C7H22; 6C7H23; 6C7H24; 6C7H25; 6C7H26; 6C7H27; 6C7H28; 6C7H29; 6C7H30	QLVL TQSP SASA SLGA SVKL TC	42	WYQQ QPEK GPRY LME	49	GIPDR FSGS SSGA ERYLT ISSLQ SEDE ADYY C	56	FGGGTK LTVL	63
6C7H6; 6C7H7	QLVL TQSP SASA	43	WYQQ QPEK GPRY	50	GIPDR FSGS SSGA	57	FGGGTK VTVL	64

Anticuerpo	VL FR1	SEQ ID NO:	VL FR2	SEQ ID NO:	VL FR3	SEQ ID NO:	VL FR4	SEQ ID NO:
	SLGA SAKL TC		VME		ERYLT ISSIQ SEDE ADYIC			
6C7H9; 6C7H11	QLVL TQSP SASA SLGA SVKL TC	42	WYQQ QPEK GPRY LME	49	GIPDR FSGS SSGA ERYLT ISSLQ SEDE ADYY C	56	FGGGTK LTVL	63
6C7H31; 6C7H35; 6C7H39; 6C7H49; 6C7H51; 6C7H53	QPVL TQSP SASA SLGA SVKL TC	44	WYQQ QPEK GPRY LME	49	GIPDR FSGS SSGA ERYLT ISSLQ SEDE ADYY C	56	FGGGTK LTVL	63
6C7H32; 6C7H36; 6C7H40; 6C7H43; 6C7H45; 6C7H47; 6C7H33; 6C7H37; 6C7H41; 6C7H50; 6C7H52; 6C7H54	QLML TQSP SASA SLGA SVKL TC	45	WYQQ QPGK GPRY LME	51	GIPDR FSGS SSGA ERYLT ISSLQ SEDE ADYY C	56	FGGGTK LTVL	63
6C7H34;	QPML	46	WYQQ	51	GIPDR	56	FGGGTK	63

Anticuerpo	VL FR1	SEQ ID NO:	VL FR2	SEQ ID NO:	VL FR3	SEQ ID NO:	VL FR4	SEQ ID NO:
6C7H38; 6C7H42; 6C7H44; 6C7H46; 6C7H48	TQSP SASA SLGA SVKL TC		QPGK GPRY LME		FSGS SSGA ERYLT ISSLQ SEDE ADYY C		LTVL	

Tabla 11: Secuencias de región variable de cadena pesada de anticuerpos anti-CD33

Anticuerpo	HCVR	La SEQ ID NO:
6C7H1; 6C7H3; y 6C7H6	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYCMN WVRQAPGKGLEWVGEIRLKSNNYVTNYAASVKGRF TISRDDSKNSLYLQMNSLKTEDTAVYYCARDGYYVP FAYWGQGTLLTVSS	65
6C7H2 y 6C7H5	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAGSGFTFSNYCMN WVRQAPGKGLEWVAEIRLKSNNYVTNYAASVKGRF TISRDDSKNSVYLQMNSLKTEDTGVYYCTRDGYYVP FAYWGQGTLLTVSS	66
6C7H4 y 6C7H7	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAGSGFTFSNYCMN WVRQAPGKGLEWVAEIRLKSNNYVTNYAASVKGRF TISRDDSKNSLYLQMNSLKTEDTAVYYCTRDGYYVP FAYWGQGTLLTVSS	67
6C7H8	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAGSGFTFSNYCMN WVRQAPGKGLEWVAEIRLKSNNYVTNYAASVKGRF TISRDDSKNSVYLQMNSLKTEDTGVYYCTRAGYYVP FAYWGQGTLLTVSS	68
6C7H9; 6C7H10; y 6C7H11	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSEYAMN WVRQAPGKGLEWVGEIRLKSNNYVTNYAASVKGRF TISRDDSKNSVYLQMNSLKTEDTGVYYCTRAGYYVP FAYWGQGTLLTVSS	69
6C7H12	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAGSGFTFSNYGMN WVRQAPGKGLEWVAEIRLKSNNYVTNYAASVKGRF	70

Anticuerpo	HCVR	La SEQ ID NO:
	TISRDDSKNSVYLQMNSLKTEDTGVYYCTRAGYYVP FAYWGQGTTLTVSS	
6C7H13	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAGSGFTFSNYFMN WVRQAPGKGLEWVAEIRLKSNNYVTNYAASVKGRF TISRDDSKNSVYLQMNSLKTEDTGVYYCTRAGYYVP FAYWGQGTTLTVSS	71
6C7H14	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAGSGFTFSNYAMN WVRQAPGKGLEWVAEIRLKSNNYVTNYAASVKGRF TISRDDSKNSVYLQMNSLKTEDTGVYYCTRAGYYVP FAYWGQGTTLTVSS	72
6C7H15	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAGSGFTFSNYSMN WVRQAPGKGLEWVAEIRLKSNNYVTNYAASVKGRF TISRDDSKNSVYLQMNSLKTEDTGVYYCTRAGYYVP FAYWGQGTTLTVSS	73
6C7H16	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAGSGFTFSNYLMN WVRQAPGKGLEWVAEIRLKSNNYVTNYAASVKGRF TISRDDSKNSVYLQMNSLKTEDTGVYYCTRAGYYVP FAYWGQGTTLTVSS	74
6C7H17	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAGSGFTFSNYYMN WVRQAPGKGLEWVAEIRLKSNNYVTNYAASVKGRF TISRDDSKNSVYLQMNSLKTEDTGVYYCTRAGYYVP FAYWGQGTTLTVSS	75
6C7H18	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAGSGFTFSNYHMN WVRQAPGKGLEWVAEIRLKSNNYVTNYAASVKGRF TISRDDSKNSVYLQMNSLKTEDTGVYYCTRAGYYVP FAYWGQGTTLTVSS	76
6C7H19	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAGSGFTFSNYRMN WVRQAPGKGLEWVAEIRLKSNNYVTNYAASVKGRF TISRDDSKNSVYLQMNSLKTEDTGVYYCTRAGYYVP FAYWGQGTTLTVSS	77
6C7H20	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAGSGFTFSNYPMN WVRQAPGKGLEWVAEIRLKSNNYVTNYAASVKGRF TISRDDSKNSVYLQMNSLKTEDTGVYYCTRAGYYVP FAYWGQGTTLTVSS	78

