



(45) 授权公告日 2024.08.27

序列表43页 附图16页

```

特征
区域 1..112 / 标记 -V11_5a
113..215 / 标记 -CL4
/ 注="人" C1 结构域, Genbank F01842"
217..332 / 标记 -VH1A_4
333..454 / 标记 -C41
/ 注="人" C41 C1 结构域, Genbank A49444"
455..456 / 标记 -EcoRI 接头
/ 注--
区域 457..466 / 标记 -V2F4 标签
/ 注= 视觉标记识别 18 个氨基酸的标签
区域 467..467 / 标记 - 标签接头 1
/ 注--
区域 468..453 / 标记 -3186 标签
/ 注= 6 个氨基酸的组氨酸标签
25..35 / 标记 -VL CDR1
47..57 / 标记 -VL CDR2
58..59 / 标记 -VL CDR3
242..251 / 标记 -VH CDR1
265..282 / 标记 -VH CDR2
313..321 / 标记 -VH CDR3

```

[illegible]

1. 分离的ALK2抗体或其抗原结合片段,其包含:

(a) 由氨基酸序列SGSSSNIGSNYVS (SEQ ID NO:1)组成的轻链互补决定区(CDR)1;由氨基酸序列VLIYKNNHRPS (SEQ ID NO: 24)组成的轻链CDR2;由氨基酸序列ASWDHSDRFYV (SEQ ID NO:4)组成的轻链CDR3;由氨基酸序列GGTFSSYGVS (SEQ ID NO: 31)组成的重链CDR1;由氨基酸序列WMGGIIPHFGIANYAQKFQG (SEQ ID NO: 36)组成的重链CDR2;和由氨基酸序列EIGSLDI (SEQ ID NO:13)组成的重链CDR3;

(b) 由氨基酸序列SGDSIPSFFAS (SEQ ID NO: 18)组成的轻链CDR1;由氨基酸序列LVIYRDSNRPS (SEQ ID NO: 25)组成的轻链CDR2;由氨基酸序列YVTAPWKSIIW (SEQ ID NO: 5)组成的轻链CDR3;由氨基酸序列GFTFNSSAMS (SEQ ID NO: 32)组成的重链CDR1;由氨基酸序列WVGRIKSKADSGTTDYAAPVKG (SEQ ID NO: 37)组成的重链CDR2;和由氨基酸序列DYGVAFAFAY (SEQ ID NO: 14)组成的重链CDR3;

(c) 由氨基酸序列SGDNIGTKYAY (SEQ ID NO: 19)组成的轻链CDR1;由氨基酸序列LVIYGDSRPS (SEQ ID NO: 26)组成的轻链CDR2;由氨基酸序列YSADAQQMKA (SEQ ID NO: 6)组成的轻链CDR3;由氨基酸序列GFTFNSSAMS (SEQ ID NO: 33)组成的重链CDR1;由氨基酸序列WVGRIKSKRDGYTTDYAAPVKG (SEQ ID NO: 38)组成的重链CDR2;和由氨基酸序列DYGGLKFDY (SEQ ID NO: 15)组成的重链CDR3;

(d) 由氨基酸序列SGDNLRKYSAH (SEQ ID NO: 20)组成的轻链CDR1;由氨基酸序列LVIYYDNKRPS (SEQ ID NO: 27)组成的轻链CDR2;由氨基酸序列QVYASVHRM (SEQ ID NO: 7)组成的轻链CDR3;由氨基酸序列GGTFSSYAIH (SEQ ID NO: 34)组成的重链CDR1;由氨基酸序列WMGRIIPDFGTANYAQKFQG (SEQ ID NO: 39)组成的重链CDR2;和由氨基酸序列GPTQAIHYFAY (SEQ ID NO: 16)组成的重链CDR3;或

