

(19)



**Евразийское  
патентное  
ведомство**

(11) **048185**

(13) **B1**

**(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ**

**(45)** Дата публикации и выдачи патента  
**2024.10.31**

**(21)** Номер заявки  
**202193313**

**(22)** Дата подачи заявки  
**2020.07.15**

**(51)** Int. Cl. **C07K 16/18** (2006.01)  
**A61P 29/00** (2006.01)  
**A61K 39/00** (2006.01)

---

**(54) АНТИТЕЛА К МЕТАЛЛОТИОНЕИНУ И ИХ ПРИМЕНЕНИЕ**

---

**(31)** **62/874,340**

**(32)** **2019.07.15**

**(33)** **US**

**(43)** **2022.04.19**

**(86)** **PCT/US2020/042064**

**(87)** **WO 2021/011608 2021.01.21**

**(71)(73)** Заявитель и патентовладелец:  
**ЮНИВЕРСИТИ ОФ  
КОННЕКТИКУТ (US)**

**(72)** Изобретатель:  
**Лайнс Майкл (US)**

**(74)** Представитель:  
**Нилова М.И. (RU)**

**(56)** **WO-A1-2013007678**

**HAYNES VANESSA ET AL.:**  
"Metallothionein 2agene expression is increased in subcutaneous adipose tissue of type 2 diabetic patients", **MOLECULAR GENETICS AND METABOLISM**, vol. 108, no. 1, 25 July 2012 (2012-07-25), pages 90-94, XP028962327, ISSN: 1096-7192, DOI: 10.1016/J.YMGME.2012.10.012, Abstract and last paragraph of page 93

**LINA YANG ET AL.:** "Polymorphisms in metallothionein-1 and -2 genes associated with the risk of type 2 diabetes mellitus and its complications", **AMERICAN JOURNAL OF PHYSIOLOGY: ENDOCRINOLOGY AND METABOLISM.**, vol. 294, no. 5, 1 May 2008 (2008-05-01), pages E987-E992, XP055735414, US, ISSN: 0193-1849, DOI: 10.1152/ajpendo.90234.2008, abstract

**WO-A1-2019143767**

---

**(57)** В настоящем документе раскрыты выделенные антитела к металлотиионеину или их фрагменты и их применение в лечении воспаления кишечника, диабета, предиабета, нарушения толерантности к глюкозе, гепатита и/или воспалительного заболевания печени.

---

**048185**

**B1**

**048185**  
**B1**

### Перекрестная ссылка

Настоящая заявка испрашивает приоритет согласно предварительной заявке на патент США с серийным номером 62/874340, поданной 15 июля 2019 г., которая полностью включена в настоящий документ посредством ссылки.

### Отчет о федеральном финансировании

Настоящее изобретение было осуществлено при государственной поддержке в рамках гранта № ES07408, выданного Национальными институтами здравоохранения. Правительство имеет определенные права на настоящее изобретение.

### Ссылка на перечень последовательностей

Настоящая заявка включает перечень последовательностей, представленный в виде электронного файла в текстовом формате, который назван "19-1213-PCТ\_Sequence-Listing\_ST25.txt", имеет размер в байтах 21 кб и создан 13 июля 2020 г. Информация, содержащаяся в этом электронном файле, полностью включена в настоящий документ посредством ссылки в соответствии с §1.52(e)(5) раздела 37 Свода федеральных нормативных актов США.

### Уровень техники

Для лечения диабета чаще всего применяют инсулинотерапию. Проводятся исследования по замене островков, повреждаемых при диабете, но если воспалительные процессы, повреждающие островок, вырабатывающий инсулин, не прекращаются, трансплантаты островков или репопуляция стволовых клеток островков в поджелудочной железе будут представлять собой кратковременные варианты лечения. Аналогичным образом, неудовлетворительными являются существующие реагенты и способы лечения гепатита и/или воспалительного заболевания печени.

### Краткое описание изобретения

Согласно одному аспекту настоящего раскрытия предложено выделенное антитело к металлотионеину (MT) или его фрагмент, содержащие 1, 2 или все 3 определяющие комплементарность участки (CDR), выбранные из группы, состоящей из:

CDR1 легкой цепи (L-CDR1), который содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 80, 85, 90, 95 или 100% идентична аминокислотной последовательности QSIVHSNGNTYLE (SEQ ID NO: 1);

CDR2 легкой цепи (L-CDR2), который содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 80, 85, 90, 95 или 100% идентична аминокислотной последовательности KVS (SEQ ID NO: 2); и

CDR3 легкой цепи (L-CDR3), который содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 80, 85, 90, 95 или 100% идентична аминокислотной последовательности FQGSHPV(A/T) (SEQ ID NO: 3), и/или содержащие 1, 2 или все 3 определяющие комплементарность участки (CDR), выбранные из группы, состоящей из:

CDR1 тяжелой цепи (H-CDR1), который содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 80, 85, 90, 95 или 100% идентична аминокислотной последовательности GFSLSRYG (SEQ ID NO: 4);

CDR2 тяжелой цепи (H-CDR2), который содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 80, 85, 90, 95 или 100% идентична аминокислотной последовательности IWSGGST (SEQ ID NO: 5); и

CDR3 тяжелой цепи (H-CDR3), который содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 80, 85, 90, 95 или 100% идентична аминокислотной последовательности WLLPGY (SEQ ID NO: 6).

Согласно различным вариантам реализации антитело содержит моноклональное антитело или его фрагмент и/или гуманизованное антитело или его фрагмент.

Согласно другим вариантам реализации выделенное антитело к металлотионеину или его фрагмент содержит легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99 или 100% идентична аминокислотной последовательности, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 7-9, причем указанная легкая цепь содержит аминокислоту каждой из SEQ ID NO: 1-3, и при этом указанная легкая цепь содержит по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 или все 16 из следующих остатков: D1, V3, T5, S7, T14, Q17, P18, F41, Q42, R44, R50, V88, V90, T102, Q105 и K112; и/или содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99 или 100% идентична аминокислотной последовательности, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 11-15, причем указанная тяжелая цепь содержит определяющие комплементарность участки (CDR) каждой из SEQ ID NO: 4-6, и при этом указанная тяжелая цепь содержит по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42 или все 43 из следующих остатков: E1, V5, G9, K13, G15, E16 или G16, T17, R19, L20, S21, A23, S35, I37, P40 или A40, G42, I48 или V48, S49, N58, A60, P61 или D61, S62, L63 или V63, K64, G65, V67 или F67, T68, S70, V71, T73, A74, N76 или K76, S77, F78, S79 или Y79, L80, Q81, L82, S83 или N83, V85, T86 или R86, A87, A88 или E88, V92 и Q109.

Согласно одному варианту реализации выделенное антитело к металлотионеину или его фрагмент содержит фрагмент Fab'.

Согласно другим аспектам настоящего раскрытия предложены нуклеиновые кислоты, кодирующие выделенные антитела или их фрагменты, векторы, содержащие указанные нуклеиновые кислоты, функционально связанные с подходящей контрольной последовательностью, клетки-хозяева, содержащие указанные нуклеиновые кислоты и/или векторы, и фармацевтическая композиция, содержащая:

(а) выделенные антитела или их фрагменты, нуклеиновые кислоты, векторы или клетки-хозяева, раскрытые в настоящем документе; и

(b) фармацевтически приемлемый носитель.

Согласно другому аспекту настоящего раскрытия предложены способы лечения или ограничения развития расстройства, выбранного из группы, состоящей из воспаления кишечника, диабета, предиабета, нарушения толерантности к глюкозе, гепатита и/или воспалительного заболевания печени, включающие введение субъекту, нуждающемуся в этом, эффективного для лечения указанного расстройства количества выделенного антитела или его фрагмента или его фармацевтически приемлемой соли, нуклеиновой кислоты, вектора, клетки-хозяина или фармацевтической композиции в соответствии с любым вариантом реализации или комбинацией вариантов реализации, раскрытых в настоящем документе.

#### Описание чертежей

Фиг. 1А-В. (А) Сравнение гуманизованных легких каппа-цепей с первоначальными последовательностями легкой цепи (L) UC1MT мыши против МТ с помощью программного обеспечения Clustal Omega. (В) Филограмма относительных различий между варьируемыми областями UC1MT L-Hum1 (VK1), UC1MT L-Hum2 (VK2) и UC1MT L-Hum3 (VK3) в сравнении с последовательностью первоначальной последовательности легкой цепи гибридомы (UC1MT).

Фиг. 2А-В. (А) Сравнение гуманизованных V-областей тяжелой цепи с первоначальной последовательностью тяжелой цепи (H) UC1MT мыши против МТ. (В) Филограмма относительных различий между гуманизованными варьируемыми областями UC1MT H-Hum1 (VH1), UC1MT H-Hum2 (VH2), UC1MT H-Hum3 (VH3), UC1MT H-Hum4 (VH4) и UC1MT L-Hum5 (VH5) в сравнении с последовательностью первоначальной V-последовательности тяжелой цепи гибридомы (UC1MT).

Фиг. 3. Измерения с помощью ИФА гуманизованных антител, протестированных против иммобилизованного металлотионеина. Планшет Immulon 2НВ покрывали 10 мкг/мл МТ в течение ночи при 4°C, лунки промывали ФСБТ и блокировали 2% БСА в течение 1,5 ч при комнатной температуре. Планшет промывали, покрывали с использованием разведений каждого рекомбинантного фрагмента Fab и инкубировали в течение 1,5 ч при комнатной температуре. Планшет промывали и инкубировали с конъюгированным с биотином мышинным антителом к легкой каппа-цепи Ig человека в разведении 1:1000 в течение 1 ч при комнатной температуре, затем промывали и инкубировали со стрептавидином-ПХ (лунки, содержащие Fab) в течение 20 мин при комнатной температуре. После последней промывки добавляли субстрат и инкубировали в течение 15 мин при комнатной температуре перед добавлением останавливающего раствора (2 н. H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), и OD450 измеряли на считывающем устройстве для планшетов SpectraMax. На диаграмме представлены значения OD405. Реакционную способность каждого клона характеризовали как низкую (L), среднюю (M) или высокую (H).

Фиг. 4А-В. (А) График связывания фрагмента Fab' с металлотионеином при моделировании in silico. (В) Индивидуальные CDR указаны для H- и L-цепи типичного гуманизованного фрагмента Fab.

#### Подробное описание изобретения

В контексте настоящего документа, если не указано иное, термины в единственном числе означают "один", "по меньшей мере один" или "один или более". Если иное не следует из контекста, термины в единственном числе, используемые в настоящем документе, включают множественное число, а термины во множественном числе включают единственное число. Все варианты реализации любого аспекта настоящего раскрытия могут быть использованы в комбинации, если из контекста явно не следует иное.

В контексте настоящего документа аминокислотные остатки сокращены следующим образом: аланин (Ala; A), аспарагин (Asn; N), аспарагиновая кислота (Asp; D), аргинин (Arg; R), цистеин (Cys; C), глутаминовая кислота (Glu; E), глутамин (Gln; Q), глицин (Gly; G), гистидин (His; H), изолейцин (Ile; I), лейцин (Leu; L), лизин (Lys; K), метионин (Met; M), фенилаланин (Phe; F), пролин (Pro; P), серин (Ser; S), треонин (Thr; T), триптофан (Trp; W), тирозин (Tyr; Y) и валин (Val; V).

Согласно одному аспекту настоящего раскрытия предложены антитела к металлотионеину (MT) или их фрагменты. Антитела к металлотионеину или их фрагменты можно применять, например, для лечения расстройств, выбранных из группы, состоящей из воспаления кишечника, диабета, предиабета, нарушения толерантности к глюкозе, гепатита и/или воспалительного заболевания печени. Применение ингибиторов МТ для лечения таких расстройств описано в WO2019/143767, полностью включенном в настоящий документ посредством ссылки.

Как раскрыто в настоящем документе, "антитело" относится к молекулам иммуноглобулинов и иммунологически активным частям молекул иммуноглобулинов, то есть молекулам, которые содержат антигенсвязывающий сайт, который иммуноспецифично связывает эпитоп в металлотионеине. Таким образом, термин "антитело" охватывает не только целые молекулы антител, но также фрагменты антител, а

также варианты (включая производные) антител и фрагментов антител. Такое антитело или фрагменты антитела могут включать, не ограничиваясь перечисленным, моноклональные антитела, гуманизированные антитела, химерные антитела, Fab', F(ab')<sub>2</sub>, Fab, Fv, rIgG, рекомбинантные одноцепочечные фрагменты Fv (scFv), двухвалентные или биспецифичные молекулы, диатела, тритела и тетратела. Согласно одному конкретному варианту реализации антитела содержат моноклональные антитела или их фрагменты. Согласно другому конкретному варианту реализации антитела содержат гуманизированные антитела или их фрагменты. Согласно одному варианту реализации антитела содержат фрагменты Fab'.

Согласно одному варианту реализации антитела гуманизированы. В контексте настоящего документа термин "гуманизированное антитело" относится к химерному антителу, которое содержит минимальную последовательность, полученную из иммуноглобулина нечеловеческого происхождения. Согласно одному варианту реализации гуманизированное антитело представляет собой иммуноглобулин человека (реципиентное антитело), в котором остатки из CDR реципиента заменены остатками из CDR вида, отличного от человека (донорное антитело), такого как мышь, крыса, кролик или примат, отличный от человека, обладающий целевой специфичностью, аффинностью и/или способностью. В некоторых случаях остатки каркаса ("FR") иммуноглобулина человека заменены соответствующими остатками нечеловеческого происхождения. Кроме того, гуманизированные антитела могут содержать остатки, которые не обнаруживаются в реципиентном антителе или в донорном антителе. Эти модификации могут быть сделаны для дальнейшего улучшения характеристик антитела, таких как аффинность связывания, экспрессия и снижение иммуногенности ксеногенного антитела, такого как мышинное антитело, для введения человеку, при сохранении полной аффинности связывания антигена и специфичности антитела.