Anticuerpo	HCVR	La SEQ ID NO:
6C7H21	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAGSGFTFSNYQMN WVRQAPGKGLEWVAEIRLKSNNYVTNYAASVKGRF TISRDDSKNSVYLQMNSLKTEDTGVYYCTRAGYYVP FAYWGQGTLLTVSS	79
6C7H22	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAGSGFTFSNYTMN WVRQAPGKGLEWVAEIRLKSNNYVTNYAASVKGRF TISRDDSKNSVYLQMNSLKTEDTGVYYCTRAGYYVP FAYWGQGTLLTVSS	80
6C7H23	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAGSGFTFSNYVMN WVRQAPGKGLEWVAEIRLKSNNYVTNYAASVKGRF TISRDDSKNSVYLQMNSLKTEDTGVYYCTRAGYYVP FAYWGQGTLLTVSS	81
6C7H24	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAGSGFTFSNYNMN WVRQAPGKGLEWVAEIRLKSNNYVTNYAASVKGRF TISRDDSKNSVYLQMNSLKTEDTGVYYCTRAGYYVP FAYWGQGTLLTVSS	82
6C7H25; 6C7H47; 6C7H48; 6C7H53; y 6C7H54	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAGSGFTFSNYEMN WVRQAPGKGLEWVAEIRLKSNNYVTNYAASVKGRF TISRDDSKNSVYLQMNSLKTEDTGVYYCTRAGYYVP FAYWGQGTLLTVSS	83
6C7H26	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAGSGFTFSNYIMN WVRQAPGKGLEWVAEIRLKSNNYVTNYAASVKGRF TISRDDSKNSVYLQMNSLKTEDTGVYYCTRAGYYVP FAYWGQGTLLTVSS	84
6C7H27	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAGSGFTFSNYTMN WVRQAPGKGLEWVAEIRLKSNNYVTNYAASVKGRF TISRDDSKNSVYLQMNSLKTEDTGVYYCTRAGYYVP FAYWGQGTLLTVSS	85
6C7H28	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAGSGFTFSNYSMN WVRQAPGKGLEWVAEIRLKSNNYVTNYAASVKGRF TISRDDSKNSVYLQMNSLKTEDTGVYYCTRAGYYVP FAYWGQGTLLTVSS	86
6C7H29	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAGSGFTFSAYSMN WVRQAPGKGLEWVAEIRLKSNNYVTNYAASVKGRF	87

Anticuerpo	HCVR	La SEQ ID NO:
	TISRDDSKNSVYLQMNSLKTEDTGVYYCTRAGYYVP FAYWGQGTTLTVSS	
6C7H30	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAGSGFTFSNYWM NWVRQAPGKGLEWVAEIRLKSNNYVTNYAASVKGR FTISRDDSKNSVYLQMNSLKTEDTGVYYCTRAGYYVP PFAYWGQGTTLTVSS	88
6C7H31; 6C7H32; 6C7H33; y 6C7H34	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGSTFSEYDML WVRQAPGKGLEWVGEIRLKSNNYVTNYAASVKGRF TISRDDSKNSVYLQMNSLKTEDTGVYYCTRAGYYVP FAYWGQGTTLTVSS	89
6C7H35; 6C7H36; 6C7H37; y 6C7H38	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSEYAML WVRQAPGKGLEWVGEIRLKSNNYVTNYAASVKGRF TISRDDSKNSVYLQMNSLKTEDTGVYYCTRAGYYVP FTYWGQGTTLTVSS	90
6C7H39; 6C7H40; 6C7H41; y 6C7H42	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSEYDML WVRQAPGKGLEWVGEIRLKSNNYVTNYAASVKGRF TISRDDTKNSVYLQMNSLKTEDTGVYYCTRAGYYVP FAYWGQGTTLTVSS	91
6C7H43; 6C7H44; 6C7H49; y 6C7H50	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSEYDML WVRQAPGKGLEWVGEIRLKSNNYVTNYAASVKGRF TISRDDSKNSVYLQMNSLKTEDTGVYYCTRAGYYVP FAYWGQGTTLTVSS	92
6C7H45; 6C7H46; 6C7H51; y 6C7H52	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSEYAML WVRQAPGKGLEWVGEIRLKSNNYVTNYAASVKGRF TISRDDSKNSVYLQMNSLKTEDTGVYYCTRAGYYVP FAYWGQGTTLTVSS	93

Tabla 12: Secuencias de región variable de cadena ligera de anticuerpos anti-CD33

Anticuerpo	LCVR	SEQ ID NO:
6C7H1 y 6C7H2	QLVLTQSPSASASLGASVKLTCTLSSQHSYTI EWHQQQPEKGPRYLMKLKKGSHSTGDGIP DRFSGSSSGAERYLTISLQSEDEADYYCGVG	94

Anticuerpo	LCVR	SEQ ID NO:
	DTIKEQFVYVFGGGTKLTVL	
6C7H3; 6C7H4; y 6C7H5	QLVLTQSPSASASLGASVKLTCTLSSQHSTYTI EWYQQQPEKGPRYLMELKKDGSHTGDGIPD RFSGSSSGAERYLTISLQSEDEADYYCGVGD TIKEQFVYVFGGGTKLTVL	95
6C7H6 y 6C7H7	QLVLTQSPSASASLGASAKLTCTLSSQHSTYTI EWYQQQPEKGPRYVMELKKDGSHTGDGIP DRFSGSSSGAERYLTISLQSEDEADYICGVG DTIKEQFVYVFGGGTKVTVL	96
6C7H8; 6C7H10; 6C7H12; 6C7H13; 6C7H14; 6C7H15; 6C7H16; 6C7H17; 6C7H18; 6C7H19; 6C7H20; 6C7H21; 6C7H22; 6C7H23; 6C7H24; 6C7H25; 6C7H26; 6C7H27; 6C7H28; 6C7H29 y 6C7H30	QLVLTQSPSASASLGASVKLTCTLSSQHSTYTI EWYQQQPEKGPRYLMELKKEGSHSTGDGIPD RFSGSSSGAERYLTISLQSEDEADYYCGVGD TIKEQFVYVFGGGTKLTVL	97
6C7H9	QLVLTQSPSASASLGASVKLTCTLSSQHSTYTI EWYQQQPEKGPRYLMELKKKGSHSTGDGIPD RFSGSSSGAERYLTISLQSEDEADYYCGVGD TIKEQFVYVFGGGTKLTVL	98
6C7H11	QLVLTQSPSASASLGASVKLTCTLSSQHSTYTI EWYQQQPEKGPRYLMELKKGGSHSTGDGIP DRFSGSSSGAERYLTISLQSEDEADYYCGVG DTIKEQFVYVFGGGTKLTVL	99
6C7H31; 6C7H35; 6C7H39; 6C7H49; 6C7H51 y 6C7H53	QPVLTQSPSASASLGASVKLTCTLSSQHSTYTI EWYQQQPEKGPRYLMELKKEGSHSTGDGIPD RFSGSSSGAERYLTISLQSEDEADYYCGVGV TIKEQFVYVFGGGTKLTVL	100
6C7H32; 6C7H36; 6C7H40; 6C7H43; 6C7H45 y 6C7H47	QLMLTQSPSASASLGASVKLTCTLSSQHSTYTI EWYQQQPGKGPYLMELKKEGSHSTGDGIP DRFSGSSSGAERYLTISLQSEDEADYYCGVG HTIKEQFVYEFGGGTKLTVL	101