(e) 由氨基酸序列SGDSLGSKSVH (SEQ ID NO: 21)组成的轻链CDR1;由氨基酸序列LVIYRDSKRPS (SEQ ID NO: 28)组成的轻链CDR2;由氨基酸序列QTYDWSHFGW (SEQ ID NO: 8)组成的轻链CDR3;由氨基酸序列GFTFSSAAMH (SEQ ID NO: 35)组成的重链CDR1;由氨基酸序列WVSVISSDGGSTYYADSVKG (SEQ ID NO: 12)组成的重链CDR2;和由氨基酸序列AGFILGSLGVAWMDV (SEQ ID NO: 17)组成的重链CDR3。

2. 权利要求1的分离的ALK2抗体,其中除了轻链CDR1、CDR2和CDR3以及重链CDR1、CDR2和CDR3以外,所述抗体与SEQ ID NO:67的序列的氨基酸1至331、SEQ ID NO:68的序列的氨基酸1至332、SEQ ID NO:69的序列的氨基酸1至333、SEQ ID NO:70的序列的氨基酸1至332或SEQ ID NO:71的序列的氨基酸1至337具有至少90%序列同一性。

3. 权利要求1的分离的ALK2抗体,其中所述抗体包含SEQ ID NO:67的序列的氨基酸1至112和氨基酸216至331、SEQ ID NO:68的序列的氨基酸1至110和氨基酸214至332、SEQ ID NO:69的序列的氨基酸1至110和氨基酸214至333、SEQ ID NO:70的序列的氨基酸1至109和氨基酸213至332、或SEQ ID NO:71的序列的氨基酸1至110和氨基酸214至337。

4. 权利要求1的分离的ALK2抗体,其中所述抗体包含SEQ ID NO:67的序列的氨基酸1至433、SEQ ID NO:68的序列的氨基酸1至434、SEQ ID NO:69的序列的氨基酸1至435、SEQ ID NO:70的序列的氨基酸1至434或SEQ ID NO:71的序列的氨基酸1至439。

5. 核酸分子,其编码前述权利要求中任一项的分离的ALK2抗体或其抗原结合片段。

6. 表达载体,其包含权利要求5的核酸分子。

7. 细胞, 包含权利要求6的表达载体。

8. 药物组合物, 其包含权利要求1至4中任一项的分离的ALK2抗体或其抗原结合片段、权利要求5的核酸分子或权利要求6的表达载体以及一种或多种药学上可接受的载体或赋形剂。

ALK2抗体及其使用方法

[0001] 序列表

[0002] 本申请含有已经以ASCII形式电子提交且在此以其整体通过引用并入的序列表。所述ASCII拷贝,在2019年10月23日创建,名为51184-010W02_Sequence_Listing_10.23.19_ST25,且大小为55,259字节。

[0003] 发明背景

[0004] 健康的骨骼经历不断的重塑,其涉及骨破坏和骨生长两者。骨生长由成骨细胞类型介导,而破骨细胞重吸收骨骼。当这些系统通过合成代谢程序的下调、分解代谢系统的上调或两者的组合而失去平衡时,发生病理状况,导致净骨损失。因此,控制骨重塑的平衡可以用于促进骨损伤的愈合以及与骨量损失和骨脱矿物质相关的病症、诸如骨质疏松症的治疗。

[0005] 骨损伤可以起因于一系列根本原因,包括年龄或癌症相关的骨损失、遗传病况或药物治疗的不良副作用。世界卫生组织(World Health Organization)估计,仅骨质疏松症就影响了美国、欧洲和日本的7500万人,并且是骨损伤的重要风险因素。通常,整个骨损失代表对于其存在少数有效治疗的病理状态。相反,治疗集中于固定、锻炼和饮食调制,而不是直接促进骨生长和增加骨密度的试剂。就骨质疏松症而言,雌激素、降钙素、骨钙素与维生素K或高剂量的饮食钙都可用作治疗干预措施。骨质疏松症的其他治疗方法包括双膦酸盐、甲状旁腺激素、甲状旁腺激素相关蛋白(PTHrP)、拟钙剂、他汀类药物、合成代谢类固醇、镧和锶盐和氟化钠。然而,此类治疗剂经常与不期望的副作用相关。