В контексте настоящего документа "выделенный" означает, что указанная молекула присутствует по существу в отсутствие других биологических макромолекул этого же типа.

Согласно одному варианту реализации предложены гуманизированные антитела или их фрагменты, содержащие 1, 2 или все 3 определяющие комплементарности участки (CDR), выбранные из группы, состоящей из:

CDR1 легкой цепи (L-CDR1), который содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 80, 85, 90, 95 или 100% идентична аминокислотной последовательности QSIVHSNGNTYLE (SEQ ID NO: 1);

CDR2 легкой цепи (L-CDR2), который содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 80, 85, 90, 95 или 100% идентична аминокислотной последовательности KVS (SEQ ID NO: 2); и

CDR3 легкой цепи (L-CDR3), который содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 80, 85, 90, 95 или 100% идентична аминокислотной последовательности FQGSHPVF(A/T) (SEQ ID NO: 3).

Согласно другому варианту реализации предложены гуманизированные антитела к металлотионеину или их фрагменты, содержащие 1, 2 или все 3 определяющие комплементарности участки (CDR), выбранные из группы, состоящей из:

CDR1 тяжелой цепи (H-CDR1), который содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 80, 85, 90, 95 или 100% идентична аминокислотной последовательности GFSLSRYG (SEQ ID NO: 4);

CDR2 тяжелой цепи (H-CDR2), который содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 80, 85, 90, 95 или 100% идентична аминокислотной последовательности IWSGGST (SEQ ID NO: 5); и

CDR3 тяжелой цепи (H-CDR3), который содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 80, 85, 90, 95 или 100% идентична аминокислотной последовательности WLLPGY (SEQ ID NO: 6).

Согласно дополнительному варианту реализации предложено гуманизированное антитело к металлотионеину по п.1 или его фрагмент, содержащие 4, 5 или все 6 определяющих комплементарности участков (CDR), выбранных из группы, состоящей из:

CDR1 тяжелой цепи (H-CDR1), который содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 80, 85, 90, 95 или 100% идентична аминокислотной последовательности GFSLSRYG (SEQ ID NO: 4);

CDR2 тяжелой цепи (H-CDR2), который содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 80, 85, 90, 95 или 100% идентична аминокислотной последовательности IWSGGST (SEQ ID NO: 5); и

CDR3 тяжелой цепи (H-CDR3), который содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 80, 85, 90, 95 или 100% идентична аминокислотной последовательности WLLPGY (SEQ ID NO: 6);

CDR1 легкой цепи (L-CDR1), который содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 80, 85, 90, 95 или 100% идентична аминокислотной последовательности QSIVHSNGNTYLE (SEQ ID NO: 1);

CDR2 легкой цепи (L-CDR2), который содержит аминокислотную последовательность, которая по

меньшей мере на 80, 85, 90, 95 или 100% идентична аминокислотной последовательности KVS (SEQ ID NO: 2); и

CDR3 легкой цепи (L-CDR3), который содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 80, 85, 90, 95 или 100% идентична аминокислотной последовательности FQGSHPVF(A/T) (SEQ ID NO: 3).

Согласно другому аспекту предложены выделенные антитела к металлотионеину или их фрагменты, которые содержат легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99 или 100% идентична аминокислотной последовательности, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 7-9, как показано в табл. 1 (см. также фиг. 1), причем указанная легкая цепь содержит определяющие комплементарность участки (CDR) каждой SEQ ID NO: 1-3, и при этом указанная легкая цепь содержит по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 или все 16 из следующих остатков (выделены жирным увеличенным шрифтом в табл. 1): D1, V3, T5, S7, T14, Q17, P18, F41, Q42, R44, R50, V88, V90, T102, Q105 и K112.

Таблица 1

DV <b>VM</b> TQ <b>S</b> PLSLP <b>V</b> TLG <b>Q</b> PASISCRSSQ <b>S</b> IVHSNGNTYLEW <b>F</b> Q <b>Q</b> RP <b>G</b> QSP <b>R</b> LLIYK <b>V</b> SNR <b>F</b> SG VPDR <b>F</b> SGSGSGTDFTLKISRVEAED <b>V</b> G <b>V</b> YY <b>C</b> F <b>Q</b> GS <b>H</b> VP <b>F</b> T <b>F</b> G <b>Q</b> G <b>T</b> KLE <b>I</b> K UC1MT-L- Hum1 SEQ ID NO: 7
DV <b>VM</b> TQ <b>S</b> PLSLP <b>V</b> TLG <b>Q</b> PASISCRSSQ <b>S</b> IVHSNGNTYLEW <b>Y</b> L <b>Q</b> RP <b>G</b> QSP <b>R</b> LLIYK <b>V</b> SNR <b>F</b> SG VPDR <b>F</b> SGSGSGTDFTLKISRVEAED <b>V</b> G <b>V</b> YY <b>C</b> F <b>Q</b> GS <b>H</b> VP <b>F</b> A <b>F</b> G <b>Q</b> G <b>T</b> KLE <b>I</b> K UC1MT-L- Hum2 SEQ ID NO: 8
DV <b>VM</b> TQ <b>S</b> PLSLP <b>V</b> TLG <b>Q</b> PASISCRSSQ <b>S</b> IVHSNGNTYLEW <b>Y</b> L <b>Q</b> RP <b>G</b> QSP <b>R</b> LLIYK <b>V</b> SNR <b>F</b> SG VPDR <b>F</b> SGSGSGTDFTLKISRVEAED <b>L</b> GI <b>Y</b> Y <b>C</b> F <b>Q</b> GS <b>H</b> VP <b>F</b> A <b>F</b> G <b>Q</b> G <b>T</b> KLE <b>I</b> K UC1MT-L- Hum3 SEQ ID NO: 9

Жирным шрифтом обозначены изменения относительно исходной гибридомы мыши; CDR подчеркнуты.

Согласно одному конкретному варианту реализации выделенное антитело к металлотионеину или его фрагмент содержит легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99 или 100% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 8, причем указанная легкая цепь содержит CDR каждой из SEQ ID NO: 1-3, и при этом указанная легкая цепь содержит по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12 или все 13 из следующих остатков (отмеченных жирным увеличенным шрифтом в табл. 1): D1, V3, T5, S7, T14, Q17, P18, R44, R50, V88, V90, Q105 и K112.

Согласно другому варианту реализации легкая цепь выделенного антитела к металлотионеину или его фрагмента дополнительно содержит константную область каппа из легкой цепи человека, включая, не ограничиваясь перечисленным, аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99 или 100% идентична аминокислотной последовательности:

RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDS

TYSLSSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 10)

Согласно другому аспекту предложены выделенные антитела к металлотионеину или их фрагменты, содержащие тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99 или 100% идентична аминокислотной последовательности, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 11-15, причем указанная тяжелая цепь содержит определяющие комплементарность участки (CDR) каждой из SEQ ID NO: 4-6, и при этом указанная тяжелая цепь содержит по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42 или все 43 из следующих остатков (выделены жирным увеличенным шрифтом в табл. 2; см. также фиг. 2): E1, V5, G9, K13, G15, E16 или G16, T17, R19, L20, S21, A23, S35, I37, P40 или A40, G42, I48 или V48, S49, N58, A60, P61 или D61, S62, L63 или V63, K64, G65, V67 или F67, T68, S70, V71, T73, A74, N76 или K76, S77, F78, S79 или Y79, L80, Q81, L82, S83 или N83, V85, T86 или R86, A87, A88 или E88, V92 и Q109.

В последовательностях ниже жирным шрифтом обозначены изменения относительно исходной последовательности UC1MT гибридомы мыши; CDR подчеркнуты.

Таблица 2

QVQLQESGPGGLV <b>KPSETLS</b> LTCTVSGFSLSR <b>YGVSWIRQPPGKGLEWIGVIWSSGGSTNYNPS</b> L <b>KSRVTISV</b> DTSKN <b>QFSLKLS</b> SVTAADTAVYYCARWLLPGYFDVWGQGT <b>TVT</b> VSS UC1MT- H-Hum1 (SEQ ID NO: 11)
QVQLQESGPGGLV <b>KPSETLS</b> ITCTVSGFSLSR <b>YGVHWIRQPPGKGLEWIGVIWSSGGSTDYNP</b> L <b>KSRVTISV</b> DTSKN <b>QFSLKLS</b> SVTAADTAVYYCARWLLPGYFDVWGQGT <b>TVT</b> VSS UC1MT- H-Hum2 (SEQ ID NO: 12)
QVQLQESGPGGLV <b>KPSETLS</b> ITCTVSGFSLSR <b>YGVHWVRQPPGKGLEWIGVIWSSGGSTDYNP</b> F <b>KSRVTISK</b> DNSKN <b>QV</b> S <b>FKLSSL</b> TAADTAVYYCARWLLPGYFDVWGQGT <b>TVT</b> VSS UC1MT- H-Hum3 (SEQ ID NO: 13)
QVQLQESGPGGLV <b>KPSETLS</b> ITCTVSGFSLSR <b>YGVHWVRQSPGKGLEWLGVIWSSGGSTDYNA</b> F <b>KSR</b> LS <b>ISK</b> DNSKN <b>QV</b> FF <b>KMSSL</b> TAADTARYYCARWLLPGYFDVWGQGT <b>TVT</b> VSS UC1MT- H-Hum4 (SEQ ID NO: 14)
<b>EVQLV</b> ESGGGLVQ <b>PGGSLRLS</b> CAVSGFSLSR <b>YGVHWVRQAPGKGLEWVSVI</b> WSSGGSTDY <b>ADS</b> <b>VKGRFTISK</b> DNA <b>KKS</b> VY <b>LQMN</b> SLRAEDTAVYYCARWLLPGYFDVWGQGT <b>TVT</b> VSS UC1MT- H-Hum5 (SEQ ID NO: 15)

Согласно одному конкретному варианту реализации выделенное антитело к металлотионеину или его фрагмент содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99 или 100% идентична аминокислоте SEQ ID NO: 14, причем указанная тяжелая цепь содержит определяющие комплементарность участки (CDR) каждой из SEQ ID NO: 4-6, и при этом указанная тяжелая цепь содержит по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12 или все 13 из следующих остатков (выделены жирным увеличенным шрифтом в табл. 2; см. также фиг. 2): K13, E16, V37, G42, K64, S70, N76, V78, S83, T86, A87, A88 и Q109.

Согласно другому конкретному варианту реализации выделенное антитело к металлотионеину или его фрагмент содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99 или 100% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 15, причем указанная тяжелая цепь содержит определяющие комплементарность участки (CDR) каждой из SEQ ID NO: 4-6, и при этом указанная тяжелая цепь содержит по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33 или все 34 из следующих остатков (выделены жирным увеличенным шрифтом в табл. 2; см. также фиг. 2): E1, V5, G9, G15, G16, R19, L20, S21, A23, A40, G42, V48, S49, A60, D61, S62, V63, K64, G65, F67, T68, A74, K76, S77, V78, Y79, L80, Q81, N83, R86, A87, E88, V92 и Q109.

Согласно другому варианту реализации тяжелая цепь дополнительно содержит константную последовательность IgG1 человека, которая включает мутацию, предотвращающую гликозилирование, включая, не ограничиваясь перечисленным, аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, или 100% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 27.

```

astkgpsvfp lapsskstsg gtaalgclvk dyfpepvtvs wmsgaltsgv
htfpavlgss glyslssvvt vpssslgtqt yicvnvhkps ntkvdkkvep
kscdkthtcp pcpapellgg psvflfppkp kdtlmisrtp evtcvvvdvs
hedpevkfnw yvdgvevhna ktkpreeqyQ styrvsvlt vlhqdwlngk
eykckvsnka lpapiektis kakgqprepq vytlppsrdel tknqvsltc
lvkgfypsdi avewesngqp ennykttppv ldsdgsffly skltvdksrw
qqgnvfscsv mhealhhnyt qkslslspgk (SEQ ID NO: 16)

```

Согласно другому варианту реализации выделенное антитело к металлотионеину или его фрагмент содержит:

(a) легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99 или 100% идентична аминокислотной последовательности, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 7-9, причем указанная легкая цепь содержит определяющие комплементарность участки (CDR) каждой из SEQ ID NO: 1-3, и при этом указанная легкая цепь содержит по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 или все 16 из следующих остатков: D1, V3, T5, S7, T14, Q17, P18, F41, Q42, R44, R50, V88, V90, T102, Q105 и K112; и

(b) содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99 или 100% идентична аминокислотной последовательности, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 16-26, или выбранной из

группы, состоящей из SEQ ID NO: 11-15, причем указанная тяжелая цепь содержит определяющие комплементарность участки (CDR) каждой из SEQ ID NO: 4-6, и при этом указанная тяжелая цепь содержит по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42 или все 43 из следующих остатков (выделены жирным увеличенным шрифтом в табл. 2; см. также фиг. 2): E1, V5, G9, K13, G15, E16 или G16, T17, R19, L20, S21, A23, S35, I37, P40 или A40, G42, I48 или V48, S49, N58, A60, P61 или D61, S62, L63 или V63, K64, G65, V67 или F67, T68, S70, V71, T73, A74, N76 или K76, S77, F78, S79 или Y79, L80, Q81, L82, S83 или N83, V85, T86 или R86, A87, A88 или E88, V92 и Q109.