Anticuerpo	LCVR	SEQ ID NO:
6C7H33; 6C7H37; 6C7H41; 6C7H50; 6C7H52 y 6C7H54	QLMLTQSPSASASLGASVKLTCTLSSQHSTYTI EWYQQQPGKGPRYLMELKKEGSHSTGDGIP DRFSGSSSGAERYLTISLQSEDEADYYCGVG HTIKEQFVYVFGGGTKLTVL	102
6C7H34; 6C7H38; 6C7H42; 6C7H44; 6C7H46 y 6C7H48	QPMLTQSPSASASLGASVKLTCTLSSQHSTYT IEWYQQQPGKGPRYLMELKKEGSHSTGDGIP DRFSGSSSGAERYLTISLQSEDEADYYCGVG LTIKEQFVYVFGGGTKLTVL	103

Ejemplo 4: Caracterización del impacto de la región Fc en un anticuerpo anti-CD33 de internalización

- 5 La finalidad de este ejemplo fue evaluar el impacto de la Fc sobre la capacidad de un anticuerpo anti-CD33 de disminuir el nivel de CD33 en la superficie celular en células mieloides primarias *in vitro* e *in vivo*.
- La región Fc de un anticuerpo puede interactuar con receptores de Fc γ expresados en la superficie de las células, y las células mieloides y otras células inmunitarias que expresan
- 10 CD33 de forma endógena también expresan múltiples receptores de Fc γ . Por lo tanto, se evaluó el efecto de la interacción de los distintos isotipos de IgG humana entre la Fc del anticuerpo y los receptores de Fc γ de la superficie celular, y la capacidad de agrupación de los anticuerpos sobre la capacidad del anticuerpo de internalizar el receptor.
- Se generaron los anticuerpos anti-CD33 que contienen las regiones variables 6C7H8,
- 15 6C7H10 o 6C7H54 y diferentes variantes de IgG humana. Los Fc evaluados incluyeron IgG1, que se une a todos los receptores de Fc γ ; IgG1 P331S, que contiene la mutación P331S y que presenta una disminución en la unión a C1q pero se une a todos los receptores de Fc γ ; IgG1 IgG1 SELF, que contiene las mutaciones S267E y L328F y que presenta una unión mejorada a CD32B y la variante R131 de CD32A; IgG2, que presenta una unión
- 20 considerable solamente a CD32A; e IgG1 LALAPS, que contiene las mutaciones L234A, L235A y P331S y que no presenta unión, o presenta muy poca, a cualquiera de los receptores de Fc γ . Se evaluaron los anticuerpos por su capacidad de disminuir el nivel de CD33 en la superficie celular en células dendríticas primarias humanas, de acuerdo con el método que se describe en el Ejemplo 2. Los datos se muestran en las **Figuras 12A, 12B y**
- 25 **12C**; en la **Tabla 13** se resume la concentración eficaz media máxima (EC₅₀) y la regulación por disminución máxima de CD33 con los anticuerpos.

Tabla 13: Regulación por disminución de CD33 en la superficie celular con anticuerpos anti-CD33 variantes de Fc

Anticuerpo	Regulación por disminución del receptor, (pM, EC₅₀)	Múltiplo de variación en la potencia respecto a IgG1	Regulación por disminución máxima (% de CD33 restantes)
6C7H8 IgG1	77,9	-	21,5
6C7H8 IgG1 LALAPS	83,7	0,93	67,4
6C7H10 IgG1	777,6	-	21,2
6C7H10 IgG2	772,5	1,01	24,2
6C7H10 IgG1 SELF	30,1	25,8	19,6
6C7H10 IgG1 LALAPS	1352,2	0,58	62,3
6C7H54 IgG1	30,2	-	26,1
6C7H54 IgG2	25,3	1,20	14,3
6C7H54 IgG1 PS	12,6	2,40	23,9

- 5 Los anticuerpos anti-CD33 elaborados con variantes de Fc diferentes presentaron un intervalo de capacidades para reducir el nivel de CD33 en la superficie de las células dendríticas. El isotipo SELF de IgG1 aportó la potencia más fuerte, ya que el anticuerpo 6C7H10 en SELF de IgG1 fue 25,8 veces más potente que el anticuerpo 6C7H10 IgG1 en la regulación por disminución de CD33 y los dos anticuerpos presentaron un nivel máximo
- 10 similar en la reducción de CD33. Sorprendentemente, el anticuerpo 6C7H8 IgG1 LALAPS y el anticuerpo 6C7H10 IgG1 LALAPS fueron considerablemente menos eficaces en la regulación por disminución de CD33 que sus anticuerpos cognados de IgG1 naturales, donde los anticuerpos IgG1 LALAPS redujeron el nivel de CD33 menos que el 40 %. El anticuerpo 6C7H10 IgG2 y el anticuerpo 6C7H54 IgG2 fueron similares en potencia respecto
- 15 a sus homólogos de IgG1 naturales. Si bien el anticuerpo 6C7H10 IgG2 redujo en forma máxima CD33 a un nivel similar al del anticuerpo 6C7H10 IgG1, el anticuerpo 6C7H54 IgG2 presentó una reducción máxima de CD33 más importante que el anticuerpo 6C7H54 IgG1. En oposición, el anticuerpo 6C7H54 IgG1 PS presentó una potencia apenas mejorada en la regulación por disminución de CD33 en comparación con lo observado con el anticuerpo
- 20 6C7H54 IgG1, pero los dos anticuerpos presentaron una reducción máxima similar de CD33. Estos datos muestran que la región Fc afectó fuertemente tanto la potencia como la reducción máxima del receptor con un anticuerpo anti-CD33, lo que indica que la regulación

por disminución del receptor se potencia con la interacción del anticuerpo con uno o más receptores $Fc\gamma$.

