(19)中华人民共和国国家知识产权局

(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 107459576 A
(43)申请公布日 2017.12.12

(21)申请号 201710881130.4

(22)申请日 2012.12.13

(30)优先权数据
61/570715 2011.12.14 US

(62)分案原申请数据
201280061615.4 2012.12.13

(71)申请人 艾伯维德国有限责任两合公司
地址 德国威斯巴登
申请人 艾伯维公司

(72)发明人 B.米勒 A.波普 J.M.佩雷兹

(74)专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司 72001
代理人 李唐 万雪松

(51)Int.Cl.
C07K 16/28(2006.01)

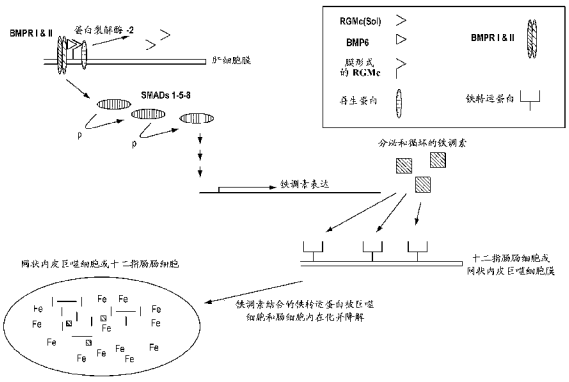
权利要求书2页 说明书106页 附图13页

(54)发明名称

用于诊断和治疗铁相关病症的组合物和方法

(57)摘要

本发明涉及用于诊断和治疗铁相关病症的组合物和方法。本文提供了使用与RGMc结合的抗体以治疗和诊断铁相关病症的方法。



CN 107459576 A

1.分离的抗体或其抗体片段,其结合到排斥性导向分子c ("RGMc")上,其中所述抗体包含选自以下的域或区:(a)重链可变域区,其包含SEQ ID NO:3的氨基酸序列,(b)轻链可变域区,其包含SEQ ID NO:4的氨基酸序列,(c)重链可变域区,其包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列,(d)轻链可变域区,其包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列,(e)重链可变域区,其包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列,(f)轻链可变域区,其包含SEQ ID NO:8的氨基酸序列,(g)重链可变域区,其包含SEQ ID NO:9的氨基酸序列,(h)轻链可变域区,其包含SEQ ID NO:10的氨基酸序列,(p)可变重链,其含有包含SEQ ID NO:11的氨基酸序列的互补决定区(CDR)1,包含SEQ ID NO:12的氨基酸序列的CDR2,和包含SEQ ID NO:13的氨基酸序列的CDR3,(q)可变轻链,其含有包含SEQ ID NO:14的氨基酸序列的CDR1,包含SEQ ID NO:15的氨基酸序列的CDR2,和包含SEQ ID NO:16的氨基酸序列的CDR3,(r)可变重链,其含有包含SEQ ID NO:17的氨基酸序列的CDR1,包含SEQ ID NO:18的氨基酸序列的CDR2,和包含SEQ ID NO:19的氨基酸序列的CDR3,(s)可变轻链,其含有包含SEQ ID NO:20的氨基酸序列的CDR1,包含SEQ ID NO:21的氨基酸序列的CDR2,和包含SEQ ID NO:22的氨基酸序列的CDR3,(t)可变重链,其含有包含SEQ ID NO:23的氨基酸序列的CDR1,包含SEQ ID NO:24的氨基酸序列的CDR2,和包含SEQ ID NO:25的氨基酸序列的CDR3,(u)可变轻链,其含有包含SEQ ID NO:26的氨基酸序列的CDR1,包含SEQ ID NO:27的氨基酸序列的CDR2,和包含SEQ ID NO:28的氨基酸序列的CDR3,(v)可变重链,其含有包含SEQ ID NO:29的氨基酸序列的CDR1,包含SEQ ID NO:30的氨基酸序列的CDR2,和包含SEQ ID NO:31的氨基酸序列的CDR3,(w)可变轻链,其含有包含SEQ ID NO:32的氨基酸序列的CDR1,包含SEQ ID NO:33的氨基酸序列的CDR2,和包含SEQ ID NO:34的氨基酸序列的CDR3,(x)可变重链,其含有包含SEQ ID NO:11的氨基酸序列的CDR1,包含SEQ ID NO:12的氨基酸序列的CDR2,和包含SEQ ID NO:13的氨基酸序列的CDR3,以及可变轻链,其含有包含SEQ ID NO:14的氨基酸序列的CDR1,包含SEQ ID NO:15的氨基酸序列的CDR2,和包含SEQ ID NO:16的氨基酸序列的CDR3,(y)可变重链,其含有包含SEQ ID NO:17的氨基酸序列的CDR1,包含SEQ ID NO:18的氨基酸序列的CDR2,和包含SEQ ID NO:19的氨基酸序列的CDR3,以及可变轻链,其含有包含SEQ ID NO:20的氨基酸序列的CDR1,包含SEQ ID NO:21的氨基酸序列的CDR2,和包含SEQ ID NO:22的氨基酸序列的CDR3,(z)可变重链,其含有包含SEQ ID NO:23的氨基酸序列的CDR1,包含SEQ ID NO:24的氨基酸序列的CDR2,和包含SEQ ID NO:25的氨基酸序列的CDR3,以及可变轻链,其含有包含SEQ ID NO:26的氨基酸序列的CDR1,包含SEQ ID NO:27的氨基酸序列的CDR2,和包含SEQ ID NO:28的氨基酸序列的CDR3,和(aa)可变重链,其含有包含SEQ ID NO:29的氨基酸序列的CDR1,包含SEQ ID NO:30的氨基酸序列的CDR2,和包含SEQ ID NO:31的氨基酸序列的CDR3,以及可变轻链,其含有包含SEQ ID NO:32的氨基酸序列的CDR1,包含SEQ ID NO:33的氨基酸序列的CDR2,和包含SEQ ID NO:34的氨基酸序列的CDR3。

2.权利要求1的分离的抗体或抗体片段,其中所述抗体选自免疫球蛋白分子、二硫键连接的Fv、亲和力成熟的抗体、scFv、嵌合抗体、单域抗体、CDR-移植抗体、双链抗体、单克隆抗体、人源化抗体、人抗体、多特异性抗体、Fab、双重特异性抗体、DVD、Fab'、双特异性抗体、F(ab')2和Fv。

3.权利要求2的分离的抗体或抗体片段,其中所述抗体或抗体片段是单克隆抗体、人源化抗体或人抗体。

4.权利要求1的分离的抗体或抗体片段，其中所述抗体或抗体片段包含选自以下的重链免疫球蛋白恒定域：人IgM恒定域、人IgG4恒定域、人IgG1恒定域、人IgE恒定域、人IgG2恒定域、人IgG3恒定域和人IgA恒定域。

5.权利要求1的分离的抗体或抗体片段，其中所述抗体含有包含SEQ ID NO:3的氨基酸序列的重链可变域区，包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列的重链可变域区，包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列的重链可变域区，或包含SEQ ID NO:9的氨基酸序列的重链可变域区。

6.权利要求1的分离的抗体或抗体片段，其中所述抗体含有包含SEQ ID NO:4的氨基酸序列的轻链可变域区，包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列的轻链可变域区，包含SEQ ID NO:8的氨基酸序列的轻链可变域区，或包含SEQ ID NO:10的氨基酸序列的轻链可变域区。

7.权利要求1的分离的抗体或抗体片段，其中所述抗体含有包含SEQ ID NO:3的氨基酸序列的重链可变域区和包含SEQ ID NO:4的氨基酸序列的轻链可变域区。

8.权利要求1的分离的抗体或抗体片段，其中所述抗体含有包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列的重链可变域区和包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列的轻链可变域区。

9.权利要求1的分离的抗体或抗体片段，其中所述抗体含有包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列的重链可变域区和包含SEQ ID NO:8的氨基酸序列的轻链可变域区。

10.权利要求1的分离的抗体或抗体片段，其中所述抗体含有包含SEQ ID NO:9的氨基酸序列的重链可变域区和包含SEQ ID NO:10的氨基酸序列的轻链可变域区。

用于诊断和治疗铁相关病症的组合物和方法

[0001] 本申请是申请日为2012年12月13日的中国专利申请201280061615.4“用于诊断和治疗铁相关病症的组合物和方法”的分案申请。

[0002] 相关申请信息

本申请要求于2011年12月14日提交的美国临时专利申请号61/570,715的权益，所述申请的内容通过引用完全结合到本文中。

[0003] 序列表

本申请包含经由EFS-Web以ASCII格式提交的序列表并在此通过引用以其整体结合。所述ASCII副本创建于2013年2月13日，命名为029996-1767-W001SL.txt，大小为105,782字节。

技术领域

[0004] 本发明涉及抗体和使用所述抗体来治疗和诊断铁相关病症的方法。

背景技术

[0005]

铁稳态对于机体的正常功能来说是至关重要的。因为铁对于血红蛋白的产生是极为重要的，铁水平不足导致缺铁性贫血。铁过载也可通过不适当地增加肠道铁吸收而扰乱铁平衡。这样的增加通常导致在肝、胰、心脏、脑垂体和其它器官的铁沉积，导致这些器官的组织损伤和正常功能受损。

[0006] 各种铁相关疾病可以至少部分地归因于铁的错误调节并且难以诊断和治疗。这类病症包括肝病、性腺功能减退、糖尿病、肝硬化、心肌病、缺铁性贫血和慢性病贫血(“ACD”)，其表征为与感染、恶性肿瘤和/或慢性炎症相关的铁的不良分布。因为涉及铁相关病症的症状往往是模糊不清的并且所导致的效果并非倾向于立即出现，所以目前的程序往往不能适当诊断和治疗铁病症。这些困难可导致在给予合适疗法上的延迟。

[0007] 因此，需要诊断和治疗铁相关病症的可靠方法。铁相关病症(包括慢性病贫血)的目前治疗选择，包括给予红细胞生成剂，例如依泊汀α、依泊汀β和达贝泊汀(darbepoetin)。进一步的治疗包括口服或肠胃外(parental)铁疗法和/或输血。然而，铁疗法具有有限的功效，通常不建议用于ACD受试者。另外，输血具有多器官衰竭的持续问题并增加病危护理患者的死亡率。因此，需要治疗铁相关疾病的新方法，所述方法高度特异、良好耐受并且对于依泊汀及其相关类似物无反应的受试者而言可以足够方式作为有用的疗法。

发明内容

[0008]

一方面，本发明涉及分离的抗体或其抗体片段，其结合到排斥性导向分子c(Repulsive Guidance Molecule c ，“RGMc”)上。所述抗体包含选自以下的域或区：(a)重链可变域区，其包含SEQ ID NO:3的氨基酸序列，(b)轻链可变域区，其包含SEQ ID NO:4的

氨基酸序列，(c)重链可变域区，其包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列，(d)轻链可变域区，其包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列，(e)重链可变域区，其包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列，(f)轻链可变域区，其包含SEQ ID NO:8的氨基酸序列，(g)重链可变域区，其包含SEQ ID NO:9的氨基酸序列，(h)轻链可变域区，其包含SEQ ID NO:10的氨基酸序列，(i)可变重链，其含有包含SEQ ID NO:11的氨基酸序列的互补决定区(CDR)1，包含SEQ ID NO:12的氨基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO:13的氨基酸序列的CDR3，(j)可变轻链，其含有包含SEQ ID NO:14的氨基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO:15的氨基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO:16的氨基酸序列的CDR3，(k)可变重链，其含有包含SEQ ID NO:17的氨基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO:18的氨基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO:19的氨基酸序列的CDR3，(l)可变轻链，其含有包含SEQ ID NO:20的氨基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO:21的氨基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO:22的氨基酸序列的CDR3，(m)可变重链，其含有包含SEQ ID NO:23的氨基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO:24的氨基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO:25的氨基酸序列的CDR3，(n)可变轻链，其含有包含SEQ ID NO:26的氨基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO:27的氨基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO:28的氨基酸序列的CDR3，(o)可变重链，其含有包含SEQ ID NO:29的氨基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO:30的氨基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO:31的氨基酸序列的CDR3，(p)可变轻链，其含有包含SEQ ID NO:32的氨基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO:33的氨基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO:34的氨基酸序列的CDR3，(q)可变重链，其含有包含SEQ ID NO:11的氨基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO:12的氨基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO:13的氨基酸序列的CDR3，以及可变轻链，其含有包含SEQ ID NO:14的氨基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO:15的氨基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO:16的氨基酸序列的CDR3，(r)可变重链，其含有包含SEQ ID NO:17的氨基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO:18的氨基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO:19的氨基酸序列的CDR3，以及可变轻链，其含有包含SEQ ID NO:20的氨基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO:21的氨基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO:22的氨基酸序列的CDR3，(s)可变重链，其含有包含SEQ ID NO:23的氨基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO:24的氨基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO:25的氨基酸序列的CDR3，以及可变轻链，其含有包含SEQ ID NO:26的氨基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO:27的氨基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO:28的氨基酸序列的CDR3，(t)可变重链，其含有包含SEQ ID NO:29的氨基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO:30的氨基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO:31的氨基酸序列的CDR3，以及可变轻链，其含有包含SEQ ID NO:32的氨基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO:33的氨基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO:34的氨基酸序列的CDR3。所述抗体可以是免疫球蛋白分子、二硫键连接的Fv、亲和力成熟的抗体、scFv、嵌合抗体、单域抗体、CDR-移植抗体、双链抗体、人源化抗体、人抗体、多特异性抗体、Fab、双重特异性抗体(dual specific antibody)、DVD、Fab'、双特异性抗体、F(ab')2和Fv。权利要求2的分离的抗体或抗体片段，其中所述抗体或抗体片段是单克隆抗体、人源化抗体或人抗体。所述抗体或抗体片段包含选自以下的重链免疫球蛋白恒定域：人IgM恒定域、人IgG4恒定域、人IgG1恒定域、人IgE恒定域、人IgG2恒定域、人IgG3恒定域和人IgA恒定域。

[0009] 所述分离的抗体或抗体片段可含有包含SEQ ID NO:3的氨基酸序列的重链可变域区，包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列的重链可变域区，包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列的重

链可变域区，或包含SEQ ID NO:9的氨基酸序列的重链可变域区。所述抗体可含有包含SEQ ID NO:4的氨基酸序列的轻链可变域区，包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列的轻链可变域区，包含SEQ ID NO:8的氨基酸序列的轻链可变域区，或包含SEQ ID NO:10的氨基酸序列的轻链可变域区。所述抗体可含有包含SEQ ID NO:3的氨基酸序列的重链可变域区和包含SEQ ID NO:4的氨基酸序列的轻链可变域区。

[0010] 所述抗体可含有包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列的重链可变域区和包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列的轻链可变域区。所述抗体可含有包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列的重链可变域区和包含SEQ ID NO:8的氨基酸序列的轻链可变域区。所述抗体可含有包含SEQ ID NO:9的氨基酸序列的重链可变域区和包含SEQ ID NO:10的氨基酸序列的轻链可变域区。所述抗体可包含可变重链，其含有包含SEQ ID NO:11的氨基酸序列的互补决定区(CDR)1，包含SEQ ID NO:12的氨基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO:13的氨基酸序列的CDR3。

[0011] 所述抗体可包含可变轻链，其含有包含SEQ ID NO:14的氨基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO:15的氨基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO:16的氨基酸序列的CDR3。所述抗体可包含可变重链，其含有包含SEQ ID NO:17的氨基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO:18的氨基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO:19的氨基酸序列的CDR3。

[0012] 所述抗体可包含可变轻链，其含有包含SEQ ID NO:20的氨基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO:21的氨基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO:22的氨基酸序列的CDR3。

[0013] 所述抗体可包含可变重链，其含有包含SEQ ID NO:23的氨基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO:24的氨基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO:25的氨基酸序列的CDR3。所述抗体可包含可变轻链，其含有包含SEQ ID NO:26的氨基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO:27的氨基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO:28的氨基酸序列的CDR3。所述抗体可包含可变重链，其含有包含SEQ ID NO:29的氨基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO:30的氨基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO:31的氨基酸序列的CDR3。所述抗体可包含可变轻链，其含有包含SEQ ID NO:32的氨基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO:33的氨基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO:34的氨基酸序列的CDR3。所述抗体可包含可变重链，其含有包含SEQ ID NO:11的氨基酸序列的互补决定区(CDR)1，包含SEQ ID NO:12的氨基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO:13的氨基酸序列的CDR3，以及可变轻链，其含有包含SEQ ID NO:14的氨基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO:15的氨基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO:16的氨基酸序列的CDR3。

[0014] 所述抗体可包含可变重链，其含有包含SEQ ID NO:17的氨基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO:18的氨基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO:19的氨基酸序列的CDR3，以及可变轻链，其含有包含SEQ ID NO:20的氨基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO:21的氨基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO:22的氨基酸序列的CDR3。

[0015] 所述抗体可包含可变重链，其含有包含SEQ ID NO:23的氨基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO:24的氨基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO:25的氨基酸序列的CDR3，以及可变轻链，其含有包含SEQ ID NO:26的氨基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO:27的氨基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO:28的氨基酸序列的CDR3。

[0016] 所述抗体可包含可变重链，其含有包含SEQ ID NO:29的氨基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO:30的氨基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO:31的氨基酸序列的CDR3，以及可变轻链，其含有包含SEQ ID NO:32的氨基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO:33的氨基酸序列的

CDR2，和包含SEQ ID NO:34的氨基酸序列的CDR3。所述抗体或抗体片段可进一步包含选自以下的试剂：免疫粘附分子、成像剂和治疗药。所述成像剂可以是放射性标记、酶、荧光标记、发光标记、生物发光标记、磁标记或生物素。所述放射性标记可以是3H、14C、35S、90Y、99Tc、111In、125I、131I、177Lu、166Ho或153Sm。

[0017] 另一方面，本发明也涉及编码本文所述抗体或其片段的任何一个的分离的核酸。本公开内容也涉及药物组合物，其包含本文所述的抗体、抗体片段、其混合物或其衍生物。

[0018] 另一方面，本发明也涉及治疗铁代谢疾病的方法。所述方法包括将治疗或预防有效量的抗体给予有需要的受试者的步骤，其中所述抗体包含选自以下的域或区：(a)重链可变域区，其包含SEQ ID NO:3的氨基酸序列，(b)轻链可变域区，其包含SEQ ID NO:4的氨基酸序列，(c)重链可变域区，其包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列，(d)轻链可变域区，其包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列，(e)重链可变域区，其包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列，(f)轻链可变域区，其包含SEQ ID NO:8的氨基酸序列，(g)重链可变域区，其包含SEQ ID NO:9的氨基酸序列，(h)轻链可变域区，其包含SEQ ID NO:10的氨基酸序列，(i)可变重链，其含有包含SEQ ID NO:11的氨基酸序列的互补决定区(CDR)1，包含SEQ ID NO:12的氨基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO:13的氨基酸序列的CDR3，(j)可变轻链，其含有包含SEQ ID NO:14的氨基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO:15的氨基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO:16的氨基酸序列的CDR3，(k)可变重链，其含有包含SEQ ID NO:17的氨基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO:18的氨基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO:19的氨基酸序列的CDR3，(l)可变轻链，其含有包含SEQ ID NO:20的氨基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO:21的氨基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO:22的氨基酸序列的CDR3，(m)可变重链，其含有包含SEQ ID NO:23的氨基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO:24的氨基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO:25的氨基酸序列的CDR3，(n)可变轻链，其含有包含SEQ ID NO:26的氨基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO:27的氨基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO:28的氨基酸序列的CDR3，(o)可变重链，其含有包含SEQ ID NO:29的氨基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO:30的氨基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO:31的氨基酸序列的CDR3，(p)可变轻链，其含有包含SEQ ID NO:32的氨基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO:33的氨基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO:34的氨基酸序列的CDR3，(q)可变重链，其含有包含SEQ ID NO:11的氨基酸序列的互补决定区(CDR)1，包含SEQ ID NO:12的氨基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO:13的氨基酸序列的CDR3，以及可变轻链，其含有包含SEQ ID NO:14的氨基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO:15的氨基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO:16的氨基酸序列的CDR3，(r)可变重链，其含有包含SEQ ID NO:17的氨基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO:18的氨基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO:19的氨基酸序列的CDR3，以及可变轻链，其含有包含SEQ ID NO:20的氨基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO:21的氨基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO:22的氨基酸序列的CDR3，(s)可变重链，其含有包含SEQ ID NO:23的氨基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO:24的氨基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO:25的氨基酸序列的CDR3，以及可变轻链，其含有包含SEQ ID NO:26的氨基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO:27的氨基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO:28的氨基酸序列的CDR3，和(t)可变重链，其含有包含SEQ ID NO:29的氨基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO:30的氨基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO:31的氨基酸序列的CDR3，以及可变轻链，其含有包含SEQ ID NO:32的氨基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO:33的氨基酸序列的CDR2，和包含SEQ

ID NO:34的氨基酸序列的CDR3,(u)重链可变域区,其包含SEQ ID NO:43的氨基酸序列,(v)轻链可变域区,其包含SEQ ID NO:44的氨基酸序列,(w)重链可变域区,其包含SEQ ID NO:51的氨基酸序列,(x)轻链可变域区,其包含SEQ ID NO:52的氨基酸序列,(y)重链可变域区,其包含SEQ ID NO:53的氨基酸序列,(z)轻链可变域区,其包含SEQ ID NO:54的氨基酸序列,(aa)重链可变域区,其包含SEQ ID NO:57的氨基酸序列,(bb)轻链可变域区,其包含SEQ ID NO:58的氨基酸序列,(cc)重链可变域区,其包含SEQ ID NO:69的氨基酸序列,(dd)轻链可变域区,其包含SEQ ID NO:70的氨基酸序列,(ee)可变重链,其含有包含SEQ ID NO:95的氨基酸序列的互补决定区(CDR)1,包含SEQ ID NO:96的氨基酸序列的CDR2,和包含SEQ ID NO:97的氨基酸序列的CDR3,(ff)可变轻链,其含有包含SEQ ID NO:98的氨基酸序列的CDR1,包含SEQ ID NO:99的氨基酸序列的CDR2,和包含SEQ ID NO:100的氨基酸序列的CDR3,(gg)可变重链,其含有包含SEQ ID NO:119的氨基酸序列的CDR1,包含SEQ ID NO:120的氨基酸序列的CDR2,和包含SEQ ID NO:121的氨基酸序列的CDR3,(hh)可变轻链,其含有包含SEQ ID NO:122的氨基酸序列的CDR1,包含SEQ ID NO:123的氨基酸序列的CDR2,和包含SEQ ID NO:124的氨基酸序列的CDR3,(ii)可变重链,其含有包含SEQ ID NO:125的氨基酸序列的CDR1,包含SEQ ID NO:126的氨基酸序列的CDR2,和包含SEQ ID NO:127的氨基酸序列的CDR3,(jj)可变轻链,其含有包含SEQ ID NO:128的氨基酸序列的CDR1,包含SEQ ID NO:129的氨基酸序列的CDR2,和包含SEQ ID NO:130的氨基酸序列的CDR3,(kk)可变重链,其含有包含SEQ ID NO:137的氨基酸序列的CDR1,包含SEQ ID NO:138的氨基酸序列的CDR2,和包含SEQ ID NO:139的氨基酸序列的CDR3,(ll)可变轻链,其含有包含SEQ ID NO:140的氨基酸序列的CDR1,包含SEQ ID NO:141的氨基酸序列的CDR2,和包含SEQ ID NO:142的氨基酸序列的CDR3,(mm)可变重链,其含有包含SEQ ID NO:173的氨基酸序列的CDR1,包含SEQ ID NO:174的氨基酸序列的CDR2,和包含SEQ ID NO:175的氨基酸序列的CDR3,(nn)可变轻链,其含有包含SEQ ID NO:176的氨基酸序列的CDR1,包含SEQ ID NO:177的氨基酸序列的CDR2,和包含SEQ ID NO:178的氨基酸序列的CDR3,(oo)可变重链,其含有包含SEQ ID NO:95的氨基酸序列的互补决定区(CDR)1,包含SEQ ID NO:96的氨基酸序列的CDR2,和包含SEQ ID NO:97的氨基酸序列的CDR3,以及可变轻链,其含有包含SEQ ID NO:98的氨基酸序列的CDR1,包含SEQ ID NO:99的氨基酸序列的CDR2,和包含SEQ ID NO:100的氨基酸序列的CDR3,(pp)可变重链,其含有包含SEQ ID NO:119的氨基酸序列的CDR1,包含SEQ ID NO:120的氨基酸序列的CDR2,和包含SEQ ID NO:121的氨基酸序列的CDR3,以及可变轻链,其含有包含SEQ ID NO:122的氨基酸序列的CDR1,包含SEQ ID NO:123的氨基酸序列的CDR2,和包含SEQ ID NO:124的氨基酸序列的CDR3,(qq)可变重链,其含有包含SEQ ID NO:125的氨基酸序列的CDR1,包含SEQ ID NO:126的氨基酸序列的CDR2,和包含SEQ ID NO:127的氨基酸序列的CDR3,以及可变轻链,其含有包含SEQ ID NO:128的氨基酸序列的CDR1,包含SEQ ID NO:129的氨基酸序列的CDR2,和包含SEQ ID NO:130的氨基酸序列的CDR3,(rr)可变重链,其含有包含SEQ ID NO:137的氨基酸序列的CDR1,包含SEQ ID NO:138的氨基酸序列的CDR2,包含SEQ ID NO:139的氨基酸序列的CDR3,以及可变轻链,其含有包含SEQ ID NO:140的氨基酸序列的CDR1,包含SEQ ID NO:141的氨基酸序列的CDR2,和包含SEQ ID NO:142的氨基酸序列的CDR3,(ss)可变重链,其含有包含SEQ ID NO:173的氨基酸序列的CDR1,包含SEQ ID NO:174的氨基酸序列的CDR2,和包含SEQ ID NO:175的氨基酸序列的CDR3,以

及可变轻链，其含有包含SEQ ID NO:176的氨基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO:177的氨基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO:178的氨基酸序列的CDR3，其中在所述受试者中治疗性或预防性治疗铁代谢疾病。例如，在所述方法中治疗的铁代谢疾病可选自慢性病贫血(ACD)、铁-难治性缺铁性贫血、慢性肾病性贫血、红细胞生成刺激剂抵抗和β-地中海贫血。

[0019] 另一方面，本发明也涉及判定受试者是否患有铁相关病症的方法。所述方法包括以下步骤：

a．在来自所述受试者的样品中测量膜结合的或可溶性RGMc的水平；和

b．将所述样品中的RGMc水平与正常对照或校准物的RGMc水平进行比较，其中RGMc水平的改变就表明所述受试者患有铁相关病症；和

c．将所述受试者诊断为患有铁相关病症。与对照相比的RGMc水平的改变可表明所述受试者患有铁相关病症。在以上方法中，与正常对照的RGMc水平相比的膜结合的RGMc水平的降低，表明所述受试者患有铁过载相关的铁相关病症。在以上方法中，与正常对照的RGMc水平相比的膜结合的RGMc水平的降低，表明所述受试者患有铁过载相关的铁相关病症。在以上方法中，与正常对照的RGMc水平相比的膜结合的RGMc水平的增加，表明所述受试者患有铁缺乏相关的铁相关病症。在以上方法中，与正常对照的RGMc水平相比的可溶性RGMc的水平的降低，表明所述受试者患有铁缺乏相关的铁相关病症。在以上方法中，与正常对照的RGMc水平相比的可溶性RGMc的水平的增加，表明所述受试者患有铁过载相关的铁相关病症。在以上方法中，所述受试者已被或可能先前已被诊断为患有选自以下的病症：癌症、急性感染、慢性感染、自身免疫性疾病、肝病和慢性肾病。在以上方法中，所述样品可选自血液样品和血清样品。在以上方法中，步骤a)是免疫测定，例如酶联免疫吸附测定(ELISA)。

[0020] 具体地讲，所述ELISA可以是夹心ELISA。在以上方法中，可使用上述任何分离的抗体，测定样品中膜结合的RGMc或可溶性RGMc的水平。

[0021] 另一方面，本发明也涉及在试验样品中测定RGMc或其片段的存在、量或浓度的方法。所述方法包括以下步骤：通过免疫测定，使用至少一种抗体和至少一种可检测标记，测定所述试验样品的RGMc (或其片段)，并包括将在所述试验样品中作为RGMc的存在、量或浓度的直接或间接指示的由所述可检测标记产生的信号，与在对照或校准物中作为RGMc的存在、量或浓度的直接或间接指示的所产生的信号进行比较，其中所述至少一种抗体中的一种是分离的抗体，其特异性结合到RGMc或其片段上，并且其中所述抗体包含选自以下的域或区：(a)重链可变域区，其包含SEQ ID NO:3的氨基酸序列，(b)轻链可变域区，其包含SEQ ID NO:4的氨基酸序列，(c)重链可变域区，其包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列，(d)轻链可变域区，其包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列，(e)重链可变域区，其包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列，(f)轻链可变域区，其包含SEQ ID NO:8的氨基酸序列，(g)重链可变域区，其包含SEQ ID NO:9的氨基酸序列，(h)轻链可变域区，其包含SEQ ID NO:10的氨基酸序列，(i)可变重链，其含有包含SEQ ID NO:11的氨基酸序列的互补决定区(CDR)1，包含SEQ ID NO:12的氨基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO:13的氨基酸序列的CDR3，(j)可变轻链，其含有包含SEQ ID NO:14的氨基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO:15的氨基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO:16的氨基酸序列的CDR3，(k)可变重链，其含有包含SEQ ID NO:17的氨基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO:18的氨基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO:19的氨基酸序列的CDR3，(l)可变轻链，其含有包含SEQ ID NO:20的氨基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO:21的氨基酸序列

的CDR2，和包含SEQ ID NO:22的氨基酸序列的CDR3，(m)可变重链，其含有包含SEQ ID NO:23的氨基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO:24的氨基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO:25的氨基酸序列的CDR3，(n)可变轻链，其含有包含SEQ ID NO:26的氨基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO:27的氨基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO:28的氨基酸序列的CDR3，(o)可变重链，其含有包含SEQ ID NO:29的氨基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO:30的氨基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO:31的氨基酸序列的CDR3，(p)可变轻链，其含有包含SEQ ID NO:32的氨基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO:33的氨基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO:34的氨基酸序列的CDR3，(q)可变重链，其含有包含SEQ ID NO:11的氨基酸序列的互补决定区(CDR)1，包含SEQ ID NO:12的氨基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO:13的氨基酸序列的CDR3，以及可变轻链，其含有包含SEQ ID NO:14的氨基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO:15的氨基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO:16的氨基酸序列的CDR3，(r)可变重链，其含有包含SEQ ID NO:17的氨基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO:18的氨基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO:19的氨基酸序列的CDR3，以及可变轻链，其含有包含SEQ ID NO:20的氨基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO:21的氨基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO:22的氨基酸序列的CDR3，(s)可变重链，其含有包含SEQ ID NO:23的氨基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO:24的氨基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO:25的氨基酸序列的CDR3，以及可变轻链，其含有包含SEQ ID NO:26的氨基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO:27的氨基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO:28的氨基酸序列的CDR3，(t)可变重链，其含有包含SEQ ID NO:29的氨基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO:30的氨基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO:31的氨基酸序列的CDR3，以及可变轻链，其含有包含SEQ ID NO:32的氨基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO:33的氨基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO:34的氨基酸序列的CDR3，(u)重链可变域区，其包含SEQ ID NO:43的氨基酸序列，(v)轻链可变域区，其包含SEQ ID NO:44的氨基酸序列，(w)重链可变域区，其包含SEQ ID NO:51的氨基酸序列，(x)轻链可变域区，其包含SEQ ID NO:52的氨基酸序列，(y)重链可变域区，其包含SEQ ID NO:53的氨基酸序列，(z)轻链可变域区，其包含SEQ ID NO:54的氨基酸序列，(aa)重链可变域区，其包含SEQ ID NO:57的氨基酸序列，(bb)轻链可变域区，其包含SEQ ID NO:58的氨基酸序列，(cc)重链可变域区，其包含SEQ ID NO:69的氨基酸序列，(dd)轻链可变域区，其包含SEQ ID NO:70的氨基酸序列，(ee)可变重链，其含有包含SEQ ID NO:95的氨基酸序列的互补决定区(CDR)1，包含SEQ ID NO:96的氨基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO:97的氨基酸序列的CDR3，(ff)可变轻链，其含有包含SEQ ID NO:98的氨基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO:99的氨基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO:100的氨基酸序列的CDR3，(gg)可变重链，其含有包含SEQ ID NO:119的氨基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO:120的氨基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO:121的氨基酸序列的CDR3，(hh)可变轻链，其含有包含SEQ ID NO:122的氨基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO:123的氨基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO:124的氨基酸序列的CDR3，(ii)可变重链，其含有包含SEQ ID NO:125的氨基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO:126的氨基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO:127的氨基酸序列的CDR3，(jj)可变轻链，其含有包含SEQ ID NO:128的氨基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO:129的氨基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO:130的氨基酸序列的CDR3，(kk)可变重链，其含有包含SEQ ID NO:137的氨基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO:138的氨基酸序列的CDR2，包含SEQ ID NO:139的氨基酸序列的CDR3，(ll)可变轻链，其含有包含SEQ ID

NO:140的氨基酸序列的CDR1,包含SEQ ID NO:141的氨基酸序列的CDR2,和包含SEQ ID NO:142的氨基酸序列的CDR3,(mm)可变重链,其含有包含SEQ ID NO:173的氨基酸序列的CDR1,包含SEQ ID NO:174的氨基酸序列的CDR2,和包含SEQ ID NO:175的氨基酸序列的CDR3,(nn)可变轻链,其含有包含SEQ ID NO:176的氨基酸序列的CDR1,包含SEQ ID NO:177的氨基酸序列的CDR2,和包含SEQ ID NO:178的氨基酸序列的CDR3,(oo)可变重链,其含有包含SEQ ID NO:95的氨基酸序列的互补决定区(CDR)1,包含SEQ ID NO:96的氨基酸序列的CDR2,和包含SEQ ID NO:97的氨基酸序列的CDR3,以及可变轻链,其含有包含SEQ ID NO:98的氨基酸序列的CDR1,包含SEQ ID NO:99的氨基酸序列的CDR2,和包含SEQ ID NO:100的氨基酸序列的CDR3,(pp)可变重链,其含有包含SEQ ID NO:119的氨基酸序列的CDR1,包含SEQ ID NO:120的氨基酸序列的CDR2,和包含SEQ ID NO:121的氨基酸序列的CDR3,以及可变轻链,其含有包含SEQ ID NO:122的氨基酸序列的CDR1,包含SEQ ID NO:123的氨基酸序列的CDR2,和包含SEQ ID NO:124的氨基酸序列的CDR3,(qq)可变重链,其含有包含SEQ ID NO:125的氨基酸序列的CDR1,包含SEQ ID NO:126的氨基酸序列的CDR2,和包含SEQ ID NO:127的氨基酸序列的CDR3,以及可变轻链,其含有包含SEQ ID NO:128的氨基酸序列的CDR1,包含SEQ ID NO:129的氨基酸序列的CDR2,和包含SEQ ID NO:130的氨基酸序列的CDR3,(rr)可变重链,其含有包含SEQ ID NO:137的氨基酸序列的CDR1,包含SEQ ID NO:138的氨基酸序列的CDR2,和包含SEQ ID NO:139的氨基酸序列的CDR3,以及可变轻链,其含有包含SEQ ID NO:140的氨基酸序列的CDR1,包含SEQ ID NO:141的氨基酸序列的CDR2,和包含SEQ ID NO:142的氨基酸序列的CDR3,(ss)可变重链,其含有包含SEQ ID NO:173的氨基酸序列的CDR1,包含SEQ ID NO:174的氨基酸序列的CDR2,和包含SEQ ID NO:175的氨基酸序列的CDR3,以及可变轻链,其含有包含SEQ ID NO:176的氨基酸序列的CDR1,包含SEQ ID NO:177的氨基酸序列的CDR2,和包含SEQ ID NO:178的氨基酸序列的CDR3,因此在试验样品中测定RGMc或其片段的存在、量或浓度。

[0022] 在以上方法中,试验样品中的RGMc或其片段的存在、量或浓度用于判定或评价受试者是否患有铁相关病症或处于发展该病症的风险中。在以上方法中,所述RGMc是膜结合的RGMc或可溶性RGMc。在以上方法中,与正常对照的RGMc水平相比的膜结合的RGMc水平的降低,表明所述受试者患有铁过载相关的铁相关病症。在以上方法中,与正常对照的RGMc水平相比的膜结合的RGMc水平的增加,表明所述受试者患有铁缺乏相关的铁相关病症。在以上方法中,与正常对照的RGMc水平相比的可溶性RGMc水平的降低,表明所述受试者患有铁缺乏相关的铁相关病症。在以上方法中,与正常对照的RGMc水平相比的可溶性RGMc水平的增加,表明所述受试者患有铁过载相关的铁相关病症。在以上方法中,所述铁相关病症选自:癌症、急性感染、慢性感染、自身免疫性疾病、肝病和慢性肾病。另外,上述方法可进一步包括以下步骤:

a. 使所述试验样品与至少一种捕获抗体接触,所述抗体结合到RGMc (或其片段)上的表位,从而形成捕获抗体/RGMc (或其片段)复合物,

b. 使所述捕获抗体/RGMc (或其片段)复合物与至少一种检测抗体接触,所述检测抗体包含可检测标记并结合到所述捕获抗体未结合的RGMc (或其片段)上的表位,以形成捕获抗体/RGMc (或其片段)/检测抗体复合物,和

c. 根据由在(b)中形成的捕获抗体/RGMc (或其片段)/检测抗体复合物中的所述可检

测标记产生的信号，在所述试验样品中测定RGMc（或其片段）的存在、量或浓度，因此在所述试验样品中测定RGMc（或其片段）的存在、量或浓度。

[0023] 或者，上述方法可进一步包括以下步骤：

a．使所述试验样品与至少一种捕获抗体接触，所述抗体结合到RGMc（或其片段）上的表位，从而形成捕获抗体/RGMc（或其片段）复合物，并且同时地或序贯地，以任一顺序，使所述试验样品与可检测标记的RGMc（或其片段）接触，所述可检测标记的RGMc（或其片段）可与所述试验样品中的任何RGMc（或其片段）竞争结合到至少一种捕获抗体上，其中所述试验样品中存在的任何RGMc（或其片段）和所述可检测标记的RGMc彼此竞争以分别形成捕获抗体/RGMc（或其片段）复合物和捕获抗体/可检测标记的RGMc（或其片段）复合物，和

b．根据由在(b)中形成的捕获抗体/可检测标记的RGMc（或其片段）复合物中的所述可检测标记产生的信号，在所述试验样品中测定RGMc的存在、量或浓度，其中由在所述捕获抗体/可检测标记的RGMc（或其片段）复合物中的所述可检测标记产生的信号与所述试验样品中的RGMc的量或浓度成反比，因此在所述试验样品中测定RGMc的存在、量或浓度。上述方法可进一步包括测定所述试验样品的铁调素(hepcidin)。

[0024] 另一方面，本发明也涉及判定受试者是否患有铁相关病症的方法。所述方法包括以下步骤：

a．在来自所述受试者的第一样品中测量膜结合的或可溶性RGMc的水平；

b．在来自所述受试者的第二样品中测量铁调素水平；

c．将第一样品中的RGMc水平与与正常对照或校准物中的RGMc水平进行比较，和

d．将第二样品中的铁调素水平与正常对照或校准物中的铁调素水平进行比较，其中RGMc和铁调素的各自水平的改变表明所述受试者患有铁相关病症；和

e．将所述受试者诊断为患有铁相关病症。

[0025] 在以上方法中，与正常对照中的膜结合的RGMc水平相比的膜结合的RGMc水平的降低，表明所述受试者患有铁过载相关的铁相关病症。在以上方法中，与正常对照中的膜结合的RGMc水平相比的膜结合的RGMc水平的增加，表明所述受试者患有铁缺乏相关的铁相关病症。在以上方法中，与正常对照中的可溶性RGMc水平相比的可溶性RGMc水平的降低，表明所述受试者患有铁缺乏相关的铁相关病症。在以上方法中，与正常对照中的可溶性RGMc水平相比的可溶性RGMc水平的增加，表明所述受试者患有铁过载相关的铁相关病症。在以上方法中，与正常对照中的铁调素水平相比的铁调素水平的降低，表明所述受试者患有铁过载相关的铁相关病症。在以上方法中，与正常对照中的铁调素水平相比的铁调素水平的增加，表明所述受试者患有铁缺乏相关的铁相关病症。

[0026] 在以上方法中，受试者已经诊断患有选自以下的病症：癌症、急性感染、慢性感染、自身免疫性疾病、肝病和慢性肾病。在以上方法中，分别在第一和第二样品中序贯地测定膜结合的或可溶性RGMc的水平和铁调素水平。在以上方法中，分别在第一和第二样品中同时地测定膜结合的或可溶性RGMc的水平和铁调素水平。

[0027] 在以上方法中，所述样品选自血液样品和血清样品。在以上方法中，步骤a)是酶联免疫吸附测定(ELISA)。例如，所述ELISA是夹心ELISA。在以上方法中，使用任何上述分离的抗体，测定样品中的膜结合的RGMc或可溶性RGMc的水平。

[0028] 对RGMc（例如膜结合的RGMc、可溶性RGMc、膜结合的RGMc片段、可溶性RGMc片段、

RGMc变体(膜结合的或可溶性的RGMc)或其任何组合)和铁调素的任何测定可以是同时或序贯的,以任一顺序,使用同类方法或不同方法并使用相同的或来自相同来源(例如同一患者)的不同的试验样品。或者,所述方法也可包括使用得自相同来源(例如同一患者)的试验样品(但在不同时间点测定或获得和测定铁调素)的测定的数据。

[0029] 另一方面,本发明也涉及用于测定试验样品的RGMc (或其片段)的试剂盒。所述试剂盒可包含用于测定所述试验样品的RGMc (或其片段)的至少一种组分和用于测定所述试验样品的RGMc (或其片段)的说明书,其中所述至少一种组分包含至少一种组合物,其包含特异性结合到RGMc (或其片段)上的分离的抗体,其中所述抗体包含选自以下的域或区:(a)重链可变域区,其包含SEQ ID NO:3的氨基酸序列,(b)轻链可变域区,其包含SEQ ID NO:4的氨基酸序列,(c)重链可变域区,其包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列,(d)轻链可变域区,其包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列,(e)重链可变域区,其包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列,(f)轻链可变域区,其包含SEQ ID NO:8的氨基酸序列,(g)重链可变域区,其包含SEQ ID NO:9的氨基酸序列,(h)轻链可变域区,其包含SEQ ID NO:10的氨基酸序列,(i)可变重链,其含有包含SEQ ID NO:11的氨基酸序列的互补决定区(CDR)1,包含SEQ ID NO:12的氨基酸序列的CDR2,和包含SEQ ID NO:13的氨基酸序列的CDR3,(j)可变轻链,其含有包含SEQ ID NO:14的氨基酸序列的CDR1,包含SEQ ID NO:15的氨基酸序列的CDR2,和包含SEQ ID NO:16的氨基酸序列的CDR3,(k)可变重链,其含有包含SEQ ID NO:17的氨基酸序列的CDR1,包含SEQ ID NO:18的氨基酸序列的CDR2,和包含SEQ ID NO:19的氨基酸序列的CDR3,(l)可变轻链,其含有包含SEQ ID NO:20的氨基酸序列的CDR1,包含SEQ ID NO:21的氨基酸序列的CDR2,和包含SEQ ID NO:22的氨基酸序列的CDR3,(m)可变重链,其含有包含SEQ ID NO:23的氨基酸序列的CDR1,包含SEQ ID NO:24的氨基酸序列的CDR2,和包含SEQ ID NO:25的氨基酸序列的CDR3,(n)可变轻链,其含有包含SEQ ID NO:26的氨基酸序列的CDR1,包含SEQ ID NO:27的氨基酸序列的CDR2,和包含SEQ ID NO:28的氨基酸序列的CDR3,(o)可变重链,其含有包含SEQ ID NO:29的氨基酸序列的CDR1,包含SEQ ID NO:30的氨基酸序列的CDR2,和包含SEQ ID NO:31的氨基酸序列的CDR3,(p)可变轻链,其含有包含SEQ ID NO:32的氨基酸序列的CDR1,包含SEQ ID NO:33的氨基酸序列的CDR2,和包含SEQ ID NO:34的氨基酸序列的CDR3,(q)可变重链,其含有包含SEQ ID NO:11的氨基酸序列的互补决定区(CDR)1,包含SEQ ID NO:12的氨基酸序列的CDR2,和包含SEQ ID NO:13的氨基酸序列的CDR3,以及可变轻链,其含有包含SEQ ID NO:14的氨基酸序列的CDR1,包含SEQ ID NO:15的氨基酸序列的CDR2,和包含SEQ ID NO:16的氨基酸序列的CDR3,(r)可变重链,其含有包含SEQ ID NO:17的氨基酸序列的CDR1,包含SEQ ID NO:18的氨基酸序列的CDR2,和包含SEQ ID NO:19的氨基酸序列的CDR3,以及可变轻链,其含有包含SEQ ID NO:20的氨基酸序列的CDR1,包含SEQ ID NO:21的氨基酸序列的CDR2,和包含SEQ ID NO:22的氨基酸序列的CDR3,(s)可变重链,其含有包含SEQ ID NO:23的氨基酸序列的CDR1,包含SEQ ID NO:24的氨基酸序列的CDR2,和包含SEQ ID NO:25的氨基酸序列的CDR3,以及可变轻链,其含有包含SEQ ID NO:26的氨基酸序列的CDR1,包含SEQ ID NO:27的氨基酸序列的CDR2,和包含SEQ ID NO:28的氨基酸序列的CDR3,(t)可变重链,其含有包含SEQ ID NO:29的氨基酸序列的CDR1,包含SEQ ID NO:30的氨基酸序列的CDR2,和包含SEQ ID NO:31的氨基酸序列的CDR3,以及可变轻链,其含有包含SEQ ID NO:32的氨基酸序列的CDR1,包含SEQ ID NO:33的氨基酸序列的CDR2,

和包含SEQ ID NO:34的氨基酸序列的CDR3，(u)重链可变域区，其包含SEQ ID NO:43的氨基酸序列，(v)轻链可变域区，其包含SEQ ID NO:44的氨基酸序列，(w)重链可变域区，其包含SEQ ID NO:51的氨基酸序列，(x)轻链可变域区，其包含SEQ ID NO:52的氨基酸序列，(y)重链可变域区，其包含SEQ ID NO:53的氨基酸序列，(z)轻链可变域区，其包含SEQ ID NO:54的氨基酸序列，(aa)重链可变域区，其包含SEQ ID NO:57的氨基酸序列，(bb)轻链可变域区，其包含SEQ ID NO:58的氨基酸序列，(cc)重链可变域区，其包含SEQ ID NO:69的氨基酸序列，(dd)轻链可变域区，其包含SEQ ID NO:70的氨基酸序列，(ee)可变重链，其含有包含SEQ ID NO:95的氨基酸序列的互补决定区(CDR)1，包含SEQ ID NO:96的氨基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO:97的氨基酸序列的CDR3，(ff)可变轻链，其含有包含SEQ ID NO:98的氨基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO:99的氨基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO:100的氨基酸序列的CDR3，(gg)可变重链，其含有包含SEQ ID NO:119的氨基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO:120的氨基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO:121的氨基酸序列的CDR3，(hh)可变轻链，其含有包含SEQ ID NO:122的氨基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO:123的氨基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO:124的氨基酸序列的CDR3，(ii)可变重链，其含有包含SEQ ID NO:125的氨基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO:126的氨基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO:127的氨基酸序列的CDR3，(jj)可变轻链，其含有包含SEQ ID NO:128的氨基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO:129的氨基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO:130的氨基酸序列的CDR3，(kk)可变重链，其含有包含SEQ ID NO:137的氨基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO:138的氨基酸序列的CDR2，包含SEQ ID NO:139的氨基酸序列的CDR3，(ll)可变轻链，其含有包含SEQ ID NO:140的氨基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO:141的氨基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO:142的氨基酸序列的CDR3，(mm)可变重链，其含有包含SEQ ID NO:173的氨基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO:174的氨基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO:175的氨基酸序列的CDR3，(nn)可变轻链，其含有包含SEQ ID NO:176的氨基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO:177的氨基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO:178的氨基酸序列的CDR3，(oo)可变重链，其含有包含SEQ ID NO:95的氨基酸序列的互补决定区(CDR)1，包含SEQ ID NO:96的氨基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO:97的氨基酸序列的CDR3，以及可变轻链，其含有包含SEQ ID NO:98的氨基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO:99的氨基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO:100的氨基酸序列的CDR3，(pp)可变重链，其含有包含SEQ ID NO:119的氨基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO:120的氨基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO:121的氨基酸序列的CDR3，以及可变轻链，其含有包含SEQ ID NO:122的氨基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO:123的氨基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO:124的氨基酸序列的CDR3，(qq)可变重链，其含有包含SEQ ID NO:125的氨基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO:126的氨基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO:127的氨基酸序列的CDR3，以及可变轻链，其含有包含SEQ ID NO:128的氨基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO:129的氨基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO:130的氨基酸序列的CDR3，(rr)可变重链，其含有包含SEQ ID NO:137的氨基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO:138的氨基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO:139的氨基酸序列的CDR3，以及可变轻链，其含有包含SEQ ID NO:140的氨基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO:141的氨基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO:142的氨基酸序列的CDR3，(ss)可变重链，其含有包含SEQ ID NO:173的氨基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO:174的氨基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO:175的氨基酸序列的

CDR3，以及可变轻链，其含有包含SEQ ID NO:176的氨基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO:177的氨基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO:178的氨基酸序列的CDR3，其中所述抗体任选被可检测标记。在以上试剂盒中，在所述试验样品中测定的RGMc或其片段用于判定或评价受试者是否患有铁相关病症或处于发展该病症的风险中。另外，所测定的RGMc是膜结合的RGMc或可溶性RGMc。所述试剂盒可进一步包括用于测定试验样品的铁调素的至少一种组分和用于测定所述试验样品的铁调素的说明书。

附图说明

[0030]

图1显示涉及铁稳态的信号转导途径的简化示意图。

[0031] 图2显示涉及铁稳态的信号转导途径的另一简化示意图。

[0032] 图3是直方图，显示人源化5F9.23 (h5F9.23)在大鼠中增加血铁水平。图3显示来自每周一次经静脉内注射0、20、60或200 mg/kg而治疗的大鼠的数据。血铁水平在所用的所有h5F9.23剂量时都显著增加(显著性：**P<0.01；*** P<0.001)。该数据显示h5F9.23在大鼠中增加血铁水平。

[0033] 图4是直方图，显示h5F9.23在大鼠中增加饱和转铁蛋白1水平(%)。在每周一次经IV注射0、20、60或200 mg/kg h5F9.23而治疗的大鼠中测定饱和转铁蛋白1水平。饱和转铁蛋白1水平在所有h5F9.23剂量时都显著增加(显著性：*** p < 0.001)。

[0034] 图5是直方图，显示h5F9.23在大鼠中增加饱和转铁蛋白2水平(%)。在每周一次经IV注射0、20、60或200 mg/kg h5F9.23而治疗的大鼠中测定饱和转铁蛋白2水平。饱和转铁蛋白2水平在所有h5F9.23剂量时都显著增加(显著性：** p<0.01；*** p<0.001)。

[0035] 图6是直方图，显示h5F9.23在大鼠中降低不饱和铁结合力(UIBC)。在每周一次经IV注射0、20、60或200 mg/kg h5F9.23而治疗的大鼠中也测定不饱和铁结合力(UIBC)。UIBC水平在所有h5F9.23剂量中都显著降低(显著性：*** p < 0.001)。

[0036] 图7显示用普鲁士蓝染色的固定的大鼠肝样品(对照)(X100放大倍数)。箭头指向肝叶的门静脉周区。

[0037] 图8显示用普鲁士蓝染色的固定的大鼠肝样品(治疗-200 mg/kg/周h5F9.23)(X100放大倍数)。箭头指向肝叶的门静脉周区。黑色颗粒代表铁。

[0038] 图9显示用普鲁士蓝染色的固定的大鼠脾脏样品(对照) (X40放大倍数)。铁负载的巨噬细胞显示在介于淋巴滤泡(F)间的红髓中。

[0039] 图10显示用普鲁士蓝染色的固定的大鼠脾脏样品(治疗 -200 mg/kg/周的h5F9.23) (X40放大倍数)。介于淋巴滤泡(F)间的红髓中的巨噬细胞将铁释放到血清中。

[0040] 图11显示在293HEK细胞中的RGMc-介导的BMP报告测定，用于评价阻断RGMc功能的选择性h5F9亲和力成熟的Ab。(A) RGM-介导的BMP报告测定的示意图。(B) 大鼠杂交瘤mAb 5F9、h5F9.23及其亲和力成熟的Ab以剂量依赖性方式抑制RGMc-介导的luc活性。IC50值在图例旁边显示。Y轴代表萤光素酶活性，以相对光单位(RLU)计。

[0041] 图12是直方图，显示实施例5中的结果，其中雌性食蟹猴(cyno monkey)用不同剂量的人源化抗体5F9.23 (h5F9.23)治疗。猴子经皮下注射60 mg/kg (sc)或静脉内注射20、60、200 mg/kg (iv)，每周一次，共4周。在第22天，在施加抗体后(第4剂量) 0.5小时、4小

时、24小时采集灵长动物血清血。使用质谱方法测定铁调素。*** p < 0.001: 相对于预测试的显著性, * p < 0.05: 相对于预测试的显著性, * p < 0.05: 相对于对照的显著性。

[0042] 图13是直方图,显示实施例6的结果,其中雌性Sprague Dawley大鼠用不同剂量的抗体h5F923.AM8治疗。大鼠经静脉内注射2.5 mg/kg、5 mg/kg 10mg/kg或20 mg/kg,每周一次,共4周。在第4周结束时,采集血清并进行以下测定:(1) 游离血铁水平(图13A)和(2)不饱和铁结合力(图13B)。***相对于磷酸缓冲盐水(PBS) (浅灰色)的显著性, *** p<0.01:相对于单克隆抗体人IgG (黑色)的显著性。对照是针对IL-18的人IgG抗体,得自Abbott Laboratories, Worcestser, MA。该对照与大鼠IL-18蛋白无交叉反应性。

[0043] 图14是直方图,显示实施例7的结果,其中雌性Sprague Dawley大鼠用不同剂量的抗体h5F923.AM8治疗。大鼠经静脉内注射0.02 mg/kg、0.2 mg/kg 2.0 mg/kg或20 mg/kg,每周一次,共4周。在第4周结束时,采集血清并进行以下测定:(1) 游离血铁水平(图14A)和(2)不饱和铁结合力(图14B)。***p<0.001显著性,相对于溶媒对照;** p<0.01显著性,相对于溶媒对照;*p<0.05显著性,相对于溶媒对照。溶媒对照包含30mM组氨酸、8% w/v蔗糖、pH 6.0加上0.02%吐温80的水溶液。

[0044] 图15是直方图,显示实施例8中所述的第一组实验的结果,表明h5F923.AM8和1A-2989在ACD大鼠中在第30天通过增加血红蛋白水平而改善贫血。也如该图所示,dorsomorphin是无活性的。