Согласно другому конкретному варианту реализации выделенное антитело к металлоионеину или его фрагмент содержит:

(а) легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99 или 100% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 8, причем указанная легкая цепь содержит CDR каждой из SEQ ID NO: 1-3, и при этом указанная легкая цепь содержит по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12 или все 13 из следующих остатков (выделены жирным увеличенным шрифтом в табл. 1): D1, V3, T5, S7, T14, Q17, P18, R44, R50, V88, V90, Q105 и K112; и

(b) содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99 или 100% идентична аминокислотной последовательности, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 14-15, причем указанная тяжелая цепь содержит определяющие комплементарность участки (CDR) каждой из SEQ ID NO: 4-6, и при этом указанная тяжелая цепь содержит:

(i) 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12 или все 13 из следующих остатков: K13, E16, V37, G42, K64, S70, N76, V78, S83, T86, A87, A88 и Q109; или

(ii) 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33 или все 34 из следующих остатков (выделены жирным увеличенным шрифтом в табл. 2; см. также фиг. 2): E1, V5, G9, G15, G16, R19, L20, S21, A23, A40, G42, V48, S49, A60, D61, S62, V63, K64, G65, F67, T68, A74, K76, S77, V78, Y79, L80, Q81, N83, R86, A87, E88, V92 и Q109.

Антитела к МТ согласно настоящему раскрытию могут быть связаны с любым другим фрагментом, который считается подходящим для предполагаемой цели. Согласно одному варианту реализации выделенное антитело или его фрагмент дополнительно содержит детектируемую метку. Такие варианты реализации можно применять для мониторинга курса лечения, например. Любая подходящая детектируемая метка может быть связана с антителом ковалентно, генетически или любыми другими способами, включая, не ограничиваясь перечисленным, радиоактивные изотопы, флуоресцентные молекулы, магнитные частицы (включая наночастицы), частицы металлов (включая наночастицы), фосфоресцентные молекулы и ферменты.

Согласно другому варианту реализации выделенное антитело или его фрагмент также содержит дополнительный терапевтический агент. Любой терапевтический агент, подходящий для предполагаемой цели, может быть связан с антителом ковалентно, генетически или любыми другими способами, включая, не ограничиваясь перечисленным, инсулин, метформин, прамлинтид, сульфонилмочевину (включая, не ограничиваясь перечисленным, глибурид, глипизид и глимепирид), меглитинид (включая, не ограничиваясь перечисленным, репаглинид и натеглинид), тиазолидиндион (включая, не ограничиваясь перечисленным, росиглитазон и пиоглитазон), ингибитор DPP-4 (включая, не ограничиваясь перечисленным, ситаглиптин, саксаглиптин и линаглиптин), агонист рецептора GLP-1 (включая, не ограничиваясь перечисленным, эксенатид, лираглутид и семаглутид), ингибитор SGLT2 (включая, не ограничиваясь перечисленным, канаглифлозин, дапаглифлозин и эмпаглифлозин), энтекавир, тенофовир, ламивудин, адефовир, телбивудин, симепревир, софосбувир, цитокины, хемокины, интерферон или рибавирин. Такие конъюгаты можно применять, например, в способах, раскрытых в настоящем документе.

Согласно другому варианту реализации выделенное антитело или его фрагмент дополнительно содержит фрагмент, нацеливающий на клетки. Можно применять любой фрагмент, нацеливающий на клетки, который считается подходящим для предусмотренной клеточной мишени, включая, не ограничиваясь перечисленным, фрагмент, нацеливающий на клетки поджелудочной железы или печени (такой как фрагмент, нацеливающий на клетки поджелудочной железы, содержащий один или более пептидов, или другие фрагменты, которые преимущественно связывают  $\beta$ -клетки поджелудочной железы, включая, не ограничиваясь перечисленным, глюкагоноподобный пептид-1 (GLP-1), глюкагоноподобный пептид-2 (GLP-2), пептид YY (PYY), нейропептид Y (NPY), пептид поджелудочной железы (PPY) и эксендин-4; или фрагмент, нацеливающий на клетки печени, причем указанный фрагмент, нацеливающий на клетки печени, включает, не ограничиваясь перечисленным, циркумспороzoитный белок (CSP), область I CSP, область I-плюс CSP, лактозаминированный сывороточный альбумин человека, гликозилированный липопротейн и арабиногалактан). Такие конъюгаты можно применять, например, в способах, раскрытых в настоящем документе.

Согласно другому аспекту раскрыты выделенные нуклеиновые кислоты, кодирующие антитело согласно любому варианту реализации или комбинации вариантов реализации, раскрытых в настоящем

документе. Выделенная последовательность нуклеиновой кислоты может содержать РНК или ДНК. Такие выделенные последовательности нуклеиновых кислот могут содержать дополнительные последовательности, подходящие для содействия экспрессии и/или очистке кодируемого белка, включая, не ограничиваясь перечисленным, последовательности полиА, модифицированные последовательности Козак и последовательности, кодирующие эпитопные метки, сигналы экспорта и сигналы секреции, сигналы ядерной локализации и сигналы локализации в плазматической мембране.

Согласно дополнительному аспекту предложены векторы экспрессии, содержащие выделенную нуклеиновую кислоту согласно настоящему раскрытию. "Векторы экспрессии" включают векторы, которые функционально связывают кодирующую область нуклеиновой кислоты или ген с любым промотором, способным осуществлять экспрессию продукта гена. Промоторная последовательность, используемая для управления экспрессией раскрытых последовательностей нуклеиновых кислот в системе млекопитающих, может быть конститутивной (управляемой любым из множества промоторов, включая, не ограничиваясь перечисленным, CMV, SV40, RSV, актин, EF) или индуцибельной (управляемой любым из ряда индуцибельных промоторов, включая, не ограничиваясь перечисленным, тетрациклин, экдизон, стероид-чувствительные). Вектор экспрессии может реплицироваться в подходящем организме-хозяине либо в виде эписомы, либо путем встраивания в хромосомную ДНК хозяина. Согласно различным вариантам реализации вектор экспрессии содержит плазмиду или вирусный вектор.

Согласно дополнительному аспекту предложены клетки-хозяева, содержащие антитело, нуклеиновую кислоту и/или вектор согласно настоящему раскрытию. Клетки-хозяева могут быть прокариотическими или эукариотическими. Клетки могут быть временно или стабильно трансфицированы. Согласно одному варианту реализации клетки представляют собой клетки гибридомы, которые экспрессируют и секретируют антитела согласно настоящему раскрытию. Таким образом, рекомбинантные клетки-хозяева можно применять, например, в способах получения антитела, включающих:

(a) культивирование рекомбинантной клетки-хозяина в условиях, подходящих для экспрессии антитела, кодируемого нуклеиновой кислотой; и

(b) выделение антитела из культивируемых клеток.

Условия, подходящие для экспрессии антитела, кодируемого нуклеиновой кислотой, могут быть определены специалистами в данной области техники на основании принципиальных положений в настоящем документе, конкретных используемых клеток-хозяев и векторов, а также общих знаний специалистов в данной области техники.

Согласно другому аспекту предложены фармацевтические композиции, содержащие:

(a) антитело, выделенную нуклеиновую кислоту, вектор экспрессии или клетку-хозяина в соответствии с любым вариантом реализации или комбинацией вариантов реализации, раскрытых в настоящем документе; и

(b) фармацевтически приемлемый носитель.

Например, антитела согласно настоящему раскрытию могут присутствовать в фармацевтическом составе. Согласно этому варианту реализации антитела комбинируют с фармацевтически приемлемым носителем. Подходящие кислоты, которые способны образовывать такие соли, включают неорганические кислоты, такие как соляная кислота, бромистоводородная кислота, хлорная кислота, азотная кислота, тиоциановая кислота, серная кислота, фосфорная кислота и т.п.; и органические кислоты, такие как муравьиная кислота, уксусная кислота, пропионовая кислота, гликолевая кислота, молочная кислота, пировиноградная кислота, щавелевая кислота, малоновая кислота, янтарная кислота, малеиновая кислота, фумаровая кислота, антралиловая кислота, коричная кислота, нафталинсульфоновая кислота, сульфаниловая кислота и т.п. Подходящие основания, способные образовывать такие соли, включают неорганические основания, такие как гидроксид натрия, гидроксид аммония, гидроксид калия и т.п.; и органические основания, такие как моно-, ди- и триалкил- и ариламины (например, триэтиламин, диизопропиламин, метиламин, диметиламин и т.п.) и необязательно замещенные этаноламины (например, этаноламин, диэтанолламин и т.п.).

Фармацевтическая композиция может содержать, помимо композиции согласно настоящему изобретению, (a) лиопротектор; (b) поверхностно-активное вещество; (c) объемобразующий агент; (d) агент, регулирующий тоничность; (e) стабилизатор; (f) консервант и/или (g) буфер. Согласно некоторым вариантам реализации буфер в фармацевтической композиции представляет собой трис-буфер, гистидиновый буфер, фосфатный буфер, цитратный буфер или ацетатный буфер. Фармацевтическая композиция также может включать лиопротектор, например, сахарозу, сорбит или трегалозу. Согласно определенным вариантам реализации фармацевтическая композиция включает консервант, например, бензалкония хлорид, бензетоний, хлоргексидин, фенол, м-крезол, бензиловый спирт, метилпарабен, пропилпарабен, хлорбутанол, о-крезол, п-крезол, хлоркрезол, нитрат фенолртути, тимеросал, бензойную кислоту и различные их смеси. Согласно другим вариантам реализации фармацевтическая композиция включает объемобразующий агент, такой как глицин. Согласно другим вариантам реализации фармацевтическая композиция включает поверхностно-активное вещество, например, полисорбат-20, полисорбат-40, полисорбат-60, полисорбат-65, полисорбат-80, полисорбат-85, полуксамер-188, сорбитанмонолаурат, сорбитанмонопальмитат, сорбитанмоностеарат, сорбитанмоноолеат, сорбитантрилаурат, сорбитантристеарат,

сорбитантриолеат или их комбинацию. Фармацевтическая композиция также может включать агент, регулирующий тоничность, например, соединение, делающее состав по существу изотоничным или изоосмотичным крови человека. Примеры агентов, регулирующих тоничность, включают сахарозу, сорбит, глицин, метионин, маннит, декстрозу, инозит, хлорид натрия, аргинин и гидрохлорид аргинина. Согласно другим вариантам реализации фармацевтическая композиция дополнительно включает стабилизатор, например, молекулу, которая, будучи в комбинации с представляющим интерес белком, по существу предотвращает или уменьшает химическую и/или физическую нестабильность указанного представляющего интерес белка в лиофилизированной или жидкой форме. Примеры стабилизаторов включают сахарозу, сорбит, глицин, инозит, хлорид натрия, метионин, аргинин и гидрохлорид аргинина.

Фармацевтические композиции согласно настоящему изобретению могут быть получены в виде любого подходящего состава, предпочтительно в виде составов, подходящих для введения путем инъекции. Такие фармацевтические композиции можно применять, например, в терапевтических способах, раскрытых в настоящем документе.

Фармацевтические композиции могут содержать любые другие компоненты, которые считаются подходящими для данного применения, такие как дополнительные терапевтические средства. Согласно одному варианту реализации фармацевтические композиции также содержат дополнительное терапевтическое средство, выбранное из группы, состоящей из инсулина, метформина, прамлингида, сульфонилмочевины (включая, не ограничиваясь перечисленным, глибурид, глипизид и глимепирид), меглитинида (включая, не ограничиваясь перечисленным, репаглинид и натеглинид), тиазолидиндиона (включая, не ограничиваясь перечисленным, росиглитазон и пиоглитазон), ингибитора DPP-4 (включая, не ограничиваясь перечисленным, ситаглиптин, саксаглиптин и линаглиптин), агониста рецептора GLP-1 (включая, не ограничиваясь перечисленным, эксенатид, лираглутид и семаглутид), ингибитора SGLT2 (включая, не ограничиваясь перечисленным, канаглифлозин, дапаглифлозин и эмпаглифлозин), энтекавира, тенофовира, ламивудина, адефовира, телбивудина, симепревира, софосбувира, цитокинов, хемокинов, интерферона или рибавирина.

Согласно другому аспекту настоящего раскрытия предложены способы лечения или ограничения развития расстройства, выбранного из группы, состоящей из воспаления кишечника, диабета, предиабета, нарушения толерантности к глюкозе, гепатита и/или воспалительного заболевания печени, включающие введение субъекту, нуждающемуся в этом, эффективного для лечения указанного расстройства количества выделенного антитела или его фрагмента, нуклеиновой кислоты, вектора, клетки-хозяина и/или фармацевтической композиции в соответствии с любым вариантом реализации или комбинацией вариантов реализации, раскрытых в настоящем документе.

В контексте настоящего документа "терапевтически эффективное количество" относится к количеству композиции, эффективному для лечения и/или ограничения соответствующего расстройства.

В контексте настоящего документа "лечить" или "лечение" означает достижение одного или более из следующего у индивидуума, страдающего от одного или более из перечисленных расстройств: (a) снижение тяжести расстройства; (b) ограничение или предотвращение развития симптомов, характерных для расстройства (расстройств), подлежащего лечению; (c) ингибирование ухудшения симптомов, характерных для расстройства (расстройств), подлежащего лечению; (d) ограничение или предотвращение рецидива расстройства (расстройств) у пациентов, ранее страдавших от расстройства (расстройств); и/или (e) ограничение или предотвращение рецидива симптомов у пациентов, ранее имевших симптомы расстройства (расстройств). Такое "лечение" в любой степени приносит большую пользу субъекту, страдающему от одного из перечисленных расстройств.

В контексте настоящего документа "ограничивать" или "ограничивать развитие" означает достижение одного или более из следующего у индивидуума, подверженного риску развития одного или более из перечисленных расстройств: (a) замедление прогрессирования до расстройства и/или (b) ограничение или предотвращение развития симптомов, характерных для прогрессирования до расстройства. Такое "ограничение развития" в любой степени приносит большую пользу субъекту, подверженному риску развития одного из перечисленных расстройств.

Такое лечение или ограничение развития может включать применение ингибитора внеклеточного МТ в качестве единственного терапевтического средства или может включать его применение для дополнения других методов лечения или повышения их эффективности, если это будет сочтено целесообразным лечащим медицинским персоналом.

Согласно одному варианту реализации субъект страдает от диабета или подвержен риску развития диабета, и способ предназначен для лечения или ограничения развития диабета.