LISTADO DE SECUENCIAS INFORMAL

Secuencias CD33 (SEQ ID NO: 1-2)

Secuencia de aminoácidos de CD33 humana (**SEQ ID NO: 1**):

5 MPLLLLLPLLWAGALAMDPNFWLQVQESVTVQEGLCVLVPCTFFHPIPYDKNSPVHGYWF
REGAIISRDSVPATNKLDQEVQEETQGRFRLLGDPSRNNCSLSIVDARRRDNGSYFFRMER
GSTKYSYKSPQLSVHVTDLTHRPKILIPGTLEPGHSKNLTCSVSWACEQGTPIFSWLSAAP
TSLGPRTHSSVLIITPRPQDHGTNLTQVKFAGAGVTTERTIQLNVTYVPQNPTTGIFPGDG
SGKQETRAGVVHGAIGGAGVTALLALCLCLIFFIVKTHRRKAARTAVGRNDTHPTTGSASPK
10 HQKSKSLHGPTETSSCSGAAPTVMDEELHYASLNFHGMNPSKDTSTEYSEVRTQ

Secuencia de aminoácidos de CD33 de macaco cangrejero (**SEQ ID NO 2**)

MDGEHLKGRNQGAQETSASDMPLLLLPLLWAGALAMDPVRLEVQESVTVQEGLCVLVPC
TFFHPVPYHTRNSPVHGYWFRGAIIVSLDSPVATNKLDQEVQEETQGRFRLLGDPSRNNC
15 SLSIVDARRRDNGSYFFRMEKGSTKYSYKSTQLSVHVTDLTHRPQILIPGALDPDHSKNLTC
SVPWACEQGTPIFSWMSAAPTSLGLRTHSSVLIITPRPQDHGTNLTQVKFPGAGVTTER
TIQLNVSYSQNPRTDIFLGDGSGKQGVVQGAIGGAGVTVLLALCLCLIFFTVKTHRRKAART
AVGRIDTHPATGPTSSKHQKSKLHGATETSGCSGTTLTVMDEELHYASLNFHGMNPSED
TSTEYSEVRTQ

20

Secuencias de anticuerpo anti-CD33 de referencia (SEQ ID NO: 3-4)

Región variable de cadena pesada del anticuerpo 6C7 de ratón (**SEQ ID NO:3**)

EVKLEESGGGLVQPGGSMKLSCVSGSFTFSNYCMNWVRQSPEKGLEWVAEIRLKSNNYV
TNYVESVKGRFTISRDDSKSRVYLQMNRLRGEDTGFYYCTRDGYYPFAYWGQGLTVTVS
25 A

Región variable de cadena ligera del anticuerpo 6C7 de ratón (**SEQ ID NO:4**)

QLVLTQSSSASFSLGASAKLTCTLSSQHSTYIEWYQQQPLKPPKYVMELKKDGSHTGD
GIPDRFSGSSSGADRYLSISNIQPEDEAIYICGVGDTIKEQFVYVFGGGTKVTVL

30

Secuencias de región hipervariable de cadena pesada (SEQ ID NO: 8-30, 33, 38-40)

Anticuerpo	HVR-H1	SEQ ID NO:	HVR-H2	SEQ ID NO:	HVR-H3	SEQ ID NO:
6C7H1; 6C7H2; 6C7H3; 6C7H4;	NYCMN	8	EIRLKSNNYV TNYAASVKG	33	DGYYPFA Y	38

Anticuerpo	HVR-H1	SEQ ID NO:	HVR-H2	SEQ ID NO:	HVR-H3	SEQ ID NO:
6C7H5; 6C7H6; 6C7H7						
6C7H8	NYCMN	8	EIRLKSNNYV TNYAASVKG	33	AGYYVPFA Y	39
6C7H9; 6C7H10; 6C7H11	EYAMN	9	EIRLKSNNYV TNYAASVKG	33	AGYYVPFA Y	39
6C7H12	NYGMN	10	EIRLKSNNYV TNYAASVKG	33	AGYYVPFA Y	39
6C7H13	NYFMN	11	EIRLKSNNYV TNYAASVKG	33	AGYYVPFA Y	39
6C7H14	NYAMN	12	EIRLKSNNYV TNYAASVKG	33	AGYYVPFA Y	39
6C7H15	NYSMN	13	EIRLKSNNYV TNYAASVKG	33	AGYYVPFA Y	39
6C7H16	NYLMN	14	EIRLKSNNYV TNYAASVKG	33	AGYYVPFA Y	39
6C7H17	NYVMN	15	EIRLKSNNYV TNYAASVKG	33	AGYYVPFA Y	39
6C7H18	NYHMN	16	EIRLKSNNYV TNYAASVKG	33	AGYYVPFA Y	39
6C7H19	NYRMN	17	EIRLKSNNYV TNYAASVKG	33	AGYYVPFA Y	39
6C7H20	NYPMN	18	EIRLKSNNYV TNYAASVKG	33	AGYYVPFA Y	39
6C7H21	NYQMN	19	EIRLKSNNYV TNYAASVKG	33	AGYYVPFA Y	39
6C7H22	NYTMN	20	EIRLKSNNYV TNYAASVKG	33	AGYYVPFA Y	39
6C7H23	NYVMN	21	EIRLKSNNYV	33	AGYYVPFA	39

Anticuerpo	HVR-H1	SEQ ID NO:	HVR-H2	SEQ ID NO:	HVR-H3	SEQ ID NO:
			TNYAASVKG		Y	
6C7H24	NYNMN	22	EIRLKSNNYV TNYAASVKG	33	AGYYVPFA Y	39
6C7H25; 6C7H47; 6C7H48; 6C7H53; 6C7H54	NYEMN	23	EIRLKSNNYV TNYAASVKG	33	AGYYVPFA Y	39
6C7H26	NYIMN	24	EIRLKSNNYV TNYAASVKG	33	AGYYVPFA Y	39
6C7H27	DYTMN	25	EIRLKSNNYV TNYAASVKG	33	AGYYVPFA Y	39
6C7H28	DYSMN	26	EIRLKSNNYV TNYAASVKG	33	AGYYVPFA Y	39
6C7H29	AYSMN	27	EIRLKSNNYV TNYAASVKG	33	AGYYVPFA Y	39
6C7H30	NYWMN	28	EIRLKSNNYV TNYAASVKG	33	AGYYVPFA Y	39
6C7H31; 6C7H32; 6C7H33; 6C7H34	EYDML	29	EIRLKSNNYV TNYAASVKG	33	AGYYVPFA Y	39
6C7H35; 6C7H36; 6C7H37; 6C7H38	EYAML	30	EIRLKSNNYV TNYAASVKG	33	AGYYVPFT Y	40
6C7H39; 6C7H40; 6C7H41; 6C7H42	EYDML	29	EIRLKSNNYV TNYAASVKG	33	AGYYVPFA Y	39
6C7H43; 6C7H44; 6C7H49;	EYDML	29	EIRLKSNNYV TNYAASVKG	33	AGYYVPFA Y	39