[0006] 贫血是全球性的健康问题,具有影响发病率和死亡率两者的健康牵涉。仅在美国,贫血的患病率从2003年到2012年几乎倍增。贫血的症状包括疲劳、虚弱、呼吸急促、心悸和认知能力下降,并且已发现儿童、孕妇、育龄妇女和老年人具有发展贫血的最高风险。贫血的最常见形式是缺铁性贫血,但贫血也可以由慢性疾病、失血和红血细胞破坏引起。虽然缺铁性贫血可以用铁补充进行治疗,但许多其他形式的贫血,诸如再生障碍性贫血、慢性疾病性贫血和溶血性贫血可能需要输血。

[0007] 异位骨化(HO)是软组织中骨骼外骨的病理形成。该过程发生在具有严重创伤(包括大表面积烧伤、肌肉骨骼损伤、骨科手术和脊髓损伤)的患者群体中,以及具有被称为进展性骨化性纤维发育不良(FOP)的遗传疾病的患者群体中。FOP由I型骨形态发生蛋白(BMP)受体激活素A受体I型(ACVR1)的过度激活突变引起,并且具有FOP的患者可以在没有任何实质性创伤的情况下在肌肉、肌腱、韧带和其他结缔组织中发展异位骨病变。这些病理性异位骨形成的临床后遗症,无论是在外伤还是基因突变的背景下,包括不愈合的伤口、慢性疼痛和关节固化。在FOP的情况下,异位骨的形成可以导致在关节间发展的骨桥并渐进地限制运动,并且渐进性骨化可能由于胸廓顺应性丧失而导致死亡。

[0008] HO的治疗选项是有限的,因为手术切除后骨经常复发,并且手术移除额外的骨的尝试可以导致进一步的骨生长。此外,由于其敏感的位置,一些患者可能具有不可切除的HO。手术的风险可能超过切除的益处,尤其是在面临复发的情况下。需要可以在处于风险的患者中最初发生HO之前预防HO和/或减少HO的量、减少HO的复发或预防具有FOP的患者中额

外的异位骨形成的治疗选择。目前没有批准的FOP的治疗。

[0009] 干燥综合征是一种全身性自身免疫性疾病,其通过其两种最常见的症状(眼干和口干)来鉴定。其特征还可以在于关节疼痛、肿胀和僵硬、唾液腺肿胀、皮疹或皮肤干燥、阴道干燥、持续性干咳和长期疲劳。干燥综合征还可以引起器官、诸如肾脏、胃肠系统、血管、肺、肝脏、胰腺和中枢神经系统的功能障碍。它是最普遍的自身免疫性病征之一,其中超过400万美国人患有该病症,其中十分之九是女性。与干燥综合征相关的干眼可以用免疫抑制剂和类固醇滴眼液治疗;然而,由于副作用、诸如眼内压升高和易于感染,类固醇滴眼液不应长时间使用。

[0010] 弥漫性内源性脑桥胶质瘤(DIPG)是一种小儿脑肿瘤,其起源于脑桥,并且占有所有小儿脑肿瘤的近似20%。DIPG仍然无法治愈,其中中值存活期为10-11个月。未能鉴定DIPG的成功疗法可能源于对该疾病缺乏生物学理解,因为由于肿瘤的敏感位置,直到最近才普遍进行活检。作为结果,许多试验已经基于在成人胶质母细胞瘤中发现的遗传改变,最近发现期在分子上不同于DIPG。