Согласно одному такому варианту реализации субъект подвержен риску развития диабета I типа, и способ предназначен для ограничения развития диабета I типа у субъекта. Как описано в WO2019/143767, ингибиторы МТ1 человека предотвращали развитие диабета I типа в модели на мышах NOD. Таким образом, способы согласно этому варианту реализации можно применять для ограничения развития диабета I типа (Д1Т) у субъектов, подверженных риску развития Д1Т. Ограничение развития Д1Т может включать, не ограничиваясь перечисленным, замедление прогрессирования до Д1Т и/или замедление развития симптомов, характерных для Д1Т. В этом варианте реализации субъект, подвержен-

ный риску развития Д1Т, имеет один или более факторов риска развития Д1Т, исходя из которых лечащий медицинский персонал считает лечение подходящим. Такие факторы риска развития Д1Т включают, не ограничиваясь перечисленным: родителя, брата или сестру с диабетом 1 типа, опухоль поджелудочной железы, панкреатит, аутоантитела к островковым клеткам поджелудочной железы, аутоантитела к инсулину, аутоантитела к глутаматдекарбоксилазе (GADA), инсулинома-ассоциированные (IA-2) аутоантитела, аутоантитела к транспортеру цинка (ZnT8) и/или варианты гена IDDM1, выбранные из группы, состоящей из DRB1 0401, DRB1 0402, DRB1 0405, DQA 0301, DQB1 0302 и DQB1 0201. В качестве альтернативы или в комбинации, субъект может демонстрировать один или более симптомов Д1Т (но у него может быть еще не диагностирован Д1Т); такие симптомы могут включать, не ограничиваясь перечисленным, полиурию (увеличение мочеиспускания), полидипсию (усиленную жажду), сухость во рту, полифагию (усиленный голод), утомляемость и потерю массы тела. Как будет ясно специалистам в данной области техники, любое ограничение развития Д1Т или его симптомов приносит большую пользу субъекту, подверженному риску его развития.

Ген инсулинозависимого (1 типа) сахарного диабета 1 (IDDM1) расположен в области ГКГС II класса на 6 хромосоме. Определенные варианты этого гена увеличивают риск снижения гистосовместимости, характерного для диабета 1 типа. Такие варианты включают DRB1 0401, DRB1 0402, DRB1 0405, DQA 0301, DQB1 0302 и DQB1 0201. Аналогичным образом, появление связанных с диабетом аутоантител, таких как аутоантитела к островковым клеткам поджелудочной железы, аутоантитела к инсулину, аутоантитела к глутаматдекарбоксилазе (GADA), инсулинома-ассоциированные (IA-2) аутоантитела, аутоантитела к транспортеру цинка (ZnT8), часто предшествует гипергликемическому диабету 1 типа до возникновения гипергликемии. Риск Д1Т возрастает с увеличением количества типов антител, а временной интервал от появления аутоантител до клинически диагностируемого Д1Т может составлять несколько месяцев у младенцев и детей младшего возраста, но у некоторых людей он может занять годы. Такие аутоантитела могут быть обнаружены, например, с помощью иммунофлуоресцентного анализа или анализа связывания.

Согласно другому варианту реализации субъект страдает от диабета 1 типа, и способ предназначен для лечения диабета 1 типа у субъекта. В этом варианте реализации у субъекта уже был диагностирован Д1Т, и способы могут быть использованы для лечения Д1Т. Д1Т включает аутоиммунное разрушение бета-клеток в поджелудочной железе, практически полное или полное отсутствие выработки инсулина и гипергликемию. Таким образом, лечение Д1Т включает введение субъекту инсулина. Субъекты с Д1Т могут иметь симптомы или осложнения, включая, не ограничиваясь перечисленным, гипогликемию, полиурию, полифагию, полидипсию, потерю массы тела, нечеткость зрения, утомляемость, снижение способности к заживлению ран, инфекции мочевыводящих путей, нарушение половой функции, сухость во рту, диабетический кетоацидоз, сердечно-сосудистое заболевание, диабетическую нефропатию, диабетическую нейропатию, диабетическую ретинопатию, инсульт, почечную недостаточность и язвы стопы. В некоторых случаях субъекту, страдающему от Д1Т, может потребоваться трансплантат поджелудочной железы или островков поджелудочной железы. Таким образом, согласно различным вариантам реализации лечение может включать одно или более из: снижения частоты потребности инъекций инсулина; замедления развития или прогрессирования осложнений диабета 1 типа у субъекта, включая, не ограничиваясь перечисленным, разрушение бета-клеток поджелудочной железы, гипергликемию, гипогликемию, полиурию, полифагию, полидипсию, потерю массы тела, нечеткость зрения, утомляемость, снижение способности к заживлению ран, инфекции мочевыводящих путей, нарушение половой функции, сухость во рту, диабетический кетоацидоз, сердечно-сосудистое заболевание, диабетическую нефропатию, диабетическую нейропатию, диабетическую ретинопатию, инсульт, почечную недостаточность и язвы стопы; и отсрочки потребности в трансплантате поджелудочной железы или островковых клеток поджелудочной железы. Согласно одному варианту реализации лечение может включать снижение уровней глюкозы в крови (мг/дл) на 10, 15, 20% или более, например, в течение 20-120 мин после введения ингибитора.

Согласно другому варианту реализации субъект подвержен риску развития диабета 2 типа, и способ предназначен для ограничения развития диабета 2 типа (Д2Т) у субъекта. Д2Т представляет собой нарушение обмена веществ, характеризующееся гипергликемией, инсулинорезистентностью и относительным недостатком инсулина. Симптомы и/или осложнения включают, не ограничиваясь перечисленным, гипогликемию, инсулинорезистентность, диабетическую нефропатию, диабетическую нейропатию, диабетическую ретинопатию, протеинурию, нарушение гломерулярного клиренса, связанные с диабетом нарушения кровообращения, почечную недостаточность, сердечнососудистое заболевание, полиурию, полидипсию, потерю массы тела и инсульт. Согласно одному варианту реализации ограничение развития диабета 2 типа может включать снижение уровней глюкозы в крови (мг/дл) на 10, 15, 20% или более, например, в течение 20-120 мин после введения ингибитора.

Факторы риска развития Д2Т включают, не ограничиваясь перечисленным, ожирение, курение, малоподвижный образ жизни, родителя, брата или сестру с диабетом 2 типа, предиабет, родителя, брата или сестру с предиабетом, привычки к нездоровому питанию (например: слишком много жира, недостаточно клетчатки, слишком много простых углеводов и т.д.), возраст 50 лет и старше, повышенное арте-

риальное давление, высокий уровень холестерина, дефицит тестостерона, однонуклеотидный полиморфизм гена металлотионеина 1А (MT1A) в локусе rs8052394 (изменение G) и гестационный диабет в анамнезе. Таким образом, согласно различным вариантам реализации субъект имеет один или более из этих факторов риска, и способ предназначен для замедления прогрессирования до Д2Т и/или (b) ограничения или предотвращения развития симптомов, характерных для Д2Т.

Согласно другому варианту реализации субъект страдает от Д2Т, и способ предназначен для лечения Д2Т у субъекта. В этом варианте реализации лечение может включать ограничение одного или более из осложнений диабета 2 типа, включая, не ограничиваясь перечисленным, гипергликемию, гипогликемию, инсулинорезистентность, диабетическую нефропатию, диабетическую нейропатию, диабетическую ретинопатию, протеинурию, нарушение гломерулярного клиренса, связанные с диабетом нарушения кровообращения, почечную недостаточность, сердечно-сосудистое заболевание, полиурию, полидипсию, потерю массы тела, инсульт и снижение частоты потребности в инсулине или другой терапии. Ограничение этих симптомов/осложнений в любой степени приносит большую пользу субъекту, страдающему от Д2Т. Согласно одному варианту реализации лечение может включать снижение уровней глюкозы в крови (мг/дл) на 10, 15, 20% или более, например, в течение 20-120 мин после введения ингибитора.

Согласно другому варианту реализации субъект страдает от предиабета, и способ предназначен для лечения предиабета у субъекта. В этом варианте реализации субъект представляет собой субъекта, страдающего от предиабета. В контексте настоящего документа "предиабет" относится к состоянию, соответствующему некоторым, но не всем диагностическим критериям диабета. Таким образом, субъект, страдающий от предиабета, может: (a) иметь нарушение толерантности к глюкозе натощак - состояние, при котором ответ бета-клеток на пероральную глюкозную нагрузку (OGT) является недостаточным, или (b) может иметь постоянно повышенные уровни глюкозы натощак (IFG) - состояние, при котором уровень глюкозы в крови натощак выше уровня, считающегося нормальным, но недостаточно высок, чтобы его можно было классифицировать как сахарный диабет. Состояние предиабета может быть ассоциировано с инсулинорезистентностью и повышенным риском сердечно-сосудистой патологии. Люди в состоянии предиабета имеют относительно высокий риск развития Д2Т. Способы согласно настоящему раскрытию можно применять для лечения субъекта, страдающего от предиабета, например, путем ограничения или замедления прогрессирования одного или более осложнений предиабета, включая, не ограничиваясь перечисленным, Д2Т, гипергликемию, инсулинорезистентность и/или сердечно-сосудистое заболевание. Согласно одному варианту реализации лечение может включать снижение уровней глюкозы в крови (мг/дл) на 10, 15, 20% или более, например, в течение 20-120 мин после введения ингибитора.

Согласно другому варианту реализации субъект страдает от нарушения толерантности к глюкозе, и способ предназначен для лечения нарушения толерантности к глюкозе у субъекта. В контексте настоящего документа "нарушение толерантности к глюкозе" определяют как уровень глюкозы через два часа после введения, равный от 140 до 199 мг на дл (от 7,8 до 11,0 ммоль/л), в пероральном глюкозотолерантном тесте с 75 г глюкозы. Считается, что пациент находится в состоянии IGT, когда он/она имеет умеренно повышенный уровень глюкозы через 2 ч, который при этом ниже уровня, соответствующего критериям сахарного диабета 2 типа. Уровень глюкозы натощак может быть как нормальным, так и незначительно повышенным. Нарушение толерантности к глюкозе является предиабетическим состоянием гипергликемии, ассоциированным с инсулинорезистентностью и повышенным риском сердечно-сосудистой патологии. IGT может возникнуть за много лет до развития сахарного диабета 2 типа. В этом варианте реализации лечение может включать ограничение или замедление прогрессирования одного или более осложнений нарушения толерантности к глюкозе, включая, не ограничиваясь перечисленным, диабет 2 типа, гипергликемию, инсулинорезистентность и/или сердечно-сосудистое заболевание. Согласно одному варианту реализации лечение может включать снижение уровней глюкозы в крови (мг/дл) на 10, 15, 20% или более, например, в течение 20-120 мин после введения ингибитора.

Согласно другому варианту реализации субъект страдает от гепатита, и способ предназначен для лечения гепатита у субъекта. Как описано в WO2019/143767, ингибиторы МТ эффективны в ограничении воспаления тканей и уменьшали уровни провоспалительных цитокинов MCP-1 и TNF- $\alpha$  при одновременном увеличении сигнала противовоспалительного IL-10 в ткани печени. Гепатит представляет собой воспаление ткани печени. Симптомы включают, не ограничиваясь перечисленным, желтое окрашивание кожи и склер глаз, снижение аппетита, рвоту, утомляемость, боль в животе, диарею, острую печеночную недостаточность, рубцевание печени, печеночную недостаточность или рак печени. Наиболее распространенными причинами гепатита являются вирусные инфекции (типы А, В, С, D и E), злоупотребление алкоголем, некоторые лекарственные средства, токсины, другие инфекции, аутоиммунные заболевания и неалкогольный стеатогепатит (НАСГ). Таким образом, согласно различным вариантам реализации лечение может включать ограничение или замедление прогрессирования одного или более осложнений гепатита, включая, не ограничиваясь перечисленным, желтое окрашивание кожи и/или склер глаз, снижение аппетита, рвоту, утомляемость, боль в животе, диарею, острую печеночную недостаточность, рубцевание печени, печеночную недостаточность и рак печени.

Согласно другому варианту реализации субъект страдает от воспалительного заболевания печени, и способ предназначен для лечения воспалительного заболевания печени у субъекта. В контексте настоя-

шего документа "воспалительное заболевание печени" относится к состоянию, ассоциированному с внутрицитоплазматическим накоплением больших вакуолей триглицеридного жира в клетках печени из-за стеатоза (т.е. патологического удержания липидов в клетке). Печень играет большую роль в системном метаболизме, и нарушение энергетического баланса ассоциировано, в частности, с нарушениями метаболизма липидов в печени. В частности, ожирение и инсулинорезистентность часто ассоциированы с повышенным отложением липидов в печени, характерным для неалкогольной жировой болезни печени (НАЖБП). Хотя метаболизм липидов очень динамичен, хронический избыток липидов вызывает повреждение тканей печени, что приводит к рекрутированию нерезидентных и резидентных иммунных клеток печени, которые могут вызывать фиброз, характерный для неалкогольного стеатогепатита (НАСГ). Фиброз печени может привести к циррозу, раку и значительно увеличивает риск сердечно-сосудистого заболевания. Это обеспечивает возможность блокирования рекрутинга иммунных клеток в печень для снижения рисков неалкогольной жировой болезни печени (НАЖБП). Как показано в приведенных ниже примерах, лечение ингибитором МТ способствовало увеличению влажной массы эпидидимальной белой жировой ткани и снижению уровней общих триглицеридов, а также снижению уровней провоспалительных цитокинов МСР-1 и TNF- $\alpha$  при одновременном увеличении сигнала противовоспалительного IL-10. Воспалительное заболевание печени может представлять собой стеатоз (неалкогольный жировой стеатоз печени (НАЖСП)). Согласно другому варианту реализации жировая болезнь печени может представлять собой неалкогольную жировую болезнь печени (НАЖБП), включая, не ограничиваясь перечисленным, неалкогольный стеатогепатит (НАСГ) - наиболее тяжелую форму НАЖБП. НАЖБП является одним из типов воспалительного заболевания печени, возникающим при отложении жира (стеатозе) в печени по причинам, отличным от чрезмерного употребления алкоголя. Симптомы НАСГ и НАЖБП могут включать, не ограничиваясь перечисленным, утомляемость, недомогание, тупую боль в правом верхнем квадранте живота, легкую желтуху и отклонения биохимических показателей функции печени в общем анализе крови; осложнения НАСГ и НАЖБП могут включать, не ограничиваясь перечисленным, фиброз печени, рак печени и/или цирроз печени. Таким образом, согласно одному варианту реализации воспалительное заболевание печени выбрано из группы, состоящей из неалкогольного стеатогепатита (НАСГ) и/или неалкогольной жировой болезни печени (НАЖБП). Согласно дополнительному варианту реализации лечение включает ограничение или замедление прогрессирования одного или более осложнений воспалительного заболевания печени, включая, не ограничиваясь перечисленным, утомляемость, недомогание, фиброз печени, рак печени и/или цирроз печени.