[0045] 图16是直方图,显示实施例8中所述的第二系列实验的结果。具体地讲,图16A显示对照抗体hIgG在第41、47和51天不显著改变贫血大鼠的低血红蛋白水平。*p<0.05: 相对于D0血红蛋白水平的显著性。图16B显示对RGM A具有选择性的人源化单克隆抗体在第41、47和51天不显著改变贫血大鼠的低血红蛋白水平。*p<0.05, ** p < 0.01, 相对于D0血红蛋白水平的显著性。图16C显示抗体h5F9.AM8在第41、47和51天显著增加贫血大鼠的低血红蛋白水平(D24)。***p<0.001, 相对于第0天(D0)血红蛋白水平的显著性。D41: *p<0.05 相对于D24的显著性, D47/55: *p<0.05相对于D24的显著性。图16D显示抗体h5F9.23在第41、47和51天增加贫血大鼠的低血红蛋白水平(第24天(D24)。*p<0.05;**p<0.001, 在第41天相对于D0血红蛋白水平的显著性: *p<0.05相对于第24、47和51天的显著性: *p<0.05相对于天的显著性。

[0046] 发明详述

RGMc是糖基磷脂酰肌醇(“GPI”)锚定的膜蛋白,其在肌肉、视网膜和门静脉周围肝细胞中表达。RGMc通过信号转导蛋白与铁调素共同作用,以维持机体的铁稳态。参见例如,Severyn等人, Biochem. J., 422:393-403 (2009)和Pietrangelo, J. Hepatology, 54:173-181 (2011)。细胞膜RGMc结合到再生蛋白(neogenin)并通过骨形态发生蛋白(BMPs)促进信号转导,所述蛋白通过下游效应器触发胞内信号转导,以促进铁调素基因表达。另见例如,Pietrangelo, J. Hepatology, 54:173-181 (2011)。由丝氨酸蛋白酶、蛋白裂解酶(matriptase)-2 (TMPRSS6)裂解膜结合的RGMc,释放可溶性RGMc。通过降低胞外铁浓度诱导可溶性RGMc的释放,相反,通过增加胞外铁浓度抑制可溶性RGMc的释放。另外参见,例如,Severyn等人, Biochem. J., 422:393-403 (2009)和图1。RGMc的可溶性形式将BMP6与膜结合的RGMc隔绝,从而阻止对铁调素表达的诱导。参见图2。

[0047] 当BMP结合到BMP受体I和II后,与再生蛋白、BMP6和RGMc形成膜结合的复合物。该

复合物，连同称为Smads (Smads 1、5和8)的胞内蛋白，转导胞外信号，从而启动信号转导途径，其控制铁调素表达，并最终控制系统性铁代谢。另见例如，Pietrangelo, J. Hepatology, 54:173-181 (2011)和图1。铁调素结合到铁转运蛋白，该蛋白是哺乳动物专有的铁输出者。铁调素结合到铁转运蛋白后，铁转运蛋白被巨噬细胞和十二指肠肠细胞内在化，该蛋白在此被降解，从而关闭铁输出途径。参见例如，Hentz等人, Cell, 142:24-38 (2010)和Cheng等人, Clin. Exp. Med., 11:33-42 (2011)。

[0048] 巨噬细胞和十二指肠肠细胞均表达铁转运蛋白；在高铁调素水平，铁调素-诱导的铁转运蛋白的降解关闭了唯一可用的铁输出途径。结果，巨噬细胞和十二指肠肠细胞都积聚大量胞内铁。参见图1。慢性病贫血(“ACD”)是常见结果，因为这些细胞不再能够将铁释放到血液中。另见例如，Cheng等人, Clin. Exp. Med., 11:33-42 (2011)。

[0049] RGMc-特异性抗体中断铁调素的正常表达，其直接调节血浆中的铁浓度和铁向各种组织的分布。所述抗体可阻止BMPs和RGMc之间的结合。所述抗体可阻止BMPs和RGMc的N-末端之间的结合。该作用的结果就是降低或抑制铁调素表达。当铁调素水平降低，增加了铁转运蛋白-依赖性的铁输出，因为铁调素不再能够结合铁转运蛋白并诱导其内在化和降解。参见图2。

[0050] 本发明人已经做出了意想不到的发现：结合到排斥性导向分子c (“RGMc”)的抗体可用于调节铁代谢。本文中提供的是中断铁调素的正常表达的抗体，其直接调节血浆中的铁浓度和铁向各种组织的分布。铁调素水平过量导致铁限制性贫血。例如，已有报道，在患有ACD的患者和患有急性炎症(AI)的患者中铁调素水平明显增加。在患有ACD和缺铁性贫血(ACD-IDA)的患者中观察到铁调素水平稍微增加。仅患有缺铁性贫血(IDA)的患者表现出降低血清铁调素水平的趋势。例如，已经证明血清铁调素水平，在健康对照中为177,58 μg/l (+/- 119,84)，在ACD患者中为434,83 μg//l (+/- 217)，在AI患者中为410,08 μg/l (+/- 299,96)，在ACD-IDA患者中为238,32 μg/l (+/-93,85)，在IDA患者中稍微降低的血清铁调素水平为110,79 μg/l (+/-19,22)。相比之下，血色素沉着病的特征在于低血清铁调素水平。另外，β-地中海贫血是铁调素水平可能低的一种疾病。

[0051] 本文公开的抗体可用于治疗铁代谢疾病。另外，本文公开的抗体可用于判定受试者是否患有铁相关病症的诊断测定。

[0052] 1. 定义

本文所用的术语仅用于描述具体实施方案的目的，并非旨在限制性。正如本说明书和所附权利要求书所用的，单数形式“一个”、“一种”和“所述”包括复数对象，除非上下文另有说明。

[0053] a. 约

“约”在本文中可用于指所述数值的约+/- 10%变化。应理解，这样的变化通常包括在本文提供的任何给定值中，无论是否有具体指出。

[0054] b. 亲和力成熟的抗体

“亲和力成熟的抗体”在本文中用于指在其一个或多个CDRs中具有一个或多个改变的抗体，与不具有这些改变的母体抗体相比，所述改变导致抗体对靶抗原的亲和力(即K_D、k_d或k_a)改善。示例性的亲和力成熟的抗体将对靶抗原具有纳摩尔或甚至皮摩尔的亲和力。产生亲和力成熟的抗体的各种程序是本领域已知的，包括筛选使用生物展示而制备的组合抗体

文库。例如,Marks等人, BioTechnology, 10: 779-783 (1992)描述了通过VH和VL域改组的亲和力成熟。CDR和/或框架残基的随机诱变由以下文献描述:Barbas等人, Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 91: 3809-3813 (1994);Schier等人, Gene, 169: 147-155 (1995);Yelton等人, J. Immunol., 155: 1994-2004 (1995);Jackson等人, J. Immunol., 154 (7): 3310-3319 (1995);和Hawkins等人, J. Mol. Biol., 226: 889-896 (1992)。在选择性诱变位置和在接触或超变位置上用增强活性的氨基酸残基的选择性突变描述于美国专利号6,914,128B1。

[0055] c. 抗体和抗体

"抗体"如本文所用,是指单克隆抗体、多特异性抗体、人抗体、人源化抗体(完全或部分人源化)、动物抗体(例如但不限于,鸟(例如鸭或鹅)、鲨鱼、鲸鱼和哺乳动物,包括非灵长类(例如牛、猪、骆驼、美洲驼、马、山羊、兔、绵羊、仓鼠、豚鼠、猫、狗、大鼠、小鼠等)、或者非人灵长类(例如,猴、黑猩猩等)、重组抗体、嵌合抗体、单链Fv("scFv")、单链抗体、单域抗体、Fab片段、F(ab')片段、F(ab')$_2$片段、二硫键连接的Fv("sdFv")和抗独特型("抗-Id")抗体、双域抗体、双重可变域(DVD)或三重可变域(TVD)抗体(双重可变域免疫球蛋白及其制备方法描述于Wu, C.,等人, Nature BioTechnology, 25(11):1290-1297 (2007)和PCT国际申请WO 2001/058956,所述文献内容各自通过引用结合到本文中),以及任何上述的功能活性的表位结合片段。特别地,抗体包括免疫球蛋白分子和免疫球蛋白分子的免疫活性片段,即,含有分析物-结合位点的分子。免疫球蛋白分子可以是任何类型(例如,IgG、IgE、IgM、IgD、IgA和IgY)、类别(例如,IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA1和IgA2)或亚类。为了简化起见,针对分析物的抗体在本文中通常被称为"抗分析物抗体"或仅称为"分析物抗体"(例如,抗RGMc抗体或RGMc抗体)。

[0056] d. 抗体片段

"抗体片段"如本文所用,是指完整抗体的一部分,其包含抗原结合位点或可变区。该部分不包含完整抗体的Fc区的重链恒定域(即CH2、CH3或CH4,取决于抗体同种型)。抗体片段的实例包括但不限于Fab片段、Fab'片段、Fab'-SH片段、F(ab')$_2$片段、Fd片段、Fv片段、双链抗体、单链Fv (scFv)分子、仅含一个轻链可变域的单链多肽、含有轻链可变域的3个CDR的单链多肽、仅含一个重链可变区的单链多肽、和含有重链可变区的3个CDR的单链多肽。

[0057] e. 结合常数

"结合常数"描述于本文中。术语"结合速率常数"、"k_{on}"或"k_a"如本文所用,是指表明抗体与其靶抗原的结合速率或抗体与抗原间形成复合物的速率的值,如下式所示:

抗体(Ab) +抗原 (Ag) → Ab-Ag.

术语"解离速率常数"、"k_{off}"或"k_d"在本文中可互换使用,是指表明抗体与其靶抗原的解离速率或Ab-Ag复合物随时间分开为游离抗体和抗原的解离速率的值,如下式所示:

抗体(Ab)+抗原 (Ag) ← Ab-Ag.

测定结合速率常数和解离速率常数的方法是本领域众所周知的。使用基于荧光的技术提供了高灵敏度和在生理缓冲液中在平衡时检查样品的能力。可使用其它实验方法和仪器例如BIAcore® (生物分子相互作用分析)测定(例如可得自以下公司的仪器:BIAcore International AB, a GE Healthcare company, Uppsala, Sweden)。另外,也可使用KinExA® (动力学排除测定)测定,其可得自Sapidyne Instruments (Boise, Idaho)。

[0058] 术语“平衡解离常数”或“K_D”在本文中可互换使用，是指解离速率(k_{off})除以结合速率(k_{on})得到的数值。结合速率、解离速率和平衡解离常数用于代表抗体对于抗原的结合亲和力。

[0059] f. 结合蛋白

“结合蛋白”在本文中用于指与结合配偶体结合而形成复合物的单体或多聚体蛋白，例如，多肽、抗原、化合物或其它分子或任何类别的底物。结合蛋白与结合配偶体特异性结合。结合蛋白包括抗体、及其抗原-结合片段以及本领域已知的并描述于下文的其它不同形式及其衍生物、以及包含结合到抗原分子或抗原分子上的特定位点(表位)上的一个或多个抗原结合域的其它分子。因此，结合蛋白包括但不限于，抗体、四聚体免疫球蛋白、IgG分子、IgG_1分子、单克隆抗体、嵌合抗体、CDR-移植抗体、人源化抗体、亲和力成熟的抗体、和保留与抗原结合能力的任何所述抗体的片段。

[0060] g. 双特异性抗体

“双特异性抗体”在本文中用于指通过如下生产的全长抗体：四源杂交瘤(quadroma)技术(参见Milstein等人, Nature, 305(5934): 537-540 (1983))，两种不同的单克隆抗体的化学缀合(参见，Staerz等人, Nature, 314(6012): 628-631 (1985))，或knob-into-hole或类似方法，其在Fc区中引入突变(参见Holliger等人, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 90(14): 6444-6448 (1993))，产生多种不同的免疫球蛋白种类，其中仅一种是功能性双特异性抗体。双特异性抗体结合其2个结合臂(一对HC/LC)之一上的一个抗原(或表位)，且结合其第二个臂(不同的一对HC/LC)上的不同抗原(或表位)。通过这个定义，双特异性抗体具有2个不同的抗原结合臂(特异性和CDR序列两方面)，且对于其结合的每种抗原而言是单价的。

[0061] h. CDR

“CDR”在本文中用于指在抗体可变序列内的“互补决定区”。在重链和轻链的每个可变区中存在3个CDR，所述CDR对于每个可变区命名为“CDR1”、“CDR2”和“CDR3”。如本文使用的，术语“CDR组”指在结合抗原的单个可变区中出现的3个CDRs的组。这些CDRs的确切边界已根据不同系统分别定义。由Kabat (Kabat等人, Sequences of Proteins of Immunological Interest (National Institutes of Health, Bethesda, Md. (1987)和(1991))描述的系统，不仅提供了可应用于抗体的任何可变区的明确残基编号系统，还提供了定义这3个CDR的精确残基边界。这些CDR可以被称为“Kabat CDR”。Chothia和同事们(Chothia和Lesk, J. Mol. Biol., 196: 901-917 (1987)；和Chothia等人, Nature, 342: 877-883 (1989))发现Kabat CDR内的某些亚部分采取几乎相同的肽主链构象，尽管在氨基酸序列水平上具有大的多样性。这些亚部分命名为“L1”、“L2”和“L3”或“H1”、“H2”和“H3”，其中“L”和“H”分别指轻链和重链区域。这些区域可以被称为Chothia CDR，其具有与Kabat CDRs重叠的边界。定义与Kabat CDRs重叠的CDRs的其它边界已由Padlan, FASEB J., 9: 133-139 (1995)和MacCallum, J. Mol. Biol., 262(5): 732-745 (1996)描述。再其它的CDR边界定义可能不严格地遵循本文中的系统之一，但仍将与Kabat CDR重叠，尽管按照特定残基或残基组或甚至整个CDRs并不显著影响抗原结合的预测或实验发现，它们可缩短或加长。本文使用的方法可以利用根据这些系统中的任何一种限定的CDRs，尽管某些实施方案使用Kabat或Chothia限定的CDR。

[0062] i．组分

“组分”或“至少一种组分”通常是指可包含在试剂盒中的捕获抗体、检测或缀合物、校准物、对照、灵敏度组、容器、缓冲液、稀释剂、盐、酶、酶的辅因子、检测试剂、预处理试剂/溶液、底物(例如作为溶液)、终止液等，用于依照本文所述的方法和本领域已知的其它方法来测定试验样品，例如患者尿、血清或血浆样品。某些组分可以是在溶液中或被冻干，用于重构以用于测定。

[0063] j．共有序列

“共有序列”如本文所用，是指根据对具体抗原的多个亚型比对的分析而构建的合成的核酸序列或相应的多肽序列。所述序列可用于针对具体抗原的多个亚型或血清型而诱导广泛免疫力。合成的抗原，例如融合蛋白，可被操纵为共有序列(或共有抗原)。

[0064] k．对照

“对照”如本文所用，是指已知不含目标分析物(“阴性”)的组合物，所述分析物例如，RGMc (例如膜结合的RGMc、可溶性RGMc、膜结合的RGMc片段、可溶性RGMc片段、RGMc变体(膜结合的或可溶性RGMc)或其任何组合)，或含有目标分析物(“阳性对照”)的组合物，所述分析物例如，RGMc (例如膜结合的RGMc、可溶性RGMc、膜结合的RGMc片段、可溶性RGMc片段、RGMc变体(膜结合的或可溶性RGMc)或其任何组合)。阳性对照可包含已知浓度的RGMc。“对照”、“阳性对照”和“校准物”在本文中可互换使用，是指包含已知浓度的RGMc的组合物。“阳性对照”可用于建立测定性能特性并且是有用的试剂(例如，分析物)完整性指示物。“正常对照”可指无铁相关疾病或病症的样品或受试者。

[0065] l．衍生物

抗体的“衍生物”如本文所用，可以指与真正的或母体抗体相比在其氨基酸序列上具有一个或多个修饰并表现出修饰的域结构的抗体。衍生物可仍然能够呈现天然抗体中存在的典型域构型、以及氨基酸序列，其能够特异性结合到靶(抗原)上。抗体衍生物的典型实例是偶联到其它多肽上的抗体、重排抗体域或抗体片段。衍生物也可包含至少一种额外化合物，例如蛋白域，所述蛋白域通过共价或非共价键连接。所述连接可基于根据本领域已知的方法的基因融合。在包含依据本发明使用的抗体的融合蛋白中存在的额外域可以优选地通过柔性接头连接，所述接头最好是肽接头，其中所述肽接头包含多个亲水的肽-键合的氨基酸，其长度足以跨越额外蛋白域的C端末端和所述抗体的N-端末端间的距离或反之亦然。所述抗体可以连接到具有以下构型的效应分子，所述构型适合于生物活性或选择性结合到例如固体支持物、生物活性物(例如细胞因子或生长激素)、化学剂、肽、蛋白或药物上。

[0066] m．双重-特异性抗体

“双重-特异性抗体”在本文中用于指可以在其2个结合臂的每一个中(一对HC/LC)结合2种不同抗原(或表位)的全长抗体(参见PCT公开WO 02/02773)。因此双重-特异性结合蛋白具有2个相同的抗原结合臂，具有相同的特异性和相同的CDR序列，且对于其结合的每种抗原是二价的。

[0067] n．双重可变区

“双重可变区”在本文中用于指结合蛋白上的两个或更多个抗原结合位点，其可以是二价(2个抗原结合位点)、四价(4个抗原结合位点)或多价结合蛋白。DVD可以是单特异性的，即能够结合一个抗原(或一个特异性表位)，或多特异性，即能够结合两个或更多个抗原(即

相同靶抗原分子的两个或更多个表位或者不同靶抗原的两个或更多个表位)。优选的DVD结合蛋白包含2个重链DVD多肽和2个轻链DVD多肽并且称为“DVD免疫球蛋白”或“DVD-Ig”。因此这样的DVD-Ig结合蛋白是四聚体并联想到IgG分子,但提供多于IgG分子的抗原结合位点。因此,四聚体DVD-Ig分子的每一半联想到IgG分子的一半并且包含重链DVD多肽和轻链DVD多肽,但不同于提供单个抗原结合域的IgG分子的一对重链和轻链,DVD-Ig的一对重链和轻链提供两个或更多个抗原结合位点。

[0068] DVD-Ig结合蛋白的每个抗原结合位点都可衍生自供体(“母体”)单克隆抗体并因此包含重链可变域(VH)和轻链可变域(VL),每个抗原结合位点总共有6个CDR参与抗原结合。因此,结合2个不同表位(即2个不同抗原分子的2个不同表位或相同抗原分子的2个不同表位)的DVD-Ig结合蛋白包含衍生自第一母体单克隆抗体的抗原结合位点和第二母体单克隆抗体的抗原结合位点。

[0069] DVD-Ig结合分子的设计、表达和表征的描述在以下文献中提供:PCT公布号WO 2007/024715、美国专利号7,612,181和Wu等人, Nature Biotech., 25: 1290-1297 (2007)。这类DVD-Ig分子的优选的实例含有:包含结构式VD1-(X1)n-VD2-C-(X2)n的重链,其中VD1是第一重链可变域,VD2是第二重链可变域,C是重链恒定域,X1是接头且条件是它不是CH1,X2是Fc区,n是0或1,但优选1;和包含结构式VD1-(X1)n-VD2-C-(X2)n的轻链,其中VD1是第一轻链可变域,VD2是第二轻链可变域,C是轻链恒定域,X1是接头且条件是它不是CH1,X2不包含Fc区;和n是0或1,但优选1。这样的DVD-Ig可包含2条这样的重链和2条这样的轻链,其中每条链包含串联连接的可变域,在可变区间没有间插的恒定区,其中重链和轻链缔合而形成串联功能性抗原结合位点,并且一对重链和轻链可以与另一对重链和轻链缔合而形成具有4个功能性抗原结合位点的四聚体结合蛋白。在另一实例中,DVD-Ig分子可包含重链和轻链,其各自包含串联连接的3个可变域(VD1、VD2、VD3),在可变域间没有间插的恒定区,其中一对重链和轻链可以缔合而形成3个抗原结合位点,并且其中一对重链和轻链可以与另一对重链和轻链缔合而形成具有6个抗原结合位点的四聚体结合蛋白。

[0070] 在一个优选的实施方案中,本发明的DVD-Ig结合蛋白不仅结合其母体单克隆抗体所结合的同一靶分子,而且具有一个或多个其母体单克隆抗体的一个或多个所需性质。优选地,这样的额外性质是一个或多个母体单克隆抗体的抗体参数。可自一个或多个其母体单克隆抗体促成DVD-Ig结合蛋白的抗体参数包括但不限于抗原特异性、抗原亲和力、效能、生物学功能、表位识别、蛋白稳定性、蛋白溶解度、生产效率、免疫原性、药物动力学、生物利用度、组织交叉反应性和直系同源抗原结合。

[0071] DVD-Ig结合蛋白结合RGMc的至少一个表位。DVD-Ig结合蛋白的非限制性实例包括:结合RGMc的一个或多个表位的DVD-Ig结合蛋白,结合人RGMc的表位和另一物种(例如小鼠)的RGMc的表位的DVD-Ig结合蛋白,和结合人RGMc的表位和另一靶分子(例如VEGFR2或VEGFR1)的表位的DVD-Ig结合蛋白。

[0072] o. 表位

“表位”或“目标表位”是指被识别并可结合到其特异性结合配偶体上的互补位点的任何分子上的位点。所述分子和特异性结合配偶体是特异性结合对的部分。例如,表位可在多肽、蛋白、半抗原、碳水化合物抗原(例如但不限于糖脂、糖蛋白或脂多糖)或多糖上。其特异性结合配偶体可以是、但不限于抗体。

[0073] p. 框架或框架序列

如本文使用的，术语“框架(FR)”或“框架序列”可指减去CDR的可变区的剩余序列。因为CDR序列的确切定义可以由不同系统(例如，参见以上)确定，所以对框架序列的含义进行相应不同的解释。6个CDRs (轻链的CDR-L1、-L2和-L3，以及重链的CDR-H1、-H2和-H3)也将轻链和重链上的框架区分成在每条链上的4个亚区(FR1、FR2、FR3和FR4)，其中CDR1位于FR1和FR2之间，CDR2位于FR2和FR3之间，且CDR3位于FR3和FR4之间。不将特定亚区指定为FR1、FR2、FR3或FR4，如其它人提及的，框架区代表单个天然存在的免疫球蛋白链可变区内的组合FR。如本文使用的，FR代表4个亚区之一，且FRs代表构成框架区的4个亚区中的2个或更多。

[0074] 人重链和轻链FR序列是本领域已知的，其可用作重链和轻链“接纳体”框架序列(或简而言之，“接纳体”序列)，以使用本领域已知的技术而使非人抗体人源化。在一个实施方案中，人重链和轻链接纳体序列选自列于例如V-base (超文本传送协议http://vbase.mrc-cpe.cam.ac.uk/)或在国际ImMunoGeneTics® (IMGT®)信息系统(超文本传送协议http://imgt.cines.fr/texts/IMGTrepertoire/LocusGenes/)等公众可得的数据库中所列的框架序列。

[0075] q. 功能性抗原结合位点

“功能性抗原结合位点”如本文所用，可以指能够结合靶抗原的结合蛋白(例如抗体)上的位点。抗原结合位点的抗原结合亲和力可能不如该抗原结合位点所来源的母体结合蛋白例如母体抗体那么强，但抗原结合能力必须是使用已知用于评价蛋白(例如抗体)结合到抗原上的各种方法的任何一种而可测量的。此外，多价蛋白(例如本文的多价抗体)的每个抗原结合位点的抗原结合亲和力不必在定量上相同。

[0076] r. 人源化抗体

“人源化抗体”用于本文中以描述包含来自非人物种(例如，小鼠)的重链和轻链可变区序列的抗体，但其中至少部分VH和/或VL序列已改变成更“人-样”，即更类似于人种系可变序列。“人源化抗体”是抗体或其变体、衍生物、类似物或片段，其免疫特异性地结合目的抗原，并且其包含基本上具有人抗体的氨基酸序列的框架(FR)区、和基本上具有非人抗体的氨基酸序列的互补决定区(CDR)。如本文使用的，在CDR的背景下，术语“基本上”指具有与非人抗体CDR的氨基酸序列有至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少98%或至少99%同一性的氨基酸序列的CDR。人源化抗体包含基本上所有至少一个、且一般为2个可变域(Fab、Fab'、$F(ab')_2$、FabC、Fv)，其中所有或基本上所有CDR区对应非人免疫球蛋白(即，供体抗体)的那些，且所有或基本上所有框架区是人免疫球蛋白共有序列的那些。在一个实施方案中，人源化抗体也包含至少部分免疫球蛋白恒定区(Fc)，一般为人免疫球蛋白恒定区。在一些实施方案中，人源化抗体包含轻链以及重链的至少可变域。抗体还可以包括重链的CH1、铰链、CH2、CH3和CH4区。在一些实施方案中，人源化抗体只包含人源化轻链。在一些实施方案中，人源化抗体只包含人源化重链。在具体实施方案中，人源化抗体只包含轻链的人源化可变域和/或人源化重链。

[0077] 人源化抗体可以选自任何类别的免疫球蛋白，包括IgM、IgG、IgD、IgA和IgE，和任何同种型，包括但不限于IgG1、IgG2、IgG3和IgG4。人源化抗体可包含来自不止一个类别或同种型的序列，并且可使用本领域众所周知的技术来选择具体的恒定区，以优化所需的效

应功能。

[0078] 人源化抗体的框架区和CDR不必准确对应于母体序列，例如，可通过取代、插入和/或缺失至少一个氨基酸残基而诱变供体抗体CDR或共有框架，使得在该位点的CDR或框架残基不对应于供体抗体或共有框架。在一个优选的实施方案中，这样的突变却并非广泛的。通常，至少80%、优选地至少85%、更优选地至少90%、和最优选地至少95%的人源化抗体残基将对应于母体FR和CDR序列的那些。如本文所用，术语“共有框架”是指共有免疫球蛋白序列中的框架区。如本文所用，术语“共有免疫球蛋白序列”是指自相关免疫球蛋白序列家族中的最频繁发生的氨基酸(或核苷酸)而形成的序列(参见例如，Winnaker, From Genes to Clones (Verlagsgesellschaft, Weinheim, 1987))。“共有免疫球蛋白序列”因此可包含“共有框架区”和/或“共有CDR”。在免疫球蛋白家族中，在共有序列中的每一位置都被该家族中的在该位置上最频繁发生的氨基酸占据。如果2个氨基酸以相等频率发生，这两者之一可包括在共有序列中。

[0079] s．相同或同一性

“相同”或“同一性”如本文在两个或更多个多肽或多核苷酸序列的情况下使用时，可指各序列在特定区内具有特定的相同残基百分比。该百分比可通过以下方法计算：优化比对两个序列，在特定区内比较两个序列，确定两个序列中出现的相同残基的位置数而得到匹配位置数，将匹配位置数除以特定区内的总位置数，并将结果乘以100，得到序列同一性的百分比。在两个序列具有不同长度或比对产生一个或多个交错末端和比较的特定区仅含单一序列的情况下，单一序列的残基包括在分母中，而不在计算的分子中。

[0080] t．分离的多核苷酸

“分离的多核苷酸”如本文所用，可指这样的多核苷酸(例如，基因组的、cDNA、或合成来源的、或其组合)：由于其来源，分离的多核苷酸不与在自然界中发现该“分离的多核苷酸”与之结合的全部或部分多核苷酸结合；与在自然界中它不与之连接的多核苷酸操作性连接；或在自然界中不作为较大序列的部分存在。

[0081] u．标记和可检测标记

“标记”和“可检测标记”如本文所用，是指连接于抗体或分析物的部分，以使抗体和分析物之间的反应可以检测，而将这样标记的抗体或分析物称为“可检测标记的”。标记可产生可通过目视或仪器工具检测的信号。各种标记包括信号-产生物质，例如色原、荧光化合物、化学发光化合物、放射性化合物等。标记的代表性实例包括产生光的部分，例如吖啶化合物，和产生荧光的部分，例如荧光素。其它标记描述于本文中。在这一点上，所述部分自身可以是不可检测的，但与另一部分反应后成为可检测的。术语“可检测标记的”的使用意图包括这样的标记。

[0082] 本领域已知的任何合适的可检测标记都可使用。例如，可检测标记可以是放射性标记(例如^{3}H、^{125}I、^{35}S、^{14}C、^{32}P和^{33}P)、酶标记(例如，辣根过氧化物酶、碱性磷酸酶、葡萄糖6-磷酸脱氢酶等)；化学发光标记(例如吖啶酯、硫酯或磺酰胺；鲁米诺、异鲁米诺、菲啶酯(phenanthridinium esters)等)；荧光标记(例如荧光素(例如，5-荧光素、6-羧基荧光素、3’6-羧基荧光素、5(6)-羧基荧光素、6-六氯-荧光素、6-四氯荧光素、异硫氰酸荧光素等))、罗丹明、藻胆蛋白、R-藻红蛋白、量子点(例如硫化锌封端的硒化镉)、温度测量标记、或免疫-聚合酶链式反应标记。有关标记物、标记程序和标记检测的介绍可参见Polak和Van

Noorden, *Introduction to Immunocytochemistry*, 第2版, Springer Verlag, N.Y. (1997)和Haugland, *Handbook of Fluorescent Probes and Research Chemicals* (1996),这是一本综合手册和目录,Molecular Probes, Inc., Eugene, Oregon出版。荧光标记可用于FPIA (参见例如,美国专利号5,593,896、5,573,904、5,496,925、5,359,093和5,352,803,所述文献通过引用全部结合到本文中)。吖啶化合物在均质化学发光测定中可用作可检测标记(参见例如,Adamczyk等人, Bioorg. Med. Chem. Lett.16: 1324-1328 (2006);Adamczyk等人, Bioorg. Med. Chem. Lett. 4: 2313-2317 (2004);Adamczyk等人, Biorg. Med. Chem. Lett. 14: 3917-3921 (2004);和Adamczyk等人, Org. Lett. 5: 3779-3782 (2003))。

[0083] 一方面,所述吖啶化合物是吖啶-9-甲酰胺。吖啶9-甲酰胺的制备方法描述于Mattingly, J. Biolumin. Chemilumin. 6: 107-114 (1991);Adamczyk等人, J. Org. Chem. 63: 5636-5639 (1998);Adamczyk等人, Tetrahedron 55: 10899-10914 (1999);Adamczyk等人, Org. Lett. 1: 779-781 (1999);Adamczyk等人, Bioconjugate Chem. 11: 714-724 (2000);Mattingly等人, 载于*Luminescence BioTechnology: Instrumentsand Applications*;Dyke, K. V. Ed.;CRC Press: Boca Raton, 第77-105页(2002);Adamczyk等人, Org. Lett. 5: 3779-3782 (2003);和美国专利号5,468,646、5,543,524和5,783,699 (对于其关于上述的教导,各自通过引用全部结合到本文中)。

[0084] 吖啶化合物的另一实例是吖啶-9-羧酸芳基酯。式II的吖啶-9-羧酸芳基酯的一个实例是10-甲基-9-(苯氧基羰基)吖啶氟磺酸酯(可得自Cayman Chemical, Ann Arbor, MI)。吖啶9-羧酸芳基酯的制备方法描述于McCapra等人, Photochem. Photobiol.4: 1111-21 (1965);Razavi等人, Luminescence 15: 245-249 (2000);Razavi等人, Luminescence 15: 239-244 (2000);和美国专利号5,241,070 (对于其关于上述的教导,各自通过引用结合到本文中)。这样的吖啶-9-羧酸芳基酯对于通过至少一种氧化酶的分析物氧化中产生的过氧化氢(就信号强度和/或信号快速性而言)来说是有效的化学发光指示剂。对于吖啶-9-羧酸芳基酯的化学发光发射的过程是快速完成的,即在1秒钟内,而吖啶-9-甲酰胺的化学发光发射延长超过2秒钟。然而,吖啶-9-羧酸芳基酯,在蛋白存在时失去其化学发光性能。因此,其使用要求在信号产生和检测期间蛋白不存在。在样品中分离或除去蛋白质的方法是本领域技术人员众所周知的,并且包括但不限于超滤、提取、沉淀、透析、色谱和/或消化(参见例如,Wells, *High Throughput Bioanalytical Sample Preparation. Methods and Automation Strategies*, Elsevier (2003))。从试验样品中除去或分离的蛋白量可为约40%、约45%、约50%、约55%、约60%、约65%、约70%、约75%、约80%、约85%、约90%或约95%。对于吖啶-9-羧酸芳基酯及其使用的进一步细节阐述于美国专利申请号11/697,835 (2007年4月9日提交)。可将吖啶-9-羧酸芳基酯溶于任何合适的溶剂,例如脱气的无水*N*,*N*-二甲基甲酰胺(DMF)或胆酸钠水溶液。

[0085] v. 连接序列和连接肽序列

"连接序列"或"连接肽序列"是指连接到一个或多个目标多肽序列(例如全长、片段等)的天然或人工多肽序列。术语"连接"是指连接序列与目标多肽序列的连接。这样的多肽序列优选通过一个或多个肽键连接。连接序列的长度可以是约4至约50个氨基酸。优选地,连接序列的长度是约6至约30个氨基酸。天然连接序列可以被氨基酸取代、添加或缺失修饰,

以产生人工连接序列。示例性的连接序列包括但不限于：(i)组氨酸(His)标签，例如6X His标签，其具有氨基酸序列HHHHHH (SEQ ID NO:83)，可用作连接序列，以便于目标多肽和抗体的分离和纯化；(ii) 肠激酶切割位点，例如His标签，用于目标蛋白和抗体的分离和纯化。通常，肠激酶切割位点与His标签一起用于目标蛋白和抗体的分离和纯化。多个肠激酶切割位点是本领域已知的。肠激酶切割位点的实例包括但不限于氨基酸序列DDDDK (SEQ ID NO:84)及其衍生物(例如，ADDDDK (SEQ ID NO:85)等)；(iii) 各种序列可用于连结或连接单链可变区片段的轻链和/或重链可变区。其它连接序列的实例可参见Bird等人，Science 242: 423-426 (1988)；Huston等人，PNAS USA 85: 5879-5883 (1988)；和McCafferty等人，Nature 348: 552-554 (1990)。连接序列也可以被修饰而具有额外功能，例如连接药物或连接到固体支持物上。在本公开内容的背景下，单克隆抗体，例如可含有连接序列，例如His标签、肠激酶切割位点、或这两者。

[0086] w. 多价结合蛋白

“多价结合蛋白”在本文中用于指包含2个或更多个抗原结合位点(在本文中也称为“抗原结合域”)的结合蛋白。多价结合蛋白优选经工程改造而具有3个或更多个抗原结合位点，且一般不是天然存在的抗体。术语“多特异性结合蛋白”指能够结合2种或更多种相关或无关靶的结合蛋白，包括能够结合同一靶分子的两个或更多个不同表位的结合蛋白。

[0087] x. 预定截止和预定水平

“预定截止”和“预定水平”一般指测定截止值，其用于通过将测定的结果与预定截止/水平比较，来评估诊断/预测/治疗功效结果，其中预定截止/水平已经与各种临床参数(例如疾病严重程度、进展/非进展/改进等)联系或相关。本公开内容提供示例性预定水平。然而，众所周知，截止值可能依赖于免疫测定的性质(例如采用的抗体等)而变化。另外，完全在本领域普通技术人员的一般能力内的是，基于本公开内容使本文公开内容适于其它免疫测定以获得关于那些其它免疫测定的免疫测定特异性截止值。尽管在各测定之间预定截止/水平的精确值可能不同，但本文所述的相关性应当是普遍适用的。

[0088] y. 预处理试剂

如在本文所述的诊断测定中所用的，“预处理试剂”，例如裂解、沉淀和/或增溶试剂，是将存在于试验样品中的任何细胞裂解和/或任何分析物增溶的试剂。如本文进一步所述的，不是所有样品都需要预处理。除了其它的之外，增溶分析物(即RGMc (例如膜结合的RGMc、可溶性RGMc、膜结合的RGMc片段、可溶性RGMc片段、RGMc变体(膜结合的或可溶性RGMc)或其任何组合))需要分析物从存在于样品中的任何内源结合蛋白释放。预处理试剂可以是均质的(不需要分离步骤)或异质的(需要分离步骤)。使用异质的预处理试剂时，在进行到测定的下一个步骤前，从试验样品将任何沉淀的分析物结合蛋白除去。预处理试剂任选可包含：(a) 一种或多种溶剂和盐，(b) 一种或多种溶剂、盐和去垢剂，(c) 去垢剂，(d) 去垢剂和盐，或(e) 适合细胞裂解和/或分析物增溶的任何试剂或试剂组合。

[0089] z. 质量控制试剂

在本文所述的免疫测定和试剂盒的情况下，“质量控制试剂”包括但不限于校准物、对照、和灵敏度组(sensitivity panel)。为了确立校准(标准)曲线以内插(interpolation)分析物(例如抗体或分析物)的浓度，一般使用“校准物”或“标准”(例如，一种或多种，例如多种)。或者，可以使用接近预定阳性/阴性截止的单个校准物。可以共同使用多个校准物

(即,多于一个校准物或不同量的校准物),从而构成“灵敏度组”。

[0090] aa. 重组抗体

“重组抗体”是指通过一个或多个步骤制备而来的抗体,所述步骤包括通过重组技术将编码一种或多种单克隆抗体的全部或一部分的核酸序列克隆到合适的表达载体,然后在合适的宿主细胞中表达所述抗体。该术语包括但不限于重组产生的单克隆抗体、嵌合抗体、人源化抗体(完全或部分人源化)、从抗体片段形成的多特异性或多价结构、双功能性抗体、杂缀合Abs、DVD-Ig® 和在本文的(i)中所述的其它抗体。(双重-可变域免疫球蛋白和制备它们的方法描述于Wu, C.,等人, Nature BioTechnology, 25:1290-1297 (2007))。术语“双功能性抗体”如本文所用,是指包含对一个抗原位点具有特异性的第一臂和对不同抗原位点具有特异性的第二臂的抗体,即双功能性抗体具有双重特异性。

[0091] bb. 样品、试验样品和患者样品

“样品”、“试验样品”和“患者样品”在本文中可替换使用。样品,例如尿、血清、血浆、羊膜液、脑脊液、胎盘细胞或组织、内皮细胞、白细胞或单核细胞等样品,可自患者获取而直接使用,或者可经预处理,例如通过过滤、蒸馏、萃取、浓缩、离心、使干扰组分钝化、添加试剂等,从而用本文所述的某种方式或本领域已知的其它方式改变样品的性质。

[0092] cc. 校准组合物系列

“校准组合物系列”是指包含已知浓度的Cys-RGMcC的多个组合物,其中每个组合物的Cys-CRGMc浓度不同于系列中的其它组合物。

[0093] dd. 固相

“固相”是指不溶的、或可通过后续反应使之不溶的任何材料。可针对固相吸引和固定捕获剂的固有能力而选择固相。或者,固相可连接具有吸引和固定捕获剂能力的连接剂。连接剂可包括例如带电荷的物质,其相对于捕获剂本身具有相反电荷或相对于缀合到捕获剂上的带电荷物质具有相反电荷。一般而言,连接剂可以是任何结合配偶体(优选地特异性),其固定在(连接在)固相并通过结合反应而具有固定捕获剂的能力。连接剂使得在进行测定之前或在进行测定期间能够将捕获剂间接结合到固相材料上。固相可以是例如塑料、衍生塑料、磁性或非磁性金属、玻璃或硅,包括例如,试管、微量滴定板孔、片层、珠、微粒、芯片和本领域普通技术人员已知的其它结构。

[0094] ee. 特异性结合

“特异性结合”或“特异性地结合”如本文所用,可指抗体、蛋白、或肽与第二化学物类的相互作用,其中相互作用取决于化学物类上的特定结构(例如,抗原决定簇或表位)的存在;例如,抗体识别且与特定蛋白结构结合而不是一般地与蛋白结合。如果抗体对表位“A”具有特异性,那么在包含标记的“A”和抗体的反应中,包含表位A (或游离的、未标记的A)的分子的存在,将减少与抗体结合的标记的A的量。

[0095] ff. 特异性结合配偶体

“特异性结合配偶体”是特异性结合对成员。特异性结合对包含两种不同分子,其通过化学或物理方式彼此特异性地结合。因此,除了常见的免疫测定的抗原和抗体特异性结合对之外,其它特异性结合对可包括生物素和抗生物素蛋白(或链霉抗生物素)、碳水化合物和凝集素、互补的核苷酸序列、效应物和受体分子、辅因子和酶、酶和酶抑制剂,等等。此外,特异性结合对可包括原始特异性结合成员的类似物的成员,例如,分析物-类似物。免疫反

应性特异性结合成员包括抗原、抗原片段和抗体，包括单克隆抗体和多克隆抗体及其复合物和其片段，无论是分离的还是经重组产生的。

[0096] gg. 严格条件

“严格条件”在本文中用于描述以下条件：在6x氯化钠/柠檬酸钠(SSC)中，在约45°C，杂交到滤膜结合的DNA上，然后在0.2xSSC/0.1% SDS中，在约50-65°C一次或多次洗涤。术语“在高度严格条件下”是指这样的条件：在6xSSC中在约45°C杂交到滤膜结合的核酸上，然后在0.1xSSC/0.2% SDS中在约68°C一次或多次洗涤，或在其它严格性杂交条件下。参见例如，Ausubel, F. M.等人, 编著, 1989, Current Protocols in Molecular Biology, Vol. I, Green Publishing Associates, Inc.和John Wiley & Sons, Inc., New York，在第6.3.1-6.3.6和2.10.3页。

[0097] hh. “治疗(Treat)”、“治疗(treating)”或“治疗(treatment)”

“治疗(Treat)”、“治疗(treating)”或“治疗(treatment)”在本文中可替换使用，用于描述逆转、缓解或抑制该术语所适用的疾病进程、或所述疾病的一个或多个症状。根据受试者的情况，该术语也是指预防疾病，和包括预防疾病的发作，或预防疾病的相关症状。治疗可以急性或慢性方式进行。该术语还指在患病之前降低疾病或所述疾病相关症状的严重程度。在患病之前的这种对疾病严重程度的预防或降低是指将本发明的抗体或药物组合物给予受试者，在给药时所述受试者未患病。“预防”还指预防疾病或所述疾病相关的一个或多个症状的复发。“治疗”和“治疗性地”是指治疗行动，如上文对“治疗”所定义的。

[0098] ii. 示踪剂

“示踪剂”如本文所用，是指缀合到标记上的分析物或分析物片段，例如缀合到荧光素部分的Cys-CRGMc，其中缀合到标记上的分析物可与分析物有效竞争对该分析物具有特异性的抗体上的位点。

[0099] jj. 变体

“变体”在本文中用于描述这样的肽或多肽：所述肽或多肽通过氨基酸的插入、缺失或保守取代而在氨基酸序列上有所不同，但保持至少一种生物活性。“生物活性”的代表性实例包括被特异性抗体结合的能力或引发免疫应答的能力。变体在本文中也用于描述这样的蛋白：所述蛋白的氨基酸序列与保留至少一种生物活性的参考蛋白的氨基酸序列基本上相同。氨基酸保守取代，即，将氨基酸用具有相似特性(例如，亲水性和带电区域的程度和分布)的不同氨基酸替换，在本领域中被认为一般涉及小改变。如本领域所理解的，可以部分通过考虑氨基酸的亲水性指数而确定这些小改变。Kyte等人, J. Mol. Biol. 157:105-132 (1982)。氨基酸的亲水性指数基于对其疏水性和电荷的考虑。本领域已知，可以取代具有相似亲水性指数的氨基酸，而仍然保持蛋白功能。一方面，取代具有亲水性指数±2的氨基酸。也可以使用氨基酸亲水性来揭示将引起保持生物学功能的蛋白的取代。就肽而言，考虑氨基酸的亲水性允许对该肽的最大局部平均亲水性的计算，这是据报道与抗原性和免疫原性良好关联的有用的量度。美国专利号4,554,101，通过引用全部结合到本文中。如本领域所理解的，具有相似亲水性值的氨基酸的取代可以产生保持生物学活性的肽，所述生物学活性例如免疫原性。用彼此具有±2以内的亲水性值的氨基酸来实施取代。氨基酸的疏水性指数和亲水性值都受该氨基酸的具体侧链影响。与这一观察一致，将与生物学功能相容的氨基酸取代理解为取决于氨基酸，且尤其是那些氨基酸侧链的相对相似性，如通过疏水

性、亲水性、电荷、大小和其它特性所揭示的那样。“变体”也可用于指抗RGMc抗体的抗原反应性片段，其在氨基酸序列上不同于抗RGMc抗体的相应片段，但仍然具有抗原反应性，并且可与抗RGMc抗体的相应片段竞争与RGMc的结合。“变体”也可用于描述已经经过不同加工(例如蛋白酶解、磷酸化或其它翻译后修饰)而仍然保持其抗原反应性的多肽或其片段。

[0100] kk. 载体

“载体”在本文中用于描述能够运输已与之连接的另一核酸的核酸分子。一种类型的载体是“质粒”，它指额外DNA区段可以连接到其内的环状双链DNA环。另一种类型的载体是病毒载体，其中额外DNA区段可以连接到病毒基因组内。某些载体能够在它们已引入其内的宿主细胞中自主复制(例如，具有细菌复制起点的细菌载体和附加型哺乳动物载体)。其它载体(例如非附加型哺乳动物载体)在引入宿主细胞内后可以整合到宿主细胞基因组内，且因此连同宿主基因组一起进行复制。此外，某些载体能够指导它们与之操作性连接的基因的表达。这样的载体在本文中被称为“重组表达载体”(或简称“表达载体”)。一般而言，在重组DNA技术中有用的表达载体通常为质粒的形式。“质粒”和“载体”可以互换使用，因为质粒是最常用的载体形式。然而，也使用其它形式的表达载体，例如提供等同功能的病毒载体(例如，复制缺陷型逆转录病毒、腺病毒和腺伴随病毒)。在这一点上，RNA形式的载体(包括RNA病毒载体)也可用于本公开内容的情况。

[0101] 对于本文中的数字范围的叙述，明确涵盖每个居间的数字，其具有同样的精确度。例如，对于范围6-9，除了6和9之外还涵盖数字7和8，对于范围6.0-7.0，明确涵盖数字6.0、6.1、6.2、6.3、6.4、6.5、6.6、6.7、6.8、6.9和7.0。

[0102] 2. 抗RGMc抗体

本文中提供的是结合到RGMc并中断铁调素正常表达的抗体，而铁调素直接调节血浆中的铁浓度并将铁分布到各种组织中。

[0103] a. RGMc

如本文中先前所述，RGMc是糖基磷脂酰肌醇(“GPI”)锚定的膜蛋白，其在肌肉、视网膜和门静脉周围肝细胞中表达。RGMc通过信号转导蛋白与铁调素共同作用，以维持机体的铁稳态。铁调素是通过结合到铁转运蛋白而调节系统性铁代谢的小肽(20-25个氨基酸)，该肽是哺乳动物专有的铁输出者。慢性病贫血(“ACD”)是常见结果，因为这些细胞不再能够将铁释放到血液中。铁调素诱导的铁转运蛋白的降解可以发生在大于300 mg/l铁调素、大于325 mg/l铁调素、大于350 mg/l铁调素、大于375 mg/l铁调素、大于400 mg/l铁调素、大于425 mg/l铁调素、大于450 mg/l铁调素或大于475 mg/l铁调素的水平。

[0104] 人RGMc，具有预测的N-末端的31个氨基酸的信号肽和C-末端45个氨基酸的GPI-连接信号的一种426个氨基酸的蛋白，当在人基因中的突变与一种严重铁过载病症即青少年血色素沉着病关联时，首次提出其参与系统性铁代谢。铁调素表达受到肝细胞表面上表达的膜结合的RGMc和人血液中存在的浓度约1 μg/ml的可溶性RGMc的控制。由蛋白裂解酶-2(TMPRSS6)裂解膜结合的RGMc，产生可溶性RGMc。RGMc的可溶性形式结合到BMP-6并使之隔绝，从而防止对铁调素表达的诱导。膜形式的RGMc具有相反效应：它增加铁调素表达。

[0105] 人RGMc可具有以下氨基酸序列：

MGEPGQSPSPRSSHGSPPTLSTLTLLLLLCGHAHSQCKILRCNAEYVSSTLSLRGGGSSGALRGGGGGGRGGG
VGSGGLCRALRSYALCTRRTARTCRGDLAFHSAVHGIEDLMIQHNCSRQGPTAPPPPRGPALPGAGSGLPAPDPCDY

EGRFSRLHGRPPGFLHCASFGDPHVRSFHHHFHTCRVQGAWPLLDNDFLFVQATSSPMALGANATATRKLTIIFKNM QECIDQKVYQAEVDNLPVAFEDGSINGGDRPGGSSLSIQTANPGNHVEIQAAYIGTTIIIRQTAGQLSFSIKVAEDV AMAFSAEQDLQLCVGGCPPSQRLSRSERNRRGAITIDTARRLCKEGLPVEDAYFHSCVFDVLISGDPNFTVAAQAAL EDARAFLPDLEKLHLFPSDAGVPLSSATLLAPLLSGLFVLWLCIQ (SEQ ID NO:1)。人RGMc可以是SEQ ID NO:1的片段或变体。

[0106] RGMc片段的长度可以是介于约5和约425个氨基酸、介于约10和约400个氨基酸、介于约50和约350个氨基酸、介于约100和约300个氨基酸、介于约150和约250个氨基酸、介于约200和约300个氨基酸、或介于约75和约150个氨基酸。所述片段可包含来自RGMc的连续数量的氨基酸。

[0107] RGMc片段可具有以下氨基酸序列：

AHSQCKILRCNAEYVSSTLSLRGGGSSGALRGGGGGGRGGGVGSGGLCRALRSYALCTRRTARTCRGDLAFHS AVHGIEDLMIQHNCSRQGPTAPPPPRGPALPGAGSGLPAPDPCDYEGRFSRLHGRPPGFLHCASFGDPHVRSFHHHF HTCRVQGAWPLLDNDFLFVQATSSPMALGANATATRKLTIIFKNMQECIDQKVYQAEVDNLPVAFEDGSINGGDRPG GSSLSIQTANPGNHVEIQAAYIGTTIIIRQTAGQLSFSIKVAEDVAMAFSAEQDLQLCVGGCPPSQRLSRSERNRRG AITIDTARRLCKEGLPVEDAYFHSCVFDVLISGDPNFTVAAQAALEDARAFLPDL (SEQ ID NO:2)。所述RGMc片段可以是SEQ ID NO:2的变体。

[0108] b. RGMc -识别抗体

所述抗体是结合到人RGMc (例如膜结合的RGMc、可溶性RGMc、膜结合的RGMc片段、可溶性RGMc片段、RGMc变体(膜结合的或可溶性RGMc)或其任何组合)的抗体。所述抗体可以是抗RGMc抗体片段或其变体或其衍生物。所述抗体可以是多克隆抗体或单克隆抗体。所述抗体可以是嵌合抗体、单链抗体、人源化抗体、完全人抗体或抗体片段，例如Fab片段或其混合物。所述抗体可以是免疫球蛋白分子、二硫键连接的Fv、亲和力成熟的抗体、scFv、嵌合抗体、单域抗体、CDR-移植抗体、双链抗体、人源化抗体、完全人抗体、多特异性抗体、Fab、双重特异性抗体、DVD、Fab'、双特异性抗体、F(ab')$_2$或Fv。抗体片段或衍生物可包含F(ab')$_2$、Fv或scFv片段。所述抗体衍生物可通过模拟肽而产生。此外，用于生产单链抗体的所述技术可根据本领域已知方法而改变，以产生单链抗体。此外，转基因动物可用于表达人源化或完全人抗体。

[0109] 所述抗体可以识别和特异性结合RGMc多肽或如上所述的变体上存在的表位(例如，SEQ ID NO:1或SEQ ID NO:1的变体中含有的表位)。表位可以是SEQ ID NO:2或SEQ ID NO:2的变体中含有的表位。

[0110] 所述抗体与已知抗RGMc抗体是可以区分的，优选具有与本领域已知的抗RGMc抗体不同的生物学功能。例如，除了识别和结合到膜结合的RGMc之外，所述抗体优选具有额外生物活性，例如，增加或降低铁调素表达的能力。另外，或备选，所述抗体具有阻断RGMc-再生蛋白相互作用和/或RGMc-BMP-6 (骨形态发生蛋白6)相互作用的能力。

[0111] (1) 抗体结合特性

所述抗体可以免疫特异性地结合到RGMc (膜结合的RGMc、可溶性RGMc或其组合)、其片段或其变体并且其k_{off} (或k_d)为至少约$1.0x10^{-3}$ s^{-1}，为至少约$1.0x10^{-4}$ s^{-1}，为至少约$1.0x10^{-5}$ s^{-1}，为至少约$1.0x10^{-6}$ s^{-1}，或者其k_{off} (或k_d)范围为约$1.0x10^{-3}$ s^{-1}至约$1.0x10^{-6}$ s^{-1}，约$1.0x10^{-3}$ s^{-1}至约$1.0x10^{-5}$ s^{-1}或约$1.0x10^{-3}$ s^{-1}至约$1.0x10^{-4}$ s^{-1}。所述片段可以是

SEQ ID NO:2。

[0112] 所述抗体可以免疫特异性地结合到RGMc (膜结合的RGMc、可溶性RGMc或其组合)、其片段或其变体并且其k_{on} (或k_a)为至少约$2.4x10^4$ $M^{-1}s^{-1}$,为至少约$2.5x10^4$ $M^{-1}s^{-1}$,为至少约$3.3x10^4$ $M^{-1}s^{-1}$,为至少约$5.0x10^4$ $M^{-1}s^{-1}$,为至少约$1.25x10^7$ $M^{-1}s^{-1}$,为至少约$1.35x10^7$ $M^{-1}s^{-1}$,为至少约$1.0x10^8$ $M^{-1}s^{-1}$,为至少约$1.0x10^9$ $M^{-1}s^{-1}$,或者其k_{on} (或k_a)范围为约$5.0x10^4$ $M^{-1}s^{-1}$至约$1.0x10^8$ $M^{-1}s^{-1}$,约$3.3x10^4$ $M^{-1}s^{-1}$至约$1.0x10^9$ $M^{-1}s^{-1}$,约$2.5x10^4$ $M^{-1}s^{-1}$至约$1.25x10^7$ $M^{-1}s^{-1}$,约$2.4x10^4$ $M^{-1}s^{-1}$至约$1.35x10^7$ $M^{-1}s^{-1}$。所述片段可以是SEQ ID NO:2。

[0113] (2) 抗体结构

(a) 重量和轻链的可变区及重链和轻链的CDR

所述抗体可以免疫特异性地结合到RGMc、其片段或其变体上并且包含可变重链和/或可变轻链,如表1所示。所述抗体可以免疫特异性地结合到RGMc、其片段或其变体上并且包含一个或多个重链或轻链的CDR序列,也如表1和/或表2所示。