[0011] 多发性骨软骨瘤(MO),也称为遗传性多发性外生骨疣,是一种罕见的遗传病症,其特征在于发展被称为骨软骨瘤的多发性良性(非癌性)骨肿瘤,经常在腿、手臂、和足趾的生长末端(干骺端)上和扁平骨、诸如臀部和肩胛骨上。骨软骨瘤的数量和它们所位于的骨骼在受影响的个体间差异很大。骨软骨瘤在出生时不存在,但近似96%的受影响个体在其12岁时发展多发性骨软骨瘤。这些骨软骨瘤通常继续生长,直到青春期后不久,并可能导致骨畸形、骨骼异常、肢体长度差异、身材矮小、疼痛、活动范围减小以及对神经、血管、脊髓和骨软骨瘤周围组织的压力。遗传性多发性骨软骨瘤作为常染色体显性遗传病况遗传,并与exostosin-1 (EXT1)或exostosin-2 (EXT2)基因中的突变相关。目前的治疗选项包括“观察和等待”方法(当不存在症状时)、手术移除骨软骨瘤、矫正截骨术、生长板阻滞或肢体延长手术。

[0012] 后囊浑浊(PCO)是与白内障手术和眼内晶状体植入后视力下降相关的最常见并发症。在白内障手术期间,眼睛的天然晶状体被放置在晶状体囊内的人造眼内晶状体替代。当晶状体上皮细胞向后囊迁移、增殖和分化、在囊的背面生长并使其增厚并变得略微不透明时,就发生PCO。这减少可以到达视网膜的光量,并可能导致视力模糊或浑浊或强光和眩光的问题。尽管PCO可以使用Nd:YAG激光囊切开术治疗,但潜在的并发症和高昂的治疗费用强调了鉴定新的PCO疗法的重要性。

[0013] 心脏肥大是由心肌细胞大小的增加和其他心肌组分(诸如细胞外基质)的变化导致的心肌的异常增大或增厚。心脏肥大可以是生理性的,响应于运动或怀孕而发生,或者是病理性的,响应于应激(例如,血流动力学应激)而发生,诸如高血压或瓣膜疾病。心脏纤维化的特征还在于,由于心脏成纤维细胞的不适当增殖或心肌中细胞外基质的过度沉积导致的心脏瓣膜异常增厚,这可能导致肌肉更硬、顺应性降低,并且在进展为心力衰竭期间发生。缺乏减少或逆转心脏纤维化的有效疗法,并且现有的心脏肥大疗法,诸如肾上腺素能拮抗剂、肾素-血管紧张素系统调节剂、诸如血管紧张素-转换酶(ACE)抑制剂和血管紧张素受体阻滞剂可能具有上限效果,其特征在于在一些患者中缺乏效力,且甚至消退。

[0014] 需要对骨疾病、贫血、HO(例如,由FOP导致的HO)、干燥综合征(例如,与干燥综合征相关的干眼)、DIPG、MO、PCO和心脏肥大和/或心脏纤维化的新型和有效的治疗。

[0015] 发明概述

[0016] 本文描述了激活素受体样激酶-2 (ALK2, 也称为激活素A受体I型 (ACVR1)) 抗体, 诸如ALK2中和抗体及其ALK2结合片段。可以将本文所述的ALK2抗体及其抗原结合片段配制成药物组合物用于施用于受试者, 诸如人受试者。可以将本文所述的ALK2抗体或其抗原结合片段和组合物施用于受试者, 诸如人受试者, 以治疗或预防骨疾病 (例如, 涉及骨损伤的疾病或病况, 诸如原发性骨质疏松症、继发性骨质疏松症、骨质减少症、骨硬化症、骨折、骨癌或癌症转移相关的骨损失、佩吉特氏病、肾性骨营养不良、治疗相关的骨损失、饮食相关的骨损失、与肥胖治疗相关的骨损失、低重力相关的骨损失或与不能移动相关的骨损失)、低红血细胞水平 (例如, 低血红蛋白水平或低红血细胞计数, 例如, 贫血)、异位骨化 (HO)、诸如由进展性骨化性纤维发育不良 (FOP) 导致的异位骨化、干燥综合征 (例如, 与干燥综合征相关的干眼)、弥漫性内源性脑桥胶质瘤 (DIPG)、多发性骨软骨瘤 (MO)、后囊浑浊 (PCO) 或心脏肥大和/或心脏纤维化。