Согласно другому варианту реализации субъект страдает от воспаления кишечника. Такое воспаление кишечника может включать, не ограничиваясь перечисленным, болезнь Крона, язвенный колит, коллагеновый, лимфоцитарный, ишемический, диверсионный и неопределенный колит и болезнь Бехчета.

Согласно одному варианту реализации ингибитор МТ, включая, не ограничиваясь перечисленным, антитело к МТ, может быть связан с фрагментом, нацеливающим на клетки поджелудочной железы, для специфичного нацеливания на клетки поджелудочной железы, вырабатывающие МТ, такие как  $\beta$ -клетки поджелудочной железы. Этот вариант реализации будет особенно подходящим для лечения или ограничения развития Д1Т, Д2Т, предиабета и/или нарушения толерантности к глюкозе. Согласно одному варианту реализации нацеливающий фрагмент, специфичный в отношении  $\beta$ -клеток поджелудочной железы, содержит один или более пептидов или других фрагментов, которые преимущественно связывают  $\beta$ -клетки поджелудочной железы, включая, не ограничиваясь перечисленным, глюкагоноподобный пептид-1 (GLP-1), глюкагоноподобный пептид-2 (GLP-2), пептид YY (PYY), нейропептид Y (NPY), пептид поджелудочной железы (PPY) и эксендин-4. Примеры аминокислотных последовательностей таких нацеливающих фрагментов представлены в табл. 3.

Таблица 3

Глюкагоноподобный пептид 1; GLP1 (aa92-128) HDEFERHAEGTFTSDVSSYLEGQAAKEFIAWLVKGRG (SEQ ID NO: 17)
Глюкагоноподобный пептид 2; GLP2 (aa146-178) HADGSFSDEMNTILDNLAARDFINWLIQTKITD (SEQ ID NO: 18)
Пептид поджелудочной железы (PPY) MAAARLCLSLLLLSTCVALLLQPLLGAQGAPLEPVYPGDNATPEQMAQYAADLRRYINMLTRP RYGKRHKEDTLAFSEWGSPhAAVPRELSPLDL (SEQ ID NO: 19)
Нейропептид Y (NPY) MLGNKRLGLSGLTLALSLLVCLGALAEAYPSKPDNPGEDAPAEDMARYYSALRHYINLITRQR YGKRSSPETLISDLLMRESTENVPRTREDFAMW (SEQ ID NO: 20)
Пептид YY (PYY) MVFVRRPWPALTTVLLALLVCLGALVDAYPIKPEAPGEDASPEELNRYASLRHYLNLVTRQR YGKRDGPDTLSSKTFPPDGEDRPFVRSRSEGPDLW (SEQ ID NO: 21)
Эксендин-4 MKIILWLCVFGFLATLFPISWQMPVESGLSSEDSASSESFASKIKRHGEGTFTSDLSKQMEE EAVRLFIEWLKNGGPSSGAPPPSG (SEQ ID NO: 22)

Присоединение фрагмента, нацеливающего на клетки поджелудочной железы, к ингибитору МТ, включая, не ограничиваясь перечисленным, антитело к МТ или его фрагмент, может быть осуществлено посредством любой химической реакции, которая будет связывать две молекулы, при условии, что фрагмент, нацеливающий на клетки поджелудочной железы, и антитело к МТ или его фрагмент сохраняют их соответствующие виды активности. Согласно одному варианту реализации, в котором ингибитор внеклеточного МТ содержит антитело или его фрагмент, композиция содержит рекомбинантный слитый белок. Согласно другим вариантам реализации связь между фрагментом, нацеливающим на клетки поджелудочной железы, и антителом к МТ или его фрагментом может включать множество химических механизмов, например, ковалентное связывание, аффинное связывание, интеркаляцию, координационное связывание и комплексообразование. Ковалентное связывание может быть достигнуто либо путем прямой конденсации существующих боковых цепей, либо путем включения внешних мостиковых молекул. Многие двухвалентные или поливалентные связывающие агенты пригодны для связывания белковых молекул, таких как антитела, с другими молекулами. Например, иллюстративные неограничивающие примеры связывающих агентов могут представлять собой органические соединения, такие как сложные тиоэфиры, карбодиимиды, сложные эфиры сукцинимидов, диизоцианаты, глутаральдегиды, диазобензолы и гексаметилендиамины.

Во всех вариантах реализации субъект может представлять собой любого субъекта, которому могут принести пользу способы лечения, раскрытые в настоящем документе, включая млекопитающих, людей, крупный рогатый скот, собак, кошек, лошадей, кур и т.д. Согласно одному варианту реализации субъект представляет собой человека.

Композиции для введения обычно готовят в виде фармацевтической композиции, включающей фармацевтически приемлемый носитель. Подходящие кислоты, которые способны образовывать фармацевтически приемлемые соли, включают неорганические кислоты, такие как соляная кислота, бромистоводородная кислота, хлорная кислота, азотная кислота, тиоциановая кислота, серная кислота, фосфорная кислота и т.п.; и органические кислоты, такие как муравьиная кислота, уксусная кислота, пропионовая кислота, гликолевая кислота, молочная кислота, пировиноградная кислота, щавелевая кислота, малоновая кислота, янтарная кислота, малеиновая кислота, фумаровая кислота, антралиловая кислота, коричная кислота, нафталинсульфоновая кислота, сульфаниловая кислота и т.п. Подходящие основания, способные образовывать такие соли, включают неорганические основания, такие как гидроксид натрия, гидроксид аммония, гидроксид калия и т.п.; и органические основания, такие как моно-, ди- и триалкил- и ариламины (например, триэтиламин, диизопропиламин, метиламин, диметиламин и т.п.) и необязательно замещенные этаноламины (например, этаноламин, диэтанолламин и т.п.).

Фармацевтическая композиция может содержать, помимо композиции и носителя, (а) лиопротектор; (b) поверхностно-активное вещество; (с) объемобразующий агент; (d) агент, регулирующий тоничность; (е) стабилизатор; (f) консервант и/или (g) буфер.

Согласно некоторым вариантам реализации буфер в фармацевтической композиции представляет собой трис-буфер, гистидиновый буфер, фосфатный буфер, цитратный буфер или ацетатный буфер. Фармацевтическая композиция также может включать лиопротектор, например, сахарозу, сорбит или трегалозу. Согласно определенным вариантам реализации фармацевтическая композиция включает консервант, например, бензалкония хлорид, бензетоний, хлоргексидин, фенол, м-крезол, бензиловый спирт,

метилпарабен, пропилпарабен, хлорбутанол, о-крезол, п-крезол, хлоркрезол, нитрат фенилртути, тимеросал, бензойную кислоту и различные их смеси. Согласно другим вариантам реализации фармацевтическая композиция включает объемобразующий агент, такой как глицин. Согласно другим вариантам реализации фармацевтическая композиция включает поверхностно-активное вещество, например, полисорбат-20, полисорбат-40, полисорбат-60, полисорбат-65, полисорбат-80, полисорбат-85, полоксамер-188, сорбитанмонолаурат, сорбитанмонопальмитат, сорбитанмоностеарат, сорбитанмоноолеат, сорбитантрилаурат, сорбитантристеарат, сорбитантриолеат или их комбинацию. Фармацевтическая композиция также может включать агент, регулирующий тоничность, например, соединение, делающее состав по существу изотоничным или изоосмотичным крови человека. Примеры агентов, регулирующих тоничность, включают сахарозу, сорбит, глицин, метионин, маннит, декстрозу, инозит, хлорид натрия, аргинин и гидрохлорид аргинина. Согласно другим вариантам реализации фармацевтическая композиция дополнительно включает стабилизатор, например, молекулу, которая, будучи в комбинации с композицией на белковой основе, по существу предотвращает или уменьшает химическую и/или физическую нестабильность белка в лиофилизированной или жидкой форме. Примеры стабилизаторов включают сахарозу, сорбит, глицин, инозит, хлорид натрия, метионин, аргинин и гидрохлорид аргинина.

Композиции могут быть введены любым подходящим путем, включая перорально, парентерально, с помощью ингаляционного спрея, ректально или местно в дозированных лекарственных формах, содержащих обычные фармацевтически приемлемые носители, адъюванты и наполнители. В контексте настоящего изобретения термин "парентеральный" включает методики подкожного, внутривенного, внутриартериального, внутримышечного, интратерального, внутрисухожильного, интраспинального, внутричерепного, внутригрудного, инфузионного или внутрибрюшинного введения. Режимы дозирования также можно регулировать для обеспечения оптимального желаемого ответа (например, терапевтического или профилактического ответа). Подходящий диапазон доз может составлять, например, от 0,1 мг/кг до 100 мг/кг массы тела; в качестве альтернативы, он может составлять от 0,5 мг/кг до 50 мг/кг; от 1 мг/кг до 25 мг/кг или от 5 мг/кг до 10 мг/кг массы тела. Композиции могут быть доставлены в виде разового болюса или могут быть введены более одного раза (например, 2, 3, 4, 5 или более раз), что определяет лечащий медицинский персонал. Композиции могут быть введены в виде единственного терапевтического средства или могут быть введены вместе с одним или более другими терапевтическими средствами (либо по отдельности, либо в комбинации), если это будет сочтено целесообразным лечащим медицинским персоналом. В одном неограничивающем варианте реализации субъект страдает от Д1Т или подвержен риску его развития, и ингибитор может быть использован вместе с одним или более из инсулина, метформина или прамлинтида. Согласно другому варианту реализации субъект страдает от Д2Т, предиабета и/или нарушения толерантности к глюкозе или подвержен риску их развития, и ингибитор может быть использован вместе с одним или более из метформина, сульфонилмочевин (включая, не ограничиваясь перечисленным, глибурид, глипизид и глимепирид), меглитинидов (включая, не ограничиваясь перечисленным, репаглинид и натеглинид), тиазолидиндионов (включая, не ограничиваясь перечисленным, росиглитазон и пиоглитазон), ингибиторов DPP-4 (включая, не ограничиваясь перечисленным, ситаглиптин, саксаглиптин и линаглиптин), агонистов рецептора GLP-1 (включая, не ограничиваясь перечисленным, эксенатид, лираглутид и семаглутид), ингибиторов SGLT2 (включая, не ограничиваясь перечисленным, канаглифлозин, дапаглифлозин и эмпаглифлозин) или инсулина. В одном неограничивающем варианте реализации субъект страдает от гепатита или подвержен риску его развития, и ингибитор может быть использован в комбинации с одним или более из энтекавира, тенофовира, ламивудина, адефовира, телбивудина, симепревира, софосбувира, интерферона или рибавирина.

Согласно другому варианту реализации предложены композиции, содержащие:

(a) антитело к металлотионеину, раскрытое в настоящем документе; и  
 (b) один или более из инсулина, метформина, прамлинтида, сульфонилмочевины (включая, не ограничиваясь перечисленным, глибурид, глипизид и глимепирид), меглитинида (включая, не ограничиваясь перечисленным, репаглинид и натеглинид), тиазолидиндиона (включая, не ограничиваясь перечисленным, росиглитазон и пиоглитазон), ингибитора DPP-4 (включая, не ограничиваясь перечисленным, ситаглиптин, саксаглиптин и линаглиптин), агониста рецептора GLP-1 (включая, не ограничиваясь перечисленным, эксенатид, лираглутид и семаглутид), ингибитора SGLT2 (включая, не ограничиваясь перечисленным, канаглифлозин, дапаглифлозин и эмпаглифлозин), энтекавира, тенофовира, ламивудина, адефовира, телбивудина, симепревира, софосбувира, интерферона или рибавирина. Композиции можно применять, например, в способах согласно настоящему раскрытию. Все варианты реализации и комбинации вариантов реализации антител, раскрытых выше, являются подходящими для включения в композиции согласно этому аспекту. Согласно одному варианту реализации антитело к МТ или его антигенсвязывающий фрагмент содержит моноклональное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент. Согласно другому варианту реализации антитело к МТ содержит гуманизированное антитело к МТ или его антигенсвязывающий фрагмент.

Согласно другому аспекту настоящего раскрытия предложены композиции, содержащие:

(a) антитело к металлотионеину, раскрытое в настоящем документе; и  
 (b) фрагмент, нацеливающий на клетки поджелудочной железы или печени, связанный с ингибито-

ром внеклеточного МТ человека.

Композиции можно применять, например, в способах согласно настоящему раскрытию. Все варианты реализации и комбинации вариантов реализации антител, раскрытых выше, являются подходящими для включения в композиции согласно этому аспекту. Согласно одному варианту реализации антитело к МТ или его антигенсвязывающий фрагмент содержит моноклональное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент. Согласно другому варианту реализации антитело к МТ содержит гуманизированное антитело к МТ или его антигенсвязывающий фрагмент.