[0114] 表1. 人源化抗RGMc抗体VH区和VL区的氨基酸序列列表

蛋白区	SEQ ID NO.	序列
h5F9.AM4 (VH)	3	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS NYGMNWIRQAPGKGLEWIGMIYYDSSEKHY ADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAED TAVYYCAKGTTPDYWGQGTMVTVSS
h5F9.AM4 (VL)	4	DVVLTQSPLSLPVTLGQPASISCRSSQSLESSD GDTFLEWFQQRPGQSPRLLIYDVSTRFSGVPD RFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCFQV THDPVTFGQGTKLEIK
h5F9.AM8 (VH)	5	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS NYGMNWIRQAPGKGLEWIGMIYYDSSEKHY ADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAED TAVYYCAKGTTPDYWGQGTMVTVSS

h5F9.AM8 (VL)	6	DVVLTQSPLSLPVTLGQPASISCRSSQS LEESDGYTFLHWFQQRPGQSPRLLIYE VSTRFSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRV EAEDVGVYYCFQATHDPLTFGQGTKLEIK
h5F9.AM9 (VH)	7	EVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFS NYGMNWVRQAPGKGLEWVAMIYYDSSEKHY ADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAED TAVYYCARGTTPDYWGQGTMVTVSS
h5F9.AM9 (VL)	8	DVVLTQSPLSLPVTLGQPASISCRSSQ SLADSDGDTFLHWFQQRPGQSPRLLIY AVSHRFSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISR VEAEDVGVYYCFQATHDPVTFGQGTKLEIK
h5F9.AM11 (VH)	9	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS NYGMNWVRQAPGKGLEWVSMIYYDSSEKHY ADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAED TAVYYCAKGTTPDYWGQGTMVTVSS
h5F9.AM11 (VL)	10	DVVLTQSPLSLPVTLGQPASISCRSSQ SLEDSDGGTFLEWFQQRPGQSPRLLI YDVSSRFSGVPDRFSGSGSGTDFTLKI SRVEAEDVGVYYCFQATHDPLSFGQGTKLEIK
h5F9.AM4 (VH) CDR-H1	11	NYGMN
h5F9.AM4 (VH) CDR-H2	12	MIYYDSSEKHYADSVKG
h5F9.AM4 (VH) CDR-H3	13	GTTPDY
h5F9.AM4 (VL) CDR-L1	14	RSSQSLESSDGDTFLE
h5F9.AM4 (VL) CDR-L2	15	DVSTRFS
h5F9.AM4 (VL) CDR-L3	16	FQVTHDPVT
h5F9.AM8 (VH) CDR-H1	17	NYGMN
h5F9.AM8 (VH) CDR-H2	18	MIYYDSSEKHYADSVKG

h5F9.AM8 (VH) CDR-H3	19	GTTPDY
h5F9.AM8 (VL) CDR-L1	20	RSSQSLEESDGYTFLH
h5F9.AM8 (VL) CDR-L2	21	EVSTRFS
h5F9.AM8 (VL) CDR-L3	22	FQATHDPLT
5F9.AM9 (VH) CDR-H1	23	NYGMN
h5F9.AM9 (VH) CDR-H2	24	MIYYDSSEKHYADSVKG
h5F9.AM9 (VH) CDR-H3	25	GTTPDY
h5F9.AM9 (VL) CDR-L1	26	RSSQSLADSDGDTFLH
h5F9.AM9 (VL) CDR-L2	27	AVSHRFS
h5F9.AM9 (VL) CDR-L3	28	FQATHDPVT
h5F9.AM11 (VH) CDR-H1	29	NYGMN
(AM)h5F9.AM11 (VH) CDR-H2	30	MIYYDSSEKHYADSVKG
h5F9.AM11 (VH) CDR-H3	31	GTTPDY
h5F9.AM11 (VL) CDR-L1	32	RSSQSLEDSDGGTFLE
h5F9.AM11 (VL) CDR-L2	33	DVSSRFS
h5F9.AM11 (VL) CDR-L3	34	FQATHDPLS

表2．人源化抗RGMc抗体的VH区和VL区的氨基酸序列列表

蛋白质	SEQ ID NO.	序列
VH h5F9.1	37	EVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTF SNYGMNWVRQAPGKGLEWVAMIYYDSS EKHYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNS LRAEDTAVYYCARGTTPDYWGQGTMVTV SS
VL h5F9.1	38	DIVMTQTPLSLSVTPGQPASISCRSSQSLE YSDGYTFLEWYLQKPGQSPQLLIYEVSNR FSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVG VYYCFQATHDPLTFGQGTKLEIKR
VH h5F9.2	39	EVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFS NYGMNWIRQAPGKGLEWIGMIYYDSSEKH YADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAE DTAVYYCAKGTTPDYWGQGTMVTVSS
VL h5F9.2	40	DIVMTQTPLSLSVTPGQPASISCRSSQSLEYS DGYTFLEWYLQKPGQSPQLLIYEVSNRFSG VPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYY CFQATHDPLTFGQGTKLEIKR
VH h5F9.3	41	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFT FSNYGMNWVRQAPGKGLEWVSMIYYD SSEKHYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQM NSLRAEDTAVYYCAKGTTPDYWGQGTM VTVSS
VL h5F9.3	42	DIVMTQTPLSLSVTPGQPASISCRSSQSLE YSDGYTFLEWYLQKPGQSPQLLIYEVSN RFSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAED VGVYYCFQATHDPLTFGQGTKLEIKR
VH h5F9.4	43	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFT FSNYGMNWIRQAPGKGLEWIGMIYYDS SEKHYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQM NSLRAEDTAVYYCAKGTTPDYWGQGTM VTVSS
VL h5F9.4	44	DIVMTQTPLSLSVTPGQPASISCRSSQSL EYSDGYTFLEWYLQKPGQSPQLLIYEV SNRFSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVE AEDVGVYYCFQATHDPLTFGQGTKLE

		IKR
VH h5F9.5	45	EVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAAS GFTFSNYGMNWVRQAPGKGLEWV AMIYYDSSEKHYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARG TTPDYWGQGTMVTVSS
VL h5F9.5	46	DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCRSSQ SLEYSDGYTFLEWFQQRPGQSPRRLI YEVSNRFSGVPDRFSGSGSGTDFTLKI SRVEAEDVGVYYCFQATHDPLTFGQG TKLEIKR
VH h5F9.6	47	EVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGF TFSNYGMNWIRQAPGKGLEWIGMIYY DSSEKHYADSVKGRFTISRDNSKNTLY LQMNSLRAEDTAVYYCAKGTTPDYW GQGTMVTVSS
VL h5F9.6	48	DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCRSSQS LEYSDGYTFLEWFQQRPGQSPRRLIYEV SNRFSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEA EDVGVYYCFQATHDPLTFGQGTKLEIKR
VH h5F9.7	49	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGF TFSNYGMNWVRQAPGKGLEWVSMIY YDSSEKHYADSVKGRFTISRDNSKNTL YLQMNSLRAEDTAVYYCAKGTTPDY WGQGTMVTVSS
VL h5F9.7	50	DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCRSSQ SLEYSDGYTFLEWFQQRPGQSPRRLIY EVSNRFSGVPDRFSGSGSGTDFTLK ISRVEAEDVGVYYCFQATHDPLTFG QGTKLEIKR
VH h5F9.8	51	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS GFTFSNYGMNWIRQAPGKGLEWIGM IYYDSSEKHYADSVKGRFTISRDNSK NTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKGT TPDYWGQGTMVTVSS
VL h5F9.8	52	DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCRSSQS LEYSDGYTFLEWFQQRPGQSPRRLIYEV

		SNRFSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEA EDVGVYYCFQATHDPLTFGQGTKLEIKR
VH h5F9.9	53	EVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGF TFSNYGMNWVRQAPGKGLEWVAMIY YDSSEKHYADSVKGRFTISRDNSKNTL YLQMNSLRAEDTAVYYCARGTTPDYW GQGTMVTVSS
VL h5F9.9	54	DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCRSSQSL EYSDGYTFLEWYLQKPGQSPQLLIYEVS NRFSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAE DVGVYYCFQATHDPLTFGQGTKLEIKR
VH h5F9.10	55	EVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGF TFSNYGMNWIRQAPGKGLEWIGMIYYD SSEKHYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQ MNSLRAEDTAVYYCAKGTTPDYWGQG TMVTVSS
VL h5F9.10	56	DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCRSSQSLE YSDGYTFLEWYLQKPGQSPQLLIYEVSNR FSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVG VYYCFQATHDPLTFGQGTKLEIKR
VH h5F9.11	57	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTF SNYGMNWVRQAPGKGLEWVSMIYYDSS EKHYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQM NSLRAEDTAVYYCAKGTTPDYWGQGT MVTVSS
VL h5F9.11	58	DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCRSSQSLE YSDGYTFLEWYLQKPGQSPQLLIYEVSNR FSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVG VYYCFQATHDPLTFGQGTKLEIKR
VH h5F9.12	59	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSN YGMNWIRQAPGKGLEWIGMIYYDSSEKHYA DSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTA VYYCAKGTTPDYWGQGTMVTVSS
VL h5F9.12	60	DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCRSSQSLEYSD GYTFLEWYLQKPGQSPQLLIYEVSNRFSGVPD RFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCFQAT HDPLTFGQGTKLEIKR

VH h5F9.19	61	EVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSNY GMNWIRQAPGKGLEWIGMIYYDSSEKHYADS VKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVY YCAKGTTPDYWGQGTMVTVSS
VL h5F9.19	62	DVVLTQSPLSLPVTLGQPASISCRSSQSLEYSD GYTFLEWFQQRPGQSPRLLIYEVSNRFSGVPD RFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCFQAT HDPLTFGQGTKLEIKR
VH h5F9.20	63	EVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSNY GMNWIRQAPGKGLEWIGMIYYDSSEKHYADS VKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYY CAKGTTPDYWGQGTMVTVSS
VL h5F9.20	64	DVVLTQSPLSLPVTLGQPASISCRSSQSLEYS DGYTFLEWFQQRPGQSPRRLIYEVSNRFSGV PDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCF QATHDPLTFGQGTKLEIKR
VH h5F9.21	65	EVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSN YGMNWIRQAPGKGLEWIGMIYYDSSEKH YADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCAKGTTPDYWGQGTMVTVSS
VL h5F9.21	66	DVVLTQSPLSLPVTLGQPASISCRSSQSLE YSDGYTFLEWFLQKPGQSPQLLIYEVSNR FSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVG VYYCFQATHDPLTFGQGTKLEIKR
VH h5F9.22	67	EVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTF SNYGMNWIRQAPGKGLEWIGMIYYDSSE KHYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSL RAEDTAVYYCAKGTTPDYWGQGTMVTVSS
VL h5F9.22	68	DVVLTQSPLSLPVTLGQPASISCRSSQSLEY SDGYTFLEWYLQKPGQSPQLLIYEVSNRFS GVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVY YCFQATHDPLTFGQGTKLEIKR
VH h5F9.23	69	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS NYGMNWIRQAPGKGLEWIGMIYYDSSEKHYA DSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAV YYCAKGTTPDYWGQGTMVTVSS
VL h5F9.23	70	DVVLTQSPLSLPVTLGQPASISCRSSQSLEY

		SDGYTFLEWFQQRPGQSPRLLIYEVSNRFSG VPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYY CFQATHDPLTFGQGTKLEIKR
VH h5F9.24	71	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSN YGMNWIRQAPGKGLEWIGMIYYDSSEKHYA DSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTA VYYCAKGTTPDYWGQGTMVTVSS
VL h5F9.24	72	DVVLTQSPLSLPVTLGQPASISCRSSQSLEYSD GYTFLEWFQQRPGQSPRRLIYEVSNRFSGVPD RFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCFQA THDPLTFGQGTKLEIKR
VH h5F9.25	73	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNY GMNWIRQAPGKGLEWIGMIYYDSSEKHYADS VKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYY CAKGTTPDYWGQGTMVTVSS
VL h5F9.25	74	DVVLTQSPLSLPVTLGQPASISCRSSQSLEYSD GYTFLEWFLQKPGQSPQLLIYEVSNRFSGVPD RFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCFQATH DPLTFGQGTKLEIKR
VH h5F9.26	75	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYG MNWIRQAPGKGLEWIGMIYYDSSEKHYADSVK GRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAK GTTPDYWGQGTMVTVSS
VL h5F9.26	76	DVVLTQSPLSLPVTLGQPASISCRSSQSLEYSDGY TFLEWYLQKPGQSPQLLIYEVSNRFSGVPDRFSG SGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCFQATHDPLTF GQGTKLEIKR
VH h5F9.1 CDR-H1	77	NYGMN
VH h5F9.1 CDR-H2	78	MIYYDSSEKHYADSVKG
VH h5F9.1 CDR-H3	79	GTTPDY
VL h5F9.1 CDR-L1	80	RSSQSLEYSDGYTFLE
VL h5F9.1 CDR-L2	81	EVSNRFS

VL h5F9.1 CDR-L3	82	FQATHDPLT
VH h5F9.2 CDR-H1	83	NYGMN
VH h5F9.2 CDR-H2	84	MIYYDSSEKHYADSVKG
VH h5F9.2 CDR-H3	85	GTTPDY
VL h5F9.2 CDR-L1	86	RSSQSLEYSDGYTFLE
VL h5F9.2 CDR-L2	87	EVSNRFS
VL h5F9.2 CDR-L3	88	FQATHDPLT
VH h5F9.3 CDR-H1	89	NYGMN
VH h5F9.3 CDR-H2	90	MIYYDSSEKHYADSVKG
VH h5F9.3 CDR-H3	91	GTTPDY
VL h5F9.3 CDR-L1	92	RSSQSLEYSDGYTFLE
VL h5F9.3 CDR-L2	93	EVSNRFS
VL h5F9.3 CDR-L3	94	FQATHDPLT
VH h5F9.4 CDR-H1	95	NYGMN
VH h5F9.4 CDR-H2	96	MIYYDSSEKHYADSVKG
VH h5F9.4 CDR-H3	97	GTTPDY
VL h5F9.4 CDR-L1	98	RSSQSLEYSDGYTFLE
VL h5F9.4 CDR-L2	99	EVSNRFS
VL h5F9.4 CDR-	100	FQATHDPLT

L3		
VH h5F9.5 CDR-H1	101	NYGMN
VH h5F9.5 CDR-H2	102	MIYYDSSEKHYADSVKG
VH h5F9.5 CDR-H3	103	GTTPDY
VL h5F9.5 CDR-L1	104	RSSQSLEYSDGYTFLE
VL h5F9.5 CDR-L2	105	EVSNRFS
VL h5F9.5 CDR-L3	106	FQATHDPLT
VH h5F9.6 CDR-H1	107	NYGMN
VH h5F9.6 CDR-H2	108	MIYYDSSEKHYADSVKG
VH h5F9.6 CDR-H3	109	GTTPDY
VL h5F9.6 CDR-L1	110	RSSQSLEYSDGYTFLE
VL h5F9.6 CDR-L2	111	EVSNRFS
VL h5F9.6 CDR-L3	112	FQATHDPLT
VH h5F9.7 CDR-H1	113	NYGMN
VH h5F9.7 CDR-H2	114	MIYYDSSEKHYADSVKG
VH h5F9.7 CDR-H3	115	GTTPDY
VL h5F9.7 CDR-L1	116	RSSQSLEYSDGYTFLE
VL h5F9.7 CDR-L2	117	EVSNRFS
VL h5F9.7 CDR-L3	118	FQATHDPLT

VH h5F9.8 CDR-H1	119	NYGMN
VH h5F9.8 CDR-H2	120	MIYYDSSEKHYADSVKG
VH h5F9.8 CDR-H3	121	GTTPDY
VL h5F9.8 CDR-L1	122	RSSQSLEYSDGYTFLE
VL h5F9.8 CDR-L2	123	EVSNRFS
VL h5F9.8 CDR-L3	124	FQATHDPLT
VH h5F9.9 CDR-H1	125	NYGMN
VH h5F9.9 CDR-H2	126	MIYYDSSEKHYADSVKG
VH h5F9.9 CDR-H3	127	GTTPDY
VL h5F9.9 CDR-L1	128	RSSQSLEYSDGYTFLE
VL h5F9.9 CDR-L2	129	EVSNRFS
VL h5F9.9 CDR-L3	130	FQATHDPLT
VH h5F9.10 CDR-H1	131	NYGMN
VH h5F9.10 CDR-H2	132	MIYYDSSEKHYADSVKG
VH h5F9.10 CDR-H3	133	GTTPDY
VL h5F9.10 CDR-L1	134	RSSQSLEYSDGYTFLE
VL h5F9.10 CDR-L2	135	EVSNRFS
VL h5F9.10 CDR-L3	136	FQATHDPLT
VH h5F9.11 CDR-	137	NYGMN

H1		
VH h5F9.11 CDR-H2	138	MIYYDSSEKHYADSVKG
VH h5F9.11 CDR-H3	139	GTTPDY
VL h5F9.11 CDR-L1	140	RSSQSLEYSDGYTFLE
VL h5F9.11 CDR-L2	141	EVSNRFS
VL h5F9.11 CDR-L3	142	FQATHDPLT
VH h5F9.12 CDR-H1	143	NYGMN
VH h5F9.12 CDR-H2	144	MIYYDSSEKHYADSVKG
VH h5F9.12 CDR-H3	145	GTTPDY
VL h5F9.12 CDR-L1	146	RSSQSLEYSDGYTFLE
VL h5F9.12 CDR-L2	147	EVSNRFS
VL h5F9.12 CDR-L3	148	FQATHDPLT
VH h5F9.19 CDR-H1	149	NYGMN
VH h5F9.19 CDR-H2	150	MIYYDSSEKHYADSVKG
VH h5F9.19 CDR-H3	151	GTTPDY
VL h5F9.19 CDR-L1	152	RSSQSLEYSDGYTFLE
VL h5F9.19 CDR-L2	153	EVSNRFS
VL h5F9.19 CDR-L3	154	FQATHDPLT
VH h5F9.20 CDR-H1	155	NYGMN

VH h5F9.20 CDR-H2	156	MIYYDSSEKHYADSVKG
VH h5F9.20 CDR-H3	157	GTTPDY
VL h5F9.20 CDR-L1	158	RSSQSLEYSDGYTFLE
VL h5F9.20 CDR-L2	159	EVSNRF
VL h5F9.20 CDR-L3	160	FQATHDPLT
VH h5F9.21 CDR-H1	161	NYGMN
VH h5F9.21 CDR-H2	162	MIYYDSSEKHYADSVKG
VH h5F9.21 CDR-H3	163	GTTPDY
VL h5F9.21 CDR-L1	164	RSSQSLEYSDGYTFLE
VL h5F9.21 CDR-L2	165	EVSNRFS
VL h5F9.21 CDR-L3	166	FQATHDPLT
VH h5F9.22 CDR-H1	167	NYGMN
VH h5F9.22 CDR-H2	168	MIYYDSSEKHYADSVKG
VH h5F9.22 CDR-H3	169	GTTPDY
VL h5F9.22 CDR-L1	170	RSSQSLEYSDGYTFLE
VL h5F9.22 CDR-L2	171	EVSNRFS
VL h5F9.22 CDR-L3	172	FQATHDPLT
VH h5F9.23 CDR-H1	173	NYGMN
VH h5F9.23 CDR-	174	MIYYDSSEKHYADSVKG

H2		
VH h5F9.23 CDR-H3	175	GTTPDY
VL h5F9.23 CDR-L1	176	RSSQSLEYSDGYTFLE
VL h5F9.23 CDR-L2	177	EVSNRFS
VL h5F9.23 CDR-L3	178	FQATHDPLT
VH h5F9.24 CDR-H1	179	NYGMN
VH h5F9.24 CDR-H2	180	MIYYDSSEKHYADSVKG
VH h5F9.24 CDR-H3	181	GTTPDY
VL h5F9.24 CDR-L1	182	RSSQSLEYSDGYTFLE
VL h5F9.24 CDR-L2	183	EVSNRFS
VL h5F9.24 CDR-L3	184	FQATHDPLT
VH h5F9.25 CDR-H1	185	NYGMN
VH h5F9.25 CDR-H2	186	MIYYDSSEKHYADSVKG
VH h5F9.25 CDR-H3	187	GTTPDY
VL h5F9.25 CDR-L1	188	RSSQSLEYSDGYTFLE
VL h5F9.25 CDR-L2	189	EVSNRFS
VL h5F9.25 CDR-L3	190	FQATHDPLT
VH h5F9.26 CDR-H1	191	NYGMN
VH h5F9.26 CDR-H2	192	MIYYDSSEKHYADSVKG

VH h5F9.26 CDR-H3	193	GTTPDY
VL h5F9.26 CDR-L1	194	RSSQSLEYSDGYTFLE
VL h5F9.26 CDR-L2	195	EVSNRFS
VL h5F9.26 CDR-L3	196	FQATHDPLT

在上表2中所述的人源化抗体和制备它们的方法描述于美国专利公布号2010/0028340,其内容通过引用结合到本文中。

[0115] 如表2所示,可变区(VH和VL) CDR-H1域在序列中都相同。另外,CDR-H2、CDR-H3、CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3域的每一个在序列中都分别相同(即VH h5F9.1区的CDR-H2域与VH h5F9.2区的CDR-H2域、与VH h5F9.3区的CDR-H2域等相同。VH h5F9.1区的CDR-H3域与VH h5F9.2区的CDR-H3域、与VH h5F9.3区的CDR-H3域等等…相同)。

[0116] 特异性结合到本公开内容的RGMc (或其片段)的分离的抗体可以具有选自以下的区或域:(a)重链可变域区,其包含SEQ ID NO:3的氨基酸序列,(b)轻链可变域区,其包含SEQ ID NO:4的氨基酸序列,(c)重链可变域区,其包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列,(d)轻链可变域区,其包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列,(e)重链可变域区,其包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列,(f)轻链可变域区,其包含SEQ ID NO:8的氨基酸序列,(g)重链可变域区,其包含SEQ ID NO:9的氨基酸序列,(h)轻链可变域区,其包含SEQ ID NO:10的氨基酸序列,(i)可变重链,其含有包含SEQ ID NO:11的氨基酸序列的互补决定区(CDR)1,包含SEQ ID NO:12的氨基酸序列的CDR2,和包含SEQ ID NO:13的氨基酸序列的CDR3,(j)可变轻链,其含有包含SEQ ID NO:14的氨基酸序列的CDR1,包含SEQ ID NO:15的氨基酸序列的CDR2,和包含SEQ ID NO:16的氨基酸序列的CDR3,(k)可变重链,其含有包含SEQ ID NO:17的氨基酸序列的CDR1,包含SEQ ID NO:18的氨基酸序列的CDR2,和包含SEQ ID NO:19的氨基酸序列的CDR3,(l)可变轻链,其含有包含SEQ ID NO:20的氨基酸序列的CDR1,包含SEQ ID NO:21的氨基酸序列的CDR2,和包含SEQ ID NO:22的氨基酸序列的CDR3,(m)可变重链,其含有包含SEQ ID NO:23的氨基酸序列的CDR1,包含SEQ ID NO:24的氨基酸序列的CDR2,和包含SEQ ID NO:25的氨基酸序列的CDR3,(n)可变轻链,其含有包含SEQ ID NO:26的氨基酸序列的CDR1,包含SEQ ID NO:27的氨基酸序列的CDR2,和包含SEQ ID NO:28的氨基酸序列的CDR3,(o)可变重链,其含有包含SEQ ID NO:29的氨基酸序列的CDR1,包含SEQ ID NO:30的氨基酸序列的CDR2,和包含SEQ ID NO:31的氨基酸序列的CDR3,(p)可变轻链,其含有包含SEQ ID NO:32的氨基酸序列的CDR1,包含SEQ ID NO:33的氨基酸序列的CDR2,和包含SEQ ID NO:34的氨基酸序列的CDR3,(q)可变重链,其含有包含SEQ ID NO:11的氨基酸序列的互补决定区(CDR)1,包含SEQ ID NO:12的氨基酸序列的CDR2,和包含SEQ ID NO:13的氨基酸序列的CDR3,以及可变轻链,其含有包含SEQ ID NO:14的氨基酸序列的CDR1,包含SEQ ID NO:15的氨基酸序列的CDR2,和包含SEQ ID NO:16的氨基酸序列的CDR3,(r)可变重链,其含有包含SEQ ID NO:17的氨基酸序列的CDR1,包含SEQ ID NO:18的氨基酸序列的CDR2,和包含SEQ ID NO:19的氨基酸序列的CDR3,以及可变轻链,其含有包含SEQ ID NO:20的氨基酸序列的

CDR1，包含SEQ ID NO:21的氨基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO:22的氨基酸序列的CDR3，(s)可变重链，其含有包含SEQ ID NO:23的氨基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO:24的氨基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO:25的氨基酸序列的CDR3，以及可变轻链，其含有包含SEQ ID NO:26的氨基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO:27的氨基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO:28的氨基酸序列的CDR3，(t)可变重链，其含有包含SEQ ID NO:29的氨基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO:30的氨基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO:31的氨基酸序列的CDR3，以及可变轻链，其含有包含SEQ ID NO:32的氨基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO:33的氨基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO:34的氨基酸序列的CDR3。

[0117] 所述抗体、其片段、其变体或其衍生物可含有一个或多个氨基酸序列，其与SEQ ID NOs:3-34的一个或多个具有等于或具有大于约95%、约90%、约85%、约80%、约75%、约70%、约65%、约60%、约55%或约50%同一性。所述抗体或其变体或其衍生物可以由一个或多个核酸序列编码，所述核酸序列与编码SEQ ID NOs:3-34的一个或多个的一个或多个核酸序列具有等于或具有大于约95%、约90%、约85%、约80%、约75%、约70%、约65%、约60%、约55%或约50%同一性。多肽同一性和同源性可以通过例如描述于以下报告中的算法而确定:Wilbur, W. J. 和Lipman, D. J. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 80, 726-730 (1983)。本文所述的抗体、其片段、其变体或其衍生物可以由核酸编码，所述核酸在严格条件下与编码SEQ ID NOs:3-34的一个或多个的一个或多个核酸序列的互补序列杂交。本文所述的抗体、其片段、其变体或其衍生物可以由核酸编码，所述核酸在高度严格条件下与编码SEQ ID NOs:3-34的一个或多个的一个或多个核酸序列的互补序列杂交。

[0118] C. 抗体制备/生产

可通过各种技术的任一种制备抗体。一般而言，抗体可以通过细胞培养技术而制备，包括经由常规技术产生单克隆抗体，或者经由将抗体基因、重链和/或轻链转染到合适的细菌或哺乳动物细胞宿主中，以允许产生抗体，其中所述抗体可以是重组体。各种形式的术语“转染”意图包括常用于将外源DNA引入原核或真核宿主细胞的各种各样的技术，例如电穿孔、磷酸钙沉淀、DEAE-葡聚糖转染等。尽管可在原核或真核宿主细胞中表达本发明抗体，但优选在真核细胞、最优选在哺乳动物宿主细胞中表达抗体，因为这样的真核细胞(尤其是哺乳动物细胞)比原核细胞更有可能装配和分泌适当折叠的和免疫活性的抗体。

[0119] 用于表达本发明重组抗体的示例性哺乳动物宿主细胞包括中国仓鼠卵巢(CHO细胞) (包括dhfr-CHO细胞，描述于Urlaub和Chasin, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 77: 4216-4220 (1980)，使用DHFR选择标记，例如描述于Kaufman和Sharp, J. Mol. Biol., 159: 601-621 (1982)、NS0骨髓瘤细胞、COS细胞和SP2细胞。当将编码抗体基因的重组表达载体引入哺乳动物宿主细胞时，抗体可通过以下方式产生：通过培养宿主细胞，其培养时间足以允许抗体在宿主细胞中表达，或者，更优选地，将抗体分泌到宿主细胞生长的培养基中。可使用标准蛋白纯化方法，从培养基中回收抗体。

[0120] 宿主细胞也可用于产生功能性抗体片段，例如Fab片段或scFv分子。可以理解，上述程序上的变动在本发明的范围之内。例如，最好是用编码本发明抗体轻链和/或重链的功能性片段的DNA转染宿主细胞。重组DNA技术也可用于去除编码对目标抗原结合并非必要的轻链和重链(任一链或两者)的DNA的一些或全部。从这样的截短DNA分子表达的分子也包含在本发明的抗体中。另外，可通过标准化学交联方法，将本发明的抗体与第二抗体交联，产

生双功能性抗体，其中一条重链和一条轻链是本发明的抗体(即结合人RGMc)，而另一条重链和轻链对非人RGMc的抗原具有特异性。

[0121] 在用于重组表达本发明抗体或其抗原结合部分的优选系统中，将编码抗体重链和抗体轻链两者的重组表达载体通过磷酸钙介导的转染引入dhfr-CHO细胞内。在重组表达载体内，抗体的重链和轻链基因各自与CMV增强子/AdMLP启动子调节元件操作性连接，以驱动基因的高水平转录。重组表达载体还携带DHFR基因，所述DHFR基因允许使用氨甲蝶呤选择/扩增选择已用载体转染的CHO细胞。培养所选转化宿主细胞以允许表达抗体重链和轻链，且从培养基中回收完整的抗体。使用标准分子生物学技术以制备重组表达载体，转染宿主细胞，选择转化体，培养宿主细胞和从培养基中回收抗体。本发明还提供了合成本发明重组抗体的方法：通过在合适的培养基中培养本发明的宿主细胞直至合成本发明的重组抗体。该方法可以进一步包括从培养基中分离重组抗体。

[0122] 单克隆抗体的制备方法包括制备能够产生具有所需特异性的抗体的无限增殖的细胞系。这样的细胞系可以从得自免疫动物的脾细胞产生。动物可用RGMc或其片段和/或其变体免疫。例如，任何SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:1或SEQ ID NO:2的片段、或SEQ ID NO:1或SEQ ID NO:2的变体，都可用于免疫动物。动物可用RGMa或其片段和/或其变体免疫。例如，任何SEQ ID NO:35、SEQ ID NO:36、SEQ ID NO:35或SEQ ID NO:36的片段、或SEQ ID NO:35或SEQ ID NO:36的变体都可用于免疫动物。RGMa可具有以下氨基酸序列：

MGMGRGAGRS ALGFWPTLAF LLCSFPAATS PCKILKCNSE FWSATSGSHA PASDDTPEFC AALRSYALCT RRTARTCRGD LAYHSAVHGI EDLMSQHNCS KDGPTSQPRL RTLPPAGDSQ ERSDSPEICH YEKSFHKHSA TPNYTHCGLF GDPHLRTFTD RFQTCKVQGA WPLIDNNYLN VQVTNTPVLP GSAATATSKL TIIFKNFQEC VDQKVYQAEM DELPAAFVDG SKNGGDKHGA NSLKITEKVS GQHVEIQAKY IGTTIVVRQV GRYLTFAVRM PEEVVNAVED WDSQGLYLCL RGCPLNQQID FQAFHTNAEG TGARRLAAAS PAPTAPETFP YETAVAKCKE KLPVEDLYYQ ACVFDLLTTG DVNFTLAAYY ALEDVKMLHS NKDKLHLYER TRDLPGRAAA GLPLAPRPLL GALVPLLALL PVFC (SEQ ID NO:35)。RGMa可以是SEQ ID NO:35的片段或变体。

[0123] 所述片段的长度可以是介于5和425个氨基酸、介于10和400个氨基酸、介于50和350个氨基酸、介于100和300个氨基酸、介于150和250个氨基酸、介于200和300个氨基酸、或介于75和150个氨基酸。所述片段可包含来自SEQ ID NO:35的连续数量的氨基酸。

[0124] RGMa片段可具有以下氨基酸序列：

MGMGRGAGRS ALGFWPTLAF LLCSFPAATS PCKILKCNSE FWSATSGSHA PASDDTPEFC AALRSYALCT RRTARTCRGD LAYHSAVHGI EDLMSQHNCS KDGPTSQPRL RTLPPAGDSQ ERSDSPEICH YEKSFHKHSA TPNYTHCGLF GDPHLRTFTD RFQTCKVQGA WPLIDNNYLN VQVTNTPVLP GSAATATSKL (SEQ ID NO:66)。所述RGMa片段可以是SEQ ID NO:36的片段。所述RGMa片段可以是SEQ ID NO:36的变体。

[0125] 用于免疫动物的肽可包含编码人Fc，例如人抗体的片段可结晶区或尾区的氨基酸。然后可将脾细胞无限增殖化，例如通过与骨髓瘤细胞融合配偶体融合。可使用各种融合技术。例如，可将脾细胞和骨髓瘤细胞与非离子型去垢剂混合几分钟，然后以低密度铺板在支持杂合细胞、而非骨髓瘤细胞生长的选择性培养基上。一种这样的技术使用次黄嘌呤、氨基蝶呤、胸苷(HAT)选择。足够时间之后，通常约1至2周后，观察到杂合集落。选择单集落并测试其培养上清液中的针对多肽的结合活性。可以使用具有高反应性和特异性的杂交瘤。

[0126] 单克隆抗体可以从生长杂交瘤集落的上清液中分离。另外，各种技术可用于增加收率，例如将杂交瘤细胞系注射到合适的脊椎动物宿主例如小鼠的腹膜腔中。然后可以从腹水或血液中收获单克隆抗体。可通过常规技术，例如色谱、凝胶过滤、沉淀和提取，将污染物从抗体中除去。亲和色谱是在过程中用于纯化抗体的方法实例。

[0127] 蛋白水解酶木瓜蛋白酶优先切割IgG分子，得到若干片段，其中的两个(F(ab)片段)各自包含共价异二聚体，其包括完整的抗原-结合位点。胃蛋白酶能够切割IgG分子，提供若干片段，包括$F(ab')_2$片段，其包含两个抗原结合位点。

[0128] 可通过在IgM、和偶然在IgG或IgA免疫球蛋白分子上的优先蛋白水解切割而产生FV片段。可使用重组技术得到FV片段。FV片段包括含有抗原-结合位点的非共价VH::VL异二聚体，其保留天然抗体分子的许多抗原识别和结合能力。

[0129] 抗体、抗体片段或衍生物可包含重链和轻链互补决定区(“CDR”)组，各自插在重链和轻链框架(“FR”)组之间，所述框架组为CDR提供支持并限定CDR相对于彼此的空间关系。CDR组可含有重链或轻链V区的3个超变区。从重链或轻链的N-末端开始，这些区分别称为“CDR1”、“CDR2”和“CDR3”。因此，抗原-结合位点可包括6个CDR，包括来自重链和轻链V区的每一个的CDR组。包含单个CDR (例如CDR1、CDR2或CDR3)的多肽可被称为“分子识别单元”。抗原-抗体复合物的晶体学分析已经证明CDR的氨基酸残基与结合的抗原形成广泛接触，其中最广泛的抗原接触是与重链CDR3。因此，分子识别单元可能主要负责抗原-结合位点的特异性。一般而言，CDR残基是直接和最实质地涉及对抗原结合的影响。

[0130] 可以设计人源化抗体，以使针对啮齿动物抗人抗体的不想要的免疫应答最小化，这限制了那些部分在人类接受者中的治疗应用的持续时间和有效性。人源化抗体可具有来自非人来源并引入其中的一个或多个氨基酸残基。这些非人残基通常称为“输入”残基，其通常取自可变域。人源化可通过用超变区序列代替人抗体的相应序列而进行。因此，这类“人源化”抗体是嵌合抗体，其中基本上少于完整的人可变域已经被来自非人物种的相应序列替代。例如，参见美国专利号4,816,567，其内容通过引用结合到本文中。人源化抗体可以是人抗体，其中某些超变区残基、和可能某些FR残基被来自啮齿动物抗体中的类似位点的残基取代。可使用任何已知方法进行本发明抗体的人源化或工程改造，所述方法例如但不限于以下文献中描述的那些：美国专利号5,723,323、5,976,862、5,824,514、5,817,483、5,814,476、5,763,192、5,723,323、5,766,886、5,714,352、6,204,023、6,180,370、5,693,762、5,530,101、5,585,089、5,225,539；和4,816,567。

[0131] 人源化抗体可以保留对RGMc的高亲和力和其它有利生物学特性。可通过母体序列和多种概念上的人源化产物的分析过程，使用母体和人源化序列的三维模型，制备人源化抗体。三维免疫球蛋白模型是通常可用的。图示说明且展示所选候选免疫球蛋白序列的可能三维构象结构的计算机程序是可获得的。对这些展示的检查允许分析残基在候选免疫球蛋白序列功能发挥中的可能作用，即分析影响候选免疫球蛋白结合其抗原的能力的残基。以这种方式，可以选择FR残基并组合形成受体和输入序列，从而使得达到所需抗体特征，例如对RGMc的亲和力增加。一般而言，超变区残基可能直接和最实质地涉及对抗原结合的影响。

[0132] 作为人源化的备选，可产生人抗体(在本文中也称为“完全人抗体”)。例如，可以产生转基因动物(例如小鼠)，其在免疫后能够在不产生内源性免疫球蛋白的情况下产生人抗

体的完整库(full repertoire)。例如,在嵌合和种系突变小鼠中抗体重链连接区(J_H)基因的纯合性缺失导致内源性抗体产生的完全抑制。将人种系免疫球蛋白基因阵列转移至此种系突变小鼠中将会导致在抗原攻击后产生人抗体。人源化或完全人抗体可按以下文献中所述方法来制备:美国专利号5,770,429;5,833,985;5,837,243;5,922,845;6,017,517;6,096,311;6,111,166;6,270,765;6,303,755;6,365,116;6,410,690;6,682,928;和6,984,720,各自的内容通过引用结合到本文中。

[0133] 可使用产生或分离所需特异性的抗体的其它合适方法,包括但不限于,自肽或蛋白文库选择重组抗体的方法,所述文库例如但不限于,噬菌体、核糖体、寡核苷酸、RNA、cDNA等、展示文库;例如得自多个供应商例如Cambridge Antibody Technologies (Cambridgeshire, UK), MorphoSys (Martinsreid/Planegg, Del.), Biovation (Aberdeen, Scotland, UK) Biolnvent (Lund, Sweden),使用本领域已知的方法。参见美国专利号4,704,692;5,723,323;5,763,192;5,814,476;5,817,483;5,824,514;5,976,862。备选方法取决于转基因动物的免疫,所述动物例如SCID小鼠,Nguyen等人. (1977) Microbiol. Immunol. 41:901-907 (1997);Sandhu等人. (1996) Crit. Rev. Biotechnol. 16:95-118;Eren等人. (1998) Immunol. 93:154-161,其能够产生人抗体库,正如本领域已知和/或本文所述。这样的技术包括但不限于核糖体展示(Hanes等人. (1997) Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 94:4937-4942;Hanes等人(1998) Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 95:14130-14135);单细胞抗体产生技术(例如选择淋巴细胞抗体方法("SLAM") (美国专利号5,627,052, Wen等人. (1987) J. Immunol. 17:887-892;Babcook等人. (1996) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 93:7843-7848);凝胶微滴和流式细胞术(Powell等人. (1990) Biotechnol. 8:333-337;One Cell Systems, (Cambridge, Mass);Gray等人. (1995) J. Imm. Meth. 182:155-163;Kenny等人. (1995) Bio/Technol. 13:787-790);B细胞选择(Steenbakkers等人. (1994) Molec. Biol. Reports 19:125-134 (1994)。

[0134] 可通过本领域已知的许多程序中的任一种产生亲和力成熟的抗体。例如,参见Marks等人, BioTechnology, 10: 779-783 (1992)描述了通过VH和VL域改组的亲和力成熟。CDR和/或框架残基的随机诱变由以下文献描述:Barbas等人, Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 91: 3809-3813 (1994);Schier等人, Gene, 169: 147-155 (1995);Yelton等人, J. Immunol., 155: 1994-2004 (1995);Jackson等人, J. Immunol., 154(7): 3310-3319 (1995);Hawkins等人, J. Mol. Biol., 226: 889-896 (1992)。在选择性诱变位置和在接触或超变位置上用增强活性的氨基酸残基的选择性突变描述于美国专利号6,914,128 B1。

[0135] 也可采用将编码本发明抗体的多核苷酸递送到例如合适宿主中,制备本发明的抗体变体,以提供转基因动物或哺乳动物,例如在其乳汁中产生所述抗体的山羊、牛、马、绵羊等。这些方法是本领域已知的,并且描述于例如以下文献:美国专利号5,827,690;5,849,992;4,873,316;5,849,992;5,994,616;5,565,362;和5,304,489。

[0136] 也可通过以下制备抗体变体:递送本发明的多核苷酸,以提供转基因植物和培养的植物细胞(例如但不限于烟草、玉米和浮萍),其在植物部分或培养的细胞中生产所述抗体、指定部分或变体。例如,Cramer等人.(1999) Curr. Top. Microbol. Immunol. 240:

95-118和其中引用的参考文献，描述了表达大量重组蛋白的转基因烟叶的生产，例如，利用诱导型启动子。转基因玉米已被用于在商业生产水平上表达哺乳动物蛋白，其生物活性等同于在其它重组系统中产生的或从天然来源纯化的那些。参见例如，Hood等人，Adv. Exp. Med. Biol. (1999) 464:127-147和其中引用的参考文献。从转基因植物种子包括烟草种子和马铃薯块茎也已产生大量抗体变体，包括抗体片段，如单链抗体(scFv')。参见例如，Conrad等人. (1998) Plant Mol. Biol. 38:101-109和其中引用的参考文献。因此，也可按照已知方法，使用转基因植物而产生本发明的抗体。

[0137] 可产生抗体衍生物，例如，通过添加外源序列以改变免疫原性或减少、增强或改变结合、亲和力、结合速率、解离速率、亲合力、特异性，半寿期，或任何其它合适的特征。通常维持部分或全部的非人或人CDR序列，同时可变区和恒定区的非人序列被人或其它氨基酸替换。

[0138] 小抗体片段可以是具有两个抗原结合位点的双链抗体，其中片段包含在同一多肽链(V_H V_L)上连接至轻链可变域(V_L)的重链可变域(V_H)。参见例如，EP 404,097；WO 93/11161；和Hollinger等人，(1993) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90:6444-6448。通过使用太短而不允许同一条链上的两个域之间配对的接头，迫使这些域与另一条链的互补域配对并产生两个抗原结合位点。也参见，美国专利号6,632,926 (Chen等人)，其通过引用全部结合到本文中，并公开了这样的抗体变体：其一个或多个氨基酸插入到母体抗体的超变区并且其对于靶抗原的结合亲和力是母体抗体对于抗原的结合亲和力的至少约2倍。

[0139] 所述抗体可以是线性抗体。用于制备线性抗体的方法是本领域已知的并描述于Zapata等人. (1995) Protein Eng. 8(10):1057-1062。简而言之，这些抗体包含一对串联Fd区段(V_H-C_{H1}-V_H-C_{H1})，其构成一对抗原结合区。线性抗体可以是双特异性或单特异性的。

[0140] 可通过已知方法，自重组细胞培养物中回收和纯化抗体，所述方法包括但不限于，蛋白A纯化、硫酸铵或乙醇沉淀、酸提取、阴离子或阳离子交换色谱、磷酸纤维素色谱、疏水相互作用色谱、亲和色谱、羟基磷灰石色谱和凝集素色谱。高效液相色谱("HPLC")也可用于纯化。

[0141] 检测性地或治疗性地标记抗体可为有用的。将抗体与这些试剂缀合的方法是本领域已知的。仅为了说明的目的，可用可检测部分标记抗体，所述可检测部分例如放射性原子、生色团、荧光团等等。这样标记的抗体可用于诊断技术，无论是在体内，或者在分离的试验样品中。也可将抗体缀合至例如药物制剂例如化疗药或毒素。可将它们连接至细胞因子、配体、另一抗体。用于将抗体偶联以达到抗肿瘤效果的合适试剂包括细胞因子，例如白介素2 (IL-2)和肿瘤坏死因子(TNF)；用于光动力学疗法的光敏剂，包括四磺酸酞菁铝(III)、血卟啉和酞菁；放射性核素，如131碘(^{131}I)、钇-90(^{90}Y)、铋-212(^{212}Bi)、铋-213(^{213}Bi)、锝-99m(^{99m}Tc)、铼-186(^{186}Re)和铼-188(^{188}Re)；抗生素，例如多柔比星、阿霉素、柔红霉素、氨甲蝶呤、道诺霉素、新制癌菌素和卡铂；细菌、植物和其它的毒素，例如白喉毒素、假单胞菌外毒素A、葡萄球菌肠毒素A、相思子毒素-A毒素、蓖麻毒素A(去糖基化蓖麻毒素A和天然蓖麻毒素A)、TGF-α毒素、来自中国眼镜蛇(naja naja atra)的细胞毒素和白树毒素(一种植物毒素)；来自植物、细菌和真菌的核糖体失活蛋白，如局限曲菌素(restrictocin) (由局限曲霉(*Aspergillus restrictus*)产生的核糖体失活蛋白)、皂草素(saporin) (来自皂草(*Saponaria officinalis*)的核糖体失活蛋白)和RNA酶；酪氨酸激酶抑制剂；ly207702 (一

种二氟化嘌呤核苷);含有抗囊性剂(anti cystic agent)(如反义寡核苷酸、编码毒素的质粒、氨甲喋呤等)的脂质体;以及其它抗体或抗体片段,例如F(ab)。

[0142] 可对抗体进行测序并通过重组或合成手段复制抗体。它们也可以被进一步测序到编码它们的核苷酸的线性序列。因此,本发明提供这些编码本发明抗体序列的多核苷酸,单独或与上述载体(carrier)、载体(vector)或宿主细胞在一起。

[0143] 经由使用杂交瘤技术的抗体生产、选择淋巴细胞抗体方法(SLAM)、转基因动物和重组抗体文库更详细地描述于下文。

[0144] (1) 使用杂交瘤技术的抗RGMc单克隆抗体

如上所述,可使用本领域已知的各种各样的技术(包括使用杂交瘤、重组和噬菌体展示技术、或其组合)制备单克隆抗体。例如,可使用本领域已知的和教导于例如以下文献的杂交瘤技术来产生单克隆抗体:Harlow等人, Antibodies: A Laboratory Manual, 第二版, (Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, 1988);Hammerling等人, 载于Monoclonal Antibodies and T-Cell Hybridomas (Elsevier, N.Y., 1981)。也注意到,术语"单克隆抗体"如本文所用,不限于通过杂交瘤技术产生的抗体。术语"单克隆抗体"指来源于单个克隆(包括任何真核的、原核的、或噬菌体的克隆)的抗体,而不是指产生它的方法。

[0145] 在一个实施方案中,提供的是产生单克隆抗体的方法以及通过以下方法产生的抗体:包括培养分泌抗体的杂交瘤细胞,其中,优选地,杂交瘤通过将脾细胞与骨髓瘤细胞融合而产生,所述脾细胞分离自已用RGMc免疫的动物例如大鼠或小鼠,然后在得自融合的杂交瘤中筛选分泌可结合到RGMc (或其片段或其变体)的抗体的杂交瘤克隆。简而言之,大鼠可用RGMc抗原来免疫(参见,以下实施例)。在一个优选的实施方案中,将RGMc抗原与佐剂一起给予,以刺激免疫应答。这样的佐剂包括完全或不完全弗氏佐剂、RIBI (胞壁酰二肽)或ISCOM (免疫刺激性复合物)。这样的佐剂可通过将多肽隔绝在局部沉积物中而保护其免于快速分散,或者它们可含有刺激宿主分泌巨噬细胞趋化因子和免疫系统的其它组分的物质。优选地,如果给予多肽,免疫计划将包括两次或更多次多肽给予,在数周之内展开;然而,也可使用单次多肽给予。

[0146] 用RGMc抗原免疫动物之后,可从该动物中得到抗体和/或抗体-产生细胞。通过使动物放血或处死动物,从该动物中得到含有抗RGMc抗体的血清。当得自动物后,血清可直接使用,可从血清中获得免疫球蛋白部分,或可从血清中纯化抗RGMc抗体。以此方式获得的血清或免疫球蛋白是多克隆的,因此具有不均匀的特性组合。

[0147] 一旦检测到免疫应答后,例如,在大鼠血清中检测到对抗原RGMc具有特异性的抗体,则收获大鼠脾脏并分离脾细胞。然后通过众所周知的技术,将脾细胞与任何合适的骨髓瘤细胞融合,所述骨髓瘤细胞例如来自细胞系SP20的细胞,可得自美国典型培养物保藏中心(ATCC, Manassas, Va., US)。通过有限稀释,选择并克隆杂交瘤。然后通过本领域已知方法,测定杂交瘤克隆中的分泌可结合RGMc (或其片段或其变体)的抗体的细胞。可以通过用阳性杂交瘤克隆免疫大鼠而产生腹水液,其通常含有高水平的抗体。

[0148] 在另一个实施方案中,产生抗体的无限增殖的杂交瘤,可从免疫动物制备。免疫后,将动物处死,并将脾B细胞与无限增殖的骨髓瘤细胞融合,正如本领域众所周知的那样。参见例如,Harlow和Lane, *出处同上*。在一个优选的实施方案中,骨髓瘤细胞不分泌免疫球

蛋白多肽(非分泌型细胞系)。融合和抗生素选择之后,使用RGMc或其片段或其变体或表达RGMc (或其片段或其变体)的细胞,筛选杂交瘤。在一个优选的实施方案中,使用酶联免疫吸附测定(ELISA)或放射免疫测定(RIA)、优选ELISA,进行初步筛选。ELISA筛选的实例在PCT公布号WO 00/37504中提供。

[0149] 选择产生抗RGMc抗体的杂交瘤,将其克隆并进一步筛选所需特性,包括强健的杂交瘤生长、高抗体产量和所需抗体特性,正如以下进一步讨论的那样。杂交瘤可以在同系动物体内、在缺乏免疫系统的动物例如裸鼠中、或在体外细胞培养中培养和扩增。选择、克隆和扩增杂交瘤的方法是本领域普通技术人员众所周知的。

[0150] 在一个优选的实施方案中,杂交瘤是大鼠杂交瘤,如本文所述。在另一个实施方案中,杂交瘤在非人、非大鼠物种,例如小鼠、绵羊、猪、山羊、牛或马中产生。在再一个实施方案中,杂交瘤是人杂交瘤,其中将人非分泌性骨髓瘤与表达抗RGMc抗体的人细胞融合。

[0151] 可通过已知技术产生识别特异性表位的抗体片段。例如,可通过蛋白水解切割免疫球蛋白分子,使用酶例如木瓜蛋白酶(以产生两个相同的Fab片段)或胃蛋白酶(以产生一个$F(ab')_2$片段),产生Fab和$F(ab')_2$片段。IgG分子的$F(ab')_2$片段保留较大("母体") IgG分子的两个抗原-结合位点,包括母体IgG分子的两个轻链(包含可变轻链和轻链恒定区)、重链CH1域和形成二硫键的铰链区。因此,$F(ab')_2$片段可以如同母体IgG分子一样交联抗原分子。

[0152] (2) 使用SLAM的抗RGMc单克隆抗体

可使用本领域中称为选择淋巴细胞抗体方法(SLAM)的程序,从单个、分离的淋巴细胞中产生重组抗体,所述方法描述于美国专利号5,627,052;PCT公布号WO 92/02551;和Babcook等人, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 93: 7843-7848 (1996)。在这种方法中,使用抗原-特异性溶血斑测定,筛选分泌目标抗体的单一细胞,例如来源于部分I.A.1 (以上)中描述的任何一种免疫动物的淋巴细胞,其中使用接头例如生物素,将抗原RGMc、RGMc的亚单位或其片段,偶联到绵羊红细胞上,并用于鉴定分泌对RGMc具有特异性的抗体的单一细胞。目标抗体-分泌细胞鉴定之后,通过逆转录酶-PCR(RT-PCR)从细胞中拯救重链和轻链的可变区cDNA,随后可以在合适的免疫球蛋白恒定区(例如,人恒定区)情况下,在哺乳动物宿主细胞例如COS或CHO细胞中表达这些可变区。用扩增的免疫球蛋白序列转染的、来源于体内选择的淋巴细胞的宿主细胞,随后可以经历进一步的体外分析和选择,例如通过淘选转染的细胞以分离表达针对RGMc的抗体的细胞。扩增的免疫球蛋白序列可进一步经过体外操纵,例如通过体外亲和力成熟法。参见例如,PCT公布号WO 97/29131和PCT公布号WO 00/56772。

[0153] (3) 使用转基因动物的抗RGMc单克隆抗体。

[0154] 也可通过用RGMc抗原免疫非人动物产生抗体,所述非人动物包含一些或全部人免疫球蛋白基因座。在一个实施方案中,非人动物是XENOMOUSE®转基因小鼠,包含人免疫球蛋白基因座的大片段且在小鼠抗体产生方面有缺陷的经工程改造的小鼠品系。参见例如,Green等人, Nature Genetics, 7: 13-21 (1994)和美国专利号5,916,771;5,939,598;5,985,615;5,998,209;6,075,181;6,091,001;6,114,598;和6,130,364。也参见PCT公布号WO 91/10741;WO 94/02602;WO 96/34096;WO 96/33735;WO 98/16654;WO 98/24893;WO 98/50433;WO 99/45031;WO 99/53049;WO 00/09560;和WO 00/37504。XENOMOUSE®转基因小鼠

生产完全人抗体的成体-样人库，且产生抗原特异性人单克隆抗体。通过引入兆碱基大小的、人重链基因座和X轻链基因座的种系构型YAC片段，XENOMOUSE ® 转基因小鼠包含人抗体库的约80%。参见Mendez等人，Nature Genetics，15：146-156 (1997)，Green和Jakobovits，J. Exp. Med.，188：483-495 (1998)，其公开内容通过引用结合到本文中。

[0155] (4) 使用重组抗体文库的抗RGMc单克隆抗体。

[0156] 体外方法也可以用于制备所述抗体，其中筛选抗体文库以鉴定具有所需RGMc-结合特异性的抗体。关于重组抗体文库的这类筛选的方法是本领域众所周知的并且包括在下述参考文献中描述的方法：例如，美国专利号5,223,409 (Ladner等人)；PCT公布号WO 92/18619 (Kang等人)；PCT公布号WO 91/17271 (Dower等人)；PCT公布号WO 92/20791 (Winter等人)；PCT公布号WO 92/15679 (Markland等人)；PCT公布号WO 93/01288 (Breitling等人)；PCT公布号WO 92/01047 (McCafferty等人)；PCT公布号WO 92/09690 (Garrard等人)；Fuchs等人，Bio/Technology，9：1369-1372 (1991)；Hay等人，Hum. Antibod. Hybridomas，3：81-85 (1992)；Huse等人，Science，246：1275-1281 (1989)；McCafferty等人，Nature，348：552-554 (1990)；Griffiths等人，EMBO J.，12：725-734 (1993)；Hawkins等人，J. Mol. Biol.，226：889-896 (1992)；Clackson等人，Nature，352：624-628 (1991)；Gram等人，Proc. Natl. Acad. Sci. USA，89：3576-3580 (1992)；Garrard等人，Bio/Technology，9：1373-1377 (1991)；Hoogenboom等人，Nucl. Acids Res.，19：4133-4137 (1991)；Barbas等人，Proc. Natl. Acad. Sci. USA，88：7978-7982 (1991)；美国专利申请公布号2003/0186374；和PCT公布号WO 97/29131，其中每篇的全部内容都通过引用结合到本文中。

[0157] 重组抗体文库可以来自用RGMc或RGMc的一部分免疫的受试者。或者，重组抗体文库可来自首次用于实验的受试者，即未用RGMc免疫的受试者，例如来自未用人RGMc免疫的人类受试者的人抗体文库。通过以下方法选择抗体：用包含人RGMc的肽筛选重组抗体文库，以选择识别RGMc的那些抗体。进行这类筛选和选择的方法是本领域众所周知的，例如描述于前述段落的参考文献中。为了选择对RGMc具有特定结合亲和力的抗体，例如以特定K_{off}速率常数与人RGMc解离的抗体，本领域已知的表面等离振子共振方法可用于选择具有所需的K_{off}速率常数的抗体。为了选择对hRGMc具有特定中和活性的抗体，例如具有特定IC_{50}的抗体，可以使用本领域已知用于评价RGMc活性抑制的标准方法。

[0158] 一方面，分离的抗体或其抗原结合部分，结合人RGMc。优选地，所述抗体是中和抗体。在不同的实施方案中，所述抗体是重组抗体或单克隆抗体。

[0159] 例如，也可使用本领域已知的各种噬菌体展示方法产生抗体。在噬菌体展示方法中，功能性抗体域在噬菌体颗粒表面上展示，所述噬菌体颗粒携带编码它们的多核苷酸序列。这样的噬菌体可以用于展示由库或组合抗体文库(例如，人或鼠)表达的抗原结合域。表达结合目标抗原的抗原结合域的噬菌体可以用抗原进行选择或鉴定，例如使用标记的抗原或被固体表面或珠结合或捕获的抗原。这些方法中使用的噬菌体一般是包括fd和M13结合域的丝状噬菌体，所述结合域由这样的噬菌体表达，其中Fab、Fv或二硫键稳定的Fv抗体域与噬菌体基因III或基因VIII蛋白重组融合。可以用于制备所述抗体的噬菌体展示方法的实例包括下述参考文献中公开的那些：Brinkmann等人，J. Immunol. Methods，182：41-50 (1995)；Ames等人，J. Immunol. Methods，184:177-186 (1995)；Kettleborough等