Anticuerpo	HVR-H1	SEQ ID NO:	HVR-H2	SEQ ID NO:	HVR-H3	SEQ ID NO:
6C7H50						
6C7H45; 6C7H46; 6C7H51; 6C7H52	EYAML	30	EIRLKSNNYV TNYAASVKG	33	AGYYVPFA Y	39

Secuencias de región hipervariable de cadena ligera (SEQ ID NO: 47, 52-55, 58-62)

Anticuerpo	HVR-L1	SEQ ID NO:	HVR-L2	SEQ ID NO:	HVR-L3	SEQ ID NO:
6C7H1; 6C7H2; 6C7H3; 6C7H4; 6C7H5; 6C7H6; 6C7H7	TLSSQHS TYTIE	47	LKKDGSHT GD	52	GVGDTI KEQFVY V	58
6C7H8; 6C7H10; 6C7H12; 6C7H13; 6C7H14; 6C7H15; 6C7H16; 6C7H17; 6C7H18; 6C7H19; 6C7H20; 6C7H21; 6C7H22; 6C7H23; 6C7H24; 6C7H25; 6C7H26; 6C7H27; 6C7H28; 6C7H29; 6C7H30	TLSSQHS TYTIE	47	LKKEGSHST GD	53	GVGDTI KEQFVY V	58
6C7H9	TLSSQHS TYTIE	47	LKKKGSHST GD	54	GVGDTI KEQFVY V	58
6C7H11	TLSSQHS TYTIE	47	LKKGGSHST GD	55	GVGDTI KEQFVY V	58
6C7H31; 6C7H35; 6C7H39; 6C7H49; 6C7H51; 6C7H53	TLSSQHS TYTIE	47	LKKEGSHST GD	53	GVGVTI KEQFVY V	59

Anticuerpo	HVR-L1	SEQ ID NO:	HVR-L2	SEQ ID NO:	HVR-L3	SEQ ID NO:
6C7H32; 6C7H36; 6C7H40; 6C7H43; 6C7H45; 6C7H47	TLSSQHS TYTIE	47	LKKEGSHST GD	53	GVGHTI KEQFVY E	60
6C7H33; 6C7H37; 6C7H41; 6C7H50; 6C7H52; 6C7H54	TLSSQHS TYTIE	47	LKKEGSHST GD	53	GVGHTI KEQFVY V	61
6C7H34; 6C7H38; 6C7H42; 6C7H44; 6C7H46; 6C7H48	TLSSQHS TYTIE	47	LKKEGSHST GD	53	GVGLTIK EQFVYV	62

Secuencias de armazón de cadena pesada (SEQ ID NO: 5-7, 31-32, 34-37, 41)

Anticuerpo	VH FR1	SEQ ID NO:	VH FR2	SEQ ID NO:	VH FR3	SEQ ID NO:	VH FR4	SEQ ID NO:
6C7H1; 6C7H3; 6C7H6	EVQLV ESGG GLVQP GGSLR LSCAA SGFTF S	5	WVRQA PGKGL EWVG	31	RFTISR DDSKN SLYLQ MNSLK TEDTA VYYCA R	34	WGQG TLVTV SS	41
6C7H2; 6C7H5; 6C7H8	EVQLV ESGG GLVQP GGSLR LSCAG SGFTF S	6	WVRQA PGKGL EWVA	32	RFTISR DDSKN SVYLQ MNSLK TEDTG VYYCT R	35	WGQG TLVTV SS	41
6C7H4; 6C7H7	EVQLV ESGG GLVQP GGSLR LSCAG SGFTF	6	WVRQA PGKGL EWVA	32	RFTISR DDSKN SLYLQ MNSLK TEDTA VYYCT	36	WGQG TLVTV SS	41

Anticuerpo	VH FR1	SEQ ID NO:	VH FR2	SEQ ID NO:	VH FR3	SEQ ID NO:	VH FR4	SEQ ID NO:
	S				R			
6C7H9; 6C7H10; 6C7H11	EVQLV ESGG GLVQP GGSLR LSCAA SGFTF S	5	WVRQA PGKGL EWVG	31	RFTISR DDSKN SVYLQ MNSLK TEDTG VYYCT R	35	WGQG TLVTV SS	41
6C7H12; 6C7H13; 6C7H14; 6C7H15; 6C7H16; 6C7H17; 6C7H18; 6C7H19; 6C7H20; 6C7H21; 6C7H22; 6C7H23; 6C7H24; 6C7H25; 6C7H26; 6C7H27; 6C7H28; 6C7H29; 6C7H30; 6C7H47; 6C7H48; 6C7H53; 6C7H54	EVQLV ESGG GLVQP GGSLR LSCAG SGFTF S	6	WVRQA PGKGL EWVA	32	RFTISR DDSKN SVYLQ MNSLK TEDTG VYYCT R	35	WGQG TLVTV SS	41
6C7H31; 6C7H32;	EVQLV ESGG	7	WVRQA PGKGL	31	RFTISR DDSKN	35	WGQG TLVTV	41

Anticuerpo	VH FR1	SEQ ID NO:	VH FR2	SEQ ID NO:	VH FR3	SEQ ID NO:	VH FR4	SEQ ID NO:
6C7H33; 6C7H34	GLVQP GGSLR LSCAA SGSTF S		EWVG		SVYLQ MNSLK TEDTG VYYCT R		SS	
6C7H35; 6C7H36; 6C7H37; 6C7H38; 6C7H43; 6C7H44; 6C7H45; 6C7H46; 6C7H49; 6C7H50; 6C7H51; 6C7H52	EVQLV ESGG GLVQP GGSLR LSCAA SGFTF S	5	WVRQA PGKGL EWVG	31	RFTISR DDSKN SVYLQ MNSLK TEDTG VYYCT R	35	WGQG TLVTV SS	41
6C7H39; 6C7H40; 6C7H41; 6C7H42	EVQLV ESGG GLVQP GGSLR LSCAA SGFTF S	5	WVRQA PGKGL EWVG	31	RFTISR DDTKN SVYLQ MNSLK TEDTG VYYCT R	37	WGQG TLVTV SS	41

Secuencias de armazón de cadena ligera (SEQ ID NO: 42-46, 48-51, 56-57, 63-64)

Anticuerpo	VL FR1	SEQ ID NO:	VL FR2	SEQ ID NO:	VL FR3	SEQ ID NO:	VL FR4	SEQ ID NO:
6C7H1; 6C7H2	QLVL TQSP SASA SLGA	42	WHQQ QPEK GPRY LMK	48	GIPDR FSGS SSGA ERYLT	56	FGGGTK LTVL	63