Согласно одному варианту реализации фрагмент, нацеливающий на клетки, представляет собой фрагмент, нацеливающий на клетки печени. В таких иллюстративных вариантах реализации фрагмент, нацеливающий на клетки печени, включает, не ограничиваясь перечисленным, циркумспороzoитный белок (CSP), область I CSP, область I-плюс CSP, лактозаминированный сывороточный альбумин человека, гликозилированный липопротейн и/или арабиногалактан. Согласно одному варианту реализации фрагмент, связывающий клетки печени, является пептидным и выбран из CSP, области I CSP, области I-плюс CSP или их фрагментов, связывающих клетки печени. CSP нацеливает спорозоит Plasmodium на печень вследствие циркумспороzoитного белка (CSP), присутствующего на поверхности спорозоита Plasmodium (Rathore D, et al. The Journal of Biological Chemistry. 2005;280(21):20524-20529). CSP имеет длину приблизительно 400 аминокислот, организованных в три домена: N-концевой домен, содержащий консервативный мотив KLKQP, называемый "область I", центральный домен с высоким содержанием повторяющихся последовательностей и C-концевой домен, содержащий другую консервативную последовательность, называемую "область II" (Singh et al. Cell. 2007;131(3):492-504). Помимо консервативной последовательности KLKQP области I N-концевая область также содержит две консенсусные последовательности, связывающие гепаринсульфат, расположенные выше области I. Пептиды, содержащие как консервативные аминокислоты области I, так и две консенсусные последовательности, связывающие гепарин, выше области I, были названы "область I-плюс" (Prudêncio et al., Nature Reviews Microbiology. 2006;4(11):849-856).

Согласно другому варианту реализации фрагмент, нацеливающий на клетки, представляет собой фрагмент, нацеливающий на клетки поджелудочной железы, включая, не ограничиваясь перечисленным, глюкагоноподобный пептид-1 (GLP-1), глюкагоноподобный пептид-2 (GLP-2), пептид YY (PYY), нейропептид Y (NPY), пептид поджелудочной железы (PPY) и эксендин-4; иллюстративные аминокислотные последовательности таких пептидов описаны выше.

Присоединение фрагмента, нацеливающего на клетки, к антителу к МТ или его фрагменту может быть осуществлено посредством любой химической реакции, которая будет связывать две молекулы, при условии, что фрагмент, нацеливающий на клетки, и антитело к МТ или его фрагмент сохраняют их соответствующие виды активности. Согласно одному варианту реализации композиция содержит рекомбинантный слитый белок. Согласно другим вариантам реализации связь между фрагментом, нацеливающим на клетки, и антителом к МТ или его фрагментом может включать множество химических механизмов, например, ковалентное связывание, аффинное связывание, интеркаляцию, координационное связывание и комплексообразование. Ковалентное связывание может быть достигнуто либо путем прямой конденсации существующих боковых цепей, либо путем включения внешних мостиковых молекул. Многие двухвалентные или поливалентные связывающие агенты пригодны для связывания белковых молекул, таких как антитела, с другими молекулами. Например, иллюстративные неограничивающие примеры связывающих агентов могут представлять собой органические соединения, такие как сложные тиоэфиры, карбодиимиды, сложные эфиры сукцинимидов, диизоцианаты, глутаральдегиды, диазобензолы и гексаметилендиамины.

Во всех вариантах реализации субъект может представлять собой любого субъекта, которому могут принести пользу способы лечения, раскрытые в настоящем документе, включая млекопитающих, людей, крупный рогатый скот, собак, кошек, лошадей, кур и т.д. Согласно одному варианту реализации субъект представляет собой человека.

### Примеры

Гуманизация моноклонального антитела к металлопротеину UC1MT.

Моноклональное антитело к металлопротеину (МТ) мыши UC1MT гуманизировали с использованием последовательностей PromabKV6,10 (легкая цепь) и MHC2822HC/Promab (тяжелая цепь). Конструировали три последовательности легкой цепи человека и 5 последовательностей тяжелой цепи человека. Последовательности приблизительно конструировали вложенным образом, от большего к меньшему количеству изменений. Конструкции тяжелой цепи и легкой цепи тестировали во всех возможных парных комбинациях вместе с исходными V-областями, что привело к получению 24 комбинаций. Используемые константные области представляли собой консенсусные тяжелые цепи человека и являются общими для всех тяжелых и легких цепей, использованных в этих перестановках.

Исходные последовательности первоначальной гибридомы мыши UC1MT (V-область тяжелой и легкой цепей).

А. Первичные исходные последовательности гибридомы UC1MT для тяжелой цепи (ProMab):  
GSEVKLQESGPGVLVQPSQSLSTCTVSGFSLSRYGVHWVRQSPVKGLEWLGVIWSGGSTDYNA

FISRLSINKDNSKSKVFFKMHSLSQTYDTARYYCARW LLPGYFDVWGAGTTVTVSS (SEQ ID  
NO: 23)

(реплицированная последовательность Lake MHC2822HC перед первоначальной последовательностью ProMab):

QVQLTQSGPGLVQPSQSLSTCTVSGFSLSRYGVHWVRQSPVKGLEWLGVIWSGGSTDYNAFI  
SRLSINKDNSKSKVFFKMHSLSQTYDTARYYCARW LLPGYFDVWGAGTTVTVSS (SEQ ID  
NO: 24)

Исходная последовательность легкой цепи из первоначальной гибридомы UC1MT для CDR (подчеркнуты):

AVLMSQTPLSLPVSLGDQASISCRSSQSIVHSNGNTYLEWYLQKPGQSPKLLIYKVSNRFSQV  
DRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDLGIYYCFQGSHPV FAFGSGTKLEIE (SEQ ID NO:25)

Рекомендации по конструированию последовательности.

Начальные последовательности сначала сравнивали с V-областями зародышевой линии мыши, чтобы идентифицировать потенциальные мутации в каркасных областях, которые могут вызывать плохую укладку. Тяжелая цепь была наиболее сходной с последовательностью IGHV2-2 зародышевой линии и J-цепью J1 мыши. Отметим четыре мутации в каркасных областях. Легкая цепь была наиболее сходной с легкими каппа-цепями IGKV6-13 и IGKV6-15 Ig мыши. Отметим шесть мутаций. Кроме того, очевидно, произошел перекрест между IGKV6-13 и IGKV6-15 около 5'-конца кодирующей последовательности с образованием готовой последовательности легкой цепи. Очевидно, использовали J-область J5 легкой цепи мыши.

Последовательности мутировали для получения частоты использования кодонов в иммуноглобулинах человека, также отбирали последовательности с небольшим, средним и большим количеством модификаций, и последовательности мутировали для ориентации антигенсвязывающих областей (ABR)/определяющих комплементарность участков (CDR) в направлении антигенсвязывающего кармана антитела.

Каждую из этих 3 полученных гуманизированных легких цепей и 5 полученных гуманизированных тяжелых цепей коэкспрессировали в виде пар H, L в клетках НЕК 294, и иммуноглобулин очищали аффинными методами из этих клеток. Эти антитела тестировали против МТ в стандартном ИФА, и результаты показаны на фиг. 3. Комбинации гуманизированных тяжелых и легких цепей связываются с металлотиионом с некоторыми различиями в связывающей способности между различными перестановками H- и L-цепей. Когда исходные последовательности V-областей H и L мыши комбинируют с константными областями H и L иммуноглобулина человека, антитела функционируют сходным образом, поэтому вариации в константных областях не вносят значительного вклада в распознавание антигена.

Мы использовали программное обеспечение для идентификации определяющих комплементарность участков (CDR) антигенсвязывающих областей, которые описаны в настоящем документе как SEQ ID NO: 1-6. (См. Kunik V, et al., (2012). PLoS Comput Biol 8(2): e1002388. doi: 10.1371/journal.pcbi.1002388; Kunik V, et al., Y (2012). Nucleic Acids Res. 2012 Jul;40(Web Server issue):W521-4.)

Авторы изобретения оценили гуманизированные антитела, показавшие лучшую реакционную способность в отношении МТ, по их связыванию с другими металлопротеинами (алкогольдегидрогеназой (ADH), карбоангидразой (CA), супероксиддисмутазой (SOD), оксидом цитохрома С (CC), металлотиионом (MT) и инсулином человека). Все протестированные антитела сохраняют высокую специфичность в отношении МТ (данные не показаны).

Наконец, из лучших связывающих вариантов комбинаций тяжелой и легкой цепей получали фрагменты Fab' и тестировали связывание с металлотиионом. Данные представлены на фиг. 4 и показывают, что они связываются с металлотиионом с улучшенным связыванием по сравнению с фрагментами Fab' исходного UC1MT.

#### Перечень последовательностей

<110> UNIVERSITY OF CONNECTICUT  
LYNES, Michael

<120> Metallothionein antibodies and their use

<130> 19-1213-PCT

<150> US 62/874,340

<151> 2019-07-15



Gly Phe Ser Leu Ser Arg Tyr Gly  
1 5

<210> 5  
<211> 6  
<212> PRT  
<213> Artificial Sequence

<220>  
<223> Synthetic peptide

<400> 5

Ile Trp Ser Gly Gly Ser  
1 5

<210> 6  
<211> 6  
<212> PRT  
<213> Artificial Sequence

<220>  
<223> Synthetic peptide

<400> 6

Trp Leu Leu Pro Gly Tyr  
1 5

<210> 7  
<211> 112  
<212> PRT  
<213> Artificial Sequence

<220>  
<223> Synthetic peptide

<400> 7

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

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Ile Val His Ser  
20 25 30

Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Glu Trp Phe Gln Gln Arg Pro Gly Gln Ser  
35 40 45

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

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile  
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly

048185

85

90

95

Ser His Val Pro Phe Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys  
100 105 110

<210> 8  
<211> 112  
<212> PRT  
<213> Artificial Sequence

<220>  
<223> Synthetic peptide

<400> 8

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

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Ile Val His Ser  
20 25 30

Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Glu Trp Tyr Leu Gln Arg Pro Gly Gln Ser  
35 40 45

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

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile  
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly  
85 90 95

Ser His Val Pro Phe Ala Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys  
100 105 110

<210> 9  
<211> 112  
<212> PRT  
<213> Artificial Sequence

<220>  
<223> Synthetic peptide

<400> 9

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

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Ile Val His Ser  
20 25 30

048185

Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Glu Trp Tyr Leu Gln Arg Pro Gly Gln Ser  
35 40 45

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

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile  
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Ile Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly  
85 90 95

Ser His Val Pro Phe Ala Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys  
100 105 110

<210> 10  
<211> 107  
<212> PRT  
<213> Artificial Sequence

<220>  
<223> Synthetic peptide

<400> 10

Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu  
1 5 10 15

Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe  
20 25 30

Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln  
35 40 45

Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser  
50 55 60

Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu  
65 70 75 80

Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser  
85 90 95

Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys  
100 105

<210> 11  
<211> 117  
<212> PRT  
<213> Artificial Sequence

## 048185

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Synthetic peptide

&lt;400&gt; 11

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Ser Arg Tyr  
 20 25 30

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

Gly Val Ile Trp Ser Gly Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu Lys  
 50 55 60

Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu  
 65 70 75 80

Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala  
 85 90 95

Arg Trp Leu Leu Pro Gly Tyr Phe Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr  
 100 105 110

Val Thr Val Ser Ser  
 115

&lt;210&gt; 12

&lt;211&gt; 117

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Synthetic peptide

&lt;400&gt; 12

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

Thr Leu Ser Ile Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Ser Arg Tyr  
 20 25 30

Gly Val His Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile  
 35 40 45

Gly Val Ile Trp Ser Gly Gly Ser Thr Asp Tyr Asn Pro Ser Leu Lys  
 50 55 60

048185

Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu  
65 70 75 80

Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala  
85 90 95

Arg Trp Leu Leu Pro Gly Tyr Phe Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr  
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser  
115

<210> 13  
<211> 117  
<212> PRT  
<213> Artificial Sequence

<220>  
<223> Synthetic peptide

<400> 13

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

Thr Leu Ser Ile Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Ser Arg Tyr  
20 25 30

Gly Val His Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile  
35 40 45

Gly Val Ile Trp Ser Gly Gly Ser Thr Asp Tyr Asn Pro Ser Phe Lys  
50 55 60

Ser Arg Val Thr Ile Ser Lys Asp Asn Ser Lys Asn Gln Val Ser Phe  
65 70 75 80

Lys Leu Ser Ser Leu Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala  
85 90 95

Arg Trp Leu Leu Pro Gly Tyr Phe Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr  
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser  
115

<210> 14  
<211> 117  
<212> PRT  
<213> Artificial Sequence

## 048185

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Synthetic peptide

&lt;400&gt; 14

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

Thr Leu Ser Ile Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Ser Arg Tyr  
 20 25 30

Gly Val His Trp Val Arg Gln Ser Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Leu  
 35 40 45

Gly Val Ile Trp Ser Gly Gly Ser Thr Asp Tyr Asn Ala Ala Phe Lys  
 50 55 60

Ser Arg Leu Ser Ile Ser Lys Asp Asn Ser Lys Asn Gln Val Phe Phe  
 65 70 75 80

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

Arg Trp Leu Leu Pro Gly Tyr Phe Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr  
 100 105 110

Val Thr Val Ser Ser  
 115

&lt;210&gt; 15

&lt;211&gt; 117

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Synthetic peptide

&lt;400&gt; 15

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Val Ser Gly Phe Ser Leu Ser Arg Tyr  
 20 25 30

Gly Val His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val  
 35 40 45

Ser Val Ile Trp Ser Gly Gly Ser Thr Asp Tyr Ala Asp Ser Val Lys  
 50 55 60

## 048185

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

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

Arg Trp Leu Leu Pro Gly Tyr Phe Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr  
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser  
115

<210> 16

<211> 330

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic peptide

<400> 16

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys  
1 5 10 15

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

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser  
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser  
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr  
65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys  
85 90 95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys  
100 105 110