人, Eur. J. Immunol., 24: 952-958 (1994);Persic等人, Gene, 187: 9-18 (1997); Burton等人, Advances in Immunology, 57: 191-280 (1994);PCT公布号WO 92/01047; WO 90/02809;WO 91/10737;WO 92/01047;WO 92/18619;WO 93/11236;WO 95/15982;WO 95/20401;和美国专利号5,698,426;5,223,409;5,403,484;5,580,717;5,427,908;5,750, 753;5,821,047;5,571,698;5,427,908;5,516,637;5,780,225;5,658,727;5,733,743;和 5,969,108。

[0160] 如以上参考文献中所述,噬菌体选择后,可分离来自噬菌体的抗体编码区并用于产生完整抗体,且在任何所需宿主中表达,所述完整抗体包括人抗体或任何其它所需抗原结合片段,所述宿主包括哺乳动物细胞、昆虫细胞、植物细胞、酵母和细菌,例如,如下文详细描述的。例如,也可以采用重组生产Fab、Fab'和F(ab')2片段的技术,其中使用本领域已知的方法,例如下述参考文献中公开的那些:PCT公布号WO 92/22324;Mullinax等人, BioTechniques, 12(6): 864-869 (1992);Sawai等人, Am. J. Reprod. Immunol., 34: 26-34 (1995);和Better等人, Science, 240: 1041-1043 (1988)。可以用于生产单链Fvs和抗体的技术实例包括下述参考文献中描述的那些:美国专利号4,946,778和5,258,498; Huston等人, Methods in Enzymology, 203: 46-88 (1991);Shu等人, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 90: 7995-7999 (1993);和Skerra等人, Science, 240: 1038-1041 (1988)。

[0161] 作为通过噬菌体展示而筛选重组抗体文库的备选,本领域已知的用于筛选大组合文库的其它方法可以应用于抗体的鉴定。一类备选的表达系统是其中重组抗体文库作为RNA-蛋白融合物表达的表达系统,如以下文献中所述:PCT公布号WO 98/31700 (Szostak和Roberts),和Roberts和Szostak, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 94: 12297-12302 (1997)。在这种系统中,通过在其3'末端上携带嘌呤霉素(一种肽基受体抗生素)的合成mRNAs的体外翻译,在mRNA及其编码的肽或蛋白之间产生共价融合。因此,基于编码的肽或蛋白例如抗体或其部分的性质,例如抗体或其部分与双重特异性抗原的结合,可以从mRNAs的复杂混合物(例如,组合文库)中富集特定mRNA。由这样的文库筛选而回收的编码抗体或其部分的核酸序列,可以通过如上所述的重组方法(例如,在哺乳动物宿主细胞中)表达,并且可以通过mRNA-肽融合物的额外的筛选循环,或通过上述用于重组抗体体外亲和力成熟的其它方法对其进行进一步的亲和力成熟,在所述mRNA-肽融合物中已将突变引入最初选择的序列内。该方法的优选实例是PROfusion展示技术。

[0162] 在另一种方法中,抗体也可以使用本领域已知的酵母展示方法来产生。在酵母展示方法中,使用遗传方法以使抗体域束缚于酵母细胞壁,且将它们显示在酵母表面上。具体地讲,这类酵母可以用于展示由库或组合抗体文库(例如,人或鼠)表达的抗原结合域。可用于制备抗体的酵母展示方法的实例包括美国专利号6,699,658 (Wittrup等人)中公开的那些,其通过引用结合到本文中。

[0163] (5) 合成生产

一旦测序后,可以使用本领域已知方法合成特异性结合到RGMc上的多肽例如单克隆抗体(或其片段),所述方法例如排他性固相合成(exclusive solid phase synthesis)、部分固相合成、片段缩合(fragment condensation)和传统的溶液合成。参见例如,Merrifield, J. Am. Chem. Soc. 85: 2149 (1963)。在固相上,使用α-氨基保护的树脂,合成通常开始

于肽的C端末端。可制备合适的原料，例如通过将所需的α-氨基酸连接到氯甲基化树脂、羟甲基树脂或二苯甲基胺树脂上。一种这样的氯甲基化树脂是由Bio Rad Laboratories (Richmond, CA)出售，商品名为BIO-BEADS SX-1，羟甲基树脂的制备由Bodonszky等人，Chem. Ind. (London) 38: 1597 (1966)描述。二苯甲基胺(BHA)树脂已由Pietta和Marshall, Chem. Comm. 650 (1970)描述并可以盐酸盐形式购自Beckman Instruments, Inc. (Palo Alto, CA)。自动化肽合成仪是市售的，也可订购制备肽的服务。

[0164] 因此，根据Gisin, Helv. Chim. Acta. 56: 1467 (1973)所述的方法，可借助碳酸氢铯催化剂通过将α-氨基保护的氨基酸与氯甲基化树脂偶联而制备多肽。开始偶联之后，通过选择在室温下在有机溶剂中的试剂包括三氟乙酸(TFA)或盐酸(HCl)溶液，去除α-氨基保护基。

[0165] 合适的α-氨基保护基包括已知可用于肽逐步合成领域中的那些。α-氨基保护基的实例是：酰基类保护基(例如，甲酰基、三氟乙酰基和乙酰基)，芳族尿烷型保护基(例如，苄氧羰基(Cbz)和取代的Cbz)，脂族尿烷保护基(例如，叔丁氧羰基(BOC)、异丙氧羰基和环己氧羰基)，和烷基型保护基(例如，苄基和三苯甲基)。Boc和Fmoc是优选的保护基。侧链保护基在偶联期间保持不变，并且在氨基末端保护基的脱保护或偶合期间不裂解。侧链保护基必须在完成最终的肽合成后和在不改变目标肽的反应条件下可除去。

[0166] 去除α-氨基保护基后，剩余的被保护的氨基酸以所需顺序逐步偶联。过量的各个受保护的氨基酸一般与在溶液(例如二氯甲烷和二甲基甲酰胺(DMF)混合物)中的合适羧基活化剂例如二环己基碳二亚胺(DCC)一起使用。

[0167] 所需氨基酸序列完成后，通过用试剂例如TFA或氟化氢(HF)处理，使所需肽从树脂支持物上脱偶联，所述试剂不仅从树脂上裂解肽，而且还裂解所有剩余的侧链保护基。当使用氯甲基化树脂时，HF处理导致形成游离的肽酸。当使用二苯甲基胺树脂时，HF处理直接产生游离的肽酰胺。或者，当使用氯甲基化树脂时，侧链保护的肽可以通过用氨处理肽树脂而脱偶联，得到所需的侧链保护的酰胺，或通过用烷基胺处理，得到侧链保护的烷基酰胺或二烷基酰胺。然后，通过常用方式，用氟化氢处理除去侧链保护，得到游离酰胺、烷基酰胺或二烷基酰胺。

[0168] 这些和其它固相肽合成程序是本领域众所周知的。这样的程序也由Stewart和Young，在Solid Phase Peptide Syntheses (第2版, Pierce Chemical Company, 1984)中描述。

[0169] 3．药物组合物

可将抗体掺入到适合给予受试者(例如患者，其可以是人或非人)的药物组合物中。典型地，药物组合物包含抗体和药学上可接受的载体。如本文所用，“药学上可接受的载体”包括生理上相容的任何和所有溶剂、分散介质、包衣剂、抗菌剂和抗真菌剂、等渗剂和吸收延迟剂等。药学上可接受的载体的实例包括以下的一种或多种：水、盐水、磷酸缓冲盐水、葡萄糖、甘油、乙醇等，及其组合。在许多情况下，优选的是在组合物中包含等渗剂例如糖，多元醇例如甘露醇、山梨醇或氯化钠。药学上可接受的载体可以进一步包括少量辅助物质，例如润湿剂或乳化剂、防腐剂或缓冲剂，其增加抗体的保质期或有效性。

[0170] 在又一实施方案中，所述药物组合物包含至少一种额外的治疗剂，用于治疗、预防、调节或减轻本文公开的病症。所述额外的治疗剂可以是红细胞生成素或其它红细胞生

成刺激剂(ESA)。所述额外的治疗剂可以是一种或多种其它抗体,其激活EPO受体,例如双特异性抗体或双重抗体可变区,和/或其结合到IL-6,BMP-2,BMP-4和或BMP-6上。也可使用其它治疗剂,例如降低铁调素的化合物。降低铁调素的化合物的实例包括spiegelmere NOX-H94和/或Dorsomorphin。

[0171] 各种递送系统是已知的并可用于给予一种或多种抗体,或一种或多种抗体与预防剂或治疗剂(其可用于治疗或改善病症或其一个或多个症状)的组合,例如包封在脂质体、微颗粒、微胶囊剂中,可表达抗体或抗体片段的重组细胞,受体介导的内吞作用(参见例如,Wu和Wu, J. Biol. Chem. 262:4429-4432 (1987)),构建作为逆转录病毒或其它载体部分的核酸等。给予预防剂或治疗剂的方法包括但不限于,肠胃外给予(例如,皮内、肌内、腹膜内、静脉内和皮下),硬膜外给予,瘤内给予和粘膜给予(例如,鼻内和口服途径)。此外,可以使用肺给予,例如利用吸入器或喷雾器,和含气溶胶化剂(aerosolizing agent)的制剂。参见例如,美国专利号6,019,968、5,985,320、5,985,309、5,934,272、5,874,064、5,855,913、5,290,540和4,880,078;和PCT公布号WO 92/19244、WO97/32572、WO97/44013、WO98/31346和WO99/66903,其各自通过引用全部结合到本文中。在一个实施方案中,使用Alkermes AIR®肺部药物递送技术(Alkermes, Inc., Cambridge, Mass.)给予抗体、联合治疗或组合物。在一个具体的实施方案中,预防剂或治疗剂经肌内、静脉内、瘤内、口服、鼻内、肺、或皮下给予。预防剂或治疗剂可以通过任何方便的途径给予,例如通过输注或推注,通过经由上皮或粘膜衬里(lining)(例如,口腔粘膜、直肠和肠粘膜等)吸收,且可以连同其它生物学活性剂一起给予。给药可以是全身或局部的。

[0172] 在一个具体的实施方案中,可期需将抗体局部给予需要治疗的区域;这可以通过例如但不限于局部输注、注射、或通过植入物来完成,所述植入物为多孔或无孔材料,包括膜和基质,例如硅橡胶(sialastic)膜、聚合物、纤维基质(例如,Tissuel®)、或胶原基质。在一个实施方案中,有效量的一种或多种抗体经局部给予受试者的受影响区域,以预防、治疗、控制、和/或改善病症或其症状。在另一个实施方案中,将有效量的一种或多种抗体,与有效量的非本发明抗体的一种或多种治疗(例如,一种或多种预防剂或治疗剂)组合,局部给予受试者的受影响区域,以预防、治疗、控制、和/或改善病症或其一种或多种症状。

[0173] 在另一个实施方案中,抗体可以在控释或持续释放系统中递送。在一个实施方案中,可以使用泵以实现控释或持续释放(参见Langer, 出处同上;Sefton, 1987, CRC Crit. Ref. Biomed. Eng. 14:20;Buchwald等人, 1980, Surgery 88:507;Saudek等人, 1989, N. Engl. J. Med. 321:574)。在另一个实施方案中,聚合材料可以用于实现治疗的控释或持续释放(参见例如,Medical Applications of Controlled Release, Langer和Wise (编著), CRC Pres., Boca Raton, Fla. (1974);Controlled Drug Bioavailability, Drug Product Design and Performance, Smolen和Ball (编著), Wiley, New York (1984);Ranger和Peppas, 1983, J., Macromol. Sci. Rev. Macromol. Chem. 23:61;也参见Levy等人, 1985, Science 228:190;During等人, 1989, Ann. Neurol. 25:351;Howard等人, 1989, J. Neurosurg. 7 1:105);美国专利号5,679,377;美国专利号5,916,597;U. S. Pat. No. 5,912,015;美国专利号5,989,463;美国专利号5,128,326;PCT公布号WO99/15154;和PCT公布号WO99/20253。在持续释放制剂中使用的聚合物的实例包括但不限于,聚(甲基丙烯酸2-羟乙酯)、聚(甲基丙烯酸甲酯)、聚(丙烯

酸)、乙烯-乙酸乙烯酯共聚物、聚(甲基丙烯酸)、聚乙交酯(PLG)、聚酐、聚(N-乙烯吡咯烷酮)、聚(乙烯醇)、聚丙烯酰胺、聚(乙二醇)、聚丙交酯(PLA)、丙交酯-乙交酯共聚物(PLGA)和聚原酸酯。在一个具体实施方案中,持续释放制剂中使用的聚合物是惰性的、不含可滤出杂质、贮藏稳定、无菌和生物可降解的。在再一个实施方案中,控释或持续释放系统可以接近预防或治疗靶标放置,从而只需要全身剂量的一部分(参见例如,Goodson, 载于Medical Applications of Controlled Release, 出处同上, 第2卷, 第115-138页(1984))。

[0174] 控制释放系统在Langer (1990, Science 249:1527-1533)的综述中讨论。本领域技术人员已知的任何技术都可以用于生产包含一种或多种抗体的持续释放制剂。参见例如,美国专利号4,526, 938, PCT 公布WO91/05548, PCT公布WO96/20698, Ning等人, 1996, "Intratumoral Radioimmunotheraphy of Human Colon Cancer Xenograft Using a Sustained-Release Gel," Radiotherapy &Oncology 39:179-189, Song等人, 1995, "Antibody Mediated Lung Targeting of Long-Circulating Emulsions," PDA Journal of Pharmaceutical Science & Technology 50:372-397, Cleek等人, 1997, "Biodegradable Polymeric Carriers for a bFGF Antibody for Cardiovascular Application," Pro. Int'l. Symp. Control. Rel. Bioact. Mater. 24:853-854, 和Lam等人, 1997, "Microencapsulation of Recombinant Humanized Monoclonal Antibody for Local Delivery," Proc. Int'l. Symp. Control Rel. Bioact. Mater. 24:759- 760,其各自通过引用全部结合到本文中。

[0175] 在一个具体的实施方案中,当组合物是编码抗体的核酸时,可以在体内给予所述核酸以促进其编码的抗体的表达:将其构建为合适的核酸表达载体的部分且给予它,从而使得其成为细胞内的:例如通过利用逆转录病毒载体(参见美国专利号4,980,286),或通过直接注射,或通过使用微粒轰击(例如,基因枪;Biolistic,Dupont),或用脂质或细胞表面受体或转染剂包被,或通过与已知进入核的同源框样肽连接而给予它(参见例如,Joliot等人, 1991, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 88:1864-1868)。或者,可以在细胞内引入核酸且并入宿主细胞DNA内,用于通过同源重组表达。

[0176] 将药物组合物配制为与其预期给药途径相容。给药途径的实例包括但不限于,肠胃外,例如,静脉内、皮内、皮下、口服、鼻内(例如,吸入)、经皮(例如,局部)、跨粘膜、和直肠给药。在一个具体的实施方案中,组合物依照常规程序配制为药物组合物,所述药物组合物适合于静脉内、皮下、肌内、口服、鼻内或局部给予人类。一般地,供静脉内给药用的组合物是在无菌等渗水性缓冲液中的溶液剂。必要时,组合物还可以包括增溶剂和局部麻醉剂例如利诺卡因(lignocaine),以减轻注射部位处的疼痛。

[0177] 如果组合物将局部给予,那么组合物可以配制为软膏剂、乳膏剂、经皮贴剂、洗剂、凝胶剂、洗发剂(shampoo)、喷雾剂、气溶胶、溶液剂、乳剂或本领域技术人员众所周知的其它形式。参见例如,Remington's Pharmaceutical Sciences and Introduction to Pharmaceutical Dosage Forms, 第19版, Mack Pub. Co., Easton, Pa. (1995)。对于不可喷雾的局部剂型,通常使用包含与局部施用相容的载体或一种或多种赋形剂,且具有大于水的动态粘度的粘性至半固体或固体形式。合适的制剂包括但不限于,溶液剂、混悬剂、乳剂、乳膏剂、软膏剂、粉剂、搽剂、油膏剂等,必要时,对其进行灭菌或与助剂(例如防腐剂、稳定剂、湿润剂、缓冲液或盐)混合,用于影响各种性质,例如,渗透压。其它合适的局部剂型

包括可喷雾的气溶胶制剂，其中将活性组分(例如与固体或液体惰性载体组合)包装在与加压挥发物(例如，气体抛射剂，例如氟利昂)的混合物中或包装在挤压瓶中。需要时，保湿剂或湿润剂也可以加到药物组合物和剂型中。这样的额外组分的实例是本领域众所周知的。

[0178] 如果方法包括组合物的鼻内给予，那么组合物可以配制为气溶胶形式、喷雾剂、雾或滴剂形式。具体地讲，用于本发明的预防剂或治疗剂可以使用合适的抛射剂(例如二氯二氟甲烷、三氯氟甲烷、二氯四氟乙烷、二氧化碳或其它合适的气体)，以从加压包装或喷雾器呈现的气溶胶喷雾剂形式方便地递送。在加压气溶胶的情况下，剂量单位可以通过提供阀来确定，以递送计量的量。可以配制包含化合物和合适粉末基质例如乳糖或淀粉的粉末混合物的胶囊和药筒(cartridges)(由例如明胶构成)，用于在吸入器或吹入器中使用。

[0179] 如果方法包括口服给予，那么组合物可以配制为片剂、胶囊剂、扁囊剂、软胶囊剂(gelcaps)、溶液剂、混悬剂等口服形式。可以通过常规方法，用药学可接受的赋形剂制备片剂或胶囊剂，所述赋形剂例如粘合剂(例如，预胶化玉米淀粉、聚乙烯吡咯烷酮、或羟丙基甲基纤维素)；填充剂(例如，乳糖、微晶纤维素、或磷酸氢钙)；润滑剂(例如，硬脂酸镁、滑石粉或二氧化硅)；崩解剂(例如，马铃薯淀粉或羟基乙酸淀粉钠)；或湿润剂(例如，十二烷基硫酸钠)。可以通过本领域众所周知的方法对片剂进行包被。用于口服给予的液体制剂可以采取(但不限于)下列形式：溶液剂、糖浆剂或混悬剂，或者它们可以呈现为干燥产品，用于在使用前用水或其它合适的载体来构建。可以通过常规方法，用药学可接受的添加剂制备这类液体制剂，所述添加剂例如悬浮剂(例如，山梨醇糖浆、纤维素衍生物、或氢化食用脂肪)；乳化剂(例如，卵磷脂或阿拉伯胶)；非水载体(例如，扁桃油、油酯、乙醇、或分馏植物油)；和防腐剂(例如，对羟基苯甲酸甲酯或对羟基苯甲酸丙酯或山梨酸)。适当时，制剂还可以包含缓冲盐、矫味剂、着色剂和甜味剂。可以适当地配制用于口服给予的制剂，用于缓慢释放、控释、或持续释放一种或多种预防剂或治疗剂。

[0180] 所述方法可以包括用气溶胶化剂(aerosolizing agent)配制的组合物的肺给予，例如利用吸入器或喷雾器。参见例如，美国专利号6,019,968、5,985,320、5,985,309、5,934,272、5,874,064、5,855,913、5,290,540和4,880,078；和PCT公布号WO 92/19244、WO 97/32572、WO 97/44013、WO 98/31346和WO 99/66903，其各自通过引用全部结合到本文中。在一个具体的实施方案中，使用Alkermes AIR®肺部药物递送技术 (Alkermes, Inc., Cambridge, Mass.)给予抗体、联合治疗和/或组合物。

[0181] 所述方法可包括给予经配制用于通过注射(例如通过推注或连续输注)而肠胃外给药的组合物。用于注射的制剂可与添加的防腐剂一起以单位剂型(例如，在安瓿或多剂容器中)呈现。组合物可以采取在油性或水性载体中的混悬剂、溶液剂或乳剂等形式，且可以包含配制试剂例如悬浮剂、稳定剂和/或分散剂。或者，活性组分可以呈粉末形式，用于在使用前用合适的载体(例如，无菌无热原水)构建。所述方法可以额外地包括给予配制为贮库制剂的组合物。这样的长效制剂可以通过植入(例如皮下或肌内)或通过肌内注射来给予。因此，例如，组合物可以用合适的聚合或疏水材料(例如，作为在可接受的油中的乳剂)或离子交换树脂来配制，或配制为微溶衍生物(例如，作为微溶盐)。

[0182] 所述方法包括给予配制为中性或盐形式的组合物。药学上可接受的盐包括由阴离子形成的那些，例如衍生自盐酸、磷酸、乙酸、草酸、酒石酸等的那些，以及由阳离子形成的那些，例如衍生自氢氧化钠、氢氧化钾、氢氧化铵、氢氧化钙、氢氧化铁、异丙胺、三乙胺、2-

乙氨基乙醇、组氨酸、普鲁卡因等的那些。

[0183] 通常，以分开或混合在单位剂型中的形式提供组合物的各成分，例如，作为在指示活性剂的量的密封容器中的干燥冻干粉末剂或无水浓缩物，所述密封容器例如安瓿或药囊(sachette)。当给药方式是输注时，可以用包含无菌药物级别的水或盐水的输注瓶分配组合物。当给药方式是通过注射时，可以提供无菌注射用水或盐水的安瓿，从而使得各成分可以在给药前进行混合。

[0184] 具体地讲，可将一种或多种抗体或药物组合物包装在指示抗体的量的密封容器中，所述密封容器例如安瓿或药囊。在一个实施方案中，提供一种或多种抗体或药物组合物，作为在密封容器中的干燥的无菌冻干粉末或无水浓缩物，且可以重构(例如，用水或盐水)至合适浓度以用于给予受试者。在一个实施方案中，提供一种或多种抗体或药物组合物，作为在密封容器中的干燥的无菌冻干粉末，其单位剂量为至少5 mg、例如至少10 mg、至少15 mg、至少25 mg、至少35 mg、至少45 mg、至少50 mg、至少75 mg、或至少100 mg。冻干的抗体或药物组合物应在其原容器中贮存于2°C至8°C，并且所述抗体或药物组合物应在重构后1周内给予，例如重构后5天内、72小时内、48小时内、24小时内、12小时内、6小时内、5小时内、3小时内、或1小时内给予。在一个备选实施方案中，以液体形式在指示抗体的量和浓度的密封容器中提供一种或多种抗体或药物组合物。在又一实施方案中，液体形式的所给予组合物在密封容器中以至少0.25 mg/ml、例如至少0.5 mg/ml、至少1 mg/ml、至少2.5 mg/ml、至少5 mg/ml、至少8 mg/ml、至少10 mg/ml、至少15 mg/kg、至少25 mg/ml、至少50 mg/ml、至少75 mg/ml或至少100 mg/ml提供。液体形式应在其原容器中贮存于2°C至8°C。

[0185] 可将抗体掺入适于肠胃外给药的药物组合物中。一方面，将抗体制备成含有0.1-250 mg/ml抗体的注射用溶液剂。注射用溶液剂可以由在燧石或琥珀色小瓶、安瓿或预装注射器中的液体或冻干剂型构成。缓冲液可以是L-组氨酸(1- 50 mM)、优选5-10 mM，pH 5.0-7.0 (优选pH 6.0)。其它合适的缓冲液包括但不限于，琥珀酸钠、柠檬酸钠、磷酸钠或磷酸钾。0-300 mM (对于液体剂型优选150 mM)浓度的氯化钠可以用于改变溶液的毒性。对于冻干剂型，可包含冷冻保护剂，主要为0-10%蔗糖(优选0.5—1.0%)。其它合适的冷冻保护剂包括海藻糖和乳糖。对于冻干剂型，可包括填充剂，主要为1-10%甘露醇(优选2-4%)。稳定剂可以在液体和冻干剂型中使用，主要为1-50 mM L-甲硫氨酸(优选5-10 mM)。其它合适的填充剂包括甘氨酸、精氨酸，可包括0-0.05%聚山梨酯80 (优选0.005 -0.01%)。额外的表面活性剂包括但不限于，聚山梨酯20和BRIJ表面活性剂。包含抗体的药物组合物(制备为用于肠胃外给药的注射用溶液剂)可以进一步包含可用作辅助剂的试剂，例如用于增加抗体的吸收、或分散的那些。特别有用的辅助剂是透明质酸酶，例如Hylenex® (重组人透明质酸酶)。在注射用溶液剂中添加透明质酸酶改善肠胃外给药、特别是皮下给药后的人体生物利用度。它还允许具有较少疼痛和不适的更大注射部位体积(即大于1 ml)，和最低的注射部位反应发生率。(参见国际申请公布号WO 04/078140和美国专利申请公布号US 2006104968，通过引用结合到本文中)。

[0186] 所述组合物可以为多种形式。这些包括例如，液体、半固体和固体剂型，例如液体溶液剂(例如，注射用和输注用溶液剂)、分散剂或混悬剂、片剂、丸剂、粉剂、脂质体和栓剂。优选的形式取决于预期给药方式和治疗应用。组合物可为注射用或输注用溶液剂形式，例如类似于用其它抗体被动免疫人而使用的那些的组合物。在一个实施方案中，抗体通过静

脉内输注或注射来给予。在另一个实施方案中，抗体通过肌内或皮下注射来给予。

[0187] 治疗用组合物一般必须是无菌的且在制备和贮存条件下是稳定的。组合物可以配制为溶液剂、微乳剂、分散体、脂质体、或适合于高药物浓度的其它有序结构。无菌注射用溶液剂可以通过下述制备：将需要量的活性化合物(即，结合蛋白，例如抗体)与以上列举的一种成分或成分组合一起掺入合适的溶剂中，必要时随后进行过滤除菌。一般地，分散体通过将活性化合物掺入无菌载体内来制备，所述无菌载体包含基本分散介质和来自以上列举那些的所需其它成分。在用于制备无菌注射用溶液剂的无菌、冻干粉剂的情况下，制备方法包括真空干燥和喷雾干燥，所述方法由其先前除菌过滤的溶液产生活性成分加上任何另外所需成分的粉剂。溶液的适当流动性可以通过下述来维持，例如通过利用包衣剂例如卵磷脂，通过在分散体的情况下维持所需粒度和通过利用表面活性剂。注射用组合物的延长吸收可以通过在组合物中包含延迟吸收的试剂来引起，所述试剂例如单硬脂酸盐和明胶。

[0188] 所述抗体可以通过本领域已知的多种方法来给予。对于许多治疗应用，给药途径/模式可以是皮下注射、静脉内注射或输注。如技术人员将认识到的，给药途径和/或模式将依所需结果而变。在某些实施方案中，活性化合物可以与载体一起制备，所述载体将保护化合物免于快速释放，例如控释制剂，包括植入物、经皮贴剂、和微囊化递送系统。可以使用生物可降解的、生物相容的聚合物，例如乙烯乙酸乙烯酯、聚酐、聚乙醇酸、胶原、聚原酸酯和聚乳酸。用于制备这类制剂的许多方法是获得专利保护的或是本领域技术人员通常已知的。参见例如，Sustained and Controlled Release Drug Delivery Systems, J.R. Robinson, ed., Marcel Dekker, Inc., New York, 1978。

[0189] 在某些实施方案中，可将抗体例如与惰性稀释剂或可吸收食用载体一起口服给予。也可将抗体(若需要，和其它成分)装入硬或软壳明胶胶囊中，压缩成片剂，或直接掺入受试者的饮食内。对于口服治疗给药，可将抗体与赋形剂掺合，且以可摄食片剂、口腔含化片剂、糖锭剂、胶囊剂、酏剂、混悬剂、糖浆剂、薄片(wafer)等的形式使用。为了通过非肠胃外给药而给予抗体，可能必需用材料包被抗体、或将抗体与材料共给予，以防止其失活。

[0190] 补充性活性化合物也可以掺入组合物中。在某些实施方案中，将抗体与一种或多种额外的治疗剂共配制和/或共给予，所述治疗剂可用于治疗本文所述的病症或疾病。例如，可将抗RGMc球聚体(globulomer)抗体与结合其它靶标的一种或多种额外的抗体(例如，结合其它可溶性抗原或结合细胞表面分子的抗体)共配制和/或共给予。此外，一种或多种抗体可以与2种或更多中前述治疗剂组合使用。这样的组合疗法可以有利地利用较低剂量的所给予治疗剂，从而避免与各种单一疗法相关的可能毒性或并发症。

[0191] 在某些实施方案中，将抗体与本领域已知延长半寿期的载体连接。这类载体包括但不限于，Fc域、聚乙二醇和葡聚糖。这类载体描述于例如美国申请序列号09/428,082和公布的PCT申请号WO 99/25044，所述文献为此目的通过引用结合到本文中。

[0192] 在一个具体的实施方案中，通过基因治疗的方式给予包含编码抗体的核苷酸序列的核酸序列，以治疗、预防、控制或改善病症或其一种或多种症状。基因治疗指通过给予受试者已表达的或可表达的核酸来进行的治疗。在这个实施方案中，核酸产生其编码的抗体，所述抗体介导预防或治疗作用。

[0193] 依据本发明，可以使用在本领域中可获得的用于基因治疗的任何方法。关于基因治疗方法的一般性综述，参见Goldspiel等人, Clinical Pharmacy 12:488-505, (1993)；

Wu和Wu, Biotherapy 3:87-95, (1991);Tolstoshev, Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol. 32:573-596, (1993);Mulligan, Science 260:926-932 (1993);和Morgan和Anderson, Ann. Rev. Biochem. 62:191-217 (1993);May, 1993, TIBTECH 11(5):155-215。可使用的重组DNA技术领域中通常已知的方法描述于Ausubel等人. (编著), Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley & Sons, NY (1993);和Kriegler, Gene Transfer and Expression, A Laboratory Manual, Stockton Press, NY (1990)。各种基因治疗方法的详细描述公开于US 20050042664 A1,其通过引用结合到本文中。

[0194] 应进一步理解的是,组合是对其预期目的有用的那些组合。上文所述试剂是为了说明性目的而不希望是限制性的。组合可包含抗体和选自下列的至少一种额外的试剂。组合还可以包括超过一种额外的试剂,例如,2种或3种额外的试剂,如果组合是这样的,使得形成的组合物可以进行其预期功能。

[0195] 药物组合物可以包括“治疗有效量”或“预防有效量”的抗体。“治疗有效量”是指在所需剂量和时间段有效达到所需治疗结果的量。抗体的治疗有效量可以由本领域技术人员来确定,且可以根据下述因素而变,例如:个体疾病状态、年龄、性别和体重,以及所述抗体在个体中引起所需应答的能力。治疗有效量也是其中治疗有利作用大于抗体的任何毒性或有害作用(如果有的话)的量。“预防有效量”是指在所需剂量和时间段有效达到所需预防结果的量。一般地,因为预防剂量在疾病前或疾病早期时在受试者中使用,所以预防有效量将小于治疗有效量。

[0196] 可将剂量方案进行调整以提供最佳所需应答(例如,治疗或预防应答)。例如,可以给予单次大剂量(bolus),可以在一段时间内给予若干分开的剂量,或可根据治疗情形的紧急性所指示而按比例减少或增加剂量。为了易于给药和剂量一致,以单位剂型配制肠胃外组合物是特别有利的。如本文使用的,单位剂型是指适合作为单位剂量用于待治疗的哺乳动物受试者的物理上不连续单位;每个单位包含与所需药学载体联合的经计算为产生所需疗效的预定量的活性化合物。单位剂型的规格由下述指示且直接取决于下述:(a)活性化合物的独特特性和待达到的具体治疗或预防作用,和(b)配混这种用于治疗个体中敏感性的活性化合物的领域固有的局限性。

[0197] 抗体的治疗或预防有效量的示例性、非限制性范围是介于0.1和200 mg/kg、例如介于0.1和10 mg/kg的剂量。抗体的治疗或预防有效量可介于1至200 mg/kg、10至200 mg/kg、20至200 mg/kg、50至200 mg/kg、75至200 mg/kg、100至200 mg/kg、150至200 mg/kg、50至100 mg/kg、5至10 mg/kg或1至10 mg/kg之间。应当注意的是,剂量值可以因待缓解的病况的类型和严重程度而变。此外,抗体剂量可以由本领域技术人员来确定,并可以根据下述因素而变,例如:个体疾病状态、年龄、性别和体重,以及抗体在该个体中引起所需应答的能力。剂量也是其中治疗有利作用大于抗体的任何毒性或有害作用(如果有的话)的量。应进一步理解的是,对于任何特定受试者,根据个体需要和给予或监督组合物给予的人的专业判断,具体剂量方案应当随着时间进行调整,并且本文所述的剂量范围仅是示例性的,且不希望限制要求保护的组合物的范围或实践。

[0198] 4. 治疗、预防、调节或减轻铁代谢疾病的方法

在任何受试者中,可使用本领域已知的常规技术,对受试者是否患有铁代谢相关病症进行评价(例如,这样的评价可包括一个或多个血液测试,以测定血红蛋白水平、红细胞计

数、网织红细胞计数、血清铁蛋白、血清铁、饱和血清转铁蛋白、血清铁调素、血清RGMc等)。可对所述受试者是否患有涉及铁缺乏或铁过载的铁相关病症进行评价,并因此可指示合适治疗进程,例如预防性治疗,维持治疗,或调节性治疗。作为参考,血液学家可以使用下面的参考数字以指示患者具有相应参数的正常水平。参见表2。

[0199] 表3

血清铁,以毫克/分升计(1-4行)	
1. 男	65至176
2. 女	50至170
3. 新生儿	100至250
4. 儿童	50至120
5. 总铁结合力("TIBC")	240至450
6. 转铁蛋白饱和度	20%至50%

因此,本文中提供的是治疗、预防、调节或减轻铁代谢疾病的方法。可将抗体给予有需要的受试者。可将治疗有效量的抗体给予所述受试者,其中本领域技术人员可以容易地确定所述量。与正常对照或校准物中的铁调素水平相比,治疗、预防、调节或减轻疾病的方法可以上调或下调细胞或组织中的铁调素蛋白水平。与正常对照或校准物中的铁调素水平相比,治疗、预防、调节或减轻疾病的方法可以降低细胞或组织中的铁调素蛋白水平。

[0200] a. 铁代谢疾病

铁代谢疾病或病症可以是受试者体内的铁稳态受到干扰的任何疾病或病症。这样的稳态依赖于对合适血浆铁水平的适当调节。铁在结合转铁蛋白的血浆中循环,而转铁蛋白是将铁递送到细胞中的载体。血浆转铁蛋白通常为约30%铁饱和。因此,在响应来自涉及铁消耗的途径的各种信号时,转铁蛋白饱和度必须维持在合适的生理水平。

[0201] 铁调素通过结合到铁转运蛋白上并诱导其降解而协调全身铁流动并控制血浆铁水平。因为铁转运蛋白被降解,所以巨噬细胞和十二指肠肠细胞不再能够将铁释放到血液中,其结果就是,减少了铁向转铁蛋白的转移。因此,干扰正常铁调素产生的遗传性和获得性病症可导致铁缺乏(高的铁调素水平)或铁过载(铁调素缺乏)。

[0202] 这种干扰可导致铁缺乏、铁过载或伴有贫血的铁过载。这种干扰也导致慢性病贫血,其中该病受试者表现出高水平的血液铁调素。所述受试者可患有例如以下的疾病或病症或处于其风险之中:疲劳、关节痛、骨或关节疾病(骨关节炎、骨质疏松症)、类风湿性关节炎、炎性肠病、气促、不规则心脏搏动、肝病、糖尿病、不育、阳痿、抑郁症、心境或精神病症、认知能力差或神经变性疾病、ACD、铁-难治性缺铁性贫血、慢性肾病性贫血、红细胞生成刺激剂抵抗、再生障碍性贫血、骨髓增生异常综合征、铁粒幼红细胞性贫血、再生不良性贫血、阵发性夜间血红蛋白尿、血管性血友病、血友病遗传性出血性毛细血管扩张症、红细胞酶病:葡萄糖-6磷酸脱氢酶(G6PD)或丙酮酸激酶缺乏(PKD)、无转铁蛋白血症(atransferrinemia)或低转铁蛋白血症(hypotransferrinemia)、无血浆铜蓝蛋白血症(aceruloplasminemia)或低血浆铜蓝蛋白血症(hypoceruloplasminia),CDAII: (先天性红细胞生成不良性贫血),其也称为:HEMPAS (遗传性多核幼红细胞伴酸化血清溶血试验阳

性)。

[0203] 在肝脏中的铁调素的抑制,以及腹膜巨噬细胞内增加的铁转运蛋白表达和减少的胞内铁和氧化应激,与巨噬细胞胆固醇流出蛋白ABCA1和ABCG1(其是ABC转运蛋白)的表达增加有关。参见Saeed等人, Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol., 32 (February, 2012), 2011年11月5日接收。对铁调素的抑制增加了ABCA1和ABCG1的表达,这可导致增加的脂质流出和减少的泡沫细胞形成。因此,可将抗体给予有需要的受试者。可将治疗有效量的抗体给予所述受试者,其中泡沫细胞的形成和动脉粥样硬化可以被限制和/或动脉粥样硬化可以被治疗、预防、调节或减轻。所述抗体可以减少巨噬细胞胞内铁,导致增加的ABC转运蛋白表达和脂质流出能力。

[0204] 毛囊的周期性活性可由通常在皮肤宏观环境中表达的信号转导分子调节。参见例如,美国专利申请号2011/0293526,其内容通过引用全部结合到本文中。例如,BMP的表达与毛发生长可能是负相关的。抗体可用于刺激有待再活化的静息毛囊以再次生长。抗体可以直接或间接破坏通常在皮肤宏观环境中表达的分子的信号转导。

[0205] (1) 铁缺乏

铁代谢疾病可为体内铁太少的疾病。例如,如果发现血清铁低于60 μg/dl、低于55 μg/dl、低于50 μg/dl、低于45 μg/dl或低于40 μg/dl时,受试者可被诊断为铁缺乏。如果受试者的总铁结合力("TIBC")低于50%、45%、40%、35%、30%、25%、20%、15%或10%时,他/她可被诊断为铁缺乏。如果与未患铁缺乏的受试者相比,受试者具有增加的铁蛋白水平,他/她可被诊断为铁缺乏。如果受试者的血红蛋白水平低于15.5、15、14.5、14、13.5、13、12.5、12、11.5、11、10.5、10、9.5、9、8.5、8、7.5、7、6.5或6 g/dl,他/她可被诊断为铁缺乏。转铁蛋白饱和度小于25%、小于20%、小于19%、18%、17%、16%、15%、14%、13%、12%、11%、10%、9%、8%或7%可表明铁缺乏。根据上述一个或多个因素,受试者可被诊断为患有铁缺乏。

[0206] 在生长和发育的关键时期的铁缺乏可导致早产、低出生体重儿、延迟的生长和发育、以及延迟的正常婴儿活动和运动;铁缺乏可导致记忆或认知技能差(心智功能),导致在上学、工作、军队或在娱乐时表现不佳。较低IQ与发生在生长关键时期的铁缺乏相关。

[0207] 缺铁性贫血("IDA")是受试者具有无法满足机体需要的不充分的铁量的一种病况。IDA由血液中红细胞量降低所致,这涉及具有太少铁的受试者。IDA可由饮食中铁不足够或失血所致。IDA是贫血的最常见形式。约20%妇女、50%孕妇和3%男性缺铁。

[0208] 铁难治性铁贫血("IRIDA")的患者遭受小红细胞性贫血和对口服治疗无反应并对胃肠外的铁是部分不应的,因为不适当高的铁调素水平。IRIDA由蛋白裂解酶-2基因(TMPRSS6)中的突变引起,该基因编码丝氨酸蛋白酶,此酶通过切割膜结合的RGMc而负调节铁调素表达。

[0209] (2)铁过载

铁过载相关病症的实例包括:慢性疲劳、关节痛、腹痛、肝病(肝硬化、肝癌)、糖尿病、心脏节律不规则、心脏病发作或心力衰竭、皮肤颜色改变(青铜、灰绿色)、周期丧失(loss of period)、对性失去兴趣、骨关节炎、骨质疏松症、脱发、肝脾肿大、阳痿、不育、性腺功能减退、甲状腺功能减退、垂体功能减退、抑郁症、肾上腺功能问题、早发性神经变性疾病、血糖升高、肝酶升高和铁升高(血清铁、血清铁蛋白)。例如,如果发现血清铁高于150 μg/dl、高于155 μg/dl、高于160 μg/dl、高于165 μg/dl、或高于170 μg/dl,受试者可被诊断为铁过

载。如果受试者总铁结合力(“TIBC”)大于50%、55%、60%、65%、70%、75%或80%时，他/她可被诊断为铁缺乏。如果与未患铁缺乏的受试者相比，受试者具有增加的铁蛋白水平，他/她可被诊断为铁缺乏。如果受试者的血红蛋白水平大于18.5、18、17.5、17、16.5、16、15.5、15、14.5、14、13.5、13、12.5或12 g/dl，他/她可被诊断为铁缺乏。转铁蛋白饱和度大于35%、40%、41%、42%、43%、44%、45%、46%、47%、48%、49%、50%、55%、60%、65%或70%可表明铁过载。根据上述一个或多个因素，受试者可被诊断为患有铁过载。

[0210] 血色素沉着病(HH)是体内铁过量(铁过载)所致的另一种病症。遗传性血色素沉着病(HHC)是一种遗传性的异常铁代谢病症。患有HHC的个体吸收太多的膳食的铁。吸收后，机体没有排泄过量铁的有效方式。随时间的推移，这些过量铁积累成铁过载病况，这对细胞是有毒的。负担过量铁的腺体和器官，包括肝、心、垂体、甲状腺、胰腺、滑膜(关节)和骨髓，都无法正常工作。症状发展和疾病进程。

[0211] 有若干类型的HHC。它们包括：I型或传统型(HHC)；II型a，b或青少年型(JHC)；III型或转铁蛋白受体突变型；和IV型或铁转运蛋白突变型。

[0212] HHC是一种常染色体隐性疾病，其可导致肝脏和其它器官的铁过载。4个基因与血色素沉着病相关：HFE (C282Y)、TfR2、铁调素调节蛋白(hemojuvelin，HJV)和HAMP基因(铁调素)。该病的隐性形式是不适当低的铁调素表达的结果，因此该病的严重程度和发作年龄与铁调素表达程度相关。

[0213] 遗传性血色素沉着病的显性形式是由细胞铁输出者和铁调素受体即铁转运蛋白中的错义突变所致。例如，突变降低了铁转运蛋白的膜定位或其输出铁的能力，导致巨噬细胞铁过载或滞留，正常至低的血浆铁水平，和在某些情况下，铁-限制的红细胞生成。

[0214] 其中有高的血浆铁和肝细胞铁积累的血色素沉着病相关病症可由铁调素-抗性铁转运蛋白突变所致，由此铁调素不能结合铁转运蛋白(C326S)或者在铁调素结合后铁转运蛋白内在化和降解被破坏。

[0215] 在“铁-负载贫血(iron-loading anemia)”中铁调素水平也可不适当的低，其中红细胞生成信号抑制铁调素转录，甚至当全身铁高时。β-地中海贫血中间物就是这类贫血的实例，其特征在于输血-独立性铁过载和低至缺乏铁调素水平。

[0216] (3) 铁过载伴有贫血

铁过载伴有贫血(Iron Overload with Anemia，IOA)，也称为无血浆铜蓝蛋白血症，是一种隐性病症并且其特征在于贫血、铁过载和神经变性。该病症是由编码含铜的铁氧化酶血浆铜蓝蛋白的基因中的突变所致。无血浆铜蓝蛋白血症患者在肝脏中具有较低的血清铁调素水平和降低的铁转运蛋白表达，因为突变的血浆铜蓝蛋白对铁转运蛋白缺乏稳定功能。

[0217] 铁过载被认为是具有无效的红细胞生成的贫血(例如β-地中海贫血，和先天性红细胞生成不良性贫血)的死亡率和发病率的主要原因。在这些病症中，高水平的红细胞生成素刺激大量但无效的红细胞生成。严重的铁过载例如青少年血色素沉着病可在很少或从未接受输血的受试者中发生并且表明膳食的铁在这些条件下被过量吸收。未接受输血的那些患者通常具有低铁调素水平，尽管具有高血清铁蛋白水平和高的肝铁过载。可假设无效红细胞生成产生介导物例如GDF-15，其可抑制肝的铁调素合成。参见Ganz, T., Blood, 117: 4425-33, 2011, Hepcidin and Iron Regulation: 10 Years Later。

[0218] IOA通常由环境所致，其中受试者体内具有非常高的铁，其可能是因为全血输入或血细胞病症，导致慢性溶血性贫血(红细胞的未成熟周转，或分解)。该过程可导致类似于血色素沉着病患者中所发现的机体铁积累。多种环境(包括高膳食消耗)可导致铁剩余而快速积累。红细胞生成素、铁调素和/或生长分化因子-15 (GDF-15)的水平可用于区分患有IOA的受试者。在β-地中海贫血中，例如，受试者具有显著增高的GDF-15水平。具有β-地中海贫血的受试者可具有大于45,000 pg/ml GDF-15、大于50,000 pg/ml GDF-15、大于55,000 pg/ml GDF-15、大于60,000 pg/ml GDF-15、大于65,000 pg/ml GDF-15、大于66,000 pg/ml GDF-15、或大于70,000 pg/ml GDF-15。例如，与健康受试者中在或接近450 +/- 50 pg/ml的水平相比，β-地中海贫血受试者可具有在或接近66,000 +/- 9,600 pg/ml的平均水平的GDF-15。血红蛋白中的红细胞可能太少，以至于不能维持生命并且可能需要输入全血使受试者生存。铁过载伴有贫血相关的病症的实例包括镰状细胞性贫血、地中海贫血、铁粒幼红细胞性贫血和酶缺乏。

[0219] b.受试者

受试者可以是哺乳动物，其可以是人或非人。受试者可以是重症监护患者，经历化疗，从手术中恢复，或者可以是处于以下疾病的风险中或患有以下疾病：感染、癌症、自身免疫性疾病或病症、慢性器官疾病和/或炎症、和/或实体器官移植后的慢性器官排斥。所述感染可以是急性或慢性的。所述感染可以是病毒感染、细菌感染、寄生虫感染或真菌感染。所述癌症可以是任何癌症，例如血液系统癌或实体瘤。自身免疫性疾病可以是任何自身免疫性疾病，例如类风湿性关节炎、系统性红斑狼疮和结缔组织病、脉管炎、肉状瘤病和炎性肠病。慢性器官疾病可以是慢性肾病，其中所述受试者可或可不经透析。所述病毒感染可以是乙肝或丙肝感染、或人免疫缺陷病毒感染。任何疾病和病症都可能是ACD的基本病因。外科手术可以是围手术期或术后的。外科手术可以是肿瘤外科。

[0220] 5．诊断方法

本文中提供的是用于测定受试者是否患有铁相关病症的方法。可测定来自受试者的样品中的膜结合的RGMc或可溶性RGMc的水平并与对照样品或校准物例如系列校准物中的RGMc水平相比。对照样品可来自正常组织或体液(例如来自全血、血清、血浆等)。与对照相比的RGMc水平的改变可表明所述受试者患有铁相关病症。例如，与正常对照中的膜结合的RGMc水平相比的膜结合的RGMc水平的降低，可表明所述受试者患有铁过载相关的铁相关病症。或者，与正常对照中的膜结合的RGMc水平相比的膜结合的RGMc水平的增加，可表明所述受试者患有铁缺乏相关的铁相关病症。此外，可溶性RGMc或可溶性其片段水平的增加，可表明所述受试者患有铁过载相关的铁相关病症。可溶性RGMc或其可溶性片段水平的降低，可表明所述受试者患有铁缺乏相关的铁相关病症。可使用本文所述的抗体测定RGMc (膜结合的或可溶性)水平。

[0221] 用于测定受试者是否患有铁相关病症的方法除了在得自受试者的一个或多个样品中测定膜结合的RGMc或可溶性RGMc的水平之外，还可包括测定铁调素水平。具体地讲，一方面，可在来自受试者的样品中测定膜结合的RGMc或可溶性RGMc的水平并与对照样品或校准物例如系列校准物中的RGMc水平比较。对于膜结合的RGMc或可溶性RGMc的对照样品可来自正常组织或体液(例如来自全血、血清、血浆等)。所述方法也可包括在相同样品中测定铁调素水平并与对照样品或校准物例如系列校准物中的铁调素水平进行比较。对于铁调素的

对照样品可来自正常组织或体液(例如来自全血、血清、血浆等)。与对照中的RGMc水平相比的RGMc水平的改变可表明所述受试者患有铁相关病症。例如,与正常对照中的膜结合的RGMc相比的膜结合的RGMc水平的降低,可表明所述受试者患有铁过载相关的铁相关病症。或者,与正常对照中的膜结合的RGMc水平相比的膜结合的RGMc水平的增加,可表明所述受试者患有铁缺乏相关的铁相关病症。此外,可溶性RGMc或其可溶性片段水平增加,可表明所述受试者患有铁过载相关的铁相关病症。可溶性RGMc或其可溶性片段水平降低,可表明所述受试者患有铁缺乏相关的铁相关病症。可使用本文所述的抗体测定RGMc水平。与正常对照中的铁调素水平相比的铁调素水平的改变,可表明所述受试者患有铁相关病症。例如,与正常对照中的铁调素水平相比的铁调素水平的降低,可表明所述受试者患有铁过载相关的铁相关病症。或者,与正常对照中的铁调素水平相比的铁调素水平的增加,可表明所述受试者患有铁缺乏相关的铁相关病症。测定膜结合的RGMc或可溶性RGMc和铁调素的水平的顺序并不重要。可以同时地或序贯地以任何顺序测定它们。另外,可在同一反应容器或不同反应容器中测定膜结合的RGMc或可溶性RGMc和铁调素的水平。另一方面,不必在来自受试者的同一样品中测定膜结合的RGMc或可溶性RGMc和铁调素的水平。例如,可在得自受试者的第一样品中测定膜结合的RGMc或可溶性RGMc的水平。可在得自受试者的第二样品中测定铁调素水平。或者,可在得自受试者的第一样品中测定铁调素水平并且可在得自受试者的第二样品中测定膜结合的RGMc或可溶性RGMc水平。得自患者的第一和第二样品可以在同时或在彼此不同的时间段获得。可使用本文所述的抗体测定RGMc (膜结合的或可溶性)水平。

[0222] 所述方法可进一步包括测定试验样品中的铁调素的存在、量或浓度,其中或(i) 测定铁调素的试验样品与测定RGMc的试验样品可以相同或(ii) 测定铁调素的试验样品与测定RGMc的试验样品是不同的试验样品,但是测定铁调素的试验样品的来源和测定RGMc的试验样品的来源是相同的。如本文所述和本领域已知的,使用同一类型的方法或不同类型的方法,同时地或序贯地以任一顺序测定试验样品中的RGMc和铁调素。或者,所述方法可进一步包括使用测定试验样品中的铁调素的存在、量或浓度的结果,其中或(i) 测定铁调素的试验样品是测定RGMc的同一试验样品或(ii) 测定铁调素的试验样品与测定RGMc的试验样品是不同的试验样品,但是测定铁调素的试验样品的来源和测定RGMc的试验样品的来源是相同的。在这一点上,可在测定试验样品中的RGMc的时间之前或之后,在不同时间点进行试验样品中的铁调素的测定(其结果用于上述方法的情况),例如以下时间之前或之后:数小时(例如12小时)、1天、2天、3天、1周、2周、3周或甚至1个月,只要结果仍然认为是代表性的和可靠的。可优选的是对试验样品中的铁调素的测定能够确定铁调素-25的存在、量或浓度。可例如使用TOF-MS和内部标准,测定样品例如血浆样品、血清样品或尿样品中的铁调素-25。

[0223] 可使用本领域已知的铁调素抗体测定铁调素水平,所述抗体例如可得自以下的那些:ABCAM® (Cambridge, MA)和BACHEM® (Torrance, CA),例如铁调素-25抗体。可使用本文所述的不同形式(例如免疫测定)测定样品中的铁调素水平。

[0224] 可比较经本文所述的任何方法测定的铁调素水平和RGMc水平,以表明铁相关病症的存在。例如,试验样品中的膜结合的RGMc与铁调素之比不同于正常对照中的膜结合的RGMc与铁调素之比,可表明试验样品所来源的受试者患有铁相关病症。例如,与正常对照中的可溶性RGMc与铁调素之比相比,试验样品中的可溶性RGMc与铁调素之比增加,可表明试

验样品所来源的受试者患有铁相关病症，例如铁过载。与正常对照中的可溶性RGMc与铁调素之比相比，试验样品中的膜结合的RGMc与铁调素之比降低，可表明试验样品所来源的受试者患有铁相关病症，例如铁缺乏。

[0225] a．样品

样品可以是来自受试者的任何组织样品。样品可包含来自受试者的蛋白。

[0226] 任何细胞类型、组织或体液都可用于获取样品。这样的细胞类型、组织或体液可包括组织切片例如活检和尸检样品、为了组织学目的而获取的冷冻切片、血(例如全血)、血浆、血清、痰、粪便、泪、粘液、唾液、毛发和皮肤。细胞类型和组织也可包括淋巴液、腹水、妇科液体、尿、血清、血浆、腹膜液、脑脊液、阴道清洗而收集的液体，或阴道冲洗而收集的液体。组织或细胞类型可以通过从动物中取出细胞样品来提供，但也可以通过使用先前分离的细胞(例如，从另一人中分离，在其它时间，和/或用于其它目的)来实现。也可使用存档组织，例如具有治疗或结果病史的那些。蛋白纯化可能并非必要。

[0227] 本领域众所周知的用于收集、处理和加工尿、血液、血清和血浆、以及其它体液的方法，可用于本公开内容的实践，例如当本文提供的抗体用作免疫诊断试剂、和/或用于RGMc免疫测定试剂盒时。除目标RGMc分析物之外，试验样品还可以包含另外的部分，例如抗体、抗原、半抗原、激素、药物、酶、受体、蛋白、肽、多肽、寡核苷酸或多核苷酸。例如，所述样品可以是得自受试者的全血样品。可能是必需和/或需要的是，试验样品、尤其是全血，可在本文所述的免疫测定前进行处理，例如用预处理试剂进行处理。甚至在预处理不是必需的情况下(例如大多数尿样品)，也仅为方便起见而任选可以进行预处理(例如，作为商业平台上方案的部分)。样品可在得自所述受试者后直接使用或进行预处理以改变样品特性后使用。预处理可包括提取、浓缩、对干扰组分灭活、和/或添加试剂。

[0228] 预处理试剂可以是适用于本文所述的免疫测定等测定和试剂盒的任何试剂。预处理任选包含：(a) 一种或多种溶剂(例如甲醇和乙二醇)和盐，(b) 一种或多种溶剂、盐和去污剂，(C)去污剂，或(d)去污剂和盐。预处理试剂是本领域已知的，且可以采用这样的预处理，例如，用于在Abbott TDx, AxSYM®，和ARCHITECT®分析仪(Abbott Laboratories, Abbott Park, IL)上测定，如文献所述(参见例如，Yatscoff等人, Abbott TDx Monoclonal Antibody Assay Evaluated for Measuring Cyclosporine in Whole Blood, Clin. Chem. 36: 1969-1973 (1990)，和Wallemacq等人, Evaluation of the New AxSYM Cyclosporine Assay: Comparison with TDxMonoclonal Whole Blood and EMIT Cyclosporine Assays, Clin. Chem. 45: 432-435 (1999))，和/或通过市售得到。另外，预处理可以按照以下文献所述而进行：雅培(Abbott)的美国专利号5,135,875、欧洲专利公布号0 471 293、和美国专利申请公布号2008/0020401 (对于其就预处理而论的教导通过引用完全结合到本文中)。预处理试剂可以是异质试剂或均质试剂。