Anticuerpo	VL FR1	SEQ ID NO:	VL FR2	SEQ ID NO:	VL FR3	SEQ ID NO:	VL FR4	SEQ ID NO:
	SVKL TC				ISSLQ SEDE ADYY C			
6C7H3; 6C7H4; 6C7H5; 6C7H8; 6C7H10; 6C7H12; 6C7H13; 6C7H14; 6C7H15; 6C7H16; 6C7H17; 6C7H18; 6C7H19; 6C7H20; 6C7H21; 6C7H22; 6C7H23; 6C7H24; 6C7H25; 6C7H26; 6C7H27; 6C7H28; 6C7H29; 6C7H30	QLVL TQSP SASA SLGA SVKL TC	42	WYQQ QPEK GPRY LME	49	GIPDR FSGS SSGA ERYLT ISSLQ SEDE ADYY C	56	FGGGTK LTVL	63
6C7H6; 6C7H7	QLVL TQSP SASA SLGA SAKL	43	WYQQ QPEK GPRY VME	50	GIPDR FSGS SSGA ERYLT ISSIQ	57	FGGGTK VTVL	64

Anticuerpo	VL FR1	SEQ ID NO:	VL FR2	SEQ ID NO:	VL FR3	SEQ ID NO:	VL FR4	SEQ ID NO:
	TC				SEDE ADYIC			
6C7H9; 6C7H11	QLVL TQSP SASA SLGA SVKL TC	42	WYQQ QPEK GPRY LME	49	GIPDR FSGS SSGA ERYLT ISSLQ SEDE ADYY C	56	FGGGTK LTVL	63
6C7H31; 6C7H35; 6C7H39; 6C7H49; 6C7H51; 6C7H53	QPVL TQSP SASA SLGA SVKL TC	44	WYQQ QPEK GPRY LME	49	GIPDR FSGS SSGA ERYLT ISSLQ SEDE ADYY C	56	FGGGTK LTVL	63
6C7H32; 6C7H36; 6C7H40; 6C7H43; 6C7H45; 6C7H47; 6C7H33; 6C7H37; 6C7H41; 6C7H50; 6C7H52; 6C7H54	QLML TQSP SASA SLGA SVKL TC	45	WYQQ QPGK GPRY LME	51	GIPDR FSGS SSGA ERYLT ISSLQ SEDE ADYY C	56	FGGGTK LTVL	63
6C7H34; 6C7H38; 6C7H42;	QPML TQSP SASA	46	WYQQ QPGK GPRY	51	GIPDR FSGS SSGA	56	FGGGTK LTVL	63

Anticuerpo	VL FR1	SEQ ID NO:	VL FR2	SEQ ID NO:	VL FR3	SEQ ID NO:	VL FR4	SEQ ID NO:
6C7H44; 6C7H46; 6C7H48	SLGA SVKL TC		LME		ERYLT ISSLQ SEDE ADYY C			

Secuencias de región variable de cadena pesada (SEQ ID NO: 65-93)

Anticuerpo	HCVR	La SEQ ID NO:
6C7H1; 6C7H3; y 6C7H6	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYCMN WVRQAPGKGLEWVGEIRLKSNNYVTNYAASVKGRF TISRDDSKNSLYLQMNSLKTEDTAVYYCARDGYYVP FAYWGQGTLLTVSS	65
6C7H2 y 6C7H5	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAGSGFTFSNYCMN WVRQAPGKGLEWVAEIRLKSNNYVTNYAASVKGRF TISRDDSKNSVYLQMNSLKTEDTGVYYCTRDGYYVP FAYWGQGTLLTVSS	66
6C7H4 y 6C7H7	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAGSGFTFSNYCMN WVRQAPGKGLEWVAEIRLKSNNYVTNYAASVKGRF TISRDDSKNSLYLQMNSLKTEDTAVYYCTRDGYYVP FAYWGQGTLLTVSS	67
6C7H8	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAGSGFTFSNYCMN WVRQAPGKGLEWVAEIRLKSNNYVTNYAASVKGRF TISRDDSKNSVYLQMNSLKTEDTGVYYCTRAGYYVP FAYWGQGTLLTVSS	68
6C7H9; 6C7H10; y 6C7H11	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSEYAMN WVRQAPGKGLEWVGEIRLKSNNYVTNYAASVKGRF TISRDDSKNSVYLQMNSLKTEDTGVYYCTRAGYYVP FAYWGQGTLLTVSS	69
6C7H12	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAGSGFTFSNYGMN WVRQAPGKGLEWVAEIRLKSNNYVTNYAASVKGRF TISRDDSKNSVYLQMNSLKTEDTGVYYCTRAGYYVP FAYWGQGTLLTVSS	70

Anticuerpo	HCVR	La SEQ ID NO:
6C7H13	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAGSGFTFSNYFMN WVRQAPGKGLEWVAEIRLKSNNYVTNYAASVKGRF TISRDDSKNSVYLQMNSLKTEDTGVYYCTRAGYYVP FAYWGQGTLVTVSS	71
6C7H14	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAGSGFTFSNYAMN WVRQAPGKGLEWVAEIRLKSNNYVTNYAASVKGRF TISRDDSKNSVYLQMNSLKTEDTGVYYCTRAGYYVP FAYWGQGTLVTVSS	72
6C7H15	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAGSGFTFSNYSMN WVRQAPGKGLEWVAEIRLKSNNYVTNYAASVKGRF TISRDDSKNSVYLQMNSLKTEDTGVYYCTRAGYYVP FAYWGQGTLVTVSS	73
6C7H16	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAGSGFTFSNYLMN WVRQAPGKGLEWVAEIRLKSNNYVTNYAASVKGRF TISRDDSKNSVYLQMNSLKTEDTGVYYCTRAGYYVP FAYWGQGTLVTVSS	74
6C7H17	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAGSGFTFSNYYMN WVRQAPGKGLEWVAEIRLKSNNYVTNYAASVKGRF TISRDDSKNSVYLQMNSLKTEDTGVYYCTRAGYYVP FAYWGQGTLVTVSS	75
6C7H18	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAGSGFTFSNYHMN WVRQAPGKGLEWVAEIRLKSNNYVTNYAASVKGRF TISRDDSKNSVYLQMNSLKTEDTGVYYCTRAGYYVP FAYWGQGTLVTVSS	76
6C7H19	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAGSGFTFSNYRMN WVRQAPGKGLEWVAEIRLKSNNYVTNYAASVKGRF TISRDDSKNSVYLQMNSLKTEDTGVYYCTRAGYYVP FAYWGQGTLVTVSS	77
6C7H20	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAGSGFTFSNYPMN WVRQAPGKGLEWVAEIRLKSNNYVTNYAASVKGRF TISRDDSKNSVYLQMNSLKTEDTGVYYCTRAGYYVP FAYWGQGTLVTVSS	78
6C7H21	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAGSGFTFSNYQMN WVRQAPGKGLEWVAEIRLKSNNYVTNYAASVKGRF	79