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro  
115 120 125

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys  
130 135 140

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp



Val Lys Gly Arg Gly  
35

<210> 18  
<211> 33  
<212> PRT  
<213> Artificial Sequence

<220>  
<223> Synthetic peptide

<400> 18

His Ala Asp Gly Ser Phe Ser Asp Glu Met Asn Thr Ile Leu Asp Asn  
1 5 10 15

Leu Ala Ala Arg Asp Phe Ile Asn Trp Leu Ile Gln Thr Lys Ile Thr  
20 25 30

Asp

<210> 19  
<211> 95  
<212> PRT  
<213> Artificial Sequence

<220>  
<223> Synthetic peptide

<400> 19

Met Ala Ala Ala Arg Leu Cys Leu Ser Leu Leu Leu Leu Ser Thr Cys  
1 5 10 15

Val Ala Leu Leu Leu Gln Pro Leu Leu Gly Ala Gln Gly Ala Pro Leu  
20 25 30

Glu Pro Val Tyr Pro Gly Asp Asn Ala Thr Pro Glu Gln Met Ala Gln  
35 40 45

Tyr Ala Ala Asp Leu Arg Arg Tyr Ile Asn Met Leu Thr Arg Pro Arg  
50 55 60

Tyr Gly Lys Arg His Lys Glu Asp Thr Leu Ala Phe Ser Glu Trp Gly  
65 70 75 80

Ser Pro His Ala Ala Val Pro Arg Glu Leu Ser Pro Leu Asp Leu  
85 90 95

<210> 20

## 048185

<211> 97  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence

<220>  
 <223> Synthetic peptide

<400> 20

Met Leu Gly Asn Lys Arg Leu Gly Leu Ser Gly Leu Thr Leu Ala Leu  
 1 5 10 15

Ser Leu Leu Val Cys Leu Gly Ala Leu Ala Glu Ala Tyr Pro Ser Lys  
 20 25 30

Pro Asp Asn Pro Gly Glu Asp Ala Pro Ala Glu Asp Met Ala Arg Tyr  
 35 40 45

Tyr Ser Ala Leu Arg His Tyr Ile Asn Leu Ile Thr Arg Gln Arg Tyr  
 50 55 60

Gly Lys Arg Ser Ser Pro Glu Thr Leu Ile Ser Asp Leu Leu Met Arg  
 65 70 75 80

Glu Ser Thr Glu Asn Val Pro Arg Thr Arg Leu Glu Asp Pro Ala Met  
 85 90 95

Trp

<210> 21  
 <211> 97  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence

<220>  
 <223> Synthetic peptide

<400> 21

Met Val Phe Val Arg Arg Pro Trp Pro Ala Leu Thr Thr Val Leu Leu  
 1 5 10 15

Ala Leu Leu Val Cys Leu Gly Ala Leu Val Asp Ala Tyr Pro Ile Lys  
 20 25 30

Pro Glu Ala Pro Gly Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu Leu Asn Arg Tyr  
 35 40 45

Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Leu Val Thr Arg Gln Arg Tyr  
 50 55 60

048185

Gly Lys Arg Asp Gly Pro Asp Thr Leu Leu Ser Lys Thr Phe Phe Pro  
65 70 75 80

Asp Gly Glu Asp Arg Pro Val Arg Ser Arg Ser Glu Gly Pro Asp Leu  
85 90 95

Trp

<210> 22  
<211> 87  
<212> PRT  
<213> Artificial Sequence

<220>  
<223> Synthetic peptide

<400> 22

Met Lys Ile Ile Leu Trp Leu Cys Val Phe Gly Leu Phe Leu Ala Thr  
1 5 10 15

Leu Phe Pro Ile Ser Trp Gln Met Pro Val Glu Ser Gly Leu Ser Ser  
20 25 30

Glu Asp Ser Ala Ser Ser Glu Ser Phe Ala Ser Lys Ile Lys Arg His  
35 40 45

Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Met Glu Glu Glu  
50 55 60

Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Gly Gly Pro Ser Ser  
65 70 75 80

Gly Ala Pro Pro Pro Ser Gly  
85

<210> 23  
<211> 119  
<212> PRT  
<213> Artificial Sequence

<220>  
<223> Synthetic peptide

<400> 23

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

Ser Gln Ser Leu Ser Ile Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Ser  
20 25 30

## 048185

Arg Tyr Gly Val His Trp Val Arg Gln Ser Pro Val Lys Gly Leu Glu  
35 40 45

Trp Leu Gly Val Ile Trp Ser Gly Gly Ser Thr Asp Tyr Asn Ala Ala  
50 55 60

Phe Ile Ser Arg Leu Ser Ile Asn Lys Asp Asn Ser Lys Ser Gln Val  
65 70 75 80

Phe Phe Lys Met His Ser Leu Gln Thr Tyr Asp Thr Ala Arg Tyr Tyr  
85 90 95

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

Thr Thr Val Thr Val Ser Ser  
115

<210> 24

<211> 117

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic peptide

<400> 24

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

Ser Leu Ser Ile Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Ser Arg Tyr  
20 25 30

Gly Val His Trp Val Arg Gln Ser Pro Val Lys Gly Leu Glu Trp Leu  
35 40 45

Gly Val Ile Trp Ser Gly Gly Ser Thr Asp Tyr Asn Ala Ala Phe Ile  
50 55 60

Ser Arg Leu Ser Ile Asn Lys Asp Asn Ser Lys Ser Gln Val Phe Phe  
65 70 75 80

Lys Met His Ser Leu Gln Thr Tyr Asp Thr Ala Arg Tyr Tyr Cys Ala  
85 90 95

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

Val Thr Val Ser Ser  
115

<210> 25  
<211> 112  
<212> PRT  
<213> Artificial Sequence

<220>  
<223> Synthetic peptide

<400> 25

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

Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Ile Val His Ser  
20 25 30

Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Glu Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser  
35 40 45

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

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile  
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Ile Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly  
85 90 95

Ser His Val Pro Phe Ala Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Ile Glu  
100 105 110

#### ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Выделенное антитело к металлотионеину или его фрагмент, содержащие следующие определяющие комплементарность участки (CDR):

CDR1 легкой цепи (L-CDR1), который содержит аминокислотную последовательность QSIVHSNGNTYLE (SEQ ID NO: 1);

CDR2 легкой цепи (L-CDR2), который содержит аминокислотную последовательность KVS (SEQ ID NO: 2); и

CDR3 легкой цепи (L-CDR3), который содержит аминокислотную последовательность FQGSHPVF(A/T) (SEQ ID NO: 3);

CDR1 тяжелой цепи (H-CDR1), который содержит аминокислотную последовательность GFSLSRYG (SEQ ID NO: 4);

CDR2 тяжелой цепи (H-CDR2), который содержит аминокислотную последовательность IWSGGST (SEQ ID NO: 5); и

CDR3 тяжелой цепи (H-CDR3), который содержит аминокислотную последовательность WLLPGY (SEQ ID NO: 6).

2. Выделенное антитело или его фрагмент по п.1, отличающиеся тем, что указанное антитело включает моноклональное антитело или его фрагмент.

3. Выделенное антитело или его фрагмент по любому из пп.1, 2, отличающиеся тем, что указанное антитело содержит гуманизованное антитело или его фрагмент.

4. Выделенное антитело к металлотиионеину или его фрагмент по любому из пп.1-3, отличающиеся тем, что легкая цепь содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 70, 75, 80, 85, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99 или 100% идентична аминокислотной последовательности, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 7-9, при этом указанная легкая цепь содержит по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 или все 16 из следующих остатков: D1, V3, T5, S7, T14, Q17, P18, F41, Q42, R44, R50, V88, V90, T102, Q105 и K112.

5. Выделенное антитело к металлотиионеину или его фрагмент по п.4, отличающиеся тем, что легкая цепь содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 70, 75, 80, 85, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99 или 100% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 8, причем указанная легкая цепь содержит по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12 или все 13 из следующих остатков D1, V3, T5, S7, T14, Q17, P18, R44, R50, V88, V90, Q105 и K112.

6. Выделенное антитело к металлотиионеину или его фрагмент по п.4 или 5, отличающиеся тем, что легкая цепь дополнительно содержит константную область каппа из легкой цепи человека, причём константная область каппа из легкой цепи человека содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 70, 75, 80, 85, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99 или 100% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 10.

7. Выделенное антитело к металлотиионеину или его фрагмент по любому из пп.1-6, отличающиеся тем, что тяжелая цепь содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 70, 75, 80, 85, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99 или 100% идентична аминокислотной последовательности, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 11-15, причем указанная тяжелая цепь содержит по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42 или все 43 из следующих остатков: E1, V5, G9, K13, G15, E16 или G16, T17, R19, L20, S21, A23, S35, I37, P40 или A40, G42, I48 или V48, S49, N58, A60, P61 или D61, S62, L63 или V63, K64, G65, V67 или F67, T68, S70, V71, T73, A74, N76 или K76, S77, F78, S79 или Y79, L80, Q81, L82, S83 или N83, V85, T86 или R86, A87, A88 или E88, V92 и Q109.

8. Выделенное антитело к металлотиионеину или его фрагмент по п.7, отличающиеся тем, что тяжелая цепь содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 70, 75, 80, 85, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99 или 100% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 14, причем указанная тяжелая цепь содержит по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12 или все 13, 14 из следующих остатков: K13, E16, V37, G42, K64, S70, N76, V78, S83, T86, A87, A88 и Q109.

9. Выделенное антитело к металлотиионеину или его фрагмент по п.7 или 8, отличающиеся тем, что тяжелая цепь содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 70, 75, 80, 85, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99 или 100% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 15, причем указанная тяжелая цепь содержит по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42 или все 43 из следующих остатков: E1, V5, G9, K13, G15, E16 или G16, T17, R19, L20, S21, A23, S35, I37, P40 или A40, G42, I48 или V48, S49, N58, A60, P61 или D61, S62, L63 или V63, K64, G65, V67 или F67, T68, S70, V71, T73, A74, N76 или K76, S77, F78, S79 или Y79, L80, Q81, L82, S83 или N83, V85, T86 или R86, A87, A88 или E88, V92 и Q109.

10. Выделенное антитело к металлотиионеину или его фрагмент по любому из пп.7-9, отличающиеся тем, что указанная тяжелая цепь дополнительно содержит константную последовательность IgG1 человека, которая включает мутацию, предотвращающую гликозилирование, при этом константная последовательность IgG1 человека включает аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 70, 75, 80, 85, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99 или 100% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 16.

11. Выделенное антитело к металлотиионеину или его фрагмент по любому из пп.1-10, отличающиеся тем, что:

(а) легкая цепь содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99 или 100% идентична аминокислотной последовательности, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 7-9, причем указанная легкая цепь содержит по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 или все 16 из следующих остатков: D1, V3, T5, S7, T14, Q17, P18, F41, Q42, R44, R50, V88, V90, T102, Q105 и K112; и

(б) тяжелая цепь содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99 или 100% идентична аминокислотной последовательности, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 16-26, или выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 11-15, причем указанная тяжелая цепь содержит по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42 или все 43 из следующих остатков: E1, V5, G9, K13, G15, E16 или G16, T17, R19, L20, S21, A23, S35, I37, P40 или A40, G42, I48 или V48, S49, N58, A60, P61 или D61, S62, L63 или V63, K64, G65, V67 или F67, T68, S70, V71, T73, A74, N76 или K76, S77, F78, S79 или Y79, L80, Q81, L82, S83 или N83, V85, T86 или R86, A87, A88 или E88, V92 и Q109.

12. Выделенное антитело к металлотиионеину или его фрагмент по любому из пп.1-11, отличающиеся

ся тем, что:

(а) легкая цепь содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99 или 100% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 8, причем указанная легкая цепь содержит по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12 или все 13 из следующих остатков D1, V3, T5, S7, T14, Q17, P18, R44, R50, V88, V90, Q105 и K112; и

(b) тяжелая цепь содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99 или 100% идентична аминокислотной последовательности, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 14-15, причем указанная тяжелая цепь содержит:

(i) по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12 или все 13 из следующих остатков: K13, E16, V37, G42, K64, S70, N76, V78, S83, T86, A87, A88 и Q109; или

(ii) по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42 или все 43 из следующих остатков: E1, V5, G9, K13, G15, E16 или G16, T17, R19, L20, S21, A23, S35, I37, P40 или A40, G42, I48 или V48, S49, N58, A60, P61 или D61, S62, L63 или V63, K64, G65, V67 или F67, T68, S70, V71, T73, A74, N76 или K76, S77, F78, S79 или Y79, L80, Q81, L82, S83 или N83, V85, T86 или R86, A87, A88 или E88, V92 и Q109.

13. Выделенное антитело к металлотронеину или его фрагмент по п.11 или 12, отличающиеся тем, что указанное антитело содержит моноклональное антитело или его фрагмент или гуманизированное антитело или его фрагмент.

14. Выделенное антитело к металлотронеину или его фрагмент по любому из пп.1-13, отличающиеся тем, что указанное антитело содержит фрагмент Fab'.

15. Выделенное антитело или его фрагмент по любому из пп.1-14, дополнительно содержащие детектируемую метку.

16. Выделенное антитело или его фрагмент по любому из пп.1-15, дополнительно содержащие

(а) терапевтический агент, конъюгированный с указанным антителом или его фрагментом; и/или

(b) фрагмент, нацеливающий на клетки, конъюгированный с указанным антителом или его фрагментом.

17. Нуклеиновая кислота, кодирующая выделенное антитело или его фрагмент по любому из пп.1-16.

18. Вектор, содержащий нуклеиновую кислоту по п.17, функционально связанную с подходящей контролирующей последовательностью.

19. Клетка-хозяин, содержащая нуклеиновую кислоту по п.17 и/или вектор по п.18.

20. Фармацевтическая композиция, содержащая:

(а) выделенное антитело или его фрагмент по любому из пп.1-16 или его фармацевтически приемлемую соль, нуклеиновую кислоту по п.17, вектор по п.18 или клетку-хозяина по п.19; и

(b) фармацевтически приемлемый носитель.