[0017] 在下面列举的段落中描述了本发明的示例性实施方案。

[0018] E1. 分离的抗体或其ALK2结合片段, 其包含: (1) 轻链可变结构域, 其包含: 轻链互补决定区 (CDR) 1, 其包含选自以下的氨基酸序列或由其组成: SGSSSNIGSNYVS (SEQ ID NO:1) 和SGDX₁X₂X₃X₄X₅X₆X₇X₈ (SEQ ID NO:2, 其中X₁是S或N, X₂是I或L, X₃是P、G或R, X₄是S、T或K, X₅是F、K或Y, X₆是F、Y或S, X₇是A或V, 且X₈是S、Y或H); 轻链CDR2, 其包含以下氨基酸序列或由其组成: X₁X₂IYX₃X₄X₅X₆RPS (SEQ ID NO:3, 其中X₁是V或L, X₂是V或L, X₃是K、R、G或Y, X₄是N或D, X₅是N或S, 且X₆是H、N、D或K); 和轻链CDR3, 其包含选自以下的氨基酸序列或由其组成: ASWDHSDRFYV (SEQ ID NO:4), YVTAPWKSIW (SEQ ID NO:5), YSADAQQMKA (SEQ ID NO:6), QVYASVHRM (SEQ ID NO:7) 和QTYDWSHFGW (SEQ ID NO:8); 和(2) 重链可变结构域, 其包含: 重链CDR1, 其包含以下氨基酸序列或由其组成: GX₁TFX₂SX₃X₄X₅X₆ (SEQ ID NO:9, 其中X₁是G或F, X₂是S或N, X₃是Y、H、S或A, X₄是G或A, X₅是V、M或I, 且X₆是S或H); 重链CDR2, 其包含选自以下的氨基酸序列或由其组成: WMGX₁IIPX₂FGX₃ANYAQKFQG (SEQ ID NO:10, 其中X₁是G或R, X₂是H或D, 且X₃是I或T)、WVGRIKSKX₁DX₂X₃TTDYAAPVKG (SEQ ID NO:11, 其中X₁是A或R, X₂是S或G, 且X₃是G或Y) 和WVSVISSDGGSTYYADSVKG (SEQ ID NO:12); 和重链CDR3, 其包含选自以下的氨基酸序列或由其组成: EIGSLDI (SEQ ID NO:13)、DYGVAFAFAY (SEQ ID NO:14)、DYGGLKFDY (SEQ ID NO:15)、GPTQAIHYFAY (SEQ ID NO:16) 和AGFILGSLGVAWMDV (SEQ ID NO:17)。