Anticuerpo	HCVR	La SEQ ID NO:
	TISRDDSKNSVYLQMNSLKTEDTGVYYCTRAGYYVP FAYWGQGTTLTVSS	
6C7H22	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAGSGFTFSNYTMN WVRQAPGKGLEWVAEIRLKSNNYVTNYAASVKGRF TISRDDSKNSVYLQMNSLKTEDTGVYYCTRAGYYVP FAYWGQGTTLTVSS	80
6C7H23	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAGSGFTFSNYVMN WVRQAPGKGLEWVAEIRLKSNNYVTNYAASVKGRF TISRDDSKNSVYLQMNSLKTEDTGVYYCTRAGYYVP FAYWGQGTTLTVSS	81
6C7H24	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAGSGFTFSNYNMN WVRQAPGKGLEWVAEIRLKSNNYVTNYAASVKGRF TISRDDSKNSVYLQMNSLKTEDTGVYYCTRAGYYVP FAYWGQGTTLTVSS	82
6C7H25; 6C7H47; 6C7H48; 6C7H53; y 6C7H54	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAGSGFTFSNYEMN WVRQAPGKGLEWVAEIRLKSNNYVTNYAASVKGRF TISRDDSKNSVYLQMNSLKTEDTGVYYCTRAGYYVP FAYWGQGTTLTVSS	83
6C7H26	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAGSGFTFSNYIMN WVRQAPGKGLEWVAEIRLKSNNYVTNYAASVKGRF TISRDDSKNSVYLQMNSLKTEDTGVYYCTRAGYYVP FAYWGQGTTLTVSS	84
6C7H27	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAGSGFTFSNYTMN WVRQAPGKGLEWVAEIRLKSNNYVTNYAASVKGRF TISRDDSKNSVYLQMNSLKTEDTGVYYCTRAGYYVP FAYWGQGTTLTVSS	85
6C7H28	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAGSGFTFSNYSMN WVRQAPGKGLEWVAEIRLKSNNYVTNYAASVKGRF TISRDDSKNSVYLQMNSLKTEDTGVYYCTRAGYYVP FAYWGQGTTLTVSS	86
6C7H29	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAGSGFTFSAYSMN WVRQAPGKGLEWVAEIRLKSNNYVTNYAASVKGRF TISRDDSKNSVYLQMNSLKTEDTGVYYCTRAGYYVP FAYWGQGTTLTVSS	87

Anticuerpo	HCVR	La SEQ ID NO:
6C7H30	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAGSGFTFSNYWM NWVRQAPGKGLEWVAEIRLKSNNYVTNYAASVKGR FTISRDDSKNSVYLQMNSLKTEDTGVYYCTRAGYYV PFAYWGQGTLTVSS	88
6C7H31; 6C7H32; 6C7H33; y 6C7H34	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGSTFSEYDML WVRQAPGKGLEWVGEIRLKSNNYVTNYAASVKGRF TISRDDSKNSVYLQMNSLKTEDTGVYYCTRAGYYVP FAYWGQGTLTVSS	89
6C7H35; 6C7H36; 6C7H37; y 6C7H38	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSEYAML WVRQAPGKGLEWVGEIRLKSNNYVTNYAASVKGRF TISRDDSKNSVYLQMNSLKTEDTGVYYCTRAGYYVP FTYWGQGTLTVSS	90
6C7H39; 6C7H40; 6C7H41; y 6C7H42	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSEYDML WVRQAPGKGLEWVGEIRLKSNNYVTNYAASVKGRF TISRDDTKNSVYLQMNSLKTEDTGVYYCTRAGYYVP FAYWGQGTLTVSS	91
6C7H43; 6C7H44; 6C7H49; y 6C7H50	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSEYDML WVRQAPGKGLEWVGEIRLKSNNYVTNYAASVKGRF TISRDDSKNSVYLQMNSLKTEDTGVYYCTRAGYYVP FAYWGQGTLTVSS	92
6C7H45; 6C7H46; 6C7H51; y 6C7H52	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSEYAML WVRQAPGKGLEWVGEIRLKSNNYVTNYAASVKGRF TISRDDSKNSVYLQMNSLKTEDTGVYYCTRAGYYVP FAYWGQGTLTVSS	93

Secuencias de región variable de cadena ligera (SEQ ID NO: 94-103)

Anticuerpo	LCVR	La SEQ ID NO:
6C7H1 y 6C7H2	QLVLTQSPSASASLGASVKLTCTLSSQHSYTI EWHQQQPEKGPRLMKLKKDGSHTGDGIP DRFSGSSSGAERYLTISLQSEDEADYYCGVG DTIKEQFVYVFGGGTKLTVL	94
6C7H3; 6C7H4; y 6C7H5	QLVLTQSPSASASLGASVKLTCTLSSQHSYTI	95

Anticuerpo	LCVR	La SEQ ID NO:
	EWYQQQPEKGPRYLMELKKDGSHTGDGIPD RFSGSSSSGAERYLTISSLQSEDEADYYCGVGD TIKEQFVYVFGGGTKLTVL	
6C7H6 y 6C7H7	QLVLTQSPSASASLGASAKLTCTLSSQHSTYTI EWYQQQPEKGPRYVMELKKDGSHTGDGIP DRFSGSSSSGAERYLTISSIQSEDEADYICGVG DTIKEQFVYVFGGGTKVTVL	96
6C7H8; 6C7H10; 6C7H12; 6C7H13; 6C7H14; 6C7H15; 6C7H16; 6C7H17; 6C7H18; 6C7H19; 6C7H20; 6C7H21; 6C7H22; 6C7H23; 6C7H24; 6C7H25; 6C7H26; 6C7H27; 6C7H28; 6C7H29 y 6C7H30	QLVLTQSPSASASLGASVKLTCTLSSQHSTYTI EWYQQQPEKGPRYLMELKKEGSHSTGDGIPD RFSGSSSSGAERYLTISSLQSEDEADYYCGVGD TIKEQFVYVFGGGTKLTVL	97
6C7H9	QLVLTQSPSASASLGASVKLTCTLSSQHSTYTI EWYQQQPEKGPRYLMELKKKGSHSTGDGIPD RFSGSSSSGAERYLTISSLQSEDEADYYCGVGD TIKEQFVYVFGGGTKLTVL	98
6C7H11	QLVLTQSPSASASLGASVKLTCTLSSQHSTYTI EWYQQQPEKGPRYLMELKKGGSHSTGDGIP DRFSGSSSSGAERYLTISSLQSEDEADYYCGVG DTIKEQFVYVFGGGTKLTVL	99
6C7H31; 6C7H35; 6C7H39; 6C7H49; 6C7H51 y 6C7H53	QPVLTQSPSASASLGASVKLTCTLSSQHSTYTI EWYQQQPEKGPRYLMELKKEGSHSTGDGIPD RFSGSSSSGAERYLTISSLQSEDEADYYCGVGV TIKEQFVYVFGGGTKLTVL	100
6C7H32; 6C7H36; 6C7H40; 6C7H43; 6C7H45 y 6C7H47	QLMLTQSPSASASLGASVKLTCTLSSQHSTYTI EWYQQQPGKGPRYLMELKKEGSHSTGDGIP DRFSGSSSSGAERYLTISSLQSEDEADYYCGVG HTIKEQFVYEFGGGTKLTVL	101
6C7H33; 6C7H37; 6C7H41;	QLMLTQSPSASASLGASVKLTCTLSSQHSTYTI	102