21. Способ лечения или ограничения развития расстройства, выбранного из группы, состоящей из: воспаления кишечника, диабета, предиабета, нарушения толерантности к глюкозе, гепатита и/или воспалительного заболевания печени, включающий введение субъекту, нуждающемуся в этом, эффективного для лечения указанного расстройства количества выделенного антитела или его фрагмента по любому из пп.1-16 или его фармацевтически приемлемой соли, нуклеиновой кислоты по п.17, вектора по п.18, клетки-хозяина по п.19 или фармацевтической композиции по п.20.

22. Способ по п.21, отличающийся тем, что указанный субъект страдает от диабета или подвержен риску развития диабета, и указанный способ предназначен для лечения или ограничения развития диабета.

23. Способ по п.22, отличающийся тем, что указанный субъект подвержен риску развития диабета 1 типа, и указанный способ предназначен для ограничения развития диабета 1 типа у указанного субъекта.

24. Способ по п.23, отличающийся тем, что указанный субъект имеет один или более факторов риска развития диабета 1 типа, выбранных из группы, состоящей из: родителя, брата или сестры с диабетом 1 типа, опухоли поджелудочной железы, панкреатита, аутоантител к островковым клеткам поджелудочной железы, аутоантител к инсулину, аутоантител к глутаматдекарбоксилазе (GADA), инсулинома-ассоциированных (IA-2) аутоантител, аутоантител к транспортеру цинка (ZnT8), вариантов гена IDDM1, выбранных из группы, состоящей из DRB1 0401, DRB1 0402, DRB1 0405, DQA 0301, DQB1 0302 и DQB1 0201; полиурии, полидипсии, сухости во рту, полифагии, утомляемости или потери массы тела.

25. Способ по п.21, отличающийся тем, что указанный субъект страдает от диабета 1 типа, и указанный способ предназначен для лечения диабета 1 типа у указанного субъекта.

26. Способ по п.25, отличающийся тем, что указанное лечение включает одно или более из: снижения частоты потребности инъекций инсулина; замедления развития или прогрессирования осложнений диабета 1 типа у указанного субъекта, включающих, но не ограничивающихся указанным: разрушение бета-клеток поджелудочной железы, гипергликемию, гипогликемию, полиурию, полифагию, полидипсию, потерю массы тела, нечеткость зрения, утомляемость, снижение способности к заживлению ран, инфекцию мочевыводящих путей, нарушение половой функции, сухость во рту, диабетический кетоацидоз, сердечно-сосудистое заболевание, диабетическую нефропатию, диабетическую нейропатию, диабе-

тическую ретинопатию, инсульт, почечную недостаточность и язву стопы; и отсрочки потребности в трансплантате поджелудочной железы или островковых клеток поджелудочной железы.

27. Способ по п.21, отличающийся тем, что указанный субъект подвержен риску развития диабета 2 типа, и указанный способ предназначен для ограничения развития диабета 2 типа у указанного субъекта.

28. Способ по п.27, отличающийся тем, что указанный субъект имеет один или более факторов риска развития диабета 2 типа, выбранных из группы, состоящей из: ожирения, курения, малоподвижного образа жизни, родителя, брата или сестры с диабетом 2 типа, предиабета, родителя, брата или сестры с предиабетом, возраста 50 лет или старше, повышенного артериального давления, высокого уровня холестерина, дефицита тестостерона, однонуклеотидного полиморфизма гена металлотионеина 1А (MT1A) в локусе rs8052394 (изменение G) и гестационного диабета в анамнезе.

29. Способ по п.21, отличающийся тем, что указанный субъект страдает от диабета 2 типа, и указанный способ предназначен для лечения диабета 2 типа у указанного субъекта.

30. Способ по п.29, отличающийся тем, что указанное лечение включает ограничение одного или более из осложнений диабета 2 типа, выбранных из группы, состоящей из: гипергликемии, гипогликемии, инсулинорезистентности, диабетической нефропатии, диабетической нейропатии, диабетической ретинопатии, протеинурии, нарушения гломерулярного клиренса, связанных с диабетом нарушений кровообращения, почечной недостаточности, сердечно-сосудистого заболевания, полиурии, полидипсии, потери массы тела, инсульта и снижения частоты потребности в инсулине или другой терапии.

31. Способ по п.30, отличающийся тем, что указанный субъект страдает от предиабета, и указанный способ предназначен для лечения предиабета у указанного субъекта.

32. Способ по п.31, отличающийся тем, что указанное лечение включает ограничение или замедление прогрессирования одного или более осложнений предиабета, выбранных из группы, состоящей из: диабета 2 типа, гипергликемии, инсулинорезистентности и/или сердечно-сосудистого заболевания.

33. Способ по п.21, отличающийся тем, что указанный субъект страдает от нарушения толерантности к глюкозе, и указанный способ предназначен для лечения нарушения толерантности к глюкозе у указанного субъекта.

34. Способ по п.33, отличающийся тем, что указанное лечение включает ограничение или замедление прогрессирования одного или более осложнений нарушения толерантности к глюкозе, выбранных из группы, состоящей из: диабета 2 типа, гипергликемии, инсулинорезистентности и/или сердечно-сосудистого заболевания.

35. Способ по п.21, отличающийся тем, что указанный субъект страдает от гепатита, и указанный способ предназначен для лечения гепатита у указанного субъекта.

36. Способ по п.35, отличающийся тем, что указанное лечение включает ограничение или замедление прогрессирования одного или более осложнений гепатита, выбранных из группы, состоящей из: желтого окрашивания кожи и/или склер глаз, снижения аппетита, рвоты, утомляемости, боли в животе, диареи, острой печеночной недостаточности, рубцевания печени, печеночной недостаточности и рака печени.

37. Способ по п.21, отличающийся тем, что указанный субъект страдает от воспалительного заболевания печени, и указанный способ предназначен для лечения воспалительного заболевания печени у указанного субъекта.

38. Способ по п.37, отличающийся тем, что указанное воспалительное заболевание печени выбрано из группы, состоящей из неалкогольного стеатогепатита (НАСГ) и/или неалкогольной жировой болезни печени (НАЖБП).

39. Способ по п.37 или 38, отличающийся тем, что указанное лечение включает ограничение или замедление прогрессирования одного или более осложнений воспалительного заболевания печени, выбранных из группы, состоящей из: утомляемости, недомогания, фиброза печени, рака печени и/или цирроза печени.

40. Способ по п.21, отличающийся тем, что указанный субъект страдает от воспаления кишечника.

41. Способ по п.40, отличающийся тем, что указанное воспаление кишечника выбрано из группы, состоящей из болезни Крона, язвенного колита, коллагенового, лимфоцитарного, ишемического, диверсионного и неопределенного колита и болезни Бехчета.

42. Способ по любому из пп.21-41, отличающийся тем, что указанный субъект представляет собой млекопитающее.

43. Способ по любому из пп.21-42, отличающийся тем, что указанный субъект представляет собой человека.

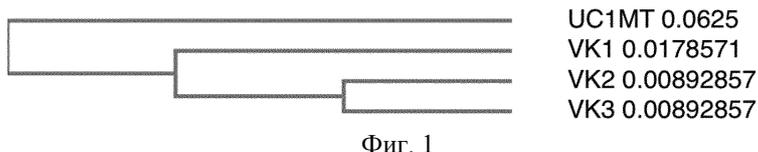
**A**

Выравнивание нескольких последовательностей с помощью CLUSTAL O (1.2.4)

```

UC1MT   AVLMSQTPLSLSPVSLGDQASISCRSSQSI VHSNGNTYLEWYLQKPGQSPKLLIYKVSNRF 60
VK1     DVVMTQSPPLSLPVTLGQPASISCRSSQSI VHSNGNTYLEWFQQRPGQSPRLLIYKVSNRF 60
VK2     DVVMTQSPPLSLPVTLGQPASISCRSSQSI VHSNGNTYLEWYLQRPQSPRLLIYKVSNRF 60
VK3     DVVMTQSPPLSLPVTLGQPASISCRSSQSI VHSNGNTYLEWYLQRPQSPRLLIYKVSNRF 60
        *:*:*:*****:**: *****:*****: *****: *****: *****:
UC1MT   SGVPDRFSGSGSCTDFTLKISRVEAEDLGIYYCFQGSHPVFAFGSGTKLEIE 112
VK1     SGVPDRFSGSGSCTDFTLKISRVEAEDVGVYYCFQGSHPVPTFGQGTKLEIK 112
VK2     SGVPDRFSGSGSCTDFTLKISRVEAEDVGVYYCFQGSHPVFAFGQGTKLEIK 112
VK3     SGVPDRFSGSGSCTDFTLKISRVEAEDLGIYYCFQGSHPVFAFGQGTKLEIK 112
        *****:*****: *****: *****: *****:
    
```

**B**



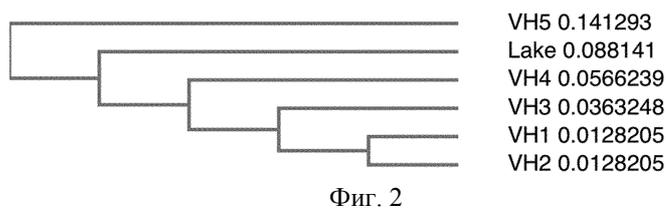
**A**

Выравнивание нескольких последовательностей с помощью CLUSTAL O (1.2.4)

```

VH5     EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFSLSR YGVHWRQAPGKLEWVSVINSGGSTDYA 60
Lake    QVQLTQSGPGLVQPSSQLSITCTVSGFSLSR YGVHWRQSPVKGLEWLVGINSGGSTDYN 60
VH4     QVQLQESGPGLVKPSETLSITCTVSGFSLSR YGVHWRQSPGKLEWLVGINSGGSTDYN 60
VH3     QVQLQESGPGLVKPSETLSITCTVSGFSLSR YGVHWRQPPGKLEWLVGINSGGSTDYN 60
VH1     QVQLQESGPGLVKPSETLSITCTVSGFSLSR YGVSWIRQPPGKLEWLVGINSGGSTDYN 60
VH2     QVQLQESGPGLVKPSETLSITCTVSGFSLSR YGVHWIRQPPGKLEWLVGINSGGSTDYN 60
        :*** :** ***:*. :* :*:***** **:* * ***:;*****:
VH5     DSVKGRFTISKDNKKSIVYLMNSLRAEDTAVYYCARWLLPGYFDVWGQGTITVTVSS 117
Lake    AAFISRLSINKDNSKQVFFKMSLTADTARYYCARWLLPGYFDVWGAGTITVTVSS 117
VH4     AAFKSRLSISKDNSKNQVFFKMSLTADTARYYCARWLLPGYFDVWGQGTITVTVSS 117
VH3     PSFKSRVTISKDNSKNQVSKLSSVTAADTAVYYCARWLLPGYFDVWGQGTITVTVSS 117
VH1     PSLKSRVTISVDTSKNQVSKLSSVTAADTAVYYCARWLLPGYFDVWGQGTITVTVSS 117
VH2     PSLKSRVTISVDTSKNQVSKLSSVTAADTAVYYCARWLLPGYFDVWGQGTITVTVSS 117
        :. .*:!* .*:!*... :|| *; : ** *****
    
```

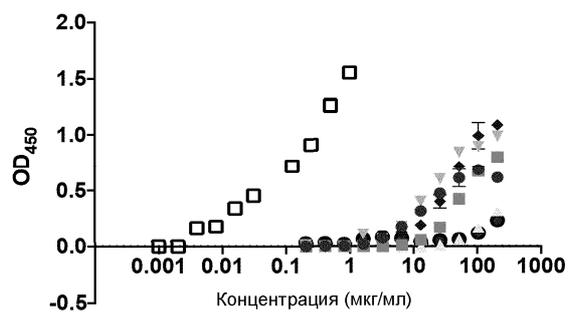
**B**



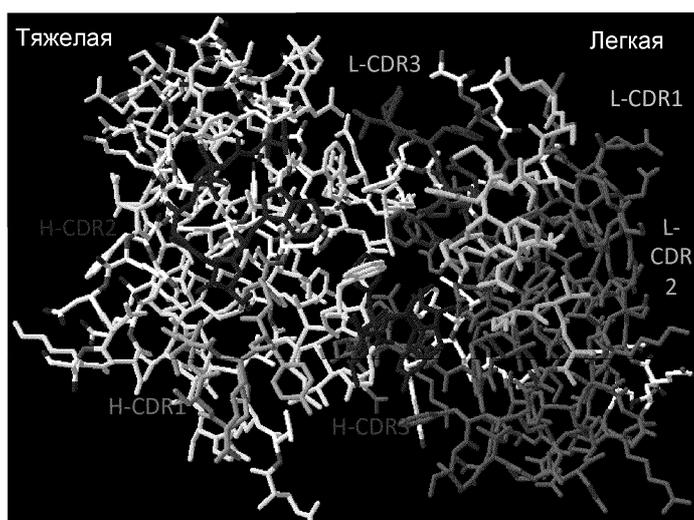
	L-Hum1	L-Hum2	L-Hum3	L-P
H-Hum1	0.09&.07/L,L	0.288&.106/L,L	0.01&.007/L,L	0.107/L
H-Hum2	0.143&.088/L,L	0.22&.212/M,M	0.12&.016/M,L	0.254/M
H-Hum3	0.542&.31/L,M	0.547&.504/M,M	0.478&.443/M,M	0.613/H
H-Hum4	0.225&.124/L,M	0.59&.551/H,H	0.548&.491/M,M	0.617/H
H-Hum5	0.618&.475/M,H	0.612&.578/H,H	0.577&.374/M,H	0.681/H
H-P	0.466&.281/M,M	0.613/H	0.668/H	0.665/H

Фиг. 3

## Связывание Fab с МТ



Фиг. 4А



Фиг. 4В