[0229] 使用异质预处理试剂时，预处理试剂沉淀样品中存在的分析物结合蛋白(例如，可以结合到RGMc (膜结合的RGMc或可溶性RGMc)或其片段的蛋白)。这样的预处理步骤包括通过向样品中添加预处理试剂，将形成的混合物上清液从沉淀的分析物结合蛋白分离，取出任何分析物结合蛋白。在这样的测定中，将不存在任何结合蛋白的混合物上清液用于测定中，直接进行到抗体捕获步骤。

[0230] 使用均质预处理试剂时，没有这样的分离步骤。将试验样品和预处理试剂的全部

混合物与对于RGMc (膜结合的RGMc、可溶性RGMc、膜结合的RGMc片段、可溶性RGMc片段、RGMc变体(膜结合的或可溶性RGMc)或其任何组合)的标记的特异性结合配偶体、例如标记的抗RGMc单克隆抗体(或其抗原反应性片段)接触。在由第一特异性结合配偶体捕获之前或期间,这种测定中采用的预处理试剂一般在预处理的试验样品混合物中得到稀释。尽管有这样的稀释,但一定量的预处理试剂(例如,5 M甲醇和/或0.6 M乙二醇)在捕获期间依然存在(或保留)于试验样品混合物中。

[0231] b. RGMc检测

可使用本领域已知的任何合适的测定,容易地测定身体样品中存在的RGMc (膜结合的RGMc、可溶性RGMc、膜结合的RGMc片段、可溶性RGMc片段、RGMc变体(膜结合的或可溶性RGMc)或其任何组合)的存在或量。实例包括但不限于免疫测定,例如夹心免疫测定(例如单克隆-多克隆夹心免疫测定,包括放射性同位素检测(放射免疫测定(RIA))和酶检测(酶免疫测定(EIA)或酶联免疫吸附测定(ELISA) (例如Quantikine ELISA测定,R&D Systems, Minneapolis, MN))、竞争性抑制免疫测定(例如正向和反向)、荧光偏振免疫测定(FPIA)、酶倍增免疫测定技术(EMIT)、生物发光共振能量转移(BRET)和均质化学发光测定等。在基于SELDI的免疫测定中,将特异性结合目标RGMc (或其片段)的捕获试剂附着于质谱法探针的表面,例如预活化的蛋白芯片阵列。然后将RGMc (膜结合的RGMc、可溶性RGMc、膜结合的RGMc片段、可溶性RGMc片段、RGMc变体(膜结合的或可溶性RGMc)或其任何组合)特异性捕获在生物芯片上,并通过质谱检测捕获的RGMc (膜结合的RGMc、可溶性RGMc、膜结合的RGMc片段、可溶性RGMc片段、RGMc变体(膜结合的或可溶性RGMc)或其任何组合)。或者,可以将RGMc (膜结合的RGMc、可溶性RGMc、膜结合的RGMc片段、可溶性RGMc片段、RGMc变体(膜结合的或可溶性RGMc)或其任何组合)从捕获试剂洗脱并通过传统MALDI (基质辅助激光解吸/电离)或通过SELDI检测。化学发光微粒免疫测定,特别是采用ARCHITECT®自动化分析仪(Abbott Laboratories, Abbott Park, IL)的那种,是优选免疫测定的实例。其它方法包括例如,使用针对RGMc的本文所述抗体(单克隆、多克隆、嵌合、人源化、人等)或其片段的质谱法和免疫组织化学(例如用来自组织活检的切片)。可如上所述产生抗RGMc抗体及其片段。其它检测方法包括描述于例如以下文献中的那些:美国专利号6,143,576;6,113,855;6,019,944;5,985,579;5,947,124;5,939,272;5,922,615;5,885,527;5,851,776;5,824,799;5,679,526;5,525,524;和5,480,792,其各自通过引用全部结合到本文中。

[0232] (1) 免疫测定

可使用免疫测定,分析RGMc和/或肽或其片段(例如膜结合的RGMc、可溶性RGMc、膜结合的RGMc片段、可溶性RGMc片段、RGMc变体(膜结合的或可溶性RGMc)或其任何组合)。可使用本文所述的抗体测定RGMc (例如膜结合的RGMc、可溶性RGMc、膜结合的RGMc片段、可溶性RGMc片段、RGMc变体(膜结合的或可溶性RGMc)或其任何组合)的存在或量并检测与RGMc的特异性结合。例如,所述抗体或其片段,可以特异性结合到包含SEQ ID NO:1的多肽或其片段上。所述抗体或其片段,可以特异性结合到包含SEQ ID NO:2的多肽或其片段上。如需要,本文所述的一种或多种抗体可用于与一种或多种市售的单克隆/多克隆抗体联用。这样的抗体可得自例如以下公司:R&D Systems, Inc. (Minneapolis, MN)和Enzo Life Sciences International, Inc. (Plymouth Meeting, PA)。

[0233] 可使用任何免疫测定。免疫测定可以是例如酶联免疫测定(ELISA)、放射免疫测定

(RIA)、竞争性抑制测定例如正向或反向竞争性抑制测定、荧光偏振测定或竞争性结合测定。ELISA可以是夹心ELISA。

[0234] 可以使用异质形式。例如，从受试者获得试验样品后，制备第一混合物。该混合物含有用于评价RGMc (例如膜结合的RGMc、可溶性RGMc、膜结合的RGMc片段、可溶性RGMc片段、RGMc变体(膜结合的或可溶性RGMc)或其任何组合)的试验样品和第一特异性结合配偶体，其中第一特异性结合配偶体和试验样品中含有的任何RGMc形成第一特异性结合配偶体-RGMc复合物。优选地，第一特异性结合配偶体是抗RGMc抗体或其片段。添加试验样品和第一特异性结合配偶体以形成混合物的顺序并不重要。优选地，将第一特异性结合配偶体固定在固相上。在免疫测定中使用(用于第一特异性结合配偶体，以及任选第二特异性结合配偶体)的固相可以是本领域已知的任何固相，例如但不限于磁性颗粒、珠、试管、微量滴定板、小杯(cuvette)、膜、支架分子、薄膜、滤纸、盘(disk)和芯片。

[0235] 形成含有第一特异性结合配偶体-RGMc复合物的混合物后，使用本领域已知的任何技术将任何未结合的RGMc从复合物去除。例如，可以通过洗涤将未结合的RGMc去除。然而，理想地，第一特异性结合配偶体以多于试验样品中存在的任何RGMc的量存在，从而使得存在于试验样品中的所有RGMc被第一特异性结合配偶体结合。

[0236] 去除任何未结合的RGMc后，将第二特异性结合配偶体加入混合物以形成第一特异性结合配偶体-RGMc-第二特异性结合配偶体复合物。第二特异性结合配偶体优选是与RGMc上表位结合的抗RGMc抗体，所述表位不同于第一特异性结合配偶体结合的RGMc上的表位。此外，也是优选地，第二特异性结合配偶体用如上所述的可检测标记进行标记或含有如上所述的可检测标记。

[0237] 固定化抗体或其片段的使用可包括到免疫测定中。所述抗体可以固定在各种支持物上，例如磁性或色谱基质颗粒、测定板表面(例如微量滴定板的孔)、固体基底材料片等。可通过将抗体或多种抗体包被在固体支持物上的阵列中，制备测定条。然后可将该条浸入试验生物样品中，然后经过快速洗涤和检测步骤，产生可检测信号，例如色斑。

[0238] (a) 夹心ELISA

夹心ELISA测定介于两层抗体(即捕获抗体(即至少一种捕获抗体)和检测抗体(即至少一种检测抗体)之间的抗原的量。捕获抗体和检测抗体结合到抗原例如RGMc的不同表位上。最好地，捕获抗体与表位的结合不干扰检测抗体与表位的结合。无论是单克隆抗体或是多克隆抗体都可以用作夹心ELISA中的捕获抗体和检测抗体。

[0239] 通常，使用至少2种抗体以分离和定量测定试验样品中的RGMc (例如膜结合的RGMc、可溶性RGMc、膜结合的RGMc片段、可溶性RGMc片段、RGMc变体(膜结合的或可溶性RGMc)或其任何组合)。更具体地讲，至少2种抗体结合到RGMc或RGMc片段的某些表位上，形成免疫复合物，其称为“夹心”。一种或多种抗体可用于在试验样品中捕获RGMc (例如膜结合的RGMc、可溶性RGMc、膜结合的RGMc片段、可溶性RGMc片段、RGMc变体(膜结合的或可溶性RGMc)或其任何组合) (通常将这些抗体称为“捕获”抗体)，并且可以将一种或多种抗体用于将可检测的(即可定量的)标记结合到夹心上(通常将这些抗体称为“检测抗体”)。在夹心测定中，抗体与其表位的结合最好不被测定中的任何其它抗体与其相应表位的结合削弱。换句话说，选择抗体，使得与怀疑含有RGMc (例如膜结合的RGMc、可溶性RGMc、膜结合的RGMc片段、可溶性RGMc片段、RGMc变体(膜结合的或可溶性RGMc)或其任何组合)的试验样品

接触的一种或多种第一抗体不结合到由第二或后续抗体所识别的所有或部分表位上，从而干扰一种或多种第二检测抗体结合到RGMc （例如膜结合的RGMc、可溶性RGMc、膜结合的RGMc片段、可溶性RGMc片段、RGMc变体(膜结合的或可溶性RGMc)或其任何组合)上的能力。

[0240] 所述抗体可以在所述免疫测定中用作第一抗体。优选地，所述抗体免疫特异性结合到包含SEQ ID NO:2的至少3个连续氨基酸的表位上，其K_D为$4.2x10^{-11}$ M至$7.4x10^{-13}$ M。免疫测定可包含第二抗体，其免疫特异性结合到包含SEQ ID NO:2的至少3个连续氨基酸的表位上，其中第二抗体所结合的3个连续氨基酸不同于第一抗体所结合的3个连续氨基酸。

[0241] 在一个优选的实施方案中，可将怀疑含有RGMc （例如膜结合的RGMc、可溶性RGMc、膜结合的RGMc片段、可溶性RGMc片段、RGMc变体(膜结合的或可溶性RGMc)或其任何组合)的试验样品与至少一种捕获抗体(或抗体)和至少一种检测抗体同时地或序贯地接触。在夹心测定形式中，使怀疑含有RGMc （膜结合的RGMc、可溶性RGMc、膜结合的RGMc片段、可溶性RGMc片段、RGMc变体(膜结合的或可溶性RGMc)或其任何组合)的试验样品首先与至少一种捕获抗体接触，所述捕获抗体在允许抗体-RGMc复合物形成的条件下特异性结合到特定表位。如果使用不止一种捕获抗体，则形成多个捕获抗体-RGMc复合物。在夹心测定中，以试验样品中预期的RGMc或RGMc片段的最大量的摩尔过量的量使用抗体，优选至少一种捕获抗体。例如，可使用约5 μg/mL至约1 mg/mL抗体/mL的微粒包被的缓冲液。

[0242] 任选地，在试验样品与至少一种第一捕获抗体接触之前，可以将所述至少一种捕获抗体结合在固体支持物上，这促进抗体-RGMc复合物从试验样品的分离。可以使用本领域已知的任何固体支持物，包括但不限于，以孔、管或珠形式的聚合材料制成的固体支持物。可使用化学偶联剂通过共价键合，或通过本领域已知的其它方式，通过吸附将抗体结合在固体支持物上，只要这样的结合不干扰抗体结合RGMc或RGMc片段的能力。此外，必要时，可将固体支持物衍生化，以允许与抗体上的多个官能团的反应性。这样的衍生需要使用某些偶联剂，例如但不限于马来酐、N-羟基琥珀酰亚胺、以及1-乙基-3-(3-二甲氨基丙基)碳二亚胺。

[0243] 将怀疑含有RGMc （例如膜结合的RGMc、可溶性RGMc、膜结合的RGMc片段、可溶性RGMc片段、RGMc变体(膜结合的或可溶性RGMc)或其任何组合)的试验样品与至少一种捕获抗体接触之后，孵育试验样品，以允许形成捕获抗体-RGMc复合物。可在pH约4.5至约10.0，温度约2°C至约45°C，进行孵育达至少约1分钟至约18小时、约2-6分钟或约3-4分钟。

[0244] 捕获抗体-RGMc复合物形成之后，然后将复合物与至少一种检测抗体接触(在允许形成捕获抗体-RGMc-检测抗体复合物的条件下)。如果捕获抗体-RGMc复合物与不止一种检测抗体接触，则形成捕获抗体-RGMc-检测抗体检测复合物。对于捕获抗体，当使至少一种检测(和后续)抗体与捕获抗体-RGMc复合物接触时，对于捕获抗体-RGMc-检测抗体复合物的形成，需要在类似于上述条件下的孵育周期。优选地，至少一种检测抗体含有可检测标记。在捕获抗体-RGMc-检测抗体复合物形成之前、同时或之后，可将可检测标记结合到至少一种检测抗体上。可如本文所述的和本领域已知的那样，使用本领域已知的任何可检测标记。

[0245] 可以按照以下文献所述的方法进行化学发光测定：Adamczyk等人，Anal. Chim. Acta 579(1): 61-67 (2006)。尽管可使用任何合适的测定形式，但微量板化学发光分析仪(Mithras LB-940, Berthold Technologies U.S.A., LLC, Oak Ridge, TN)使小体积的多重样品快速测定成为可能。化学发光分析仪可以装备有多重试剂注射器，使用96-孔黑色

聚苯乙烯微量板(Costar #3792)。可将各样品加入到单独孔中,然后按照所用的测定类型所确定的,同时/序贯加入其它试剂。合乎需要的是,使用吖啶芳基酯,避免在中性或碱性溶液中形成假碱(pseudobase),例如通过酸化。然后逐孔记录化学发光反应。在这一点上,记录化学发光反应的时间将部分地取决于添加试剂和使用特定吖啶之间的延迟。

[0246] 加入试验样品和特异性结合配偶体以形成用于化学发光测定的混合物的顺序并不重要。如果第一特异性结合配偶体用吖啶化合物可检测地标记,则形成可检测标记的第一特异性结合配偶体-RGMc复合物。或者,如果使用第二特异性结合配偶体并且第二特异性结合配偶体用吖啶化合物可检测地标记,形成可检测标记的第一特异性结合配偶体-RGMc-第二特异性结合配偶体复合物。使用本领域已知的任何技术,例如洗涤,任何未结合的特异性结合配偶体,无论是标记或是未标记的,都可从混合物中除去。

[0247] 可以在添加上述吖啶化合物之前、同时或之后,在混合物中原位生成过氧化氢、或为混合物提供或补充过氧化氢。可以以许多方法原位生成过氧化氢,例如对于本领域技术人员显而易见的方法。

[0248] 或者,可仅将过氧化氢的来源加入到混合物中。例如,过氧化氢的来源可为已知含有过氧化氢的一种或多种缓冲液或其它溶液。在这一点上,可仅加入过氧化氢溶液。

[0249] 在同时或随后将至少一种碱性溶液添加到样品之后,生成了指示RGMc或其片段存在的可检测信号,即化学发光信号。碱性溶液含有至少一种碱,并且具有大于或等于10、优选大于或等于12的pH。碱性溶液的实例包括但不限于氢氧化钠、氢氧化钾、氢氧化钙、氢氧化铵、氢氧化镁、碳酸钠、碳酸氢钠、氢氧化钙、碳酸钙和碳酸氢钙。加入样品的碱性溶液的量取决于碱性溶液的浓度。根据使用的碱性溶液的浓度,本领域技术人员可以容易地确定加入样品的碱性溶液的量。

[0250] 可以使用本领域技术人员已知的常规技术检测生成的化学发光信号。基于生成的信号强度,可以定量测定样品中RGMc (例如膜结合的RGMc、可溶性RGMc、膜结合的RGMc片段、可溶性RGMc片段、RGMc变体(膜结合的或可溶性RGMc)或其任何组合)的量。具体地讲,样品中RGMc的量与生成的信号强度成比例。可以通过将生成的光的量与针对RGMc的标准曲线进行比较或通过与参考标准进行比较定量测定存在的RGMc的量。可以使用连续稀释的已知浓度的RGMc溶液,通过质谱法、重量分析方法和本领域已知的其它技术生成标准曲线。

[0251] 在使用ARCHITECT® (或其后续产品)分析仪的化学发光微粒测定中,缀合物稀释剂pH应为约6.0 ± 0.2,微粒包被缓冲液应维持在约室温(即,约17至约27°C),微粒包被缓冲液pH应为约6.5 ±0.2,且微粒稀释剂pH应为约7.8 ±0.2。固体优选为少于约0.2%,例如少于约0.15%、少于约0.14%、少于约0.13%、少于约0.12%,或少于约0.11%,例如约0.10%。

[0252] (b) 正向竞争性抑制

在正向竞争性形式中,将已知浓度的等分试样的标记的RGMc (例如膜结合的RGMc肽、可溶性RGMc肽、膜结合的RGMc肽片段、可溶性RGMc片段、RGMc变体(膜结合的或可溶性RGmc)或其任何组合)用于与试验样品中的RGMc竞争结合到RGMc抗体(例如抗体)。

[0253] 在正向竞争测定中,可将固定化抗体(例如抗体)与试验样品和其标记的RGMc、RGMc片段或RGMc变体序贯地或同时地接触。RGMc肽、RGMc片段或RGMc变体可以用任何可检测标记来标记,包括以上对于抗RGMc抗体而讨论的那些可检测标记。在该测定中,可将抗体固定到固体支持物上。或者,可将所述抗体偶联到抗体例如抗种类抗体(antispecies

antibody)上,其已经固定在固体支持物例如微粒上。

[0254] 在类似于上文对于夹心测定形式所述的那些条件下,将标记的RGMc (例如膜结合的RGMc肽、可溶性RGMc肽、膜结合的RGMc肽片段、可溶性RGMc片段、RGMc变体(膜结合的或可溶性RGMc)或其任何组合)、试验样品和抗体一起孵育。然后可产生2个不同种类的抗体-RGMc复合物。具体地讲,所产生的抗体-RGMc复合物中的一种含有可检测标记,而另一种抗体-RGMc复合物不含可检测标记。在定量测定可检测标记前,抗体-RGMc复合物可以、但不必从试验样品的剩余部分中分离出来。无论抗体-RGMc复合物是否从试验样品的剩余部分中分离出来,都可定量测定抗体-RGMc复合物中的可检测标记的量。然后可通过比较抗体-RGMc复合物中的可检测标记的量与标准曲线,测定试验样品中的RGMc (例如膜结合的RGMc、可溶性RGMc、可溶性RGMc片段、RGMc变体(膜结合的或可溶性RGMc)或其任何组合)的浓度。可使用已知浓度的系列稀释的RGMc (例如膜结合的RGMc、可溶性RGMc、可溶性RGMc片段、RGMc变体(膜结合的或可溶性RGMc)或其任何组合),通过质谱法、重量分析方法和本领域已知的其它技术产生标准曲线。

[0255] 可通过将抗体结合到固体支持物例如上述对于夹心测定形式的固体支持物上,从试验样品中分离抗体-RGMc复合物,然后从与固体支持物接触中除去试验样品的剩余部分。

[0256] (c) 反向竞争测定

在反向竞争测定中,可将固定化RGMc (例如膜结合的RGMc肽、可溶性RGMc肽、膜结合的RGMc肽片段、可溶性RGMc片段、RGMc变体(膜结合的或可溶性RGmc)或其任何组合)与试验样品和至少一种标记的抗体序贯地或同时地接触。优选地,将抗体特异性结合到包含SEQ ID NO:2的至少3个氨基酸的表位或者结合到包含RGMc (SEQ ID NO:1)的氨基酸5-13、5-12、5-11、5-10、5-9、5-8、5-7、6-13、6-12、6-11、6-10、6-9、6-8、7-13、7-13、7-11、7-10、7-9、8-13、8-12、8-11、8-10、9-13、9-12、9-11、10-13、10-12或11-13的表位上。

[0257] 可将RGMc (例如膜结合的RGMc肽、可溶性RGMc肽、膜结合的RGMc肽片段、可溶性RGMc片段、RGMc变体(膜结合的或可溶性RGMc)或其任何组合)结合到固体支持物例如上述对于夹心测定形式的固体支持物上。优选地,RGMc (膜结合的或可溶性)肽片段包含RGMc (SEQ ID NO:1)的氨基酸5-13、5-12、5-11、5-10、5-9、5-8、5-7、6-13、6-12、6-11、6-10、6-9、6-8、7-13、7-13、7-11、7-10、7-9、8-13、8-12、8-11、8-10、9-13、9-12、9-11、10-13、10-12或11-13。

[0258] 在类似于上文对于夹心测定形式所述的那些条件下,将固定化RGMc (例如膜结合的RGMc肽、可溶性RGMc肽、膜结合的RGMc肽片段、可溶性RGMc片段、RGMc变体(膜结合的或可溶性RGMc)或其任何组合)、试验样品和至少一种标记的抗体一起孵育。然后产生2个不同种类的RGMc-抗体复合物。具体地讲,所产生的RGMc-抗体复合物中的一种被固定化并且含有可检测标记,而另一种RGMc-抗体复合物未被固定化并且含有可检测标记。通过本领域已知的技术例如洗涤,从固定化RGMc-抗体复合物的存在中除去未固定化的RGMc-抗体复合物和试验样品的剩余部分。一旦除去未固定化RGMc抗体复合物,然后定量测定固定化RGMc-抗体复合物中的可检测标记的量。然后可通过将RGMc-复合物中的可检测标记的量与标准曲线进行比较,测定试验样品中的RGMc ((例如膜结合的RGMc、可溶性RGMc、膜结合的RGMc片段、可溶性RGMc片段、RGMc变体(膜结合的或可溶性RGMc)或其任何组合)的浓度。可以使用连续稀释的已知浓度的RGMc或RGMc片段,通过质谱法、重量分析方法和本领域已知的其它技术

生成标准曲线。

[0259] (d) 荧光偏振

在荧光偏振测定中，可首先将抗体或其功能活性片段与怀疑含有RGMc (例如膜结合的RGMc肽、可溶性RGMc肽、膜结合的RGMc肽片段、可溶性RGMc片段、RGMc变体(膜结合的或可溶性RGMc)或其任何组合)的未标记的试验样品接触，以形成未标记的RGMc-抗体复合物。然后将未标记的RGMc-抗体复合物与荧光标记的RGMc (例如膜结合的RGMc肽、可溶性RGMc肽、膜结合的RGMc肽片段、可溶性RGMc片段、RGMc变体(膜结合的或可溶性RGMc)接触。标记的RGMc (例如膜结合的RGMc肽、可溶性RGMc肽、膜结合的RGMc肽片段、可溶性RGMc片段、RGMc变体(膜结合的或可溶性RGMc)或其任何组合)与试验样品中的任何未标记的RGMc (例如膜结合的RGMc肽、可溶性RGMc肽、膜结合的RGMc肽片段、可溶性RGMc片段、RGMc变体(膜结合的或可溶性RGMc)或其任何组合)竞争结合到抗体或其功能活性片段。测定所形成的标记的RGMc-抗体复合物的量，并通过使用标准曲线，测定试验样品中的RGMc (例如膜结合的RGMc肽、可溶性RGMc肽、膜结合的RGMc肽片段、可溶性RGMc片段、RGMc变体(膜结合的或可溶性RGMc)或其任何组合)的量。

[0260] 用于荧光偏振测定的抗体特异性结合到包含SEQ ID NO:2的至少3个氨基酸的表位或者结合到包含RGMc (SEQ ID NO:1)的氨基酸5-13、5-12、5-11、5-10、5-9、5-8、5-7、6-13、6-12、6-11、6-10、6-9、6-8、7-13、7-13、7-11、7-10、7-9、8-13、8-12、8-11、8-10、9-13、9-12、9-11、10-13、10-12或11-13的表位上。

[0261] 在类似于上文对于夹心免疫测定所述的那些条件下，可将抗体，标记的RGMc (例如膜结合的RGMc肽、可溶性RGMc肽、膜结合的RGMc肽片段、可溶性RGMc片段、RGMc变体(膜结合的或可溶性RGMc)或其任何组合)和试验样品和至少一种标记的抗体一起孵育。

[0262] 或者，可将抗体或其功能活性片段与荧光标记的RGMc (例如膜结合的RGMc肽、可溶性RGMc肽、膜结合的RGMc肽片段、可溶性RGMc片段、RGMc变体(膜结合的或可溶性RGMc)或其任何组合)和怀疑含有RGMc (例如膜结合的RGMc肽、可溶性RGMc肽、膜结合的RGMc肽片段、可溶性RGMc片段、RGMc变体(膜结合的或可溶性RGMc)或其任何组合)的未标记的试验样品同时接触，以形成标记的RGMc-抗体复合物和未标记的RGMc-抗体复合物两者。测定所形成的标记的RGMc-抗体复合物的量，并通过使用标准曲线，测定试验样品中的RGMc的量。用于该免疫测定的抗体可特异性结合到具有SEQ ID NO:1或2的氨基酸序列的表位或者结合到具有含RGMc (SEQ ID NO:1或2)的氨基酸5-13、5-12、5-11、5-10、5-9、5-8、5-7、6-13、6-12、6-11、6-10、6-9、6-8、7-13、7-13、7-11、7-10、7-9、8-13、8-12、8-11、8-10、9-13、9-12、9-11、10-13、10-12或11-13的氨基酸序列的表位上。

[0263] 或者，可首先将抗体或其功能活性片段与荧光标记的RGMc (例如膜结合的RGMc肽、可溶性RGMc肽、膜结合的RGMc肽片段、可溶性RGMc片段、RGMc变体(膜结合的或可溶性RGMc)或其任何组合)接触，以形成标记的RGMc-抗体复合物。然后将标记的RGMc-抗体复合物与怀疑含有RGMc (例如膜结合的RGMc肽、可溶性RGMc肽、膜结合的RGMc肽片段、可溶性RGMc片段、RGMc变体(膜结合的或可溶性RGMc)或其任何组合)的未标记的试验样品接触。试验样品中的任何未标记的RGMc与标记的RGMc (例如膜结合的RGMc肽、可溶性RGMc肽、膜结合的RGMc肽片段、可溶性RGMc片段、RGMc变体(膜结合的或可溶性RGMc)或其任何组合)竞争结合到抗体或其功能活性片段上。测定所形成的标记的RGMc-抗体复合物的量，并通过使用

标准曲线，测定试验样品中的RGMc的量。用于该免疫测定的抗体特异性结合到包含RGMc (SEQ ID NO:2)的氨基酸5-13的至少3个氨基酸的表位或者结合到包含RGMc (SEQ ID NO:1或2)的氨基酸13-20、13-19、13-18、13-17、13-16、14-20、14-19、14-18、14-17、14-16、15-20、15-19、15-18、16-20、16-19、17-24、17-23、17-22、17-21、17-20、17-19、18-24、18-23、18-22、18-21、18-20、19-24、19-23、19-22或19-21的表位上。

[0264] (e) 质谱法

质谱法(MS)分析可单独使用或与其它方法组合使用。其它方法包括免疫测定和上述用于测定特异性多核苷酸的那些。质谱方法可用于测定一种或多种生物标记的存在和/或量。MS分析可包含基质辅助激光解吸/电离(MALDI)飞行时间(TOF) MS分析，例如导向-点MALDI-TOF或液相色谱MALDI-TOF分析。在某些实施方案中，MS分析包括电喷雾电离(ESI) MS，例如液相色谱(LC) ESI-MS。可使用市售的质谱仪进行质谱分析。可使用利用MS分析(包括MALDI-TOF MS和ESI-MS)的方法，以检测生物样品中的生物标记肽的存在和量。参见例如，美国专利号6,925,389;6,989,100;和6,890,763用于指导，其各自通过引用结合到本文中。

[0265] C. 对照

可期需包含对照样品或校准物例如系列校准物。可与上述受试者样品同时分析对照样品。可将得自受试者样品的结果与得自对照样品的结果进行比较。可提供标准曲线，生物样品的测定结果可与之进行比较。这样的标准曲线呈现随测定单位而变的水平，即，如果使用荧光标记，测定单位就是荧光信号强度。使用取自多个供体的样品，标准曲线可提供正常组织中的RGMc的对照水平，以及取自供体的组织中的RGMc的“处于风险”水平，所述供体可具有以上给出的一个或多个特性。

[0266] 因此，考虑到以上，提供在试验样品中测定RGMc (例如膜结合的RGMc肽、可溶性RGMc肽、膜结合的RGMc肽片段、可溶性RGMc片段、RGMc变体(膜结合的或可溶性RGMc)或其任何组合)的存在、量或浓度的方法。所述方法包括：通过例如免疫测定，使用至少一种抗体和至少一种可检测标记，测定试验样品的RGMc (例如膜结合的RGMc肽、可溶性RGMc肽、膜结合的RGMc肽片段、可溶性RGMc片段、RGMc变体(膜结合的或可溶性RGMc)或其任何组合)，并包括：将由在试验样品中作为RGMc的存在、量或浓度的直接或间接指示的可检测标记产生的信号，与在校准物中作为RGMc的存在、量或浓度的直接或间接指示而产生的信号进行比较。校准物任选和优选地是系列校准物的部分，其中系列中每个校准物在RGMc浓度上不同于其它校准物。至少一种抗体中的一种是分离的抗体，其特异性结合到RGMc (例如膜结合的RGMc肽、可溶性RGMc肽、膜结合的RGMc肽片段、可溶性RGMc片段、RGMc变体(膜结合的或可溶性RGMc)或其任何组合)，其中所述抗体具有选自以下的域或区：(a)重链可变域区，其包含SEQ ID NO:3的氨基酸序列，(b)轻链可变域区，其包含SEQ ID NO:4的氨基酸序列，(c)重链可变域区，其包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列，(d)轻链可变域区，其包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列，(e)重链可变域区，其包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列，(f)轻链可变域区，其包含SEQ ID NO:8的氨基酸序列，(g)重链可变域区，其包含SEQ ID NO:9的氨基酸序列，(h)轻链可变域区，其包含SEQ ID NO:10的氨基酸序列，(i)可变重链，其含有包含SEQ ID NO:11的氨基酸序列的互补决定区(CDR)1，包含SEQ ID NO:12的氨基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO:13的氨基酸序列的CDR3，(j)可变轻链，其含有包含SEQ ID NO:14的氨基酸序列的CDR1，

包含SEQ ID NO:15的氨基酸序列的CDR2,和包含SEQ ID NO:16的氨基酸序列的CDR3,(k)可变重链,其含有包含SEQ ID NO:17的氨基酸序列的CDR1,包含SEQ ID NO:18的氨基酸序列的CDR2,和包含SEQ ID NO:19的氨基酸序列的CDR3,(l)可变轻链,其含有包含SEQ ID NO:20的氨基酸序列的CDR1,包含SEQ ID NO:21的氨基酸序列的CDR2,和包含SEQ ID NO:22的氨基酸序列的CDR3,(m)可变重链,其含有包含SEQ ID NO:23的氨基酸序列的CDR1,包含SEQ ID NO:24的氨基酸序列的CDR2,和包含SEQ ID NO:25的氨基酸序列的CDR3,(n)可变轻链,其含有包含SEQ ID NO:26的氨基酸序列的CDR1,包含SEQ ID NO:27的氨基酸序列的CDR2,和包含SEQ ID NO:28的氨基酸序列的CDR3,(o)可变重链,其含有包含SEQ ID NO:29的氨基酸序列的CDR1,包含SEQ ID NO:30的氨基酸序列的CDR2,和包含SEQ ID NO:31的氨基酸序列的CDR3,(p)可变轻链,其含有包含SEQ ID NO:32的氨基酸序列的CDR1,包含SEQ ID NO:33的氨基酸序列的CDR2,和包含SEQ ID NO:34的氨基酸序列的CDR3,(q)可变重链,其含有包含SEQ ID NO:11的氨基酸序列的互补决定区(CDR)1,包含SEQ ID NO:12的氨基酸序列的CDR2,和包含SEQ ID NO:13的氨基酸序列的CDR3,以及可变轻链,其含有包含SEQ ID NO:14的氨基酸序列的CDR1,包含SEQ ID NO:15的氨基酸序列的CDR2,和包含SEQ ID NO:16的氨基酸序列的CDR3,(r)可变重链,其含有包含SEQ ID NO:17的氨基酸序列的CDR1,包含SEQ ID NO:18的氨基酸序列的CDR2,和包含SEQ ID NO:19的氨基酸序列的CDR3,以及可变轻链,其含有包含SEQ ID NO:20的氨基酸序列的CDR1,包含SEQ ID NO:21的氨基酸序列的CDR2,和包含SEQ ID NO:22的氨基酸序列的CDR3,(s)可变重链,其含有包含SEQ ID NO:23的氨基酸序列的CDR1,包含SEQ ID NO:24的氨基酸序列的CDR2,和包含SEQ ID NO:25的氨基酸序列的CDR3,以及可变轻链,其含有包含SEQ ID NO:26的氨基酸序列的CDR1,包含SEQ ID NO:27的氨基酸序列的CDR2,和包含SEQ ID NO:28的氨基酸序列的CDR3,(t)可变重链,其含有包含SEQ ID NO:29的氨基酸序列的CDR1,包含SEQ ID NO:30的氨基酸序列的CDR2,和包含SEQ ID NO:31的氨基酸序列的CDR3,以及可变轻链,其含有包含SEQ ID NO:32的氨基酸序列的CDR1,包含SEQ ID NO:33的氨基酸序列的CDR2,和包含SEQ ID NO:34的氨基酸序列的CDR3。

[0267] 任选地,所述抗体具有选自表2中提供的序列的域或区。例如,所述抗体具有选自以下的域或区:(a)重链可变域区,其包含SEQ ID NO:37的氨基酸序列,(b)轻链可变域区,其包含SEQ ID NO:38的氨基酸序列,(c)重链可变域区,其包含SEQ ID NO:39的氨基酸序列,(d)轻链可变域区,其包含SEQ ID NO:40的氨基酸序列,(e)重链可变域区,其包含SEQ ID NO:41的氨基酸序列,(f)轻链可变域区,其包含SEQ ID NO:42的氨基酸序列,(g)重链可变域区,其包含SEQ ID NO:43的氨基酸序列,(h)轻链可变域区,其包含SEQ ID NO:44的氨基酸序列,(i)重链可变域区,其包含SEQ ID NO:45的氨基酸序列,(j)轻链可变域区,其包含SEQ ID NO:46的氨基酸序列,(k)重链可变域区,其包含SEQ ID NO:47的氨基酸序列,(l)轻链可变域区,其包含SEQ ID NO:48的氨基酸序列,(m)重链可变域区,其包含SEQ ID NO:49的氨基酸序列,(n)轻链可变域区,其包含SEQ ID NO:50的氨基酸序列,(o)重链可变域区,其包含SEQ ID NO:51的氨基酸序列,(p)轻链可变域区,其包含SEQ ID NO:52的氨基酸序列,(q)重链可变域区,其包含SEQ ID NO:53的氨基酸序列,(r)轻链可变域区,其包含SEQ ID NO:54的氨基酸序列,(s)重链可变域区,其包含SEQ ID NO:55的氨基酸序列,(t)轻链可变域区,其包含SEQ ID NO:56的氨基酸序列,(u)重链可变域区,其包含SEQ ID NO:57的氨

基酸序列，(v)轻链可变域区，其包含SEQ ID NO:58的氨基酸序列，(w)重链可变域区，其包含SEQ ID NO:59的氨基酸序列，(x)轻链可变域区，其包含SEQ ID NO:60的氨基酸序列，(y)重链可变域区，其包含SEQ ID NO:61的氨基酸序列，(z)轻链可变域区，其包含SEQ ID NO:62的氨基酸序列，(aa)重链可变域区，其包含SEQ ID NO:63的氨基酸序列，(bb)轻链可变域区，其包含SEQ ID NO:64的氨基酸序列，(cc)重链可变域区，其包含SEQ ID NO:65的氨基酸序列，(dd)轻链可变域区，其包含SEQ ID NO:66的氨基酸序列，(ee)重链可变域区，其包含SEQ ID NO:67的氨基酸序列，(ff)轻链可变域区，其包含SEQ ID NO:68的氨基酸序列，(gg)重链可变域区，其包含SEQ ID NO:69的氨基酸序列，(hh)轻链可变域区，其包含SEQ ID NO:70的氨基酸序列，(ii)重链可变域区，其包含SEQ ID NO:71的氨基酸序列，(jj)轻链可变域区，其包含SEQ ID NO:72的氨基酸序列，(kk)重链可变域区，其包含SEQ ID NO:73的氨基酸序列，(ll)轻链可变域区，其包含SEQ ID NO:74的氨基酸序列，(mm)重链可变域区，其包含SEQ ID NO:75的氨基酸序列，(nn)轻链可变域区，其包含SEQ ID NO:76的氨基酸序列，(oo)可变重链，其含有包含SEQ ID NO:77的氨基酸序列的互补决定区(CDR)1，包含SEQ ID NO:78的氨基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO:79的氨基酸序列的CDR3，(pp)可变轻链，其含有包含SEQ ID NO:80的氨基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO:81的氨基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO:82的氨基酸序列的CDR3，或(qq)可变重链，其含有包含SEQ ID NO:77的氨基酸序列的互补决定区(CDR)1，包含SEQ ID NO:78的氨基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO:79的氨基酸序列的CDR3，以及可变轻链，其含有包含SEQ ID NO:80的氨基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO:81的氨基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO:82的氨基酸序列的CDR3。

[0268] 所述方法可包括(i) 使试验样品与至少一种捕获抗体接触，所述抗体结合到RGMc(例如膜结合的RGMc肽、可溶性RGMc肽、膜结合的RGMc肽片段、可溶性RGMc片段、RGMc变体(膜结合的或可溶性RGMc)或其任何组合)上的表位，从而形成捕获抗体/RGMc (例如膜结合的RGMc肽、可溶性RGMc肽、膜结合的RGMc肽片段、可溶性RGMc片段、RGMc变体(膜结合的或可溶性RGMc)或其任何组合)复合物，(ii) 使所述捕获抗体/RGMc (例如膜结合的RGMc肽、可溶性RGMc肽、膜结合的RGMc肽片段、可溶性RGMc片段、RGMc变体(膜结合的或可溶性RGMc)或其任何组合)复合物与至少一种检测抗体接触，所述检测抗体包含可检测标记并结合到所述捕获抗体未结合的RGMc (例如膜结合的RGMc肽、可溶性RGMc肽、膜结合的RGMc肽片段、可溶性RGMc片段、RGMc变体(膜结合的或可溶性RGMc)或其任何组合)上的表位，以形成捕获抗体/RGMc (例如膜结合的RGMc肽、可溶性RGMc肽、膜结合的RGMc肽片段、可溶性RGMc片段、RGMc变体(膜结合的或可溶性RGMc)或其任何组合)/检测抗体复合物，和(iii) 根据由在(ii)中形成的捕获抗体/RGMc (例如膜结合的RGMc肽、可溶性RGMc肽、膜结合的RGMc肽片段、可溶性RGMc片段、RGMc变体(膜结合的或可溶性RGMc)或其任何组合)/检测抗体复合物中的可检测标记产生的信号，在所述试验样品中测定RGMc (或其片段)的量。

[0269] 或者，所述方法可包括：(i) 使试验样品与至少一种捕获抗体接触，所述抗体结合到RGMc (例如膜结合的RGMc肽、可溶性RGMc肽、膜结合的RGMc肽片段、可溶性RGMc片段、RGMc变体(膜结合的或可溶性RGMc)或其任何组合)上的表位，从而形成捕获抗体/RGMc (例如膜结合的RGMc肽、可溶性RGMc肽、膜结合的RGMc肽片段、可溶性RGMc片段、RGMc变体(膜结合的或可溶性RGMc)或其任何组合)复合物，并且同时地或序贯地，以任一顺序，使试验样品与可检测标记的RGMc (例如膜结合的RGMc肽、可溶性RGMc肽、膜结合的RGMc肽片段、可溶性

RGMc片段、RGMc变体(膜结合的或可溶性RGMc)或其任何组合)接触,所述可检测标记的RGMc可与试验样品中的任何RGMc (例如膜结合的RGMc肽、可溶性RGMc肽、膜结合的RGMc肽片段、可溶性RGMc片段、RGMc变体(膜结合的或可溶性RGMc)或其任何组合)竞争结合至少一种捕获抗体。所述试验样品中存在的任何RGMc (例如膜结合的RGMc肽、可溶性RGMc肽、膜结合的RGMc肽片段、可溶性RGMc片段、RGMc变体(膜结合的或可溶性RGMc)或其任何组合)和所述可检测标记的RGMc彼此竞争以分别形成捕获抗体/RGMc (例如膜结合的RGMc肽、可溶性RGMc肽、膜结合的RGMc肽片段、可溶性RGMc片段、RGMc变体(膜结合的或可溶性RGMc)或其任何组合)复合物和捕获抗体/可检测标记的RGMc (例如膜结合的RGMc肽、可溶性RGMc肽、膜结合的RGMc肽片段、可溶性RGMc片段、RGMc变体(膜结合的或可溶性RGMc)或其任何组合)复合物。所述方法进一步包括(ii) 根据由在(ii)中形成的捕获抗体/可检测标记的RGMc (例如膜结合的RGMc肽、可溶性RGMc肽、膜结合的RGMc肽片段、可溶性RGMc片段、RGMc变体(膜结合的或可溶性RGMc)或其任何组合)复合物中的可检测标记产生的信号,在所述试验样品中测定RGMc的存在、量或浓度。由在捕获抗体/可检测标记的RGMc (例如膜结合的RGMc肽、可溶性RGMc肽、膜结合的RGMc肽片段、可溶性RGMc片段、RGMc变体(膜结合的或可溶性RGMc)或其任何组合)复合物中的可检测标记产生的信号与所述试验样品中的RGMc的量或浓度成反比。

[0270] 在一个实施方案中,可将小鼠抗RGMc Ab直接或间接(例如经由绵羊(或其它物种)抗小鼠Ab)连接到固体支持物。样品中存在的并与固体支持物接触的任何RGMc被小鼠抗RGMc Ab结合。生物素-标记的山羊抗RGMc Ab也结合到RGMc。与辣根过氧化物酶(HRPO)连接的链霉抗生物素结合到山羊抗RGMc Ab上的生物素。在与邻苯二胺接触之后,HRPO将邻苯二胺转化成2,3-二氨基吩嗪,后者是橙棕色的并且可在492 nm处进行分光光度检测。

[0271] 所述方法可进一步包括诊断、预测或评价获取试验样品的患者的治疗性/预防性治疗的功效。如果所述方法进一步包括评价获取试验样品的患者的治疗性/预防性治疗的功效,所述方法任选地进一步包括视需要修改患者的治疗性/预防性治疗,以改善功效。可使所述方法适用于自动化系统或半自动化系统。

[0272] 通常,可以采用预定水平作为基准,针对所述基准来评价测定试验样品中的RGMc(例如膜结合的RGMc肽、可溶性RGMc肽、膜结合的RGMc肽片段、可溶性RGMc片段、RGMc变体(膜结合的或可溶性RGMc)或其任何组合)之后的所得结果。通常,在进行这样的比较时,通过将具体测定运行足够次数且在适当的条件下获得预定水平,从而将分析物的存在、量或浓度与疾病、病症或病况(例如铁相关病症,例如如本文讨论的和/或本领域已知的铁过载或铁缺乏相关的病症)的特定阶段或终点、或与具体标记进行联系或关联。一般,使用参考受试者(或受试者群体)的测定获得预定水平。测量的RGMc可以包括其片段、其降解产物、和/或其酶切割产物。

[0273] 具体地讲,关于用于监测疾病进展和/或治疗的预定水平,RGMc (例如膜结合的RGMc肽、可溶性RGMc肽、膜结合的RGMc肽片段、可溶性RGMc片段、RGMc变体(膜结合的或可溶性RGMc)或其任何组合)的量或浓度可以是“无变化的”、“有利的”(或“有利改变的”)、或“不利的”(或“不利改变的”)。“升高的”或“增加的”指试验样品中的量或浓度高于一般或正常水平或范围(例如预定水平)、或高于另一个参考水平或范围(例如较早或基线样品)。术语“降低的”或“减少的”指试验样品中的量或浓度低于一般或正常水平或范围(例如预定水

平)、或低于另一个参考水平或范围(例如较早或基线样品)。术语“改变的”指样品中的量或浓度相对于一般或正常水平或范围(例如预定水平)、或相对于另一个参考水平或范围(例如较早或基线样品)而改变(增加或减少)。

[0274] 根据标准实践定义RGMc的一般或正常水平或范围。当与一般或正常水平或范围、或参考水平或范围相比,存在不能由实验误差或样品差异解释的任何净变化时,可认为已经出现了所谓的改变水平或改变。因此,在特定样品中测量的水平将与来自所谓的正常受试者的类似样品中确定的水平或水平范围进行比较。在此情况下,分别地,“正常受试者”是例如没有可检测的疾病或病症的个体,而“正常”(有时称为“对照”)患者或群体是例如没有表现可检测疾病或病症的那些患者或群体。“表观正常受试者”是其中RGMc尚未进行评估或正在进行评估的受试者。当分析物正常不可检测(例如,正常水平是零,或在正常群体的约25至约75百分位范围内),但是在试验样品中检测到时,以及当分析物以高于正常水平存在于试验样品中时,认为该分析物水平是“升高的”。因此,本公开内容尤其提供了筛查患有铁相关病症例如如本文讨论的和/或本领域已知的铁过载或铁缺乏相关的病症或处于患有所述病症的风险之中的受试者的方法。

[0275] 通常,可以采用预定水平作为基准,针对所述基准来评价在测定试验样品中的铁调素之后的所得结果。通常,在进行这样的比较时,通过将具体测定运行足够次数且在适当的条件下获得预定水平,从而将分析物的存在、量或浓度与疾病、病症或病况(例如铁相关病症,例如如本文讨论的和/或本领域已知的铁过载或铁缺乏相关的病症)的特定阶段或终点、或与具体标记进行联系或关联。一般,使用参考受试者(或受试者群体)的测定获得预定水平。测量的铁调素可以包括其片段、其降解产物、和/或其酶切割产物。

[0276] 具体地讲,关于用于监测疾病进展和/或治疗的预定水平,铁调素的量或浓度可以是“无变化的”、“有利的”(或“有利改变的”)、或“不利的”(或“不利改变的”)。“升高的”或“增加的”指试验样品中的量或浓度高于一般或正常水平或范围(例如预定水平)、或高于另一个参考水平或范围(例如较早或基线样品)。术语“降低的”或“减少的”指试验样品中的量或浓度低于一般或正常水平或范围(例如预定水平)、或低于另一个参考水平或范围(例如较早或基线样品)。术语“改变的”指样品中的量或浓度相对于一般或正常水平或范围(例如预定水平)、或相对于另一个参考水平或范围(例如较早或基线样品)而改变(增加或减少)。

[0277] 根据标准实践定义铁调素的一般或正常水平或范围。当与一般或正常水平或范围、或参考水平或范围相比,存在不能由实验误差或样品差异解释的任何净变化时,可认为已经出现了所谓的改变水平或改变。因此,在特定样品中测量的水平将与来自所谓的正常受试者的类似样品中确定的水平或水平范围进行比较。在此情况下,分别地,“正常受试者”是例如没有可检测的疾病或病症的个体,而“正常”(有时称为“对照”)患者或群体是例如没有表现可检测疾病或病症的那些患者或群体。“表观正常受试者”是其中铁调素尚未进行评估或正在进行评估的受试者。当分析物正常不可检测(例如,正常水平是零,或在正常群体的约25至约75百分位范围内),但是在试验样品中检测到时,以及当分析物以高于正常水平存在于试验样品中时,认为该分析物水平是“升高的”。因此,本公开内容尤其提供了筛查患有铁相关病症例如如本文讨论的和/或本领域已知的铁过载或铁缺乏相关的病症或处于患有所述病症的风险之中的受试者的方法。

[0278] 测定方法也可包括如本文讨论的和本领域已知的其它标记等的测定。例如,测定

方法也可包括对例如以下的测定:铁调素(如上所述)、再生蛋白、生长分化因子15 (GDF-15)、嗜中性粒细胞明胶酶相关的脂质运载蛋白(NGAL)、白介素6 (IL-6)和/或BMP-6。

[0279] 本文所述的方法也可用于判定受试者是否患有例如本文讨论的和本领域已知的铁相关病症或处于发展所述病症的风险之中。具体地讲,这样的方法可包括以下步骤:

(a) 使用本文所述的方法或本领域已知的方法,在来自受试者的试验样品中测定RGMc(例如膜结合的RGMc肽、可溶性RGMc肽、膜结合的RGMc肽片段、可溶性RGMc片段、RGMc变体(膜结合的或可溶性RGMc)或其任何组合的浓度或量;和

(b) 将步骤(a)中测定的RGMc (例如膜结合的RGMc肽、可溶性RGMc肽、膜结合的RGMc肽片段、可溶性RGMc片段、RGMc变体(膜结合的或可溶性RGMc)或其任何组合)的浓度或量与预定水平进行比较,其中,如果步骤(a)中测定的RGMc的浓度或量相对于预定水平是有利的,那么就判定所述受试者未患如本文讨论的和本领域已知的铁相关病症或未处于所述病症的风险之中。然而,如果步骤(a)中测定的RGMc的浓度或量相对于预定水平是不利的,那么就判定所述受试者患有如本文讨论的和本领域已知的铁相关病症或处于所述病症的风险之中。

[0280] 另外,本文提供了在受试者中监测疾病进程的方法。优选地,所述方法包括以下步骤:

(a) 在来自受试者的试验样品中测定RGMc (例如膜结合的RGMc肽、可溶性RGMc肽、膜结合的RGMc肽片段、可溶性RGMc片段、RGMc变体(膜结合的或可溶性RGMc)或其任何组合)的浓度或量;

(b) 在来自所述受试者的随后的试验样品中测定RGMc的浓度或量;和

(c) 将步骤(b)中测定的RGMc的浓度或量与步骤(a)中测定的RGMc的浓度或量进行比较,其中当与步骤(a)中测定的RGMc的浓度或量相比,如果步骤(b)中测定的浓度或量未改变或者是不利的,那么就判定所述受试者的疾病持续、发展或恶化。通过比较,当与步骤(a)中测定的RGMc的浓度或量相比,如果步骤(b)中测定的RGMc的浓度或量是有利的,那么就判定所述受试者的疾病已经停止、消退或改善。

[0281] 任选地,所述方法进一步包括将例如步骤(b)中测定的RGMc的浓度或量与预定水平进行比较。此外,如果比较显示例如步骤(b)中测定的RGMc的浓度或量相对于预定水平是不利地改变时,任选地所述方法包括用一种或多种药物组合物对所述受试者治疗一段时间。

[0282] 再另外,所述方法可用于在接受一种或多种药物组合物治疗的受试者中监测治疗。具体地讲,这样的方法包括在将一种或多种药物组合物给予受试者之前,提供来自受试者的第一试验样品。然后,测定来自受试者的第一试验样品中的RGMc的浓度或量(例如使用本文所述的或本领域已知的方法)。测定RGMc的浓度或量之后,任选地再将RGMc的浓度或量与预定水平进行比较。如果第一试验样品中测定的RGMc的浓度或量低于预定水平,那么所述受试者不用一种或多种药物组合物治疗。然而,如果第一试验样品中测定的RGMc的浓度或量高于预定水平,那么所述受试者用一种或多种药物组合物治疗一段时间。本领域技术人员可以确定受试者用一种或多种药物组合物治疗的时间段(例如,时间段可以是约7天至约2年,优选约14天至约1年)。

[0283] 在用一种或多种药物组合物治疗过程期间,然后从受试者获得第二和后续试验样

品。从受试者获得所述试验样品的试验样品数目和时间并不关键。例如，第二试验样品可以在首次给予受试者一种或多种药物组合物后7天获得，第三试验样品可以在首次给予受试者一种或多种药物组合物后2周获得，第四试验样品可以在首次给予受试者一种或多种药物组合物后3周获得，第五试验样品可以在首次给予受试者一种或多种药物组合物后4周获得，等。

[0284] 从受试者获得每个第二或后续试验样品后，确定第二或后续试验样品中的RGMc(例如膜结合的RGMc肽、可溶性RGMc肽、膜结合的RGMc肽片段、可溶性RGMc片段、RGMc变体(膜结合的或可溶性RGMc)或其任何组合)的浓度或量(例如，使用本文所述的或本领域已知的方法)。然后将第二和后续试验样品的每一个中测定的RGMc的浓度或量与第一试验样品(例如，最初任选与预定水平进行比较的试验样品)中测定的RGMc的浓度或量进行比较。如果当与步骤(a)中测定的RGMc的浓度或量相比，步骤(c)中测定的RGMc的浓度或量是有利的，那么就判定受试者的疾病已经停止、消退或改善，且应当对受试者继续给予步骤(b)的一种或多种药物组合物。然而，如果当与步骤(a)中测定的RGMc的浓度或量相比，步骤(c)中测定的浓度或量无变化或是不利的，那么就判定受试者中的疾病持续、发展或恶化，且应当用更高浓度的步骤(b)中给予受试者的一种或多种药物组合物治疗受试者，或者应当用不同于步骤(b)中给予受试者的一种或多种药物组合物的一种或多种药物组合物治疗受试者。具体地讲，可以用不同于受试者先前已经接受的用于减少或降低受试者的RGMc水平的一种或多种药物组合物的一种或多种药物组合物治疗受试者。

[0285] 通常，对于可能进行重复测试的测定(例如，监测疾病进展和/或对治疗的反应)，在已从受试者获得第一试验样品之后的一段时间获得第二或后续的试验样品。具体地讲，可以在已从受试者获得第一试验样品之后的数分钟、数小时、数天、数周或数年获得来自受试者的第二试验样品。例如，可以在从受试者获得第一试验样品之后的如下时间段从受试者获得第二试验样品：约1分钟、约5分钟、约10分钟、约15分钟、约30分钟、约45分钟、约60分钟、约2小时、约3小时、约4小时、约5小时、约6小时、约7小时、约8小时、约9小时、约10小时、约11小时、约12小时、约13小时、约14小时、约15小时、约16小时、约17小时、约18小时、约19小时、约20小时、约21小时、约22小时、约23小时、约24小时、约2天、约3天、约4天、约5天、约6天、约7天、约2周、约3周、约4周、约5周、约6周、约7周、约8周、约9周、约10周、约11周、约12周、约13周、约14周、约15周、约16周、约17周、约18周、约19周、约20周、约21周、约22周、约23周、约24周、约25周、约26周、约27周、约28周、约29周、约30周、约31周、约32周、约33周、约34周、约35周、约36周、约37周、约38周、约39周、约40周、约41周、约42周、约43周、约44周、约45周、约46周、约47周、约48周、约49周、约50周、约51周、约52周、约1.5年、约2年、约2.5年、约3.0年、约3.5年、约4.0年、约4.5年、约5.0年、约5.5.年、约6.0年、约6.5年、约7.0年、约7.5年、约8.0年、约8.5年、约9.0年、约9.5年或约10.0年。当用于监测疾病进程时，上述测定可用于在罹患急性病症的受试者中监测疾病进程。急性病症，也称为重症监护病症，是指涉及例如心血管系统或排泄系统的急性、威胁生命的疾病或其它危急医学病症。一般，重症监护病症是指需要在基于医院的环境(包括但不限于急诊室、重症监护病房、创伤中心、或其它急救护理环境)中的急性医学干预或通过随行医务人员或其它现场医学人员(field-based medical personnel)管理的那些状况。对于重症监护病症，通常在较短的时间范围内进行重复监测，所述较短的时间范围即数分钟、数小时或数天(例如，约1分钟、约5分钟、约10分