Anticuerpo	LCVR	La SEQ ID NO:
6C7H50; 6C7H52 y 6C7H54	EWYQQQPGKGPRYLMELKKEGSHSTGDGIP DRFSGSSSSGAERYLTISLQSEDEADYYCGVG HTIKEQFVYVFGGGTKLTVL	
6C7H34; 6C7H38; 6C7H42; 6C7H44; 6C7H46 y 6C7H48	QPMLTQSPSASASLGASVKLTCTLSSQHSTYT IEWYQQQPGKGPRYLMELKKEGSHSTGDGIP DRFSGSSSSGAERYLTISLQSEDEADYYCGVG LTIKEQFVYVFGGGTKLTVL	103

Secuencias varias

- 5 motivo D/Ex0–2YxxL/IX6–8YxxL/I (**SEQ ID NO: 104**)

ASTKGPSVFP LAPCSRSTSE STAALGCLVK DYFPEPVTVS WNSGALTSGV
HTFPAVLQSS GLYSLSSVVT VPSSNFGTQT YTCNVDHKPS NTKVDKTVR
KCCVECPPCP (**SEQ ID NO: 105**)

10

Secuencias variantes de Fc humano

Variante de Fc humano	Secuencia de aminoácidos	La SEQ ID NO:
IgG1 - WT	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEP VTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVP SSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHT CPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIE KTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVK GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFL YSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSL SLSPGK	106
IgG1 – WT sin lisina de extremo	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEP VTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVP	107

Variante de Fc humano	Secuencia de aminoácidos	La SEQ ID NO:
	SSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHT CPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIE KTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVK GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGDSFFL YSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSL SLSPG	
IgG1 – LALAPS (L234A, L235A y P331S)	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEP VTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVP SSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHT CPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTC VVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPASI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLV KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGDSFF LYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKS LSLSPGK	108
IgG1 – LALAPS (L234A, L235A y P331S) sin lisina de extremo	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEP VTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVP SSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHT CPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTC VVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPASI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLV KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGDSFF LYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKS LSLSPG	109
IgG1 – PS (P331S)	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEP VTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVP SSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHT CPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPASIE	110

Variante de Fc humano	Secuencia de aminoácidos	La SEQ ID NO:
	KTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVK GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFL YSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSL SLSPGK	
IgG1 – PS (P331S) sin lisina de extremo	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEP VTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVP SSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHT CPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPASIE KTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVK GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFL YSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSL SLSPG	111
IgG1 – PSEG (P331S y E430G)	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEP VTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVP SSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHT CPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPASIE KTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVK GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFL YSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHGALHNHYTQKSL SLSPGK	112
IgG1 – PSEG (P331S y E430G) sin lisina de extremo	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEP VTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVP SSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHT CPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPASIE KTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVK GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFL YSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHGALHNHYTQKSL SLSPG	113

Variante de Fc humano	Secuencia de aminoácidos	La SEQ ID NO:
IgG1 – NSLF (N325S y L328F)	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEP VTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVP SSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHT CPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSSKAFPAPIE KTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVK GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFL YSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSL SLSPGK	114
IgG1 – NSLF (N325S y L328F) sin lisina de extremo	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEP VTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVP SSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHT CPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSSKAFPAPIE KTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVK GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFL YSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSL SLSPG	115
IgG1 – SELF (S267E y L328F)	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEP VTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVP SSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHT CPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVEHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKAFPAPIE KTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVK GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFL YSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSL SLSPGK	116
IgG1 – SELF (S267E y L328F) sin lisina de extremo	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEP VTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVP SSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHT CPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV	117

Variante de Fc humano	Secuencia de aminoácidos	La SEQ ID NO:
	VVDVEHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKAFPAPIE KTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVK GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGGSFFL YSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG	
IgG2	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEP VTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVP SSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTKVERKCCVECP PCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTF RVVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTI SKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGF YPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPMLDSGGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	118
IgG2 sin lisina de extremo	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEP VTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVP SSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTKVERKCCVECP PCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTF RVVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTI SKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGF YPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPMLDSGGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG	119

Secuencias de anticuerpo completas (regiones variables 6C7H54; IgG2)

Cadena pesada con lisina terminal (**SEQ ID NO: 120**)

- 5 EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAGSGFTFSNYEMNWVRQAPGKGLEWVAEIRLKSNNYVT
NYAASVKGRFTISRDDSKNSVYLQMNSLKTEDTGVYYCTRAGYYVPFAYWGQGTLVTVSS
ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSG
LYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTKVERKCCVECPPCPAPPVAGPSVFLF
PPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVS

VLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSL
 TCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSC
 SVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

- 5 Cadena pesada sin lisina de extremo (**SEQ ID NO: 121**)
 EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAGSGFTFSNYEMNWVRQAPGKGLEWVAEIRLKSNNYVT
 NYAASVKGRFTISRDDSKNSVYLQMNSLKTEDTGVYYCTRAGYYVPFAYWGQGTLVTVSS
 ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSG
 LYSLSVVTVPSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVRKCCVECPPCPAPPVAGPSVFLF
- 10 PPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVS
 VLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSL
 TCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSC
 SVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
- 15 Cadena ligera (**SEQ ID NO: 122**)
 QLMLTQSPSASASLGASVKLTCTLSSQHSITYTIEWYQQQPGKGPRLMELKKEGSHSTGD
 GIPDRFSGSSSGAERYLTISLQSEDEADYYCGVGHTIKEQFVYVFGGGTKLTVLGQPKAAP
 SVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTTPSKQSNNKYAAS
 SYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS
- 20