[0019] E2. E1的分离的抗体或其ALK2结合片段, 其中所述轻链CDR1包含SEQ ID NO:2的序列或由其组成, 且X₁是S。

[0020] E3. E1的分离的抗体或其ALK2结合片段, 其中所述轻链CDR1包含SEQ ID NO:2的序列或由其组成, 且X₁是N。

[0021] E4. E1-E3中任一项的分离的抗体或其ALK2结合片段, 其中所述轻链CDR1包含SEQ ID NO:2的序列或由其组成, X₂是I。

[0022] E5. E1-E3中任一项的分离的抗体或其ALK2结合片段, 其中所述轻链CDR1包含SEQ ID NO:2的序列或由其组成, X₂是L。

[0023] E6. E1-E5中任一项的分离的抗体或其ALK2结合片段, 其中所述轻链CDR1包含SEQ ID NO:2的序列或由其组成, 且X₃是P。

- [0024] E7. E1-E5中任一项的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述轻链CDR1包含SEQ ID NO:2的序列或由其组成,且 X_3 是G。
- [0025] E8. E1-E5中任一项的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述轻链CDR1包含SEQ ID NO:2的序列或由其组成,且 X_3 是R。
- [0026] E9. E1-E8中任一项的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述轻链CDR1包含SEQ ID NO:2的序列或由其组成,且 X_4 是S。
- [0027] E10. E1-E8中任一项的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述轻链CDR1包含SEQ ID NO:2的序列或由其组成,且 X_4 是T。
- [0028] E11. E1-E8中任一项的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述轻链CDR1包含SEQ ID NO:2的序列或由其组成,且 X_4 是K。
- [0029] E12. E1-E11中任一项的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述轻链CDR1包含SEQ ID NO:2的序列或由其组成,且 X_5 是F。
- [0030] E13. E1-E11中任一项的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述轻链CDR1包含SEQ ID NO:2的序列或由其组成,且 X_5 是K。
- [0031] E14. E1-E11中任一项的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述轻链CDR1包含SEQ ID NO:2的序列或由其组成,且 X_5 是Y。
- [0032] E15. E1-E14中任一项的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述轻链CDR1包含SEQ ID NO:2的序列或由其组成,且 X_6 是F。
- [0033] E16. E1-E14中任一项的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述轻链CDR1包含SEQ ID NO:2的序列或由其组成,且 X_6 是Y。
- [0034] E17. E1-E14中任一项的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述轻链CDR1包含SEQ ID NO:2的序列或由其组成,且 X_6 是S。
- [0035] E18. E1-E17中任一项的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述轻链CDR1包含SEQ ID NO:2的序列或由其组成,且 X_7 是A。
- [0036] E19. E1-E17中任一项的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述轻链CDR1包含SEQ ID NO:2的序列或由其组成,且 X_7 是V。
- [0037] E20. E1-E19中任一项的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述轻链CDR1包含SEQ ID NO:2的序列或由其组成,且 X_8 是S。
- [0038] E21. E1-E19中任一项的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述轻链CDR1包含SEQ ID NO:2的序列或由其组成,且 X_8 是Y。
- [0039] E22. E1-E19中任一项的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述轻链CDR1包含SEQ ID NO:2的序列或由其组成,且 X_7 是A或V,且 X_8 是H。
- [0040] E23. E1-E22中任一项的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述轻链CDR2包含SEQ ID NO:3的序列或由其组成,且 X_1 是V。
- [0041] E24. E1-E22中任一项的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述轻链CDR2包含SEQ ID NO:3的序列或由其组成,且 X_1 是L。
- [0042] E25. E1-E24中任一项的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述轻链CDR2包含SEQ ID NO:3的序列或由其组成,且 X_2 是V。
- [0043] E26. E1-E24中任一项的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述轻链CDR2包含

SEQ ID NO:3的序列或由其组成,且 X_2 是L。

[0044] E27. E1-E26中任一项的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述轻链CDR2包含SEQ ID NO:3的序列或由其组成,且 X_3 是K。

[0045] E28. E1-E26中任一项的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述轻链CDR2包含SEQ ID NO:3的序列或由其组成,且 X_3 是R。

[0046] E29. E1-E26中任一项的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述轻链CDR2包含SEQ ID NO:3的序列或由其组成,且 X_3 是G。

[0047] E30. E1-E26中任一项的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述轻链CDR2包含SEQ ID NO:3的序列或由其组成,且 X_3 是Y。

[0048] E31. E1-E30中任一项的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述轻链CDR2包含SEQ ID NO:3的序列或由其组成,且 X_4 是N。

[0049] E32. E1-E30中任一项的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述轻链CDR2包含SEQ ID NO:3的序列或由其组成,且 X_4 是D。

[0050] E33. E1-E32中任一项的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述轻链CDR2包含SEQ ID NO:3的序列或由其组成,且 X_5 是N。