钟、约15分钟、约30分钟、约45分钟、约60分钟、约2小时、约3小时、约4小时、约5小时、约6小时、约7小时、约8小时、约9小时、约10小时、约11小时、约12小时、约13小时、约14小时、约15小时、约16小时、约17小时、约18小时、约19小时、约20小时、约21小时、约22小时、约23小时、约24小时、约2天、约3天、约4天、约5天、约6天或约7天)，而最初的测定同样通常在较短时间范围内完成，例如疾病或病症发作的约数分钟、数小时或数天。

[0286] 测定也可用于在罹患慢性或非急性病症的受试者中监测疾病进程。非重症监护或非急性病症是指除了涉及例如心血管系统和/或排泄系统的急性、威胁生命的疾病或其它危急医学病症之外的病症。一般，非急性病症包括具有长期或慢性持续时间的那些。对于非急性病症，通常在较长的时间范围内进行重复监测，例如数小时、数天、数周、数月或数年(例如，约1小时、约2小时、约3小时、约4小时、约5小时、约6小时、约7小时、约8小时、约9小时、约10小时、约11小时、约12小时、约13小时、约14小时、约15小时、约16小时、约17小时、约18小时、约19小时、约20小时、约21小时、约22小时、约23小时、约24小时、约2天、约3天、约4天、约5天、约6天、约7天、约2周、约3周、约4周、约5周、约6周、约7周、约8周、约9周、约10周、约11周、约12周、约13周、约14周、约15周、约16周、约17周、约18周、约19周、约20周、约21周、约22周、约23周、约24周、约25周、约26周、约27周、约28周、约29周、约30周、约31周、约32周、约33周、约34周、约35周、约36周、约37周、约38周、约39周、约40周、约41周、约42周、约43周、约44周、约45周、约46周、约47周、约48周、约49周、约50周、约51周、约52周、约1.5年、约2年、约2.5年、约3.0年、约3.5年、约4.0年、约4.5年、约5.0年、约5.5.年、约6.0年、约6.5年、约7.0年、约7.5年、约8.0年、约8.5年、约9.0年、约9.5年或约10.0年)，而最初的测定同样通常在较长时间范围内完成，例如疾病或病症发作的约数小时、数天、数月或数年。

[0287] 此外，可以使用从受试者获得的第一试验样品进行上述测定，其中第一试验样品得自一个来源，例如尿、血清或血浆。任选地，然后可以使用从受试者获得的第二试验样品重复上述测定，其中所述第二试验样品得自另一个来源。例如，如果从尿获得第一试验样品，则可以从血清或血浆获得第二试验样品。可以比较从使用第一试验样品和第二试验样品的测定获得的结果。可以将该比较用于评估受试者的疾病或病症的状态。

[0288] 此外，本公开内容也涉及判定易感或罹患疾病(例如铁相关病症，例如如本文讨论的和本领域已知的铁过载或铁缺乏)的受试者是否会从治疗中受益的方法。具体地讲，本公开内容涉及RGMc伴随诊断方法(companion diagnostic method)和产品。因此，如本文所述的“监测受试者的疾病治疗”的方法另外也可以优选包括选择或鉴定用于治疗的候选者，例如用红细胞生成素(EPO)的治疗。

[0289] 因此，在具体的实施方案中，本公开内容也提供了判定患有铁相关病症(例如如本文讨论的和本领域已知的铁过载或铁缺乏)或处于发展所述病症的风险之中的受试者是否是用于治疗的候选者的方法。通常，受试者是经历过疾病的一些症状的受试者，或是实际上已诊断为患有这样的疾病或处于发展这样的疾病的风险之中的受试者，和/或显示本文所述的RGMc或其片段的不利浓度或量的受试者。

[0290] 所述方法任选包括如本文所述的测定，其中在用一种或多种药物组合物(例如，特别是用与涉及RGMc的作用机制相关的药物)对受试者进行治疗之前和之后评估分析物，或其中在这类治疗之后评估分析物，并将分析物的浓度或量与预定水平进行比较。治疗之后观察到的不利的分析物浓度或量，证实受试者将不会受益于接受进一步或继续治疗，而治

疗之后观察到的有利的分析物浓度或量，证实受试者将会受益于接受进一步或继续治疗。这种证实有助于管理临床研究和提供改进的患者护理。

[0291] 不言而喻，尽管本文的某些实施方案在用于评价铁相关病症、例如铁缺乏或铁过载时是有益的，但如果合适时，测定和试剂盒也任选可用于评价其它疾病、病症和病况中的RGMc。

[0292] 所述测定方法也可用于鉴定改善铁相关病症、例如铁缺乏或铁过载的化合物。例如，可以使表达RGMc的细胞与候选化合物接触。可以使用本文所述的测定方法将与化合物接触的细胞中的RGMc表达水平与对照细胞中的RGMc表达水平进行比较。

[0293] 6．试剂盒/药盒

本文提供了试剂盒/药盒(kit)，其可用于治疗罹患铁相关病症的受试者或将受试者诊断为患有本文先前所述的铁相关病症。

[0294] 用于治疗患者的药盒将含有对RGMc具有特异性的抗体。所述药盒优选地包括使用本文所述的抗体来治疗受试者的说明书。药盒中包括的说明书可贴在包装材料上或可以作为包装插入物而包括。尽管说明书通常是书写或印刷材料，但它们不限于此。能够存储这类说明书并将其传播给终端用户的任何媒介都涵盖在本公开内容中。这样的媒介包括但不限于电子存储媒介(例如磁盘、带、盒、芯片)、光学媒介(例如CD ROM)等。如本文所用，术语“说明书”可包括提供说明书的互联网网站的网址。

[0295] 还提供了用于测定试验样品中的RGMc (例如膜结合的RGMc肽、可溶性RGMc肽、膜结合的RGMc肽片段、可溶性RGMc片段、RGMc变体(膜结合的或可溶性RGMc)或其任何组合)的试剂盒。所述试剂盒包含用于测定试验样品中的RGMc的至少一种组分，以及用于测定试验样品的RGMc (例如膜结合的RGMc肽、可溶性RGMc肽、膜结合的RGMc肽片段、可溶性RGMc片段、RGMc变体(膜结合的或可溶性RGMc)或其任何组合)的说明书。至少一种组分包括包含分离的抗体的至少一种组合物，所述抗体特异性结合到RGMc (例如膜结合的RGMc肽、可溶性RGMc肽、膜结合的RGMc肽片段、可溶性RGMc片段、RGMc变体(膜结合的或可溶性RGMc)或其任何组合)。所述抗体可以具有：(i) 包含SEQ ID NO:3的氨基酸序列的重链可变域区和包含SEQ ID NO:4的氨基酸序列的轻链可变域区，(ii) 包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列的重链可变域区和包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列的轻链可变域区，(iii) 包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列的重链可变域区和包含SEQ ID NO:8的氨基酸序列的轻链可变域区，(iv)包含SEQ ID NO:9的氨基酸序列的重链可变域区和包含SEQ ID NO:10的氨基酸序列的轻链可变域区，(vi)可变重链，其含有包含SEQ ID NO:11的氨基酸序列的互补决定区(CDR)1，包含SEQ ID NO:12的氨基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO:13的氨基酸序列的CDR3，以及可变轻链，其含有包含SEQ ID NO:14的氨基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO:15的氨基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO:16的氨基酸序列的CDR3，(r)可变重链，其含有包含SEQ ID NO:17的氨基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO:18的氨基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO:19的氨基酸序列的CDR3，以及可变轻链，其含有包含SEQ ID NO:20的氨基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO:21的氨基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO:22的氨基酸序列的CDR3，(s)可变重链，其含有包含SEQ ID NO:23的氨基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO:24的氨基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO:25的氨基酸序列的CDR3，以及可变轻链，其含有包含SEQ ID NO:26的氨基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO:27的氨基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO:28的氨基酸序列的

CDR3，(t)可变重链，其含有包含SEQ ID NO:29的氨基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO:30的氨基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO:31的氨基酸序列的CDR3，以及可变轻链，其含有包含SEQ ID NO:32的氨基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO:33的氨基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO:34的氨基酸序列的CDR3。所述抗体任选被可检测标记。

[0296] 任选地，所述抗体可以具有选自表2中提供的序列的域或区。例如，所述抗体可以具有：(a)重链可变域区，其包含SEQ ID NO:37的氨基酸序列，(b)轻链可变域区，其包含SEQ ID NO:38的氨基酸序列，(c)重链可变域区，其包含SEQ ID NO:39的氨基酸序列，(d)轻链可变域区，其包含SEQ ID NO:40的氨基酸序列，(e)重链可变域区，其包含SEQ ID NO:41的氨基酸序列，(f)轻链可变域区，其包含SEQ ID NO:42的氨基酸序列，(g)重链可变域区，其包含SEQ ID NO:43的氨基酸序列，(h)轻链可变域区，其包含SEQ ID NO:44的氨基酸序列，(i)重链可变域区，其包含SEQ ID NO:45的氨基酸序列，(j)轻链可变域区，其包含SEQ ID NO:46的氨基酸序列，(k)重链可变域区，其包含SEQ ID NO:47的氨基酸序列，(l)轻链可变域区，其包含SEQ ID NO:48的氨基酸序列，(m)重链可变域区，其包含SEQ ID NO:49的氨基酸序列，(n)轻链可变域区，其包含SEQ ID NO:50的氨基酸序列，(o)重链可变域区，其包含SEQ ID NO:51的氨基酸序列，(p)轻链可变域区，其包含SEQ ID NO:52的氨基酸序列，(q)重链可变域区，其包含SEQ ID NO:53的氨基酸序列，(r)轻链可变域区，其包含SEQ ID NO:54的氨基酸序列，(s)重链可变域区，其包含SEQ ID NO:55的氨基酸序列，(t)轻链可变域区，其包含SEQ ID NO:56的氨基酸序列，(u)重链可变域区，其包含SEQ ID NO:57的氨基酸序列，(v)轻链可变域区，其包含SEQ ID NO:58的氨基酸序列，(w)重链可变域区，其包含SEQ ID NO:59的氨基酸序列，(x)轻链可变域区，其包含SEQ ID NO:60的氨基酸序列，(y)重链可变域区，其包含SEQ ID NO:61的氨基酸序列，(z)轻链可变域区，其包含SEQ ID NO:62的氨基酸序列，(aa)重链可变域区，其包含SEQ ID NO:63的氨基酸序列，(bb)轻链可变域区，其包含SEQ ID NO:64的氨基酸序列，(cc)重链可变域区，其包含SEQ ID NO:65的氨基酸序列，(dd)轻链可变域区，其包含SEQ ID NO:66的氨基酸序列，(ee)重链可变域区，其包含SEQ ID NO:67的氨基酸序列，(ff)轻链可变域区，其包含SEQ ID NO:68的氨基酸序列，(gg)重链可变域区，其包含SEQ ID NO:69的氨基酸序列，(hh)轻链可变域区，其包含SEQ ID NO:70的氨基酸序列，(ii)重链可变域区，其包含SEQ ID NO:71的氨基酸序列，(jj)轻链可变域区，其包含SEQ ID NO:72的氨基酸序列，(kk)重链可变域区，其包含SEQ ID NO:73的氨基酸序列，(ll)轻链可变域区，其包含SEQ ID NO:74的氨基酸序列，(mm)重链可变域区，其包含SEQ ID NO:75的氨基酸序列，(nn)轻链可变域区，其包含SEQ ID NO:76的氨基酸序列，(oo)可变重链，其含有包含SEQ ID NO:77的氨基酸序列的互补决定区(CDR)1，包含SEQ ID NO:78的氨基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO:79的氨基酸序列的CDR3，(pp)可变轻链，其含有包含SEQ ID NO:80的氨基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO:81的氨基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO:82的氨基酸序列的CDR3，或(qq)可变重链，其含有包含SEQ ID NO:77的氨基酸序列的互补决定区(CDR)1，包含SEQ ID NO:78的氨基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO:79的氨基酸序列的CDR3，以及可变轻链，其含有包含SEQ ID NO:80的氨基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO:81的氨基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO:82的氨基酸序列的CDR3。所述抗体任选被可检测标记。

[0297] 例如，试剂盒可包含用于通过免疫测定、例如化学发光微粒免疫测定来测定试验

样品的RGMc (例如膜结合的RGMc肽、可溶性RGMc肽、膜结合的RGMc肽片段、可溶性RGMc片段、RGMc变体(膜结合的或可溶性RGMc)或其任何组合)的说明书。说明书可以是纸质形式或计算机可读形式,例如盘、CD、DVD等。所述抗体可以是RGMc捕获抗体和/或RGMc检测抗体。备选或另外,试剂盒可包含校准物或对照,例如纯化的和任选冻干的RGMc (例如膜结合的RGMc肽、可溶性RGMc肽、膜结合的RGMc肽片段、可溶性RGMc片段、RGMc变体(膜结合的或可溶性RGMc)或其任何组合);和/或用于进行测定的至少一个容器(例如管、微量滴定板或条,其可以是已经包被有抗RGMc单克隆抗体);和/或缓冲液,例如测定缓冲液或洗涤缓冲液,其任一种都可以浓缩溶液形式提供;用于可检测标记(例如酶标记)的底物溶液;或终止溶液。优选地,试剂盒包含所有组分,即试剂、标准品、缓冲液、稀释剂等,这些都是进行测定所必需的。说明书也可包括为了定量测定RGMc的目的而用于产生标准曲线或参考标准的说明书。

[0298] 试剂盒中提供的任何抗体、例如对RGMc具有特异性的重组抗体可包括可检测标记,例如荧光团、放射性部分、酶、生物素/抗生物素蛋白标记、发色团、化学发光标记等,或者试剂盒可包括用于标记抗体的试剂或者用于检测抗体的试剂(例如检测抗体)和/或用于标记分析物的试剂或者用于检测分析物的试剂。可在单独的容器中提供抗体、校准物和/或对照或者可将抗体、校准物和/或对照预分配到合适的测定形式例如微量滴定板中。

[0299] 任选地,试剂盒包括质量控制组分(例如,灵敏度组、校准物和阳性对照)。质量控制试剂的制备是本领域众所周知的并描述于各种免疫诊断产品的插入页上。灵敏度组成员任选地用于建立测定性能特性,并且进一步任选地为免疫测定试剂盒试剂的完整性和测定标准化的指示物。

[0300] 试剂盒也可任选地包括进行诊断测定或便于质量控制评价所需的其它试剂,例如缓冲液、盐、酶、酶的辅因子、底物、检测试剂等。其它组分,例如用于分离和/或处理试验样品的缓冲液和溶液(例如预处理试剂),也可包含在试剂盒中。试剂盒可以额外包括一种或多种其它对照。试剂盒的一种或多种组分可以是冻干的,在这种情况下,试剂盒可进一步包括适合冻干组分重构的试剂。

[0301] 如有必要,任选在合适容器(例如微量滴定板)中提供试剂盒的各种组分。试剂盒可以另外包括保持或贮存样品的容器(例如用于血浆、血清或尿样品的容器或筒)。适当时,试剂盒任选也可以含有反应容器、混合容器和促进试剂或试验样品制备的其它组分。试剂盒也可以包括帮助获得试验样品的一个或多个仪器,例如注射器、移液器、镊子、量勺(measuredspoon)等。

[0302] 如果可检测标记是至少一种吖啶化合物,则试剂盒可包含至少一种吖啶-9-甲酰胺、至少一种吖啶-9-羧酸芳基酯或其任何组合。如果可检测标记是至少一种吖啶化合物,则试剂盒也可包含过氧化氢的来源,例如缓冲液、溶液、和/或至少一种碱性溶液。如需要,试剂盒可以含有固相,例如磁性颗粒、珠、试管、微量滴定板、小杯、膜、支架分子、薄膜、滤纸、盘或芯片。

[0303] 如需要,试剂盒可进一步包括一种或多种组分,单独或与说明书在一起,用于测定试验样品中的另一种分析物,其可以是生物标记,例如铁相关病症、例如铁缺乏或铁过载的生物标记。其它分析物的实例包括但不限于铁调素、再生蛋白、生长分化因子15 (GDF-15)、嗜中性粒细胞明胶酶相关的脂质运载蛋白(NGAL)、白介素6 (IL-6)和/或BMP-6、以及本文所述的其它分析物和生物标记。可优选的是,用于测定试验样品中的铁调素的一种或多种

组分使铁调素-25的存在、量或浓度的测定成为可能。可使用TOF-MS和例如内部标准，测定样品例如血浆样品、血清样品或尿样品中的铁调素-25。

[0304] a. 试剂盒和方法的适应

可使试剂盒(或其组分)、以及通过本文所述的免疫测定在试验样品中测定RGMc浓度的方法适用于各种自动化和半自动化系统(包括其中固相包含微粒的系统)，例如如以下文献所述：美国专利号5,089,424和5,006,309，和由例如以下公司市售：Abbott Laboratories (Abbott Park, IL)作为ARCHITECT®销售。

[0305] 与非自动化系统(例如ELISA)相比，自动化或半自动化系统之间的一些差异包括附着第一特异性结合配偶体(例如分析物抗体、或捕获抗体)的基质(其可影响夹心形成和分析物反应性)、以及捕获、检测和/或任何任选洗涤步骤的长度和时间控制。非自动化形式(例如ELISA)可能需要与样品和捕获试剂孵育相对较长的时间(例如约2小时)，但自动化或半自动化形式(例如ARCHITECT®和任何后续平台，Abbott Laboratories)可能具有相对较短的孵育时间(例如对于ARCHITECT®约18分钟)。类似地，非自动化形式(例如ELISA)可孵育检测抗体(例如缀合试剂)相对较长的孵育时间(例如约2小时)，但自动化或半自动化形式(例如ARCHITECT®和任何后续平台)可具有相对较短的孵育时间(例如对于ARCHITECT®和任何后续平台约4分钟)。

[0306] 可从Abbott Laboratories获得的其它平台包括但不限于AxSYM®, IMx® (参见例如，美国专利号5,294,404，其通过引用全部结合到本文中)、PRISM®，、EIA(珠)、和Quantum™ II，以及其它平台。另外，可以采用其它形式的所述测定、试剂盒和试剂盒组分，例如在电化学或其它手提式或现场护理(point-of-care)测定系统中。本公开内容例如适用于进行夹心免疫测定的商业Abbott Point of Care (i-STAT®, Abbott Laboratories)电化学免疫测定系统。在例如美国专利号5,063,081、美国专利申请公布号2003/0170881、美国专利申请公布号2004/0018577、美国专利申请公布号2005/0054078和美国专利申请公布号2006/0160164 ((对于其关于上述的教导，通过引用全部结合到本文中)中描述了在一次性使用测试设备中的免疫传感器及其制造和操作方法。

[0307] 具体地讲，关于测定对于i-STAT®系统的适应，优选下述构型。用一对金电流分析工作电极和银-氯化银参考电极制造微制作硅芯片。在一个工作电极上，将具有固定化的捕获抗体的聚苯乙烯珠(0.2 mm直径)，与电极上形成图案的聚乙烯醇聚合物涂层粘附。将该芯片以适于免疫测定的流体学形式装配到i-STAT®筒中。在筒的样品保持室壁的部分上，有含有用碱性磷酸酶(或其它标记)标记的检测抗体的层。在筒的流体袋内是包括对氨基苯酚磷酸酯的含水试剂。

[0308] 在操作中，将怀疑含有RGMc的样品添加到测试筒的保持室，并将筒插入i-STAT®阅读器。在将第二抗体(检测抗体)溶解到样品中后，筒中的泵元件迫使样品进入含有芯片的管道。在此将其振荡以促进在第一捕获抗体、RGMc和标记的第二检测抗体之间形成夹心。在测定的倒数第二个步骤中，迫使流体从袋出来并进入管道，以将样品从芯片上洗掉且进入废物室中。在测定的最终步骤中，碱性磷酸酶标记与对氨基苯酚磷酸酯反应，以切割磷酸基团并允许释放的对氨基苯酚在工作电极上被电化学氧化。根据测量的电流，阅读器能够通过嵌入式算法和工厂确定的校准曲线计算样品中分析物RGMc的量。

[0309] 还不言而喻的是，本文所述方法和试剂盒必然包括实施免疫测定的其它试剂和方

法。例如，包括各种缓冲液，例如本领域已知的和/或易于制备或经优化而应用的，例如用于洗涤，作为缀合物稀释剂、微粒稀释剂、和/或作为校准物稀释剂。示例性缀合物稀释剂是用于某些试剂盒(Abbott Laboratories, Abbott Park, IL)中并含有2-(N-吗啉代)乙磺酸(MES)、盐、蛋白封闭剂、抗微生物剂和去污剂的ARCHITECT®缀合物稀释剂。示例性校准物稀释剂是用于某些试剂盒(Abbott Laboratories, Abbott Park, IL)中并包含含有MES、其它盐、蛋白封闭剂和抗微生物剂的缓冲液的ARCHITECT®人校准物稀释剂。另外，如2008年12月31日提交的美国专利申请号61/142,048中所述，例如在I-STAT®筒形式中，使用与信号抗体连接的核酸序列作为信号放大器，可以获得改善的信号生成。

[0310] 本发明具有多方面，由以下非限制性实施例举例说明。对于本领域技术人员将显而易见的是，对本文所述的方法的其它合适修改和改动是显而易见的，且在不偏离本公开内容或本文公开的实施方案的范围的情况下可以使用合适的等同方案进行这些修改和改动。尽管现已详细描述本发明，但通过参考下述实施例将更清楚地理解本发明，包括所述实施例仅用于举例说明目的且不希望限制要求保护的本发明。本文提及的所有期刊文献、美国专利和出版物的公开内容都通过引用全部结合到本文中，其程度与各个出版物明确地和单独地通过引用全部结合到本文中一样。所用的术语和表达用于描述而非限制术语。在这一点上，尽管在“定义”下定义了某些术语并在“发明详述”的其它地方定义、描述或讨论了某些术语，但是所有这些定义、描述和讨论意图都归因于这类术语。这些术语和表达的使用也并非意在排除所示和所述的特征的任何等同物或其部分。此外，尽管小标题，例如“定义”用于“发明详述”中，但是这样的应用仅为了参考方便而无意将一个部分作出的任何公开内容仅限于该部分；而是，在一个小标题下作出的任何公开内容意图构成各个和每个其它小标题下的公开内容。

[0311] 本发明还涉及以下实施方案：

实施方案1. 分离的抗体或其抗体片段，其结合到排斥性导向分子c (“RGMc”)上，其中所述抗体包含选自以下的域或区：(a)重链可变域区，其包含SEQ ID NO:3的氨基酸序列，(b)轻链可变域区，其包含SEQ ID NO:4的氨基酸序列，(c)重链可变域区，其包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列，(d)轻链可变域区，其包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列，(e)重链可变域区，其包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列，(f)轻链可变域区，其包含SEQ ID NO:8的氨基酸序列，(g)重链可变域区，其包含SEQ ID NO:9的氨基酸序列，(h)轻链可变域区，其包含SEQ ID NO:10的氨基酸序列，(p)可变重链，其含有包含SEQ ID NO:11的氨基酸序列的互补决定区(CDR)1，包含SEQ ID NO:12的氨基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO:13的氨基酸序列的CDR3，(q)可变轻链，其含有包含SEQ ID NO:14的氨基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO:15的氨基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO:16的氨基酸序列的CDR3，(r)可变重链，其含有包含SEQ ID NO:17的氨基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO:18的氨基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO:19的氨基酸序列的CDR3，(s)可变轻链，其含有包含SEQ ID NO:20的氨基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO:21的氨基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO:22的氨基酸序列的CDR3，(t)可变重链，其含有包含SEQ ID NO:23的氨基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO:24的氨基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO:25的氨基酸序列的CDR3，(u)可变轻链，其含有包含SEQ ID NO:26的氨基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO:27的氨基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO:28的氨基酸序列的CDR3，(v)可变重链，其含有包含SEQ ID NO:29的氨基酸序列的CDR1，包含

SEQ ID NO:30的氨基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO:31的氨基酸序列的CDR3，(w)可变轻链，其含有包含SEQ ID NO:32的氨基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO:33的氨基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO:34的氨基酸序列的CDR3，(x)可变重链，其含有包含SEQ ID NO:11的氨基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO:12的氨基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO:13的氨基酸序列的CDR3，以及可变轻链，其含有包含SEQ ID NO:14的氨基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO:15的氨基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO:16的氨基酸序列的CDR3，(y)可变重链，其含有包含SEQ ID NO:17的氨基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO:18的氨基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO:19的氨基酸序列的CDR3，以及可变轻链，其含有包含SEQ ID NO:20的氨基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO:21的氨基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO:22的氨基酸序列的CDR3，(z)可变重链，其含有包含SEQ ID NO:23的氨基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO:24的氨基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO:25的氨基酸序列的CDR3，以及可变轻链，其含有包含SEQ ID NO:26的氨基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO:27的氨基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO:28的氨基酸序列的CDR3，和(aa)可变重链，其含有包含SEQ ID NO:29的氨基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO:30的氨基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO:31的氨基酸序列的CDR3，以及可变轻链，其含有包含SEQ ID NO:32的氨基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO:33的氨基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO:34的氨基酸序列的CDR3。

[0312] 实施方案2. 实施方案1的分离的抗体或抗体片段，其中所述抗体选自免疫球蛋白分子、二硫键连接的Fv、亲和力成熟的抗体、scFv、嵌合抗体、单域抗体、CDR-移植抗体、双链抗体、单克隆抗体、人源化抗体、人抗体、多特异性抗体、Fab、双重特异性抗体、DVD、Fab'、双特异性抗体、F(ab')2和Fv。

[0313] 实施方案3. 实施方案2的分离的抗体或抗体片段，其中所述抗体或抗体片段是单克隆抗体、人源化抗体或人抗体。

[0314] 实施方案4. 实施方案1的分离的抗体或抗体片段，其中所述抗体或抗体片段包含选自以下的重链免疫球蛋白恒定域：人IgM恒定域、人IgG4恒定域、人IgG1恒定域、人IgE恒定域、人IgG2恒定域、人IgG3恒定域和人IgA恒定域。

[0315] 实施方案5. 实施方案1的分离的抗体或抗体片段，其中所述抗体含有包含SEQ ID NO:3的氨基酸序列的重链可变域区，包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列的重链可变域区，包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列的重链可变域区，或包含SEQ ID NO:9的氨基酸序列的重链可变域区。

[0316] 实施方案6. 实施方案1的分离的抗体或抗体片段，其中所述抗体含有包含SEQ ID NO:4的氨基酸序列的轻链可变域区，包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列的轻链可变域区，包含SEQ ID NO:8的氨基酸序列的轻链可变域区，或包含SEQ ID NO:10的氨基酸序列的轻链可变域区。

[0317] 实施方案7. 实施方案1的分离的抗体或抗体片段，其中所述抗体含有包含SEQ ID NO:3的氨基酸序列的重链可变域区和包含SEQ ID NO:4的氨基酸序列的轻链可变域区。

[0318] 实施方案8. 实施方案1的分离的抗体或抗体片段，其中所述抗体含有包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列的重链可变域区和包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列的轻链可变域区。

[0319] 实施方案9. 实施方案1的分离的抗体或抗体片段，其中所述抗体含有包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列的重链可变域区和包含SEQ ID NO:8的氨基酸序列的轻链可变域区。

[0320] 实施方案10. 实施方案1的分离的抗体或抗体片段，其中所述抗体含有包含SEQ ID NO:9的氨基酸序列的重链可变域区和包含SEQ ID NO:10的氨基酸序列的轻链可变域区。

[0321] 实施方案11. 实施方案1的分离的抗体或抗体片段，其中所述抗体包含可变重链，其含有包含SEQ ID NO:11的氨基酸序列的互补决定区(CDR)1，包含SEQ ID NO:12的氨基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO:13的氨基酸序列的CDR3。

[0322] 实施方案12. 实施方案1的分离的抗体或抗体片段，其中所述抗体包含可变轻链，其含有包含SEQ ID NO:14的氨基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO:15的氨基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO:16的氨基酸序列的CDR3。

[0323] 实施方案13. 实施方案1的分离的抗体或抗体片段，其中所述抗体包含可变重链，其含有包含SEQ ID NO:17的氨基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO:18的氨基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO:19的氨基酸序列的CDR3。

[0324] 实施方案14. 实施方案1的分离的抗体或抗体片段，其中所述抗体包含可变轻链，其含有包含SEQ ID NO:20的氨基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO:21的氨基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO:22的氨基酸序列的CDR3。

[0325] 实施方案15. 实施方案1的分离的抗体或抗体片段，其中所述抗体包含可变重链，其含有包含SEQ ID NO:23的氨基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO:24的氨基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO:25的氨基酸序列的CDR3。

[0326] 实施方案16. 实施方案1的分离的抗体或抗体片段，其中所述抗体包含可变轻链，其含有包含SEQ ID NO:26的氨基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO:27的氨基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO:28的氨基酸序列的CDR3。

[0327] 实施方案17. 实施方案1的分离的抗体或抗体片段，其中所述抗体包含可变重链，其含有包含SEQ ID NO:29的氨基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO:30的氨基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO:31的氨基酸序列的CDR3。

[0328] 实施方案18. 实施方案1的分离的抗体或抗体片段，其中所述抗体包含可变轻链，其含有包含SEQ ID NO:32的氨基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO:33的氨基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO:34的氨基酸序列的CDR3。

[0329] 实施方案19. 实施方案1的分离的抗体或抗体片段，其中所述抗体包含可变重链，其含有包含SEQ ID NO:11的氨基酸序列的互补决定区(CDR)1，包含SEQ ID NO:12的氨基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO:13的氨基酸序列的CDR3，以及可变轻链，其含有包含SEQ ID NO:14的氨基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO:15的氨基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO:16的氨基酸序列的CDR3。

[0330] 实施方案20. 实施方案1的分离的抗体或抗体片段，其中所述抗体包含可变重链，其含有包含SEQ ID NO:17的氨基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO:18的氨基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO:19的氨基酸序列的CDR3，以及可变轻链，其含有包含SEQ ID NO:20的氨基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO:21的氨基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO:22的氨基酸序列的CDR3。

[0331] 实施方案21. 实施方案1的分离的抗体或抗体片段，其中所述抗体包含可变重链，其含有包含SEQ ID NO:23的氨基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO:24的氨基酸序列的CDR2，

和包含SEQ ID NO:25的氨基酸序列的CDR3,以及可变轻链,其含有包含SEQ ID NO:26的氨基酸序列的CDR1,包含SEQ ID NO:27的氨基酸序列的CDR2,和包含SEQ ID NO:28的氨基酸序列的CDR3。

[0332] 实施方案22. 实施方案1的分离的抗体或抗体片段,其中所述抗体包含可变重链,其含有包含SEQ ID NO:29的氨基酸序列的CDR1,包含SEQ ID NO:30的氨基酸序列的CDR2,和包含SEQ ID NO:31的氨基酸序列的CDR3,以及可变轻链,其含有包含SEQ ID NO:32的氨基酸序列的CDR1,包含SEQ ID NO:33的氨基酸序列的CDR2,和包含SEQ ID NO:34的氨基酸序列的CDR3。

[0333] 实施方案23. 实施方案1-22的抗体或抗体片段,其中所述抗体或抗体片段进一步包含选自以下的试剂:免疫粘附分子、成像剂和治疗药。

[0334] 实施方案24. 实施方案23的分离的抗体或抗体片段,其中所述成像剂选自放射性标记、酶、荧光标记、发光标记、生物发光标记、磁标记和生物素。

[0335] 实施方案25. 实施方案24的分离的抗体或抗体片段,其中所述放射性标记选自3H、14C、35S、90Y、99Tc、111In、125I、131I、177Lu、166Ho和153Sm。

[0336] 实施方案26. 分离的核酸,其编码SEQ ID NOs:3-34的任何一个。

[0337] 实施方案27. 分离的核酸,其编码实施方案1或5-22中任一项的抗体或抗体片段。

[0338] 实施方案28. 药物组合物,其包含实施方案1或5-22的抗体、抗体片段、其混合物或其衍生物。

[0339] 实施方案29. 治疗铁代谢疾病的方法,包括将治疗或预防有效量的抗体给予有需要的受试者,其中所述抗体包含选自以下的域或区:(a)重链可变域区,其包含SEQ ID NO:3的氨基酸序列,(b)轻链可变域区,其包含SEQ ID NO:4的氨基酸序列,(c)重链可变域区,其包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列,(d)轻链可变域区,其包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列,(e)重链可变域区,其包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列,(f)轻链可变域区,其包含SEQ ID NO:8的氨基酸序列,(g)重链可变域区,其包含SEQ ID NO:9的氨基酸序列,(h)轻链可变域区,其包含SEQ ID NO:10的氨基酸序列,(i)可变重链,其含有包含SEQ ID NO:11的氨基酸序列的互补决定区(CDR)1,包含SEQ ID NO:12的氨基酸序列的CDR2,和包含SEQ ID NO:13的氨基酸序列的CDR3,(j)可变轻链,其含有包含SEQ ID NO:14的氨基酸序列的CDR1,包含SEQ ID NO:15的氨基酸序列的CDR2,和包含SEQ ID NO:16的氨基酸序列的CDR3,(k)可变重链,其含有包含SEQ ID NO:17的氨基酸序列的CDR1,包含SEQ ID NO:18的氨基酸序列的CDR2,和包含SEQ ID NO:19的氨基酸序列的CDR3,(l)可变轻链,其含有包含SEQ ID NO:20的氨基酸序列的CDR1,包含SEQ ID NO:21的氨基酸序列的CDR2,和包含SEQ ID NO:22的氨基酸序列的CDR3,(m)可变重链,其含有包含SEQ ID NO:23的氨基酸序列的CDR1,包含SEQ ID NO:24的氨基酸序列的CDR2,和包含SEQ ID NO:25的氨基酸序列的CDR3,(n)可变轻链,其含有包含SEQ ID NO:26的氨基酸序列的CDR1,包含SEQ ID NO:27的氨基酸序列的CDR2,和包含SEQ ID NO:28的氨基酸序列的CDR3,(o)可变重链,其含有包含SEQ ID NO:29的氨基酸序列的CDR1,包含SEQ ID NO:30的氨基酸序列的CDR2,和包含SEQ ID NO:31的氨基酸序列的CDR3,(p)可变轻链,其含有包含SEQ ID NO:32的氨基酸序列的CDR1,包含SEQ ID NO:33的氨基酸序列的CDR2,和包含SEQ ID NO:34的氨基酸序列的CDR3,(q)可变重链,其含有包含SEQ ID NO:11的氨基酸序列的互补决定区(CDR)1,包含SEQ ID NO:12的氨基酸序列的CDR2,和包含

SEQ ID NO:13的氨基酸序列的CDR3,以及可变轻链,其含有包含SEQ ID NO:14的氨基酸序列的CDR1,包含SEQ ID NO:15的氨基酸序列的CDR2,和包含SEQ ID NO:16的氨基酸序列的CDR3,(r)可变重链,其含有包含SEQ ID NO:17的氨基酸序列的CDR1,包含SEQ ID NO:18的氨基酸序列的CDR2,和包含SEQ ID NO:19的氨基酸序列的CDR3,以及可变轻链,其含有包含SEQ ID NO:20的氨基酸序列的CDR1,包含SEQ ID NO:21的氨基酸序列的CDR2,和包含SEQ ID NO:22的氨基酸序列的CDR3,(s)可变重链,其含有包含SEQ ID NO:23的氨基酸序列的CDR1,包含SEQ ID NO:24的氨基酸序列的CDR2,和包含SEQ ID NO:25的氨基酸序列的CDR3,以及可变轻链,其含有包含SEQ ID NO:26的氨基酸序列的CDR1,包含SEQ ID NO:27的氨基酸序列的CDR2,和包含SEQ ID NO:28的氨基酸序列的CDR3,和(t)可变重链,其含有包含SEQ ID NO:29的氨基酸序列的CDR1,包含SEQ ID NO:30的氨基酸序列的CDR2,和包含SEQ ID NO:31的氨基酸序列的CDR3,以及可变轻链,其含有包含SEQ ID NO:32的氨基酸序列的CDR1,包含SEQ ID NO:33的氨基酸序列的CDR2,和包含SEQ ID NO:34的氨基酸序列的CDR3,其中在所述受试者中治疗性或预防性治疗铁代谢疾病。

[0340] 实施方案30.实施方案29的方法,其中所述铁代谢疾病选自慢性病贫血(ACD)、铁-难治性缺铁性贫血、慢性肾病性贫血、红细胞生成刺激剂抵抗和β-地中海贫血。

[0341] 实施方案31.实施方案29的方法,其中所述抗体或抗体片段选自免疫球蛋白分子、二硫键连接的Fv、单克隆抗体、亲和力成熟的抗体、scFv、嵌合抗体、单域抗体、CDR-移植抗体、双链抗体、人源化抗体、人抗体、多特异性抗体、Fab、双重特异性抗体、DVD、Fab'、双特异性抗体、F(ab')2和Fv。

[0342] 实施方案32.实施方案29的方法,其中所述抗体或抗体片段包含重链可变区,其包含选自SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:7和SEQ ID NO:9的序列。

[0343] 实施方案33.实施方案29的方法,其中所述抗体或抗体片段包含轻链可变区,其包含选自SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:8和SEQ ID NO:10的序列。

[0344] 实施方案34.实施方案29的方法,其中所述抗体或抗体片段包含轻链可变域,其包含SEQ ID NO:14、SEQ ID NO:15和SEQ ID NO:16、或SEQ ID NO:20、SEQ ID NO:21和SEQ ID NO:22、或SEQ ID NO:26、SEQ ID NO:27和SEQ ID NO:28、或SEQ ID NO:32、SEQ ID NO:33和SEQ ID NO:34的互补决定区(CDR)残基。

[0345] 实施方案35.实施方案29的方法,其中所述抗体或抗体片段包含重链可变域,其包含SEQ ID NO:11、SEQ ID NO:12和SEQ ID NO:13、或SEQ ID NO:17、SEQ ID NO:18和SEQ ID NO:19、或SEQ ID NO:23、SEQ ID NO:24和SEQ ID NO:25、或SEQ ID NO:29、SEQ ID NO:30和SEQ ID NO:31的互补决定区(CDR)残基。

[0346] 实施方案36.实施方案29的方法,其中所述抗体或抗体片段包含重链可变域,其包含SEQ ID NO:11、SEQ ID NO:12和SEQ ID NO:13的互补决定区(CDR)残基,以及轻链可变域,其包含SEQ ID NO:14、SEQ ID NO:15和SEQ ID NO:16的互补决定区(CDR)残基。

[0347] 实施方案37.实施方案29的方法,其中所述抗体或抗体片段包含重链可变域,其包含SEQ ID NO:17、SEQ ID NO:18和SEQ ID NO:19的互补决定区(CDR)残基,以及轻链可变域,其包含SEQ ID NO:20、SEQ ID NO:21和SEQ ID NO:22的互补决定区(CDR)残基。

[0348] 实施方案38.实施方案29的方法,其中所述抗体或抗体片段包含重链可变域,其包含SEQ ID NO:23、SEQ ID NO:24和SEQ ID NO:25的互补决定区(CDR)残基,以及轻链可变

域，其包含SEQ ID NO:26、SEQ ID NO:27和SEQ ID NO:28的互补决定区(CDR)残基。

[0349] 实施方案39. 实施方案29的方法，其中所述抗体或抗体片段包含重链可变域，其包含SEQ ID NO:29、SEQ ID NO:30和SEQ ID NO:31的互补决定区(CDR)残基，以及轻链可变域，其包含SEQ ID NO:32、SEQ ID NO:33和SEQ ID NO:34的互补决定区(CDR)残基。

[0350] 实施方案40. 判定受试者是否患有铁相关病症的方法，包括：

(a) 在来自所述受试者的样品中测量膜结合的或可溶性RGMc的水平；和

(b) 将所述样品中的RGMc水平与正常对照进行比较，

其中RGMc水平的改变就表明所述受试者患有铁相关病症，

其中使用包含选自以下的域或区的抗体测量RGMc的水平：(a)重链可变域区，其包含SEQ ID NO:3的氨基酸序列，(b)轻链可变域区，其包含SEQ ID NO:4的氨基酸序列，(c)重链可变域区，其包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列，(d)轻链可变域区，其包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列，(e)重链可变域区，其包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列，(f)轻链可变域区，其包含SEQ ID NO:8的氨基酸序列，(g)重链可变域区，其包含SEQ ID NO:9的氨基酸序列，(h)轻链可变域区，其包含SEQ ID NO:10的氨基酸序列，(i)可变重链，其含有包含SEQ ID NO:11的氨基酸序列的互补决定区(CDR)1，包含SEQ ID NO:12的氨基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO:13的氨基酸序列的CDR3，(j)可变轻链，其含有包含SEQ ID NO:14的氨基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO:15的氨基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO:16的氨基酸序列的CDR3，(k)可变重链，其含有包含SEQ ID NO:17的氨基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO:18的氨基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO:19的氨基酸序列的CDR3，(l)可变轻链，其含有包含SEQ ID NO:20的氨基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO:21的氨基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO:22的氨基酸序列的CDR3，(m)可变重链，其含有包含SEQ ID NO:23的氨基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO:24的氨基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO:25的氨基酸序列的CDR3，(n)可变轻链，其含有包含SEQ ID NO:26的氨基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO:27的氨基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO:28的氨基酸序列的CDR3，(o)可变重链，其含有包含SEQ ID NO:29的氨基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO:30的氨基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO:31的氨基酸序列的CDR3，(p)可变轻链，其含有包含SEQ ID NO:32的氨基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO:33的氨基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO:34的氨基酸序列的CDR3，(q)可变重链，其含有包含SEQ ID NO:11的氨基酸序列的互补决定区(CDR)1，包含SEQ ID NO:12的氨基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO:13的氨基酸序列的CDR3，以及可变轻链，其含有包含SEQ ID NO:14的氨基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO:15的氨基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO:16的氨基酸序列的CDR3，(r)可变重链，其含有包含SEQ ID NO:17的氨基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO:18的氨基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO:19的氨基酸序列的CDR3，以及可变轻链，其含有包含SEQ ID NO:20的氨基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO:21的氨基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO:22的氨基酸序列的CDR3，(s)可变重链，其含有包含SEQ ID NO:23的氨基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO:24的氨基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO:25的氨基酸序列的CDR3，以及可变轻链，其含有包含SEQ ID NO:26的氨基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO:27的氨基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO:28的氨基酸序列的CDR3，和(t)可变重链，其含有包含SEQ ID NO:29的氨基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO:30的氨基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO:31的氨基酸序列的CDR3，以及可变轻链，其含有包含SEQ ID NO:32的氨基酸

序列的CDR1，包含SEQ ID NO:33的氨基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO:34的氨基酸序列的CDR3。

[0351] 实施方案41. 实施方案40的方法，其中所述抗体或抗体片段包含重链可变区，其包含选自SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:7和SEQ ID NO:9的序列。

[0352] 实施方案42. 实施方案40的方法，其中所述抗体或抗体片段包含轻链可变区，其包含选自SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:8和SEQ ID NO:10的序列。

[0353] 实施方案43. 实施方案40的方法，其中所述抗体或抗体片段包含轻链可变域，其包含SEQ ID NO:14、SEQ ID NO:15和SEQ ID NO:16、或SEQ ID NO:20、SEQ ID NO:21和SEQ ID NO:22、或SEQ ID NO:26、SEQ ID NO:27和SEQ ID NO:28、或SEQ ID NO:32、SEQ ID NO:33和SEQ ID NO:34的互补决定区(CDR)残基。

[0354] 实施方案44. 实施方案40的方法，其中所述抗体或抗体片段包含重链可变域，其包含SEQ ID NO:11、SEQ ID NO:12和SEQ ID NO:13、或SEQ ID NO:17、SEQ ID NO:18和SEQ ID NO:19、或SEQ ID NO:23、SEQ ID NO:24和SEQ ID NO:25、或SEQ ID NO:29、SEQ ID NO:30和SEQ ID NO:31的互补决定区(CDR)残基。

[0355] 实施方案45. 实施方案40的方法，其中所述抗体或抗体片段包含重链可变域，其包含SEQ ID NO:11、SEQ ID NO:12和SEQ ID NO:13的互补决定区(CDR)残基，以及轻链可变域，其包含SEQ ID NO:14、SEQ ID NO:15和SEQ ID NO:16的互补决定区(CDR)残基。

[0356] 实施方案46. 实施方案40的方法，其中所述抗体或抗体片段包含重链可变域，其包含SEQ ID NO:17、SEQ ID NO:18和SEQ ID NO:19的互补决定区(CDR)残基，以及轻链可变域，其包含SEQ ID NO:20、SEQ ID NO:21和SEQ ID NO:22的互补决定区(CDR)残基。

[0357] 实施方案47. 实施方案40的方法，其中所述抗体或抗体片段包含重链可变域，其包含SEQ ID NO:23、SEQ ID NO:24和SEQ ID NO:25的互补决定区(CDR)残基，以及轻链可变域，其包含SEQ ID NO:26、SEQ ID NO:27和SEQ ID NO:28的互补决定区(CDR)残基。

[0358] 实施方案48. 实施方案40的方法，其中所述抗体或抗体片段包含重链可变域，其包含SEQ ID NO:29、SEQ ID NO:30和SEQ ID NO:31的互补决定区(CDR)残基，以及轻链可变域，其包含SEQ ID NO:32、SEQ ID NO:33和SEQ ID NO:34的互补决定区(CDR)残基。

[0359] 实施方案49. 实施方案40的方法，其中所述抗体或抗体片段进一步包含选自以下的试剂：免疫粘附分子、成像剂和治疗药。

[0360] 实施方案50. 实施方案49的方法，其中所述成像剂选自放射性标记、酶、荧光标记、发光标记、生物发光标记、磁标记和生物素。

[0361] 实施方案51. 实施方案50的方法，其中所述放射性标记选自3H、14 C、35S、90Y、99Tc、111In、125I、131I、177Lu、166Ho和153Sm。

[0362] 实施方案52. 实施方案40的方法，其中与正常对照相比的膜结合的RGMc水平的降低，表明所述受试者患有铁过载相关的铁相关病症。

[0363] 实施方案53. 实施方案40的方法，其中与正常对照相比的膜结合的RGMc水平的增加，表明所述受试者患有铁缺乏相关的铁相关病症。

[0364] 实施方案54. 实施方案40的方法，其中在步骤(a)之前，所述受试者被诊断为患有选自以下的病症：癌症、急性感染、慢性感染、自身免疫性疾病、肝病和慢性肾病。

[0365] 实施方案55. 实施方案40的方法，其中所述样品选自血液样品和血清样品。

[0366] 实施方案56．实施方案40的方法，其中步骤(a)是免疫测定。

[0367] 实施方案57．实施方案56的方法，其中所述免疫测定是酶联免疫吸附测定(ELISA)。

[0368] 实施方案58．实施方案57的方法，其中所述ELISA是夹心ELISA。

[0369] 实施方案59．实施方案40的方法，其中与正常对照中的膜结合的RGMc水平相比的膜结合的RGMc水平的降低，表明所述受试者患有铁过载相关的铁相关病症。

[0370] 实施方案60．实施方案40的方法，其中与正常对照中的膜结合的RGMc水平相比的膜结合的RGMc水平的增加，表明所述受试者患有铁缺乏相关的铁相关病症。

[0371] 实施方案61．实施方案40的方法，其中所述RGMc是膜结合的RGMc、可溶性RGMc、膜结合的RGMc片段、可溶性RGMc片段、膜结合的RGMc变体、可溶性RGMc变体或上述任何的组合。

[0372] 实施方案62．实施方案40的方法，其中所述方法进一步包括测定试验样品中的铁调素的存在、量或浓度，其中或(i) 测定铁调素的试验样品与测定RGMc的试验样品相同或(ii) 测定铁调素的试验样品与测定RGMc的试验样品是不同的试验样品，但是测定铁调素的试验样品的来源和测定RGMc的试验样品的来源是相同的，因此测定试验样品中的铁调素的存在、量或浓度。

[0373] 实施方案63．实施方案62的方法，其中同时地或序贯地以任一顺序测定一个或多个所述试验样品中的RGMc和铁调素。

[0374] 实施方案64．实施方案63的方法，其中所述方法进一步包括使用测定试验样品中的铁调素的存在、量或浓度的结果，其中或(i) 测定铁调素的试验样品与测定RGMc的试验样品相同或(ii) 测定铁调素的试验样品与测定RGMc的试验样品是不同的试验样品，但是测定铁调素的试验样品的来源和测定RGMc的试验样品的来源是相同的。

[0375] 实施方案65．实施方案40的方法，其中与正常对照中的可溶性RGMc水平相比的可溶性RGMc水平的降低，表明所述受试者患有铁缺乏相关的铁相关病症。

[0376] 实施方案66．实施方案40的方法，其中与正常对照中的可溶性RGMc水平相比的可溶性RGMc水平的增加，表明所述受试者患有铁过载相关的铁相关病症。

[0377] 实施方案67．实施方案40的方法，其中所述受试者已经诊断患有选自以下的病症：癌症、急性感染、慢性感染、自身免疫性疾病、肝病和慢性肾病。

[0378] 实施方案68．实施方案40的方法，其中所述样品选自血液样品和血清样品。

[0379] 实施方案69．实施方案40的方法，其中步骤(a)是免疫测定。

[0380] 实施方案70．实施方案70的方法，其中所述免疫测定是酶联免疫吸附测定(ELISA)。

[0381] 实施方案71．实施方案71的方法，其中所述ELISA是夹心ELISA。

[0382] 实施方案72．在试验样品中测定RGMc或其片段的存在、量或浓度的方法，所述方法包括通过免疫测定，使用至少一种抗体和至少一种可检测标记，测定所述试验样品的RGMc (或其片段)，并包括将在所述试验样品中作为RGMc的存在、量或浓度的直接或间接指示的由所述可检测标记产生的信号，与在对照或校准物中作为RGMc的存在、量或浓度的直接或间接指示的所产生信号进行比较，其中所述至少一种抗体中的一种是分离的抗体，其特异性结合到RGMc或其片段上，和其中所述抗体包含选自以下的域或区：(a)重链可变域

区，其包含SEQ ID NO:3的氨基酸序列，(b)轻链可变域区，其包含SEQ ID NO:4的氨基酸序列，(c)重链可变域区，其包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列，(d)轻链可变域区，其包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列，(e)重链可变域区，其包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列，(f)轻链可变域区，其包含SEQ ID NO:8的氨基酸序列，(g)重链可变域区，其包含SEQ ID NO:9的氨基酸序列，(h)轻链可变域区，其包含SEQ ID NO:10的氨基酸序列，(i)可变重链，其含有包含SEQ ID NO:11的氨基酸序列的互补决定区(CDR)1，包含SEQ ID NO:12的氨基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO:13的氨基酸序列的CDR3，(j)可变轻链，其含有包含SEQ ID NO:14的氨基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO:15的氨基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO:16的氨基酸序列的CDR3，(k)可变重链，其含有包含SEQ ID NO:17的氨基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO:18的氨基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO:19的氨基酸序列的CDR3，(l)可变轻链，其含有包含SEQ ID NO:20的氨基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO:21的氨基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO:22的氨基酸序列的CDR3，(m)可变重链，其含有包含SEQ ID NO:23的氨基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO:24的氨基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO:25的氨基酸序列的CDR3，(n)可变轻链，其含有包含SEQ ID NO:26的氨基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO:27的氨基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO:28的氨基酸序列的CDR3，(o)可变重链，其含有包含SEQ ID NO:29的氨基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO:30的氨基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO:31的氨基酸序列的CDR3，(p)可变轻链，其含有包含SEQ ID NO:32的氨基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO:33的氨基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO:34的氨基酸序列的CDR3，(q)可变重链，其含有包含SEQ ID NO:11的氨基酸序列的互补决定区(CDR)1，包含SEQ ID NO:12的氨基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO:13的氨基酸序列的CDR3，以及可变轻链，其含有包含SEQ ID NO:14的氨基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO:15的氨基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO:16的氨基酸序列的CDR3，(r)可变重链，其含有包含SEQ ID NO:17的氨基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO:18的氨基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO:19的氨基酸序列的CDR3，以及可变轻链，其含有包含SEQ ID NO:20的氨基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO:21的氨基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO:22的氨基酸序列的CDR3，(s)可变重链，其含有包含SEQ ID NO:23的氨基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO:24的氨基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO:25的氨基酸序列的CDR3，以及可变轻链，其含有包含SEQ ID NO:26的氨基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO:27的氨基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO:28的氨基酸序列的CDR3，和(t)可变重链，其含有包含SEQ ID NO:29的氨基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO:30的氨基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO:31的氨基酸序列的CDR3，以及可变轻链，其含有包含SEQ ID NO:32的氨基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO:33的氨基酸序列的CDR2，和SEQ ID NO:34的氨基酸序列的CDR3，因此在试验样品中测定RGMc或其片段的存在、量或浓度。

[0383] 实施方案73．实施方案72的方法，其中试验样品中的RGMc或其片段的存在、量或浓度用于判定或评价受试者是否患有铁相关病症或处于发展该病症的风险中。

[0384] 实施方案74．实施方案72的方法，其中所述RGMc是膜结合的RGMc或可溶性RGMc。

[0385] 实施方案75．实施方案74的方法，其中与正常对照中的膜结合的RGMc水平相比的膜结合的RGMc水平的降低，表明所述受试者患有铁过载相关的铁相关病症。

[0386] 实施方案76．实施方案74的方法，其中与正常对照中的膜结合的RGMc水平相比的膜结合的RGMc水平的增加，表明所述受试者患有铁缺乏相关的铁相关病症。

[0387] 实施方案77．实施方案74的方法，其中与正常对照中的可溶性RGMc水平相比的可溶性RGMc水平的降低，表明所述受试者患有铁缺乏相关的铁相关病症。

[0388] 实施方案78．实施方案74的方法，其中与正常对照中的可溶性RGMc水平相比的可溶性RGMc水平的增加，表明所述受试者患有铁过载相关的铁相关病症。

[0389] 实施方案79．实施方案73的方法，其中所述铁相关病症选自癌症、急性感染、慢性感染、自身免疫性疾病、肝病和慢性肾病。

[0390] 实施方案80．实施方案72的方法，其中所述方法包括以下步骤：

(a) 使所述试验样品与至少一种捕获抗体接触，所述抗体结合到RGMc (或其片段)上的表位，从而形成捕获抗体/RGMc (或其片段)复合物，

(b) 使所述捕获抗体/RGMc (或其片段)复合物与至少一种检测抗体接触，所述检测抗体包含可检测标记并结合到所述捕获抗体未结合的RGMc (或其片段)上的表位，以形成捕获抗体/RGMc (或其片段)/检测抗体复合物，和

(c) 根据由在(b)中形成的捕获抗体/RGMc (或其片段)/检测抗体复合物中的所述可检测标记产生的信号，在所述试验样品中测定RGMc (或其片段)的存在、量或浓度，因此在所述试验样品中测定RGMc (或其片段)的存在、量或浓度。

[0391] 实施方案81．实施方案72的方法，其中所述方法包括以下步骤：

(a) 使所述试验样品与至少一种捕获抗体接触，所述抗体结合到RGMc (或其片段)上的表位，从而形成捕获抗体/RGMc (或其片段)复合物，并且同时地或序贯地，以任一顺序，使所述试验样品与可检测标记的RGMc (或其片段)接触，所述可检测标记的RGMc (或其片段)可与所述试验样品中的任何RGMc (或其片段)竞争结合到至少一种捕获抗体上，其中所述试验样品中存在的任何RGMc (或其片段)和所述可检测标记的RGMc彼此竞争以分别形成捕获抗体/RGMc (或其片段)复合物和捕获抗体/可检测标记的RGMc (或其片段)复合物，和

(b) 根据由在(b)中形成的捕获抗体/可检测标记的RGMc (或其片段)复合物中的所述可检测标记产生的信号，在所述试验样品中测定RGMc的存在、量或浓度，

其中由在所述捕获抗体/可检测标记的RGMc (或其片段)复合物中的所述可检测标记产生的信号与所述试验样品中的RGMc的量或浓度成反比，因此在所述试验样品中测定RGMc的存在、量或浓度。

[0392] 实施方案82．实施方案72-81中任一项的方法，其中所述方法进一步包括测定所述试验样品中的铁调素。

[0393] 实施方案83．用于测定试验样品的RGMc (或其片段)的试剂盒，所述试剂盒包含用于测定所述试验样品的RGMc (或其片段)的至少一种组分和用于测定所述试验样品的RGMc (或其片段)的说明书，其中所述至少一种组分包括至少一种组合物，其包含特异性结合到RGMc (或其片段)上的分离的抗体，其中所述抗体包含选自以下的域或区：(a)重链可变域区，其包含SEQ ID NO:3的氨基酸序列，(b)轻链可变域区，其包含SEQ ID NO:4的氨基酸序列，(c)重链可变域区，其包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列，(d)轻链可变域区，其包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列，(e)重链可变域区，其包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列，(f)轻链可变域区，其包含SEQ ID NO:8的氨基酸序列，(g)重链可变域区，其包含SEQ ID NO:9的氨基酸序列，(h)轻链可变域区，其包含SEQ ID NO:10的氨基酸序列，(i)可变重链，其含有包含SEQ ID NO:11的氨基酸序列的互补决定区(CDR)1，包含SEQ ID NO:12的氨基酸序列的

CDR2，和包含SEQ ID NO:13的氨基酸序列的CDR3，(j)可变轻链，其含有包含SEQ ID NO:14的氨基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO:15的氨基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO:16的氨基酸序列的CDR3，(k)可变重链，其含有包含SEQ ID NO:17的氨基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO:18的氨基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO:19的氨基酸序列的CDR3，(l)可变轻链，其含有包含SEQ ID NO:20的氨基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO:21的氨基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO:22的氨基酸序列的CDR3，(m)可变重链，其含有包含SEQ ID NO:23的氨基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO:24的氨基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO:25的氨基酸序列的CDR3，(n)可变轻链，其含有包含SEQ ID NO:26的氨基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO:27的氨基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO:28的氨基酸序列的CDR3，(o)可变重链，其含有包含SEQ ID NO:29的氨基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO:30的氨基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO:31的氨基酸序列的CDR3，(p)可变轻链，其含有包含SEQ ID NO:32的氨基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO:33的氨基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO:34的氨基酸序列的CDR3，(q)可变重链，其含有包含SEQ ID NO:11的氨基酸序列的互补决定区(CDR)1，包含SEQ ID NO:12的氨基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO:13的氨基酸序列的CDR3，以及可变轻链，其含有包含SEQ ID NO:14的氨基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO:15的氨基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO:16的氨基酸序列的CDR3，(r)可变重链，其含有包含SEQ ID NO:17的氨基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO:18的氨基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO:19的氨基酸序列的CDR3，以及可变轻链，其含有包含SEQ ID NO:20的氨基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO:21的氨基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO:22的氨基酸序列的CDR3，(s)可变重链，其含有包含SEQ ID NO:23的氨基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO:24的氨基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO:25的氨基酸序列的CDR3，以及可变轻链，其含有包含SEQ ID NO:26的氨基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO:27的氨基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO:28的氨基酸序列的CDR3，和(t)可变重链，其含有包含SEQ ID NO:29的氨基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO:30的氨基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO:31的氨基酸序列的CDR3，以及可变轻链，其含有包含SEQ ID NO:32的氨基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO:33的氨基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO:34的氨基酸序列的CDR3，其中所述抗体任选被可检测标记。

[0394] 实施方案84．实施方案83的试剂盒，其中在所述试验样品中测定的RGMc或其片段用于判定或评价受试者是否患有铁相关病症或处于发展该病症的风险中。

[0395] 实施方案85．实施方案84的方法，其中所述RGMc是膜结合的RGMc或可溶性RGMc。

[0396] 实施方案86．实施方案83的试剂盒，其中所述试剂盒进一步包含用于测定试验样品的铁调素的至少一种组分和用于测定所述试验样品的铁调素的说明书。

[0397] 实施方案87．实施方案83或85的试剂盒，其中所述RGMc是膜结合的RGMc、可溶性RGMc、膜结合的RGMc片段、可溶性RGMc片段、膜结合的RGMc变体、可溶性RGMc变体或上述的任何组合。

[0398] 实施方案88．治疗铁代谢疾病的方法，包括将治疗或预防有效量的抗体给予有需要的受试者，其中所述抗体包含选自以下的域或区：(a)重链可变域区，其包含SEQ ID NO:43的氨基酸序列，(b)轻链可变域区，其包含SEQ ID NO:44的氨基酸序列，(c)重链可变域区，其包含SEQ ID NO:51的氨基酸序列，(d)轻链可变域区，其包含SEQ ID NO:52的氨基酸序列，(e)重链可变域区，其包含SEQ ID NO:53的氨基酸序列，(f)轻链可变域区，其包含SEQ

ID NO:54的氨基酸序列，(g)重链可变域区，其包含SEQ ID NO:57的氨基酸序列，(h)轻链可变域区，其包含SEQ ID NO:58的氨基酸序列，(g)重链可变域区，其包含SEQ ID NO:69的氨基酸序列，(h)轻链可变域区，其包含SEQ ID NO:70的氨基酸序列，(i)可变重链，其含有包含SEQ ID NO:95的氨基酸序列的互补决定区(CDR)1，包含SEQ ID NO:96的氨基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO:97的氨基酸序列的CDR3，(j)可变轻链，其含有包含SEQ ID NO:98的氨基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO:99的氨基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO:100的氨基酸序列的CDR3，(k)可变重链，其含有包含SEQ ID NO:119的氨基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO:120的氨基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO:121的氨基酸序列的CDR3，(l)可变轻链，其含有包含SEQ ID NO:122的氨基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO:123的氨基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO:124的氨基酸序列的CDR3，(m)可变重链，其含有包含SEQ ID NO:125的氨基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO:126的氨基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO:127的氨基酸序列的CDR3，(n)可变轻链，其含有包含SEQ ID NO:128的氨基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO:129的氨基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO:130的氨基酸序列的CDR3，(o)可变重链，其含有包含SEQ ID NO:137的氨基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO:138的氨基酸序列的CDR2，包含SEQ ID NO:139的氨基酸序列的CDR3，(p)可变轻链，其含有包含SEQ ID NO:140的氨基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO:141的氨基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO:142的氨基酸序列的CDR3，(o)可变重链，其含有包含SEQ ID NO:173的氨基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO:174的氨基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO:175的氨基酸序列的CDR3，(p)可变轻链，其含有包含SEQ ID NO:176的氨基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO:177的氨基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO:178的氨基酸序列的CDR3，(q)可变重链，其含有包含SEQ ID NO:95的氨基酸序列的互补决定区(CDR)1，包含SEQ ID NO:96的氨基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO:97的氨基酸序列的CDR3，以及可变轻链，其含有包含SEQ ID NO:98的氨基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO:99的氨基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO:100的氨基酸序列的CDR3，(r)可变重链，其含有包含SEQ ID NO:119的氨基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO:120的氨基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO:121的氨基酸序列的CDR3，以及可变轻链，其含有包含SEQ ID NO:122的氨基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO:123的氨基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO:124的氨基酸序列的CDR3，(s)可变重链，其含有包含SEQ ID NO:125的氨基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO:126的氨基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO:127的氨基酸序列的CDR3，以及可变轻链，其含有包含SEQ ID NO:128的氨基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO:129的氨基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO:130的氨基酸序列的CDR3，(t)可变重链，其含有包含SEQ ID NO:137的氨基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO:138的氨基酸序列的CDR2，包含SEQ ID NO:139的氨基酸序列的CDR3，以及可变轻链，其含有包含SEQ ID NO:140的氨基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO:141的氨基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO:142的氨基酸序列的CDR3，(u)可变重链，其含有包含SEQ ID NO:173的氨基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO:174的氨基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO:175的氨基酸序列的CDR3，以及可变轻链，其含有包含SEQ ID NO:176的氨基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO:177的氨基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO:178的氨基酸序列的CDR3，其中在所述受试者中治疗性或预防性治疗铁代谢疾病。

[0399] 实施方案89．实施方案88的方法，其中所述铁代谢疾病选自慢性病贫血(ACD)、

铁-难治性缺铁性贫血、慢性肾病性贫血、红细胞生成刺激剂抵抗和β-地中海贫血。

[0400] 实施方案90. 实施方案88的方法，其中所述抗体或抗体片段选自免疫球蛋白分子、二硫键连接的Fv、单克隆抗体、亲和力成熟的抗体、scFv、嵌合抗体、单域抗体、CDR-移植抗体、双链抗体、人源化抗体、人抗体、多特异性抗体、Fab、双重特异性抗体、DVD、Fab'、双特异性抗体、F(ab')2和Fv。

[0401] 实施方案91. 实施方案88的方法，其中所述抗体或抗体片段包含重链可变区，其包含选自SEQ ID NO:43、SEQ ID NO:51、SEQ ID NO:53、SEQ ID NO:57和SEQ ID NO:69的序列。

[0402] 实施方案92. 实施方案88的方法，其中所述抗体或抗体片段包含轻链可变区，其包含选自SEQ ID NO:44、SEQ ID NO:52、SEQ ID NO:54、SEQ ID NO:58和SEQ ID NO:70的序列。

[0403] 实施方案93. 实施方案88的方法，其中所述抗体或抗体片段包含轻链可变域，其包含SEQ ID NO:98、SEQ ID NO:99和SEQ ID NO:100、或SEQ ID NO:122、SEQ ID NO:123和SEQ ID NO:124、或SEQ ID NO:128、SEQ ID NO:129和SEQ ID NO:130、SEQ ID NO:140、SEQ ID NO:141和SEQ ID NO:142、或SEQ ID NO:176、SEQ ID NO:177和SEQ ID NO:178的互补决定区(CDR)残基。

[0404] 实施方案94. 实施方案88的方法，其中所述抗体或抗体片段包含重链可变域，其包含SEQ ID NO:95、SEQ ID NO:96和SEQ ID NO:97、或SEQ ID NO:119、SEQ ID NO:120和SEQ ID NO:121、或SEQ ID NO:125、SEQ ID NO:126和SEQ ID NO:127、或SEQ ID NO:137、SEQ ID NO:138和SEQ ID NO:139、SEQ ID NO:173、SEQ ID NO:174和SEQ ID NO:175的互补决定区(CDR)残基。

[0405] 实施方案95. 实施方案88的方法，其中所述抗体或抗体片段包含重链可变域，其包含SEQ ID NO:95、SEQ ID NO:96和SEQ ID NO:97的互补决定区(CDR)残基，以及轻链可变域，其包含SEQ ID NO:98、SEQ ID NO:99和SEQ ID NO:100的互补决定区(CDR)残基。

[0406] 实施方案96. 实施方案88的方法，其中所述抗体或抗体片段包含重链可变域，其包含SEQ ID NO:119、SEQ ID NO:120和SEQ ID NO:121的互补决定区(CDR)残基，以及轻链可变域，其包含SEQ ID NO:122、SEQ ID NO:123和SEQ ID NO:124的互补决定区(CDR)残基。

[0407] 实施方案97. 实施方案88的方法，其中所述抗体或抗体片段包含重链可变域，其包含SEQ ID NO:125、SEQ ID NO:126和SEQ ID NO:127的互补决定区(CDR)残基，以及轻链可变域，其包含SEQ ID NO:128、SEQ ID NO:128和SEQ ID NO:130的互补决定区(CDR)残基。

[0408] 实施方案98. 实施方案88的方法，其中所述抗体或抗体片段包含重链可变域，其包含SEQ ID NO:137、SEQ ID NO:138和SEQ ID NO:139的互补决定区(CDR)残基，以及轻链可变域，其包含SEQ ID NO:140、SEQ ID NO:141和SEQ ID NO:142的互补决定区(CDR)残基。

[0409] 实施方案99. 实施方案88的方法，其中所述抗体或抗体片段包含重链可变域，其包含SEQ ID NO:173、SEQ ID NO:174和SEQ ID NO:175的互补决定区(CDR)残基，以及轻链可变域，其包含SEQ ID NO:176、SEQ ID NO:177和SEQ ID NO:178的互补决定区(CDR)残基。

[0410] 实施方案100. 用于判定受试者是否患有铁相关病症的方法，包括：

(a) 在来自所述受试者的样品中测量膜结合的或可溶性RGMc的水平；和

(b) 将所述样品中的RGMc水平与正常对照进行比较，

其中使用包含选自以下的域或区的抗体测量RGMc的水平：

(a) 重链可变域区，其包含SEQ ID NO:43的氨基酸序列，(b)轻链可变域区，其包含SEQ ID NO:44的氨基酸序列，(c)重链可变域区，其包含SEQ ID NO:51的氨基酸序列，(d)轻链可变域区，其包含SEQ ID NO:52的氨基酸序列，(e)重链可变域区，其包含SEQ ID NO:53的氨基酸序列，(f)轻链可变域区，其包含SEQ ID NO:54的氨基酸序列，(g)重链可变域区，其包含SEQ ID NO:57的氨基酸序列，(h)轻链可变域区，其包含SEQ ID NO:58的氨基酸序列，(g)重链可变域区，其包含SEQ ID NO:69的氨基酸序列，(h)轻链可变域区，其包含SEQ ID NO:70的氨基酸序列，(i)可变重链，其含有包含SEQ ID NO:95的氨基酸序列的互补决定区(CDR)1，包含SEQ ID NO:96的氨基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO:97的氨基酸序列的CDR3，(j)可变轻链，其含有包含SEQ ID NO:98的氨基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO:99的氨基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO:100的氨基酸序列的CDR3，(k)可变重链，其含有包含SEQ ID NO:119的氨基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO:120的氨基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO:121的氨基酸序列的CDR3，(l)可变轻链，其含有包含SEQ ID NO:122的氨基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO:123的氨基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO:124的氨基酸序列的CDR3，(m)可变重链，其含有包含SEQ ID NO:125的氨基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO:126的氨基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO:127的氨基酸序列的CDR3，(n)可变轻链，其含有包含SEQ ID NO:128的氨基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO:129的氨基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO:130的氨基酸序列的CDR3，(o)可变重链，其含有包含SEQ ID NO:137的氨基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO:138的氨基酸序列的CDR2，包含SEQ ID NO:139的氨基酸序列的CDR3，(p)可变轻链，其含有包含SEQ ID NO:140的氨基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO:141的氨基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO:142的氨基酸序列的CDR3，(o)可变重链，其含有包含SEQ ID NO:173的氨基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO:174的氨基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO:175的氨基酸序列的CDR3，(p)可变轻链，其含有包含SEQ ID NO:176的氨基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO:177的氨基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO:178的氨基酸序列的CDR3，(q)可变重链，其含有包含SEQ ID NO:95的氨基酸序列的互补决定区(CDR)1，包含SEQ ID NO:96的氨基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO:97的氨基酸序列的CDR3，以及可变轻链，其含有包含SEQ ID NO:98的氨基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO:99的氨基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO:100的氨基酸序列的CDR3，(r)可变重链，其含有包含SEQ ID NO:119的氨基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO:120的氨基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO:121的氨基酸序列的CDR3，以及可变轻链，其含有包含SEQ ID NO:122的氨基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO:123的氨基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO:124的氨基酸序列的CDR3，(s)可变重链，其含有包含SEQ ID NO:125的氨基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO:126的氨基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO:127的氨基酸序列的CDR3，以及可变轻链，其含有包含SEQ ID NO:128的氨基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO:129的氨基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO:130的氨基酸序列的CDR3，(t)可变重链，其含有包含SEQ ID NO:137的氨基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO:138的氨基酸序列的CDR2，包含SEQ ID NO:139的氨基酸序列的CDR3，以及可变轻链，其含有包含SEQ ID NO:140的氨基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO:141的氨基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO:142的氨基酸序列的CDR3，(u)可变重链，其含有包含SEQ ID NO:173的氨基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO:174的氨基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO:

175的氨基酸序列的CDR3，以及可变轻链，其含有包含SEQ ID NO:176的氨基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO:177的氨基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO:178的氨基酸序列的CDR3，

其中RGMc水平的改变就表明所述受试者患有铁相关病症。

[0411] 实施方案101. 实施方案100的方法，其中所述抗体或抗体片段包含重链可变区，其包含选自SEQ ID NO:37、SEQ ID NO:39、SEQ ID NO:41、SEQ ID NO:43、SEQ ID NO:51、SEQ ID NO:53、SEQ ID NO:57和SEQ ID NO:69的序列。

[0412] 实施方案102. 实施方案100的方法，其中所述抗体或抗体片段包含轻链可变区，其包含选自SEQ ID NO:38、SEQ ID NO:40、SEQ ID NO:42、SEQ ID NO:44、SEQ ID NO:52、SEQ ID NO:54、SEQ ID NO:58和SEQ ID NO:70的序列。

[0413] 实施方案103. 实施方案100的方法，其中所述抗体或抗体片段包含轻链可变域，其包含SEQ ID NO:98、SEQ ID NO:99和SEQ ID NO:100、或SEQ ID NO:122、SEQ ID NO:123和SEQ ID NO:124、或SEQ ID NO:128、SEQ ID NO:129和SEQ ID NO:130、SEQ ID NO:140、SEQ ID NO:141和SEQ ID NO:142、或SEQ ID NO:176、SEQ ID NO:177和SEQ ID NO:178的互补决定区(CDR)残基。

[0414] 实施方案104. 实施方案100的方法，其中所述抗体或抗体片段包含重链可变域，其包含SEQ ID NO:95、SEQ ID NO:96和SEQ ID NO:97、或SEQ ID NO:119、SEQ ID NO:120和SEQ ID NO:121、或SEQ ID NO:125、SEQ ID NO:126和SEQ ID NO:127、或SEQ ID NO:137、SEQ ID NO:138和SEQ ID NO:139、SEQ ID NO:173、SEQ ID NO:174和SEQ ID NO:175的互补决定区(CDR)残基。

[0415] 实施方案105. 实施方案100的方法，其中所述抗体或抗体片段包含重链可变域，其包含SEQ ID NO:95、SEQ ID NO:96和SEQ ID NO:97的互补决定区(CDR)残基，以及轻链可变域，其包含SEQ ID NO:98、SEQ ID NO:99和SEQ ID NO:100的互补决定区(CDR)残基。

[0416] 实施方案106. 实施方案100的方法，其中所述抗体或抗体片段包含重链可变域，其包含SEQ ID NO:119、SEQ ID NO:120和SEQ ID NO:121的互补决定区(CDR)残基，以及轻链可变域，其包含SEQ ID NO:122、SEQ ID NO:123和SEQ ID NO:124的互补决定区(CDR)残基。

[0417] 实施方案107. 实施方案100的方法，其中所述抗体或抗体片段包含重链可变域，其包含SEQ ID NO:125、SEQ ID NO:126和SEQ ID NO:127的互补决定区(CDR)残基，以及轻链可变域，其包含SEQ ID NO:128、SEQ ID NO:128和SEQ ID NO:130的互补决定区(CDR)残基。

[0418] 实施方案108. 实施方案100的方法，其中所述抗体或抗体片段包含重链可变域，其包含SEQ ID NO:137、SEQ ID NO:138和SEQ ID NO:139的互补决定区(CDR)残基，以及轻链可变域，其包含SEQ ID NO:140、SEQ ID NO:141和SEQ ID NO:142的互补决定区(CDR)残基。

[0419] 实施方案109. 实施方案100的方法，其中所述抗体或抗体片段包含重链可变域，其包含SEQ ID NO:173、SEQ ID NO:174和SEQ ID NO:175的互补决定区(CDR)残基，以及轻链可变域，其包含SEQ ID NO:176、SEQ ID NO:177和SEQ ID NO:178的互补决定区(CDR)残基。

[0420] 实施方案110. 实施方案100-109中任一项的方法，其中所述抗体或抗体片段进一

步包含选自以下的试剂:免疫粘附分子、成像剂和治疗药。

[0421] 实施方案111. 实施方案110的方法,其中所述成像剂选自放射性标记、酶、荧光标记、发光标记、生物发光标记、磁标记和生物素。

[0422] 实施方案112. 实施方案111的方法,其中所述放射性标记选自3H、14 C、35S、90Y、99Tc、111In、125I、131I、177Lu、166Ho和153Sm。

[0423] 实施方案113. 实施方案100的方法,其中与正常对照相比的膜结合的RGMc水平的降低,表明所述受试者患有铁过载相关的铁相关病症。

[0424] 实施方案114. 实施方案100的方法,其中与正常对照相比的膜结合的RGMc水平的增加,表明所述受试者患有铁缺乏相关的铁相关病症。

[0425] 实施方案115. 实施方案100的方法,其中在步骤(a)之前,所述受试者被诊断为患有选自以下的病症:癌症、急性感染、慢性感染、自身免疫性疾病、肝病和慢性肾病。

[0426] 实施方案116. 实施方案100的方法,其中所述样品选自血液样品和血清样品。

[0427] 实施方案117. 实施方案100的方法,其中步骤(a)是免疫测定。

[0428] 实施方案118. 实施方案117的方法,其中所述免疫测定是酶联免疫吸附测定(ELISA)。

[0429] 实施方案119. 实施方案118的方法,其中所述ELISA是夹心ELISA。

[0430] 实施方案120. 实施方案100的方法,其中所述方法进一步包括测定试验样品中的铁调素的存在、量或浓度,其中或(i) 测定铁调素的试验样品与测定RGMc的试验样品相同或(ii) 测定铁调素的试验样品与测定RGMc的试验样品是不同的试验样品,但是测定铁调素的试验样品的来源和测定RGMc的试验样品的来源是相同的,因此测定试验样品中的铁调素的存在、量或浓度。

[0431] 实施方案121. 实施方案120的方法,其中同时地或序贯地以任一顺序测定一个或多个试验样品中的RGMc和铁调素。

[0432] 实施方案122. 实施方案121的方法,其中所述方法进一步包括使用测定试验样品中的铁调素的存在、量或浓度的结果,其中或(i) 测定铁调素的试验样品与测定RGMc的试验样品相同或(ii) 测定铁调素的试验样品与测定RGMc的试验样品是不同的试验样品,但是测定铁调素的试验样品的来源和测定RGMc的试验样品的来源是相同的。

[0433] 实施方案123. 在试验样品中测定RGMc或其片段的存在、量或浓度的方法,所述方法包括通过免疫测定,使用至少一种抗体和至少一种可检测标记,测定所述试验样品的RGMc (或其片段),并包括将在所述试验样品中作为RGMc的存在、量或浓度的直接或间接指示的由所述可检测标记产生的信号,与在对照或校准物中作为RGMc的存在、量或浓度的直接或间接指示的所产生的信号进行比较,其中所述至少一种抗体中的一种是分离的抗体,其特异性结合到RGMc或其片段上,和其中所述抗体包含选自以下的域或区:(a)重链可变域区,其包含SEQ ID NO:43的氨基酸序列,(b)轻链可变域区,其包含SEQ ID NO:44的氨基酸序列,(c)重链可变域区,其包含SEQ ID NO:51的氨基酸序列,(d)轻链可变域区,其包含SEQ ID NO:52的氨基酸序列,(e)重链可变域区,其包含SEQ ID NO:53的氨基酸序列,(f)轻链可变域区,其包含SEQ ID NO:54的氨基酸序列,(g)重链可变域区,其包含SEQ ID NO:57的氨基酸序列,(h)轻链可变域区,其包含SEQ ID NO:58的氨基酸序列,(g)重链可变域区,其包含SEQ ID NO:69的氨基酸序列,(h)轻链可变域区,其包含SEQ ID NO:70的氨基酸序列,(i)

可变重链，其含有包含SEQ ID NO:95的氨基酸序列的互补决定区(CDR)1，包含SEQ ID NO:96的氨基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO:97的氨基酸序列的CDR3，(j)可变轻链，其含有包含SEQ ID NO:98的氨基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO:99的氨基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO:100的氨基酸序列的CDR3，(k)可变重链，其含有包含SEQ ID NO:119的氨基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO:120的氨基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO:121的氨基酸序列的CDR3，(l)可变轻链，其含有包含SEQ ID NO:122的氨基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO:123的氨基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO:124的氨基酸序列的CDR3，(m)可变重链，其含有包含SEQ ID NO:125的氨基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO:126的氨基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO:127的氨基酸序列的CDR3，(n)可变轻链，其含有包含SEQ ID NO:128的氨基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO:129的氨基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO:130的氨基酸序列的CDR3，(o)可变重链，其含有包含SEQ ID NO:137的氨基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO:138的氨基酸序列的CDR2，包含SEQ ID NO:139的氨基酸序列的CDR3，(p)可变轻链，其含有包含SEQ ID NO:140的氨基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO:141的氨基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO:142的氨基酸序列的CDR3，(o)可变重链，其含有包含SEQ ID NO:173的氨基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO:174的氨基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO:175的氨基酸序列的CDR3，(p)可变轻链，其含有包含SEQ ID NO:176的氨基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO:177的氨基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO:178的氨基酸序列的CDR3，(q)可变重链，其含有包含SEQ ID NO:95的氨基酸序列的互补决定区(CDR)1，包含SEQ ID NO:96的氨基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO:97的氨基酸序列的CDR3，以及可变轻链，其含有包含SEQ ID NO:98的氨基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO:99的氨基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO:100的氨基酸序列的CDR3，(r)可变重链，其含有包含SEQ ID NO:119的氨基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO:120的氨基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO:121的氨基酸序列的CDR3，以及可变轻链，其含有包含SEQ ID NO:122的氨基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO:123的氨基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO:124的氨基酸序列的CDR3，(s)可变重链，其含有包含SEQ ID NO:125的氨基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO:126的氨基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO:127的氨基酸序列的CDR3，以及可变轻链，其含有包含SEQ ID NO:128的氨基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO:129的氨基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO:130的氨基酸序列的CDR3，(t)可变重链，其含有包含SEQ ID NO:137的氨基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO:138的氨基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO:139的氨基酸序列的CDR3，以及可变轻链，其含有包含SEQ ID NO:140的氨基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO:141的氨基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO:142的氨基酸序列的CDR3，(u)可变重链，其含有包含SEQ ID NO:173的氨基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO:174的氨基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO:175的氨基酸序列的CDR3，以及可变轻链，其含有包含SEQ ID NO:176的氨基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO:177的氨基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO:178的氨基酸序列的CDR3，因此在试验样品中测定RGMc或其片段的存在、量或浓度。

[0434] 实施方案124．实施方案123的方法，其中试验样品中的RGMc或其片段的存在、量或浓度用于判定或评价受试者是否患有铁相关病症或处于发展该病症的风险中。

[0435] 实施方案125．实施方案123的方法，其中所述RGMc是膜结合的RGMc或可溶性RGMc。

[0436] 实施方案126．实施方案123的方法，其中与正常对照中的膜结合的RGMc水平相比的膜结合的RGMc水平的降低，表明所述受试者患有铁过载相关的铁相关病症。

[0437] 实施方案127．实施方案123的方法，其中与正常对照中的膜结合的RGMc水平相比的膜结合的RGMc水平的增加，表明所述受试者患有铁缺乏相关的铁相关病症。

[0438] 实施方案128．实施方案123的方法，其中与正常对照中的可溶性RGMc水平相比的可溶性RGMc水平的降低，表明所述受试者患有铁缺乏相关的铁相关病症。

[0439] 实施方案129．实施方案123的方法，其中与正常对照中的可溶性RGMc水平相比的可溶性RGMc水平的增加，表明所述受试者患有铁过载相关的铁相关病症。

[0440] 实施方案130．实施方案124的方法，其中所述铁相关病症选自癌症、急性感染、慢性感染、自身免疫性疾病、肝病和慢性肾病。

[0441] 实施方案131．实施方案123的方法，其中所述方法包括以下步骤：

(a) 使所述试验样品与至少一种捕获抗体接触，所述抗体结合到RGMc (或其片段)上的表位，从而形成捕获抗体/RGMc (或其片段)复合物，

(b) 使所述捕获抗体/RGMc (或其片段)复合物与至少一种检测抗体接触，所述检测抗体包含可检测标记并结合到所述捕获抗体未结合的RGMc (或其片段)上的表位，以形成捕获抗体/RGMc (或其片段)/检测抗体复合物，和

(c) 根据由在(b)中形成的捕获抗体/RGMc (或其片段)/检测抗体复合物中的所述可检测标记产生的信号，在所述试验样品中测定RGMc (或其片段)的存在、量或浓度，因此在所述试验样品中测定RGMc (或其片段)的存在、量或浓度。

[0442] 实施方案132．实施方案123的方法，其中所述方法包括以下步骤：

(a) 使所述试验样品与至少一种捕获抗体接触，所述抗体结合到RGMc (或其片段)上的表位，从而形成捕获抗体/RGMc (或其片段)复合物，并且同时地或序贯地，以任一顺序，使所述试验样品与可检测标记的RGMc (或其片段)接触，所述可检测标记的RGMc (或其片段)可与所述试验样品中的任何RGMc (或其片段)竞争结合到至少一种捕获抗体上，其中所述试验样品中存在的任何RGMc (或其片段)和所述可检测标记的RGMc彼此竞争以分别形成捕获抗体/RGMc (或其片段)复合物和捕获抗体/可检测标记的RGMc (或其片段)复合物，和

(b) 根据由在(b)中形成的捕获抗体/可检测标记的RGMc (或其片段)复合物中的所述可检测标记产生的信号，在所述试验样品中测定RGMc的存在、量或浓度，

其中由在所述捕获抗体/可检测标记的RGMc (或其片段)复合物中的所述可检测标记产生的信号与所述试验样品中的RGMc的量或浓度成反比，因此在所述试验样品中测定RGMc的存在、量或浓度。

[0443] 实施方案133．实施方案123-132中任一项的方法，其中所述方法进一步包括测定所述试验样品中的铁调素。

[0444] 实施方案134．用于测定试验样品的RGMc (或其片段)的试剂盒，所述试剂盒包含用于测定所述试验样品的RGMc (或其片段)的至少一种组分和用于测定所述试验样品的RGMc (或其片段)的说明书，其中所述至少一种组分包括至少一种组合物，其包含特异性结合到RGMc (或其片段)上的分离的抗体，其中所述抗体包含选自以下的域或区：(a)重链可变域区，其包含SEQ ID NO:43的氨基酸序列，(b)轻链可变域区，其包含SEQ ID NO:44的氨基酸序列，(c)重链可变域区，其包含SEQ ID NO:51的氨基酸序列，(d)轻链可变域区，其包

含SEQ ID NO:52的氨基酸序列,(e)重链可变域区,其包含SEQ ID NO:53的氨基酸序列,(f)轻链可变域区,其包含SEQ ID NO:54的氨基酸序列,(g)重链可变域区,其包含SEQ ID NO:57的氨基酸序列,(h)轻链可变域区,其包含SEQ ID NO:58的氨基酸序列,(g)重链可变域区,其包含SEQ ID NO:69的氨基酸序列,(h)轻链可变域区,其包含SEQ ID NO:70的氨基酸序列,(i)可变重链,其含有包含SEQ ID NO:95的氨基酸序列的互补决定区(CDR)1,包含SEQ ID NO:96的氨基酸序列的CDR2,和包含SEQ ID NO:97的氨基酸序列的CDR3,(j)可变轻链,其含有包含SEQ ID NO:98的氨基酸序列的CDR1,包含SEQ ID NO:99的氨基酸序列的CDR2,和包含SEQ ID NO:100的氨基酸序列的CDR3,(k)可变重链,其含有包含SEQ ID NO:119的氨基酸序列的CDR1,包含SEQ ID NO:120的氨基酸序列的CDR2,和包含SEQ ID NO:121的氨基酸序列的CDR3,(l)可变轻链,其含有包含SEQ ID NO:122的氨基酸序列的CDR1,包含SEQ ID NO:123的氨基酸序列的CDR2,和包含SEQ ID NO:124的氨基酸序列的CDR3,(m)可变重链,其含有包含SEQ ID NO:125的氨基酸序列的CDR1,包含SEQ ID NO:126的氨基酸序列的CDR2,和包含SEQ ID NO:127的氨基酸序列的CDR3,(n)可变轻链,其含有包含SEQ ID NO:128的氨基酸序列的CDR1,包含SEQ ID NO:129的氨基酸序列的CDR2,和包含SEQ ID NO:130的氨基酸序列的CDR3,(o)可变重链,其含有包含SEQ ID NO:137的氨基酸序列的CDR1,包含SEQ ID NO:138的氨基酸序列的CDR2,包含SEQ ID NO:139的氨基酸序列的CDR3,(p)可变轻链,其含有包含SEQ ID NO:140的氨基酸序列的CDR1,包含SEQ ID NO:141的氨基酸序列的CDR2,和包含SEQ ID NO:142的氨基酸序列的CDR3,(o)可变重链,其含有包含SEQ ID NO:173的氨基酸序列的CDR1,包含SEQ ID NO:174的氨基酸序列的CDR2,和包含SEQ ID NO:175的氨基酸序列的CDR3,(p)可变轻链,其含有包含SEQ ID NO:176的氨基酸序列的CDR1,包含SEQ ID NO:177的氨基酸序列的CDR2,和包含SEQ ID NO:178的氨基酸序列的CDR3,(q)可变重链,其含有包含SEQ ID NO:95的氨基酸序列的互补决定区(CDR)1,包含SEQ ID NO:96的氨基酸序列的CDR2,和包含SEQ ID NO:97的氨基酸序列的CDR3,以及可变轻链,其含有包含SEQ ID NO:98的氨基酸序列的CDR1,包含SEQ ID NO:99的氨基酸序列的CDR2,和包含SEQ ID NO:100的氨基酸序列的CDR3,(r)可变重链,其含有包含SEQ ID NO:119的氨基酸序列的CDR1,包含SEQ ID NO:120的氨基酸序列的CDR2,和包含SEQ ID NO:121的氨基酸序列的CDR3,以及可变轻链,其含有包含SEQ ID NO:122的氨基酸序列的CDR1,包含SEQ ID NO:123的氨基酸序列的CDR2,和包含SEQ ID NO:124的氨基酸序列的CDR3,(s)可变重链,其含有包含SEQ ID NO:125的氨基酸序列的CDR1,包含SEQ ID NO:126的氨基酸序列的CDR2,和包含SEQ ID NO:127的氨基酸序列的CDR3,以及可变轻链,其含有包含SEQ ID NO:128的氨基酸序列的CDR1,包含SEQ ID NO:129的氨基酸序列的CDR2,和包含SEQ ID NO:130的氨基酸序列的CDR3,(t)可变重链,其含有包含SEQ ID NO:137的氨基酸序列的CDR1,包含SEQ ID NO:138的氨基酸序列的CDR2,包含SEQ ID NO:139的氨基酸序列的CDR3,以及可变轻链,其含有包含SEQ ID NO:140的氨基酸序列的CDR1,包含SEQ ID NO:141的氨基酸序列的CDR2,和包含SEQ ID NO:142的氨基酸序列的CDR3,(u)可变重链,其含有包含SEQ ID NO:173的氨基酸序列的CDR1,包含SEQ ID NO:174的氨基酸序列的CDR2,和包含SEQ ID NO:175的氨基酸序列的CDR3,以及可变轻链,其含有包含SEQ ID NO:176的氨基酸序列的CDR1,包含SEQ ID NO:177的氨基酸序列的CDR2,和包含SEQ ID NO:178的氨基酸序列的CDR3,其中所述抗体任选被可检测标记。

[0445] 实施方案135. 实施方案134的试剂盒，其中在所述试验样品中测定的RGMc或其片段用于判定或评价受试者是否患有铁相关病症或处于发展该病症的风险中。

[0446] 实施方案136. 实施方案135的方法，其中所述RGMc是膜结合的RGMc或可溶性RGMc。

[0447] 实施方案137. 实施方案134的试剂盒，其中所述试剂盒进一步包含用于测定试验样品的铁调素的至少一种组分和用于测定所述试验样品的铁调素的说明书。

[0448] 实施方案138. 实施方案134或137的试剂盒，其中所述RGMc是膜结合的RGMc、可溶性RGMc、膜结合的RGMc片段、可溶性RGMc片段、膜结合的RGMc变体、可溶性RGMc变体或上述的任何组合。

具体实施方式

实施例

[0449] 实施例1.

抗体的亲和力成熟和测定结合特性的方法

序列比对显示RGMA抗体h5F9.23与人种系VH3-23/JH3和A17/Jk2共享最高同一性(参见来自h5F9亲和力成熟设计文件的图)。为了改进h5F9.23对RGMA的亲和力，从IgBLAST数据库中的其它人抗体序列中鉴定了超变的CDR残基，所述其它人抗体序列与种系VH3-23和A17也共享高同一性。然后通过PCR，使用在这些位置上具有低简并性的引物，相应的h5F9.23 CDR残基经历有限的诱变，产生2个抗体文库，为scFv形式，适于表面展示。

[0450] 第一个文库在VH CDR1、2和3的残基31、35、50、52、52a、53、55、56、95、96、97和102含有突变(Kabat编号)；第二文库在3个VL CDR的残基27c、27d、30、34、50、53、89、91、93、94、96和97含有突变。为了进一步增加hMAK195与人种系框架序列的同一性，将在VH位置37 (V/I)、48 (V/I)、49 (S/G)的二元简并引入第一文库中。另外，将在VL位置4 (M/L)和46 (R/L)的二元简并引入第二文库中。

[0451] 这些h5F9.23文库展示在细胞表面，通过磁性荧光激活细胞分拣以针对低浓度的生物素化RGMA而筛选。对于改善结合速率、解离速率或这两者进行选择并回收亲和力-调节的h5F9.23克隆的抗体蛋白序列，用于从scFv转回到IgG形式，以便进一步表征。这些是亲和力成熟的h5F9.23抗体。参见表1。

[0452] 11个h5F9.23亲和力成熟的克隆表达在293-6E细胞。记录表达水平并通过蛋白A亲和柱纯化抗体。H5F9亲和力成熟的抗体在SEC和MS分析中显示出良好的理化性质。

[0453] 在h RGMa间接ELISA中评价亲和力-成熟的h5F9.23亲和力成熟抗体的结合特性。这是抗人Fc捕获性ELISA。简而言之，将抗h Fc在0.2摩尔碳酸氢钠缓冲液(pH 9.4)中稀释到0.5 μg/ml，以100 ul/孔包被并将板在室温下孵育2小时。将200 μl含5%脱脂奶粉的PBS加入到各孔并在室温下将其封闭1小时。洗涤板后，将100 μl 0.2 μg/ml稀释的单个抗体加入到各孔，一式两份。在室温下孵育1小时，然后洗涤板。将100 μl 1至6个系列稀释的生物素hRGMa (从10 nM至0.001 nM)加入各孔，然后将板在室温下孵育1小时。洗涤后，1:10000稀释的SA-HRP是120 μl/孔，在室温下孵育15分钟。最后，在洗涤该板后，将来自Invitrogen (CAT#00-2023 Lot#425820A)的120 μl TMB底物加入到各孔，等待5-10分钟显色。用60 μl

2N硫酸终止反应。接着在450 nm处读板并收集数据，进行数据分析。在这种ELISA形式中，我们能够排列(rank)亲和力成熟的h5F9.23抗体与人RGMa的结合。以人RGMc的形式，在人RGMc直接ELISA中评价人RGMc的结合。由数据得出结论：相对于h5F9.23母体抗体，h5F9.23 AM抗体具有改善的人RGMa和RGMc结合。

[0454] 实施例2

竞争性结合数据

关于表3，“(a)MSD”对应于使用与链霉抗生物素-磺基-标签(streptavidin-Sulfo-Tag)复合的生物素化hRGMa-Fc，并与细胞一起在室温下孵育。“bHCS”对应于使用与Cy3-标记的抗Fc抗体复合的hRGMa-Fc，并与细胞一起在37°C孵育。

[0455] 表4

克隆→	H5F9AM.4	H5F9AM.8	H5F9AM.9	H5F9AM.11
hRGMa 结合(ELISA)	+++	+++	+++	+++
大鼠 RGMa 结合(ELISA)	+++	+++	+++	+++
Cyno RGMa 结合(ELISA)				
R &D hRGMc-His ELISA	+++	+++	+++	+++
hRGMa-His (亲和力 K_D (nM)	0.015	0.031	0.47	0.11
大鼠 RGMa-His (亲和力 K_D (nM)	<0.00094	<0.0015	0.31	0.074
hRGMc-His (亲和力 K_D (nM)	0.12	0.08	0.69	0.25
与生物素-hRGMa-Fc 竞争结合到 neo-His (ELISA)	++	?	++	?
与 RGMa Fc 0-Fc 竞争结合到 Neo-His (ELISA)	++	++	++	++
[a] 封闭 hRGMa-FcSH-与 SY5Y 细胞的结合(MSD)	++	++	++	++
[b] 封闭 hRGMa-Fc 与 SH-SY5Y 细胞的结合(HCS)	+++	+++	+++	+++
封闭 hRGMa-Fc 与 A172 细胞的结合(HCS)	+++	+++	+++	+++
封闭 hRGMa-Fc 与原代神经元的结合(HCS)	+++	+/-	-	++
与 FL-RGMa-Fc 竞争结合到 BMP-2 (ELISA)	++	++	++	+++
与 FL-RGMa-Fc 竞争结合到 BMP-4 (ELISA)	++	++	++	++
RGMa 介导的 BRE luc 测定	++	+/-	-	++
RGMc 介导的 BRE luc 测定	-	++	++	++

实施例3

人源化5F9.23在健康大鼠中影响铁代谢

进行不同测定，以理解h5F9.23在大鼠中对铁代谢的作用。5只雌性Sprague-Dawley大鼠每剂用h5F9.23静脉内(IV)处理，每周一次，每周用0、20、60或200 mg/kg，历时4周时间。最后一次处理后7天处死动物。采血，用于临床病理学评价，包括铁代谢参数(即，游离血清铁、饱和转铁蛋白、不饱和铁结合力(UIBC))，并固定器官(肝、脾、脑、胰、心、肾)，用于组织病理学检查。具体地讲，使用来自RANDOX Lab, Ltd. Crumlin, UK的市售的比色测定法，测定铁代谢参数(即，游离血清铁、饱和转铁蛋白、不饱和铁结合力(UIBC)) (用于铁和总铁结合力)。用测定的铁参数和TIBC计算UIBC。使用适应于cobas系统(Roche Diagnostics GmBH, Germany)的内部免疫浊度测定法，测定铁蛋白。

[0456] 大鼠耐受h5F9治疗，在动物行为、临床征兆、食物消耗、体重和器官重量、血液学、凝血和临床化学方面无任何变化。血清铁水平(图3)和转铁蛋白饱和(图4和5)是剂量依赖性增加的，而不饱和铁结合力(UIBC)则是剂量依赖性降低的(图6)。

[0457] h5F9.23在每周一次经IV注射0、20、60或200 mg/kg处理的大鼠肝脏中导致剂量依赖性门静脉周的铁积累。用200 mg/kg h5F9处理4周之后，铁颗粒在肝细胞中积累并可用普鲁士蓝染色而显示(比较图7和8)。相比之下，在用200 mg/kg 5F9处理4周之后，脾脏中的巨噬细胞的铁贮存(图9, 对照)减少。参见图10。

[0458] 在脾脏中，铁负载的巨噬细胞定位于淋巴滤泡间的红髓中(图9)。相比之下，用200 mg/kg/周处理的动物脾脏中的巨噬细胞显示出减少的铁积累或无铁积累，表明作为结合到RGMc的结果，铁向血液中的释放增加(图10)。

[0459] 实施例4

通过RGMc介导的BMP报告测定法，对h5F9.23亲和力成熟的mAb的表征

RGMc通过BMP/Smad1/5/8信号转导途径调节铁调节性激素铁调素。作为BMP的共受体，膜结合的RGMc增强BMP信号转导。为了测试h5F9.23亲和力成熟的Ab是否阻断BMP/Smad信号转导，开发了RGMc-介导的BMP报告测定法。

[0460] 通过将BMP响应元件(BRE) (Korchynskyi等人, 2002)克隆到基础报告载体pGL4.27 [luc2P/minP/Hygro] (Promega)中的luc基因上游，构建BMP响应的萤光素酶(luc)报告构建体。

[0461] 在RGMc BMP报告测定法中，在10cm盘中，用BRE-luc报告基因和hRGMc表达载体瞬时转染293HEK细胞，在24小时之后分到96孔板中，细胞密度105/孔。24 h孵育后，将细胞在含有1% FBS的MEM中血清-饥饿6 h，然后加入系列稀释的试验Ab。再孵育16 h之后，将细胞裂解并使用Promega萤光素酶测定系统测定luc活性。

[0462] 结果见图11。h5F9.23亲和力成熟的Abs (AM.4、8、9、11)在阻断hRGMc活性上表现出大的改善效能，其IC50值范围为0.3-1.4 nM，相比之下，h5F9.23的IC50为17 nM。效能数据与亲和力数据相关联(参见表5)。通过BIAcore分析测定针对人RGMa、大鼠RGMa和人RGMc的h5F9.23亲和力成熟的Ab的亲和力(表5)。将测试Ab经由抗hIgG Fc Ab捕获到CM5芯片表面，并注射系列稀释的抗原。对结合速率和解离速率分别监测5和10 min。通过全局分析，使用BIAevaluation 4.0.1软件，对于1:1 Langmuir结合模型，拟合传感图(sensorgram)。根据动力学速率常数(解离速率kd和结合速率ka)计算平衡解离常数(KD)：KD= kd/ka。

表 5. 通过 BIAcore 分析，对 h5F9.23 亲和力成熟的抗体的亲和力测定

Ab 名称	异它 Ab 名称	人 RGMa			Rat RGMa			人 RGMc		
		k_a (1/MS)	k_d (1/s)	K_D (M)	k_a (1/MS)	k_d (1/s)	K_D (M)	k_a (1/MS)	k_d (1/s)	K_D (M)
RGMA-h5F9Vh3a/pJP288	RGMA-h5F9AM.1	1.88E+06	6.7E-05	3.8E-11	1.2E+06	3.6E-05	3.1E-11	1.08E+07	1.65E-03	1.6E-10
hIgG1/K mut										
RGMA-h5F9Vh3a/pJP289	RGMA-h5F9AM.2	1.4E+06	5.0E-05	3.7E-11	1.0E+06	5.5E-05	5.3E-11	7.64E+06	1.70E-03	2.25E-10
hIgG1/K mut										
RGMA-h5F9Vh3a/pJP290	RGMA-h5F9AM.3	1.1E+06	1.4E-04	1.2E-10	8.7E+05	3.1E-05	3.6E-11	9.10E+06	2.40E-03	3E-10
hIgG1/K mut										
RGMA-h5F9Vh7a/pJP291	RGMA-h5F9AM.4	1.4E+06	2.2E-04	1.5E-11	1.1E+06	<1e-6	<9.4e-13	7.83E+06	1.04E-03	1.3E-10
hIgG1/K mut										
RGMA-h5F9Vh7a/pJP292	RGMA-h5F9AM.5	1.0E+06	2.5E-04	1.3E-10	1.4E+06	2.1E-04	1.5E-10	4.15E+07	1.36E-03	3.2E-10
hIgG1/K mut										
RGMA-h5F9pJP293/pJP294	RGMA-h5F9AM.6	1.2E+06	1.4E-04	1.2E-10	9.4E+05	3.0E-05	3.2E-11	9.65E+06	2.55E-03	2.65E-10
hIgG1/K mut										
RGMA-h5F9pJP295/pJP296	RGMA-h5F9AM.7	5.9E+05	9.9E-05	1.6E-10	5.1E+05	<1e-6	<2.0e-12	5.65E+06	2.15E-03	4.25E-10
hIgG1/K mut										
RGMA-h5F9pJP297/pJP298	RGMA-h5F9AM.8	8.7E+05	2.7E-04	3.1E-11	6.6E+05	<1e-6	<1.5e-12	3.93E+06	3.90E-04	1.0E-10
hIgG1/K mut										
RGMA-h5F9pJP297/pJP299	RGMA-h5F9AM.9	6.6E+05	4.0E-04	4.7E-10	6.8E+05	2.1E-04	3.1E-10	1.35E+07	1.07E-02	7.1E-10
hIgG1/K mut										
RGMA-h5F9pJP300/pJP301	RGMA-	8.3E+05	3.9E-04	4.2E-10	6.6E+05	2.6E-05	3.9E-11	9.90E+06	4.40E-03	4.45E-10
hIgG1/K mut	h5F9AM.10									
RGMA-h5F9pJP302/pJP303	RGMA-	9.3E+05	9.9E-05	1.1E-10	7.0E+05	5.2E-05	7.4E-11	5.65E+06	1.40E-03	2.85E-10
hIgG1/K mut	h5F9AM.11									
h5F9.23*		5.0E+06	2.2E-03	4.7E-09	8.3E+05	1.7E-03	2.1E-09	8.3E+05		2.9E-08

[0463] 实施例5

使用RGM A/C和RGM C选择性抗体在猴中治疗慢性病贫血

将20 mg/kg、60 mg/kg、200 mg/kg人源化抗体5F9.23静脉内给予雌性食蟹猴或将60 mg/kg人源化抗体5F9.23皮下给予雌性食蟹猴 (其如本文先前所述是公开于美国专利公布号2010/0028340,其内容通过引用结合到本文中),每周一次,历时4周时间。在第22天,在0.5小时、4小时、24小时和抗体应用之后(第4剂)采集灵长动物血清。使用以下文献中所述的飞行时间质谱方法测定铁调素水平:Kroot, J.J.C,等人, *Clinical Chemistry*, 57:12:1650-1669 (2011)和Kroot, J.J.C.,等人, *American Journal of Hematology*, 87:977-983 (2012)。如图12所示,人源化抗体5F9.23 (h5F9.23)以剂量依赖性方式降低血液中的铁调素水平。

[0464] 实施例6

使用RGM A/C和RGM C选择性抗体在大鼠中治疗慢性病贫血

将2.5 mg/kg、5 mg/kg、10 mg/kg或20 mg/kg h5F9.AM8静脉内给予雌性Sprague Dawley大鼠,每周一次,历时4周时间。4周治疗期之后,采集血清并测定铁参数(即,游离血清铁、饱和转铁蛋白、不饱和铁结合力)。具体地讲,使用来自RANDOX Lab, Ltd. Crumlin, UK的市售的比色测定法,测定铁代谢参数(即,游离血清铁、饱和转铁蛋白、不饱和铁结合力(UIBC)) (用于铁和总铁结合力)。用测定的铁参数和TIBC计算UIBC。使用适应于cobas系统(Roche Diagnostics GmBH, Germany)的内部免疫浊度测定法,测定转铁蛋白。抗体AM8增加游离铁水平和降低不饱和铁结合力(UIBC),如图13A和图13B所示。

[0465] 实施例7

使用RGM A/C和RGM C选择性抗体在大鼠中治疗慢性病贫血

将0.02 mg/kg、0.2 mg/kg、2.0 mg/kg或20 mg/kg h5F9.AM8静脉内给予雌性Sprague Dawley大鼠,每周一次,历时4周时间。4周治疗期之后,采集血清并使用来自Roche Diagnostics GmbH, Germany的市售的比色测定法,测定铁参数(血清铁、转铁蛋白和UIBC) (用于铁和UIBC)。使用在cobas系统(Roche Diagnostics GmBH, Germany)上的免疫浊度测定法,测定转铁蛋白。抗体AM8增加游离铁水平和降低不饱和铁结合力(UIBC),如图14A和图14B所示,开始于0.2 mg/kg/周。在0.02 mg/kg/周,未观察到效果。

[0466] 实施例8

使用RGM A/C和RGM C选择性抗体在大鼠中治疗慢性病贫血(ACD)

在该实施例中,使用Theurl等人. (Theurl等人. Blood, 118: 4977-94 (2011))所述的大鼠关节炎模型,其内容通过引用结合到本文中。雌性Lewis大鼠,8-10周龄(得自Charles River Laboratories, Germany, Sulzfeld),维持标准啮齿类饮食(即,180 mg铁/kg, C1000来自 Altromin, Lage, Germany),接受腹膜内(intraparental)注射肽聚糖-多糖片段(PG-APS) (改编自Theurl等人, *出处同上*)。按照机构和政府指南,大鼠随意进食饮水并供养,12小时明-暗循环,温度20°C±1°C。雌性Lewis大鼠在第0天用单次interparental接种。注射悬浮于0.85%盐水中的A组链球菌肽聚糖-多糖(PG-APS) (Lee Laboratories, Grayson, GA),总剂量15μg鼠李糖/g体重。给予PG-APS后3周,测试动物的贫血的发展并用类似血红蛋白水平随机分组。出现贫血(即,表现出距离基线范围的大于2 g/dL的降低)的大鼠就称为贫血ACD大鼠。

[0467] 对于长期治疗实验,在给予PG-APS后21天给ACD大鼠注射以下:

(a) 2种对照抗体中的一种,即,或者(i) 对RGM A具有选择性的人源化单克隆抗体,或

者(ii) 人IgG同种型(hIgG)对照抗体;

(b) 20 mg/kg以下之一,静脉内,共28天(n=10):(i) 人源化抗体5F9.23 (h5F9.23;描述于美国专利公布2010/0028340,其内容通过引用结合到本文中);(ii) 人源化抗体5F923.AM8 (h5F923.AM8),其是同时对RGM A和RGM C具有选择性的人源化亲和力-成熟的单克隆抗体;(iii)小鼠单克隆抗体1A-2989,其对RGMc具有选择性并且描述于美国申请号61/570,499 (2011年12月14日提交)和美国申请号61/578,122 (2011年12月20日提交),其各自内容通过引用结合到本文中;和

(c) 每隔一天,以2 mg/kg腹膜内给予dorsomorphin (n=8),其为BMP受体I和II的小分子抑制剂。

[0468] 在治疗周期自始至终,通过尾静脉穿刺,每周总共采集500μL血液,用于全血细胞计数(CBC)和血清铁分析。使用Vet-ABC动物血计数器(Scil Animal Care Company, Viernheim, Germany)进行CBC分析。使用市售的比色测定法(Cobas系统;Roche Diagnostics Deutschland GmbH),测定血清铁。

[0469] 治疗28天后(ACD诱导后49天),对所有大鼠实施安乐死并收获组织用于尸检、组织病理学、基因表达和蛋白分析。如图15所示,h5F923.AM8和1A-2989在ACD大鼠中在第30天通过增加血红蛋白水平而改善贫血。Dorsomorphin是无活性的。

[0470] 在第二组实验中,在贫血ACD大鼠(得自Charles River Laboratories, Germany, Sulzfeld)中测试hIgG对照抗体,h5F9.23和h5F923.AM8。使用本领域已知的铁调素测定技术测定,当在第24天时血红蛋白水平降低大于2 g/dL时,将大鼠分类为贫血,所述技术例如以下文献中描述的那些:Kroot, J.J.C,等人, *Clinical Chemistry*, 57:12:1650-1669 (2011)和Kroot, J.J.C.,等人, *American Journal of Hematology*, 87:977-983 (2012)。开始于静脉内给予20 mg/kg抗体治疗,每周一次,共28周,在第41和47和51天分析血红蛋白水平。如图16A所示,在第41、47和51天,对照抗体hIgG不显著改变贫血大鼠的低血红蛋白水平。图16B显示对RGM A具有选择性的人源化单克隆抗体(称为抗RGMa 1),在第41、47和51天不显著改变贫血大鼠的低血红蛋白水平。图16C显示抗体h5F9.AM8在第41、47和51天显著增加贫血大鼠的低血红蛋白水平(D24)。图16D显示抗体h5F9.23在第41、47和51天增加贫血大鼠的低血红蛋白水平(第24天(D24)。

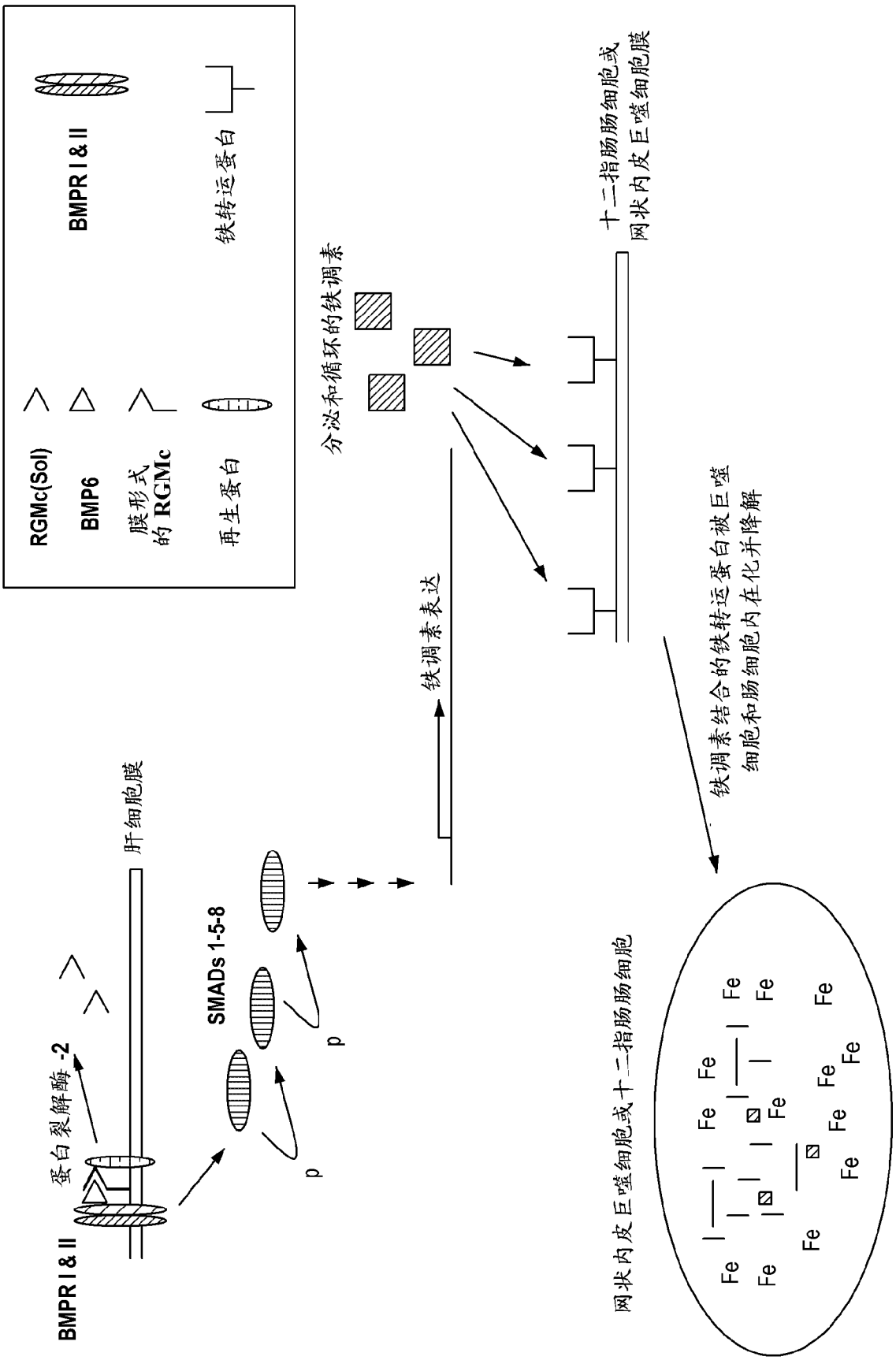

RGMc(Sol)
BMP6
膜形式的 RGMc
再生蛋白
BMPR I & II
铁转运蛋白
BMPR I & II
蛋白裂解酶 -2
肝细胞膜
SMADs 1-5-8
P
P
铁调素表达
分泌和循环的铁调素
十二指肠肠细胞或网状内皮巨噬细胞膜
铁调素结合的铁转运蛋白被巨噬细胞和肠细胞内在化并降解
网状内皮巨噬细胞或十二指肠肠细胞
Fe

图 1

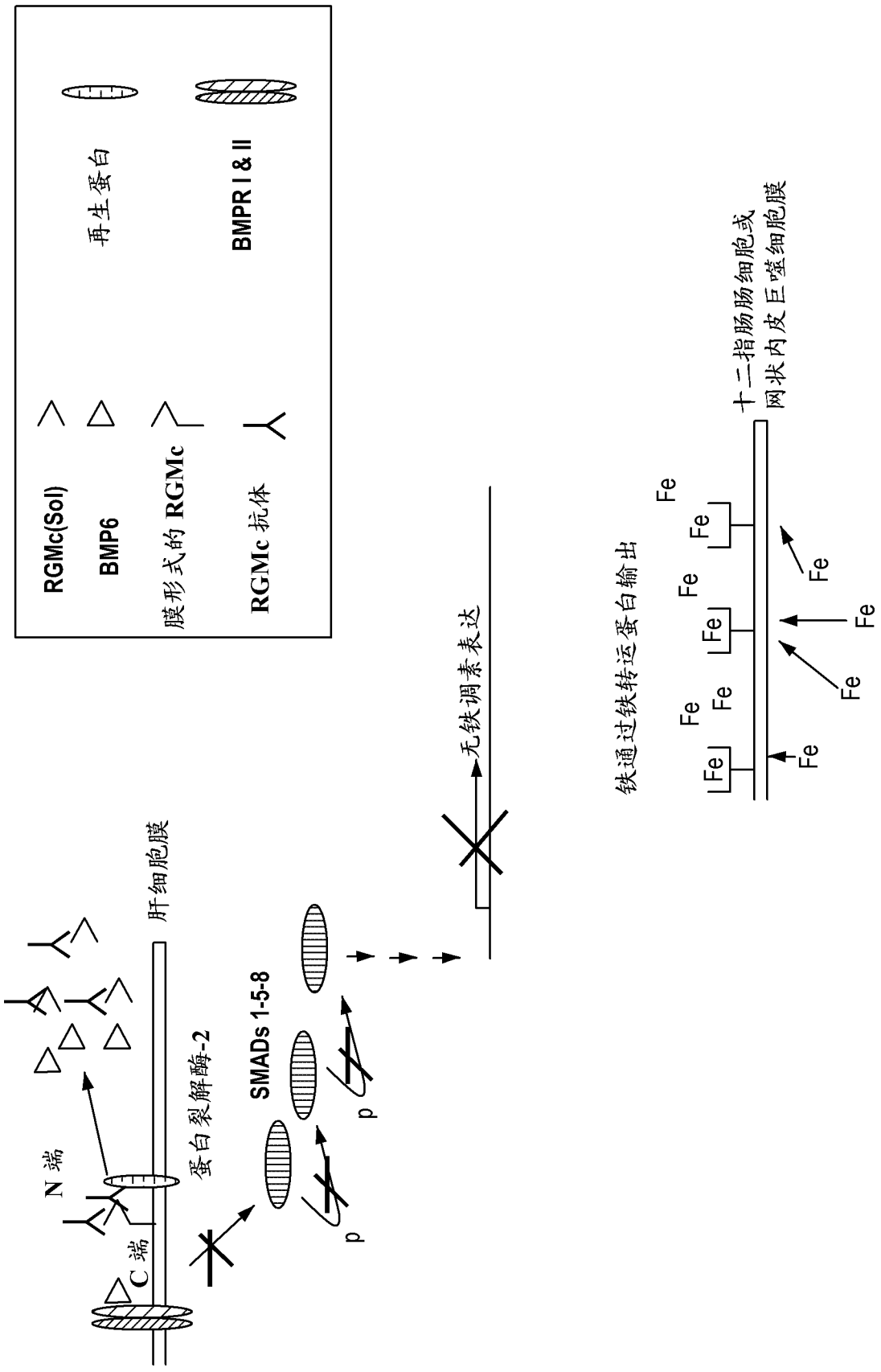

RGMc(Sol)
BMP6
膜形式的 RGMc
RGMc 抗体
再生蛋白
BMPR I & II
肝细胞膜
N 端
C 端
蛋白裂解酶-2
SMADs 1-5-8
P
P
无铁调素表达
铁通过铁转运蛋白输出
Fe
十二指肠肠细胞或
网状内皮巨噬细胞膜

图 2

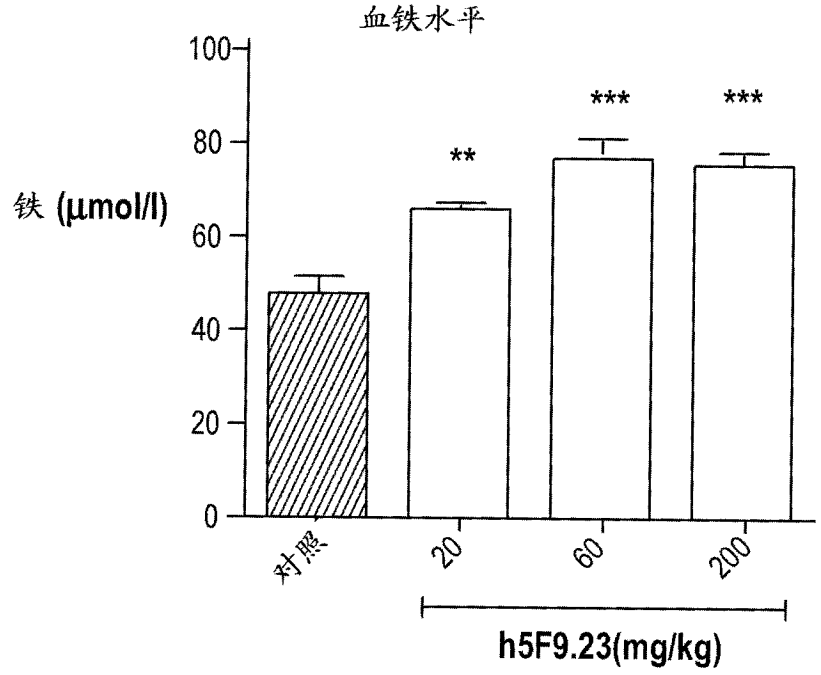

血铁水平
铁 (µmol/l)
100
80
60
40
20
0
**
***
***
对照
20
60
200
h5F9.23(mg/kg)

图 3

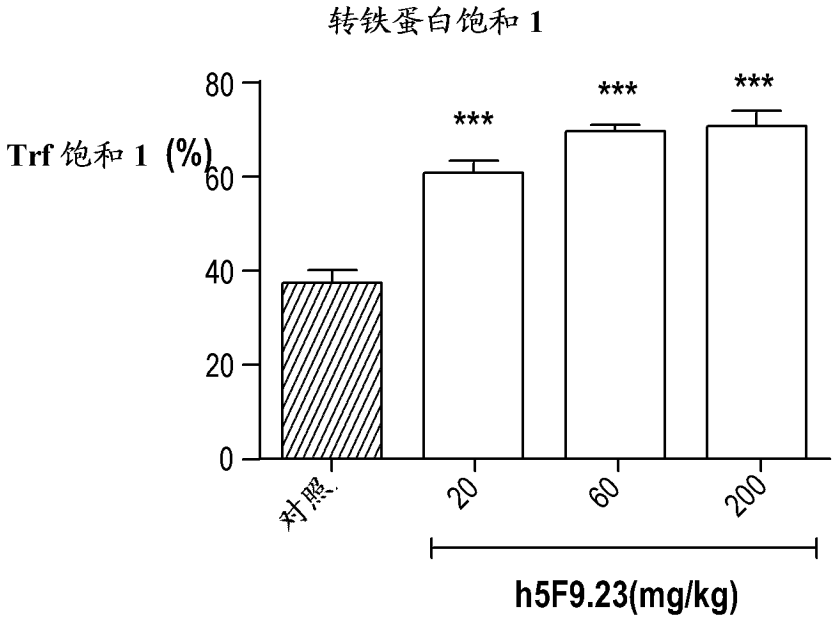

转铁蛋白饱和 1
Trf 饱和 1 (%)
80
60
40
20
0
***
***
***
对照
20
60
200
h5F9.23(mg/kg)

图 4

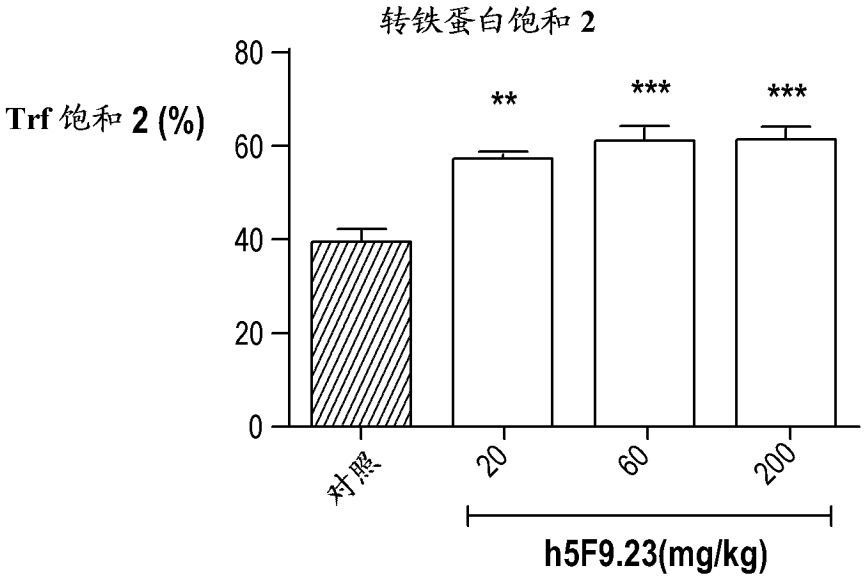

转铁蛋白饱和 2
Trf 饱和 2 (%)
80
60
40
20
0
**
***
***
对照
20
60
200
h5F9.23(mg/kg)

图 5

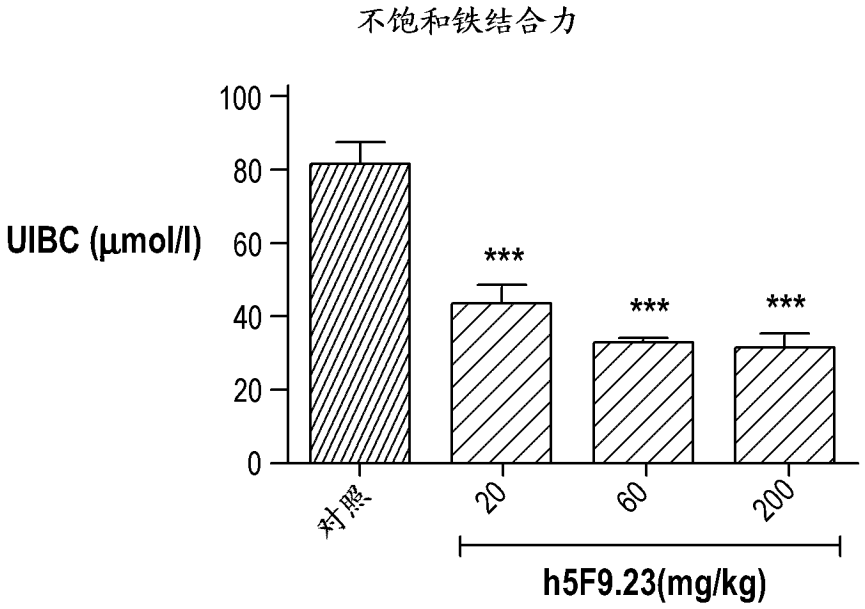

不饱和铁结合力
UIBC (µmol/l)
100
80
60
40
20
0
***
***
***
对照
20
60
200
h5F9.23(mg/kg)

图 6

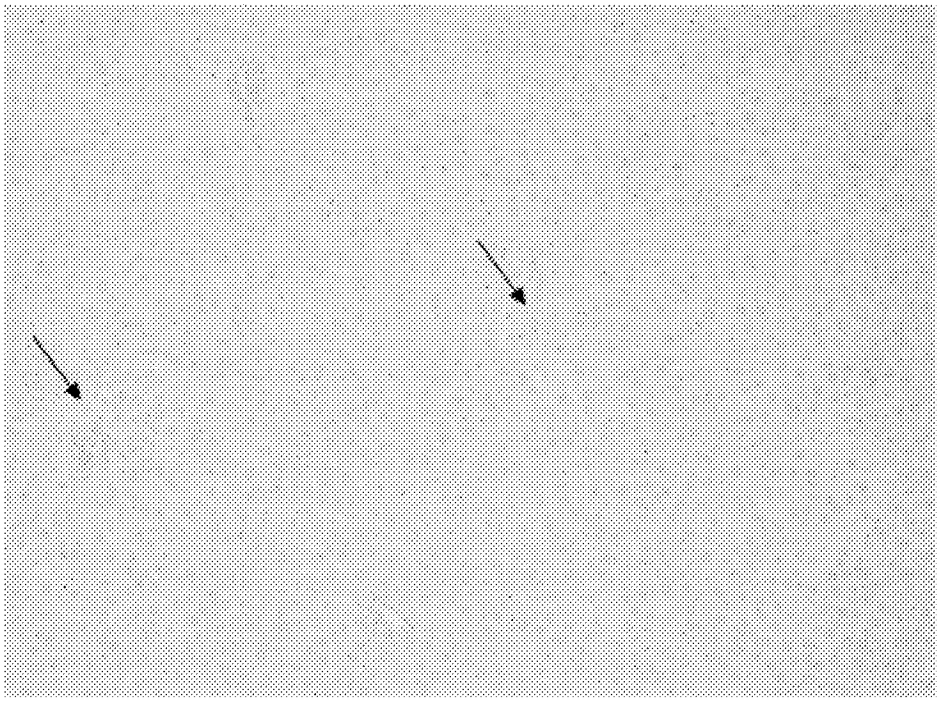


图 7

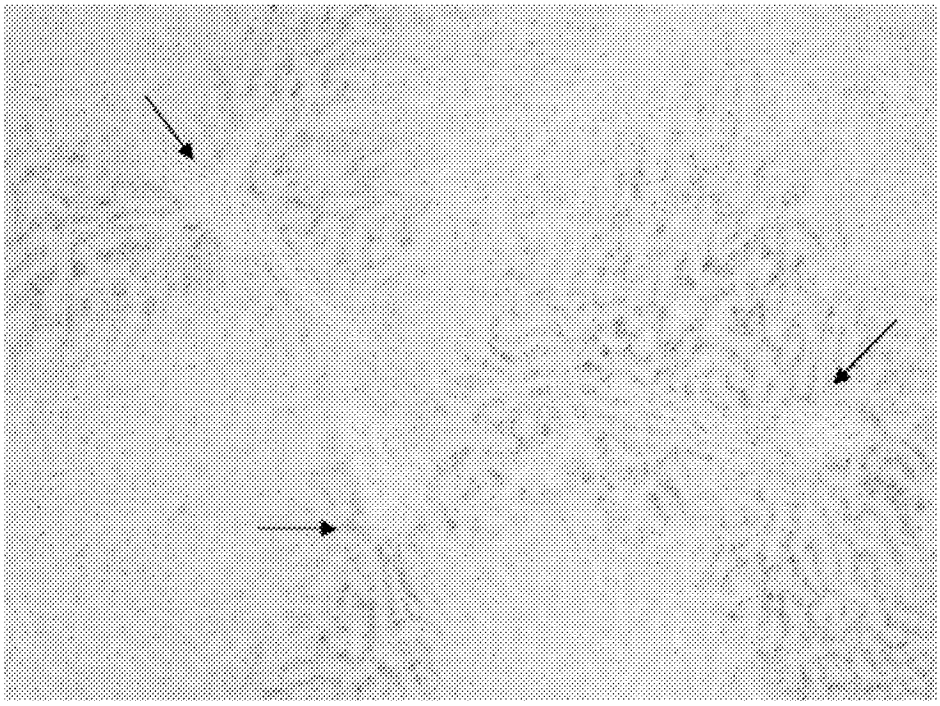


图 8

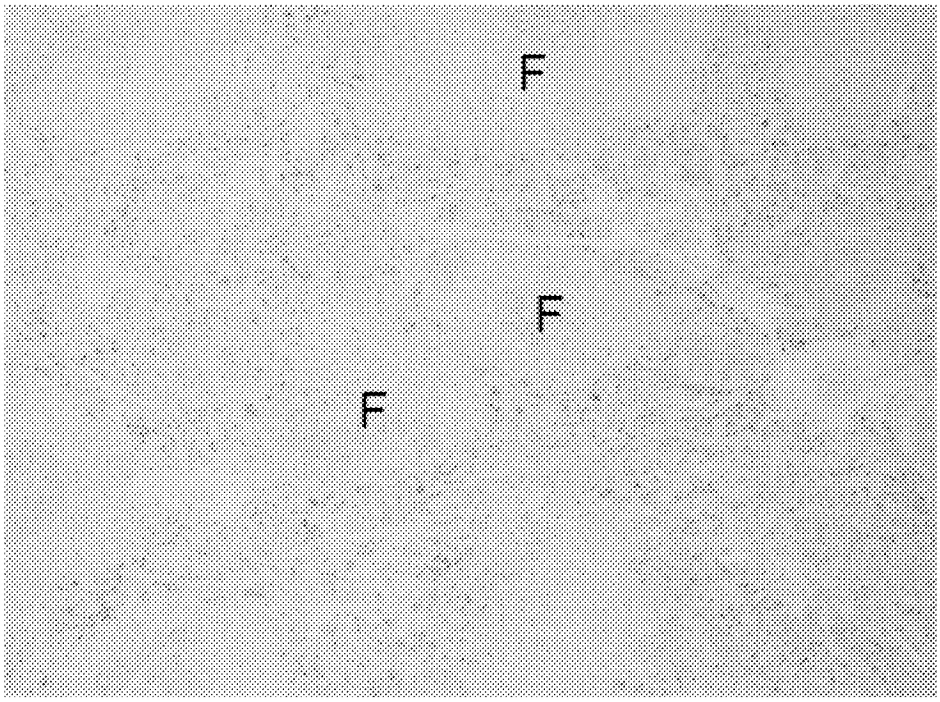


图 9

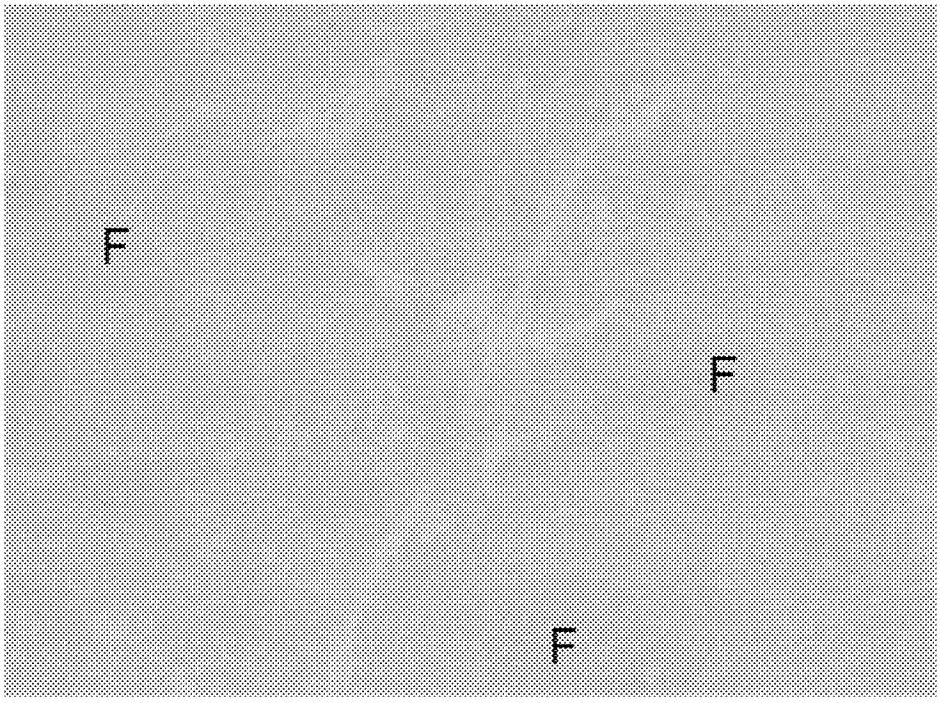
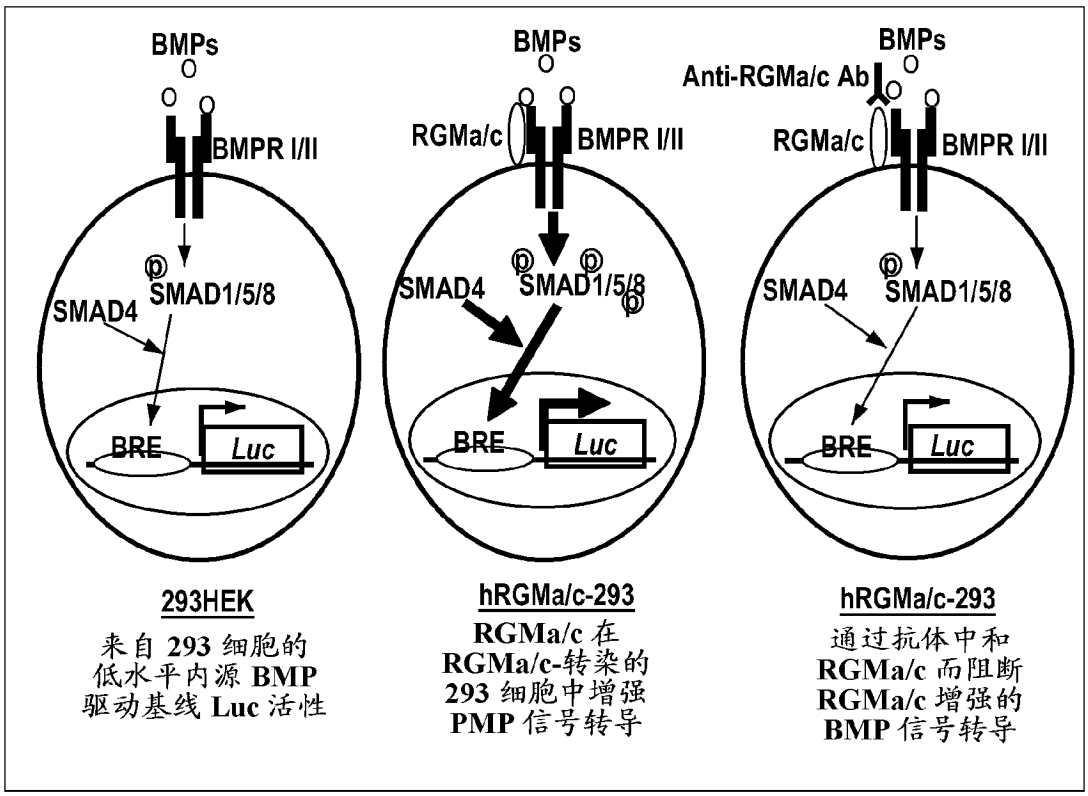
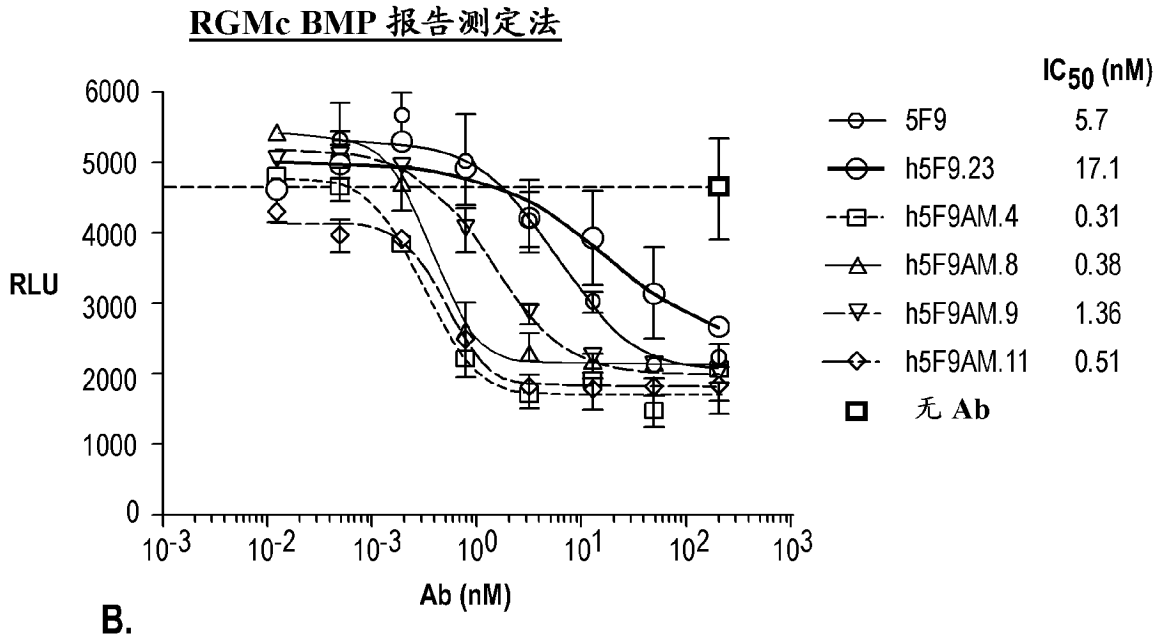


图 10


BMPs
BMPR I/II
SMAD4
SMAD1/5/8
BRE
Luc
293HEK
来自 293 细胞的
低水平内源 BMP
驱动基线 Luc 活性
BMPs
RGMa/c
BMPR I/II
SMAD4
SMAD1/5/8
BRE
Luc
hRGMa/c-293
RGMa/c 在
RGMa/c-转染的
293 细胞中增强
PMP 信号转导
BMPs
Anti-RGMa/c Ab
RGMa/c
BMPR I/II
SMAD4
SMAD1/5/8
BRE
Luc
hRGMa/c-293
通过抗体中和
RGMa/c 而阻断
RGMa/c 增强的
BMP 信号转导

A.


RGMc BMP 报告测定法
RLU
6000
5000
4000
3000
2000
1000
0
10-3
10-2
10-3
100
101
102
103
Ab (nM)
IC50 (nM)
5F9 5.7
h5F9.23 17.1
h5F9AM.4 0.31
h5F9AM.8 0.38
h5F9AM.9 1.36
h5F9AM.11 0.51
无 Ab

B.

图 11

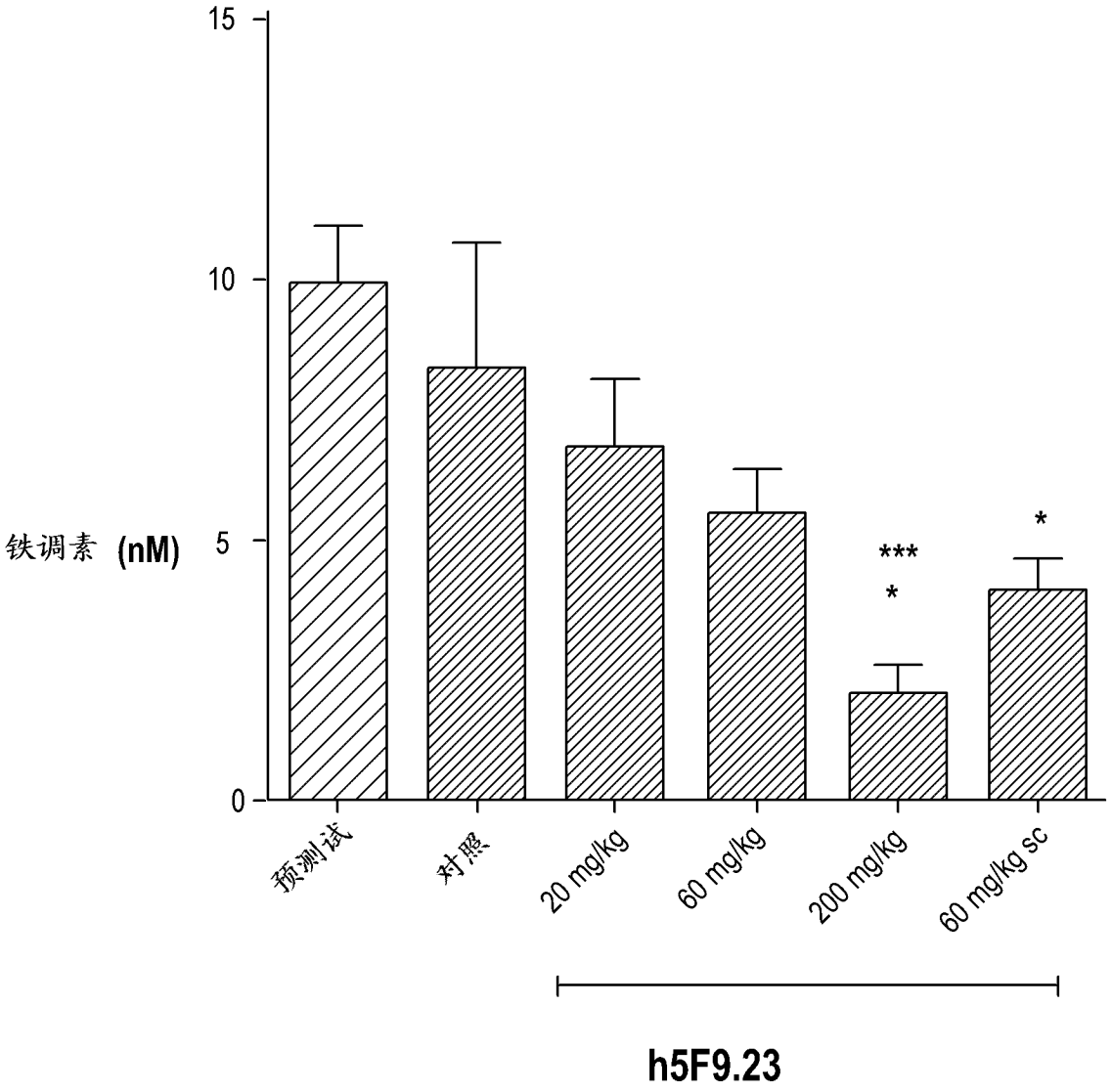


图 12

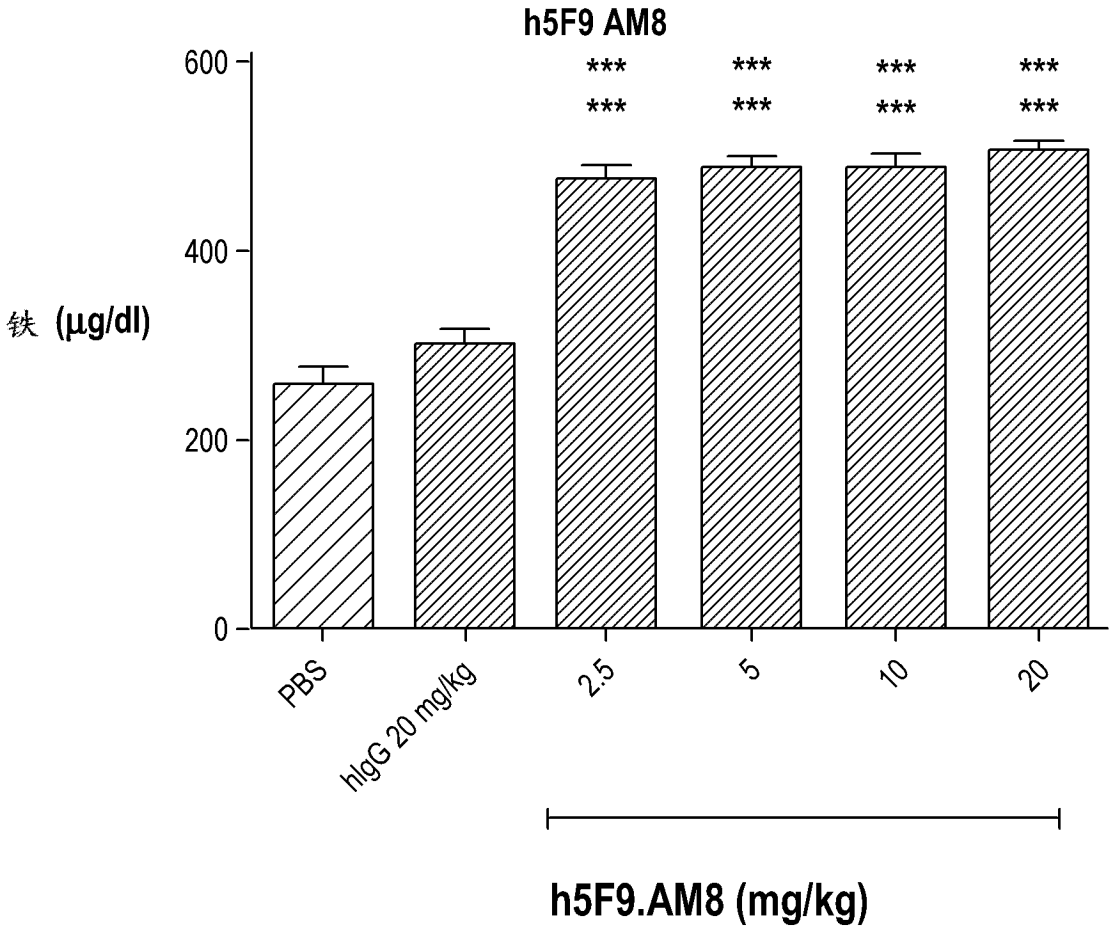

h5F9 AM8
铁 (µg/dl)
600
400
200
0
***
***
***
***
***
***
***
***
PBS
hIgG 20 mg/kg
2.5
5
10
20
h5F9.AM8 (mg/kg)

图 13A

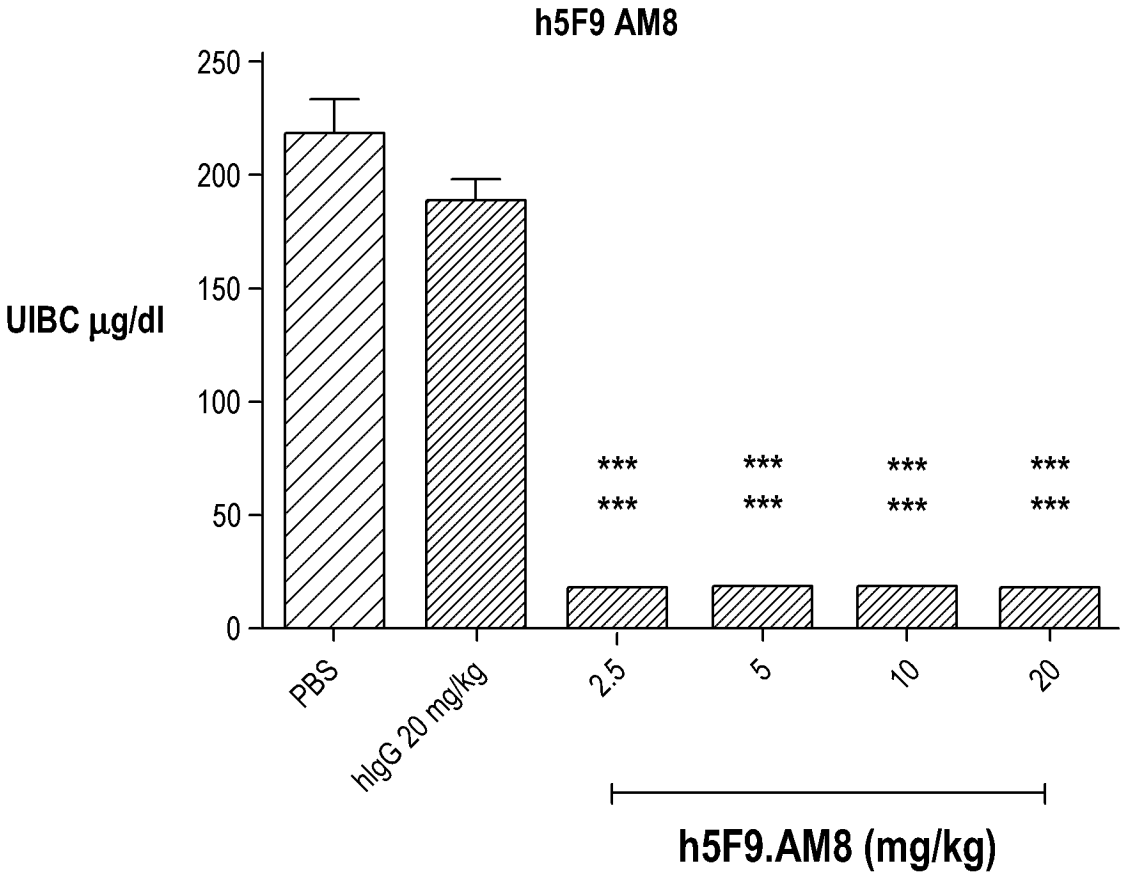

h5F9 AM8
UIBC µg/dl
250
200
150
100
50
0
***
***
***
***
***
***
***
***
PBS
hIgG 20 mg/kg
2.5
5
10
20
h5F9.AM8 (mg/kg)

图 13B

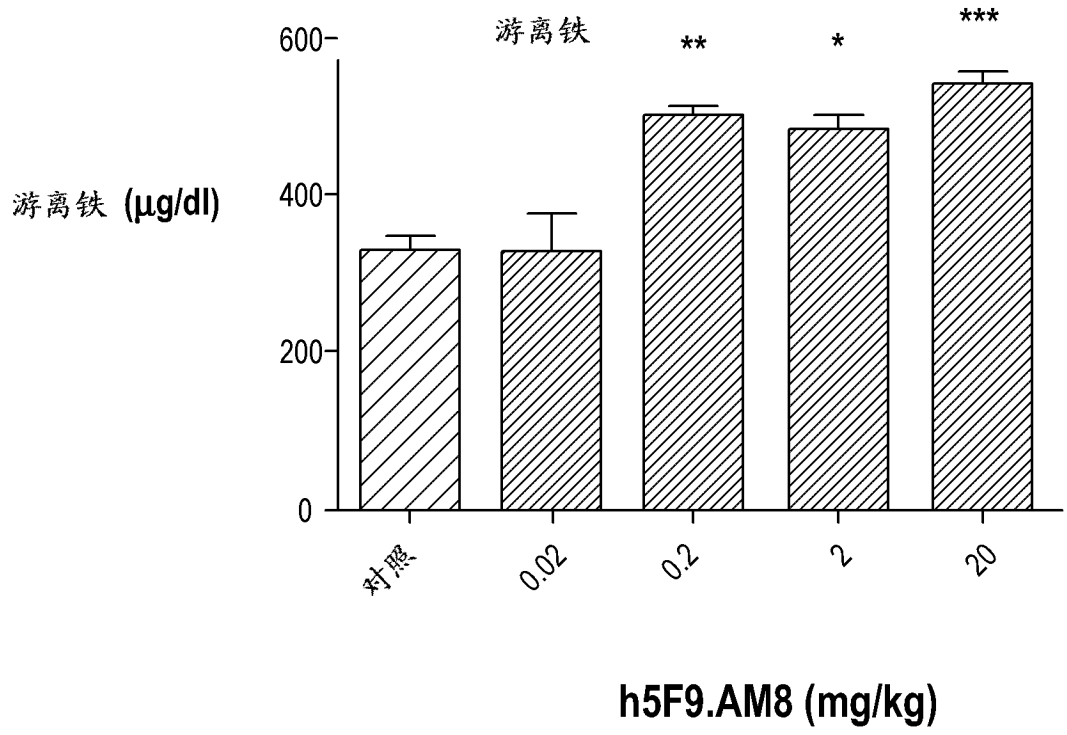

游离铁
游离铁 (µg/dl)
600
400
200
0
**
*
***
对照
0.02
0.2
2
20
h5F9.AM8 (mg/kg)

图 14A

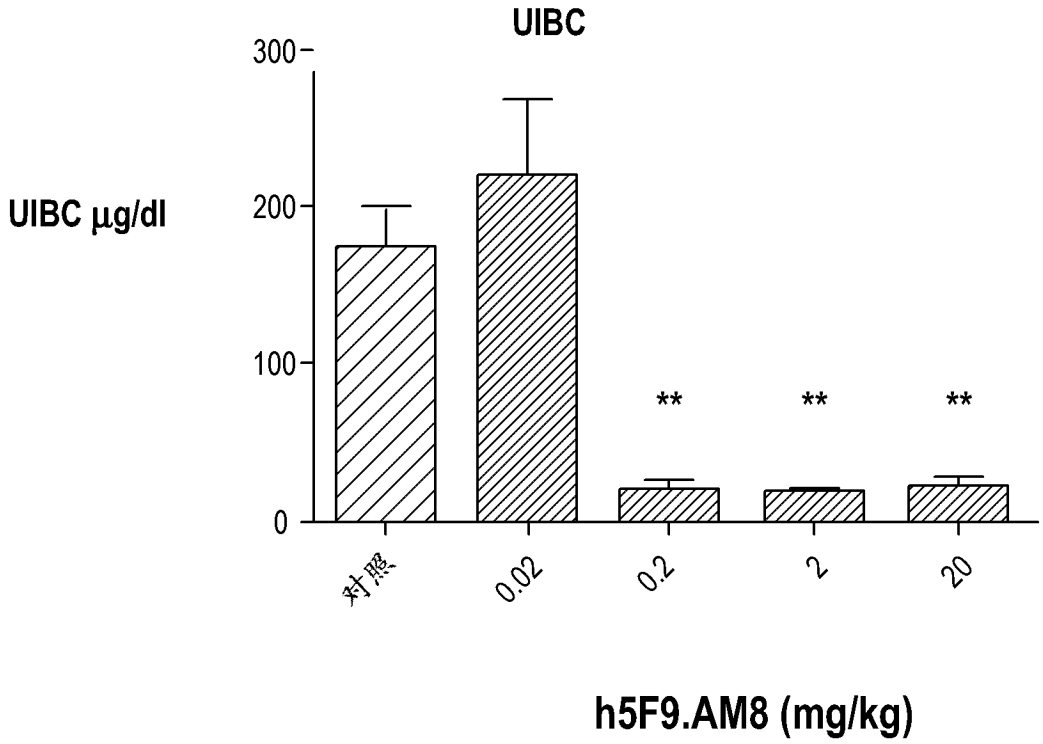

UIBC
UIBC µg/dl
300
200
100
0
**
**
**
对照
0.02
0.2
2
20
h5F9.AM8 (mg/kg)

图 14B

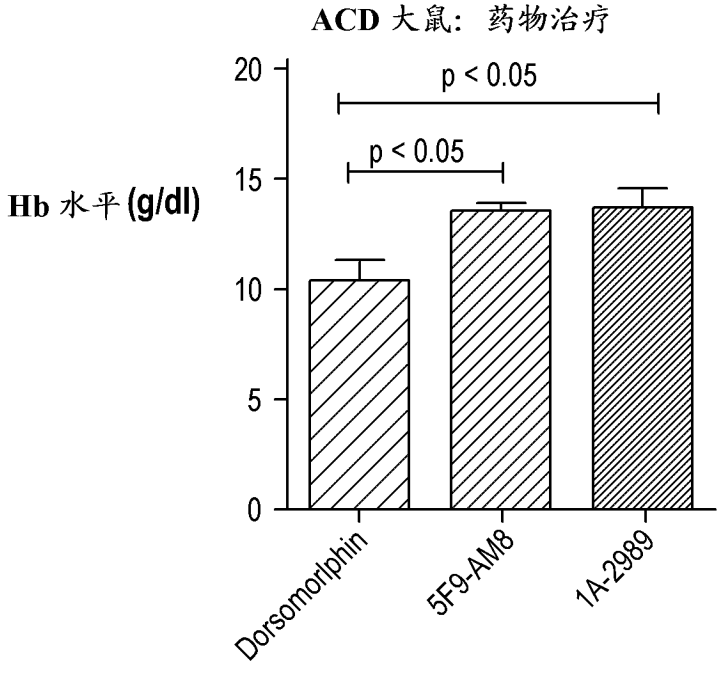

ACD 大鼠：药物治疗
Hb 水平 (g/dl)
20
15
10
5
0
p < 0.05
p < 0.05
Dorsomorlphin
5F9-AM8
1A-2989

图 15

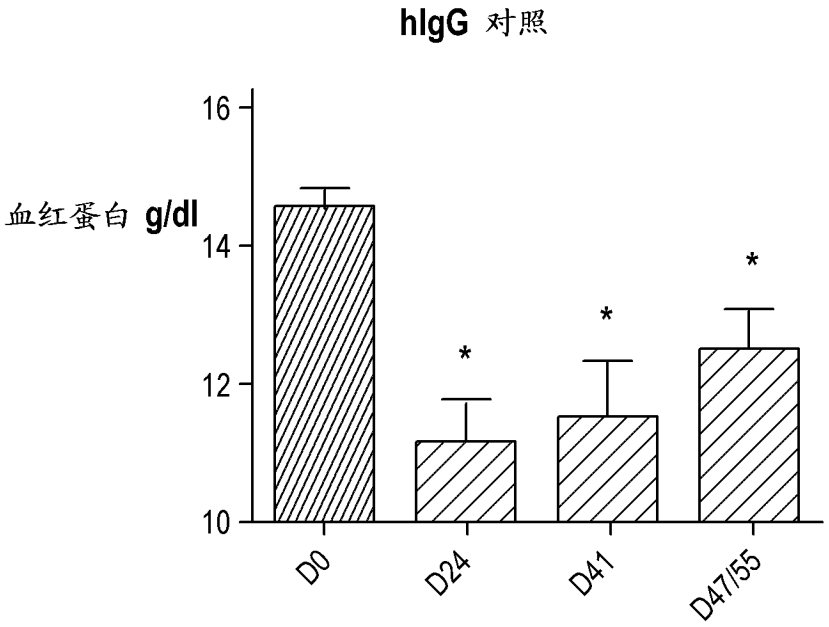

hIgG 对照
血红蛋白 g/dl
16
14
12
10
*
*
*
D0
D24
D41
D47/55

图 16A

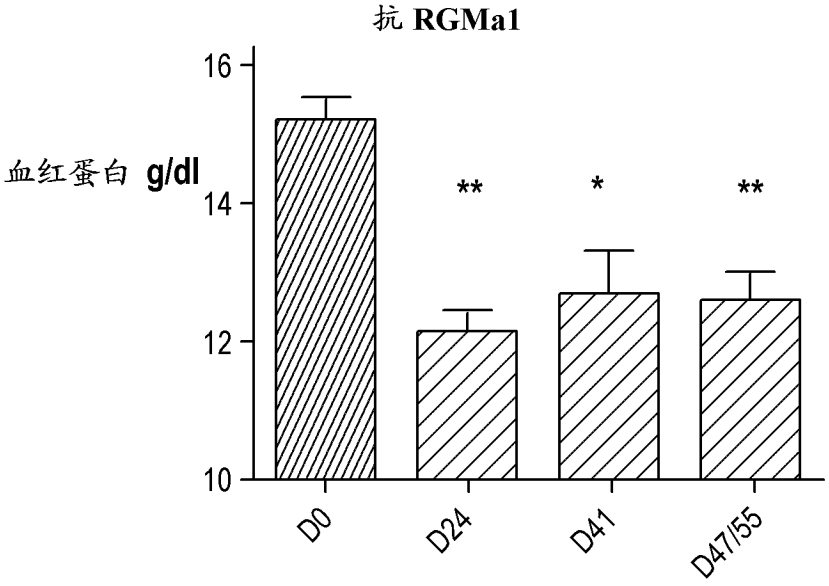

抗 RGMa1
血红蛋白 g/dl
16
14
12
10
**
*
**
D0
D24
D41
D47/55

图 16B

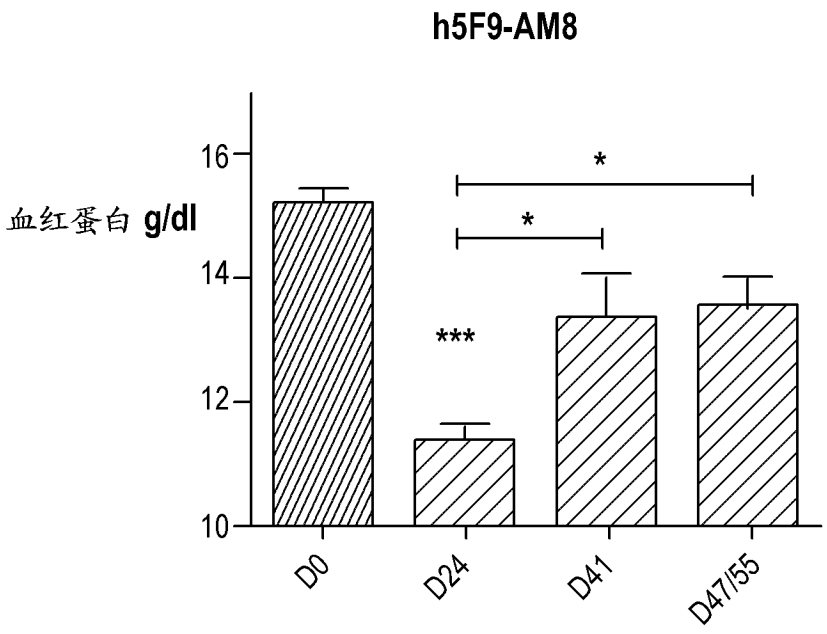

h5F9-AM8
血红蛋白 g/dl
16
14
12
10
*
*
***
D0
D24
D41
D47/55

图 16C

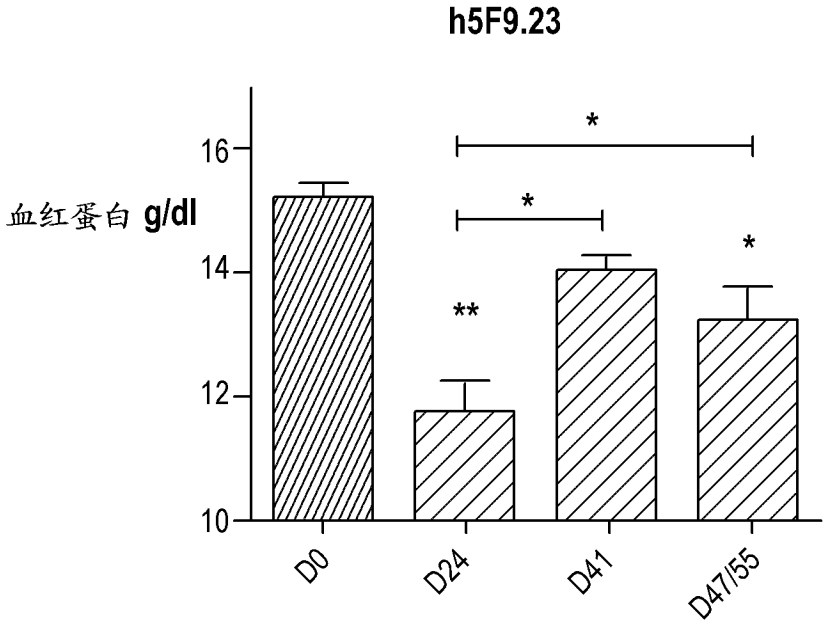

h5F9.23
血红蛋白 g/dl
16
14
12
10
*
*
**
*
D0
D24
D41
D47/55

图 16D