[0051] E34. E1-E32中任一项的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述轻链CDR2包含SEQ ID NO:3的序列或由其组成,且 X_5 是S。

[0052] E35. E1-E34中任一项的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述轻链CDR2包含SEQ ID NO:3的序列或由其组成,且 X_6 是H。

[0053] E36. E1-E34中任一项的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述轻链CDR2包含SEQ ID NO:3的序列或由其组成,且 X_6 是N。

[0054] E37. E1-E34中任一项的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述轻链CDR2包含SEQ ID NO:3的序列或由其组成,且 X_6 是D。

[0055] E38. E1-E34中任一项的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述轻链CDR2包含SEQ ID NO:3的序列或由其组成,且 X_6 是K。

[0056] E39. E1-E38中任一项的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述重链CDR1包含SEQ ID NO:9的序列或由其组成,且 X_1 是G。

[0057] E40. E1-E38中任一项的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述重链CDR1包含SEQ ID NO:9的序列或由其组成,且 X_1 是F。

[0058] E41. E1-E40中任一项的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述重链CDR1包含SEQ ID NO:9的序列或由其组成,且 X_2 是S。

[0059] E42. E1-E40中任一项的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述重链CDR1包含SEQ ID NO:9的序列或由其组成,且 X_2 是N。

[0060] E43. E1-E42中任一项的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述重链CDR1包含SEQ ID NO:9的序列或由其组成,且 X_3 是Y。

[0061] E44. E1-E42中任一项的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述重链CDR1包含SEQ ID NO:9的序列或由其组成,且 X_3 是H。

[0062] E45. E1-E42中任一项的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述重链CDR1包含SEQ ID NO:9的序列或由其组成,且 X_3 是S。

- [0063] E46. E1-E42中任一项的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述重链CDR1包含SEQ ID N0:9的序列或由其组成,且X₃是A。
- [0064] E47. E1-E46中任一项的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述重链CDR1包含SEQ ID N0:9的序列或由其组成,且X₄是G。
- [0065] E48. E1-E46中任一项的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述重链CDR1包含SEQ ID N0:9的序列或由其组成,且X₄是A。
- [0066] E49. E1-E48中任一项的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述重链CDR1包含SEQ ID N0:9的序列或由其组成,且X₅是V。
- [0067] E50. E1-E48中任一项的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述重链CDR1包含SEQ ID N0:9的序列或由其组成,且X₅是M。
- [0068] E51. E1-E48中任一项的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述重链CDR1包含SEQ ID N0:9的序列或由其组成,且X₅是I。
- [0069] E52. E1-E51中任一项的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述重链CDR1包含SEQ ID N0:9的序列或由其组成,且X₆是S。
- [0070] E53. E1-E51中任一项的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述重链CDR1包含SEQ ID N0:9的序列或由其组成,且X₆是H。
- [0071] E54. E1-E53中任一项的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述重链CDR2包含SEQ ID N0:10的序列或由其组成,且X₁是G。
- [0072] E55. E1-E53中任一项的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述重链CDR2包含SEQ ID N0:10的序列或由其组成,且X₁是R。
- [0073] E56. E1-E55中任一项的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述重链CDR2包含SEQ ID N0:10的序列或由其组成,且X₂是H。
- [0074] E57. E1-E55中任一项的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述重链CDR2包含SEQ ID N0:10的序列或由其组成,且X₂是D。
- [0075] E58. E1-E57中任一项的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述重链CDR2包含SEQ ID N0:10的序列或由其组成,且X₃是I。
- [0076] E59. E1-E57中任一项的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述重链CDR2包含SEQ ID N0:10的序列或由其组成,且X₃是T。
- [0077] E60. E1-E53中任一项的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述重链CDR2包含SEQ ID N0:11的序列或由其组成,且X₁是A。
- [0078] E61. E1-E53中任一项的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述重链CDR2包含SEQ ID N0:11的序列或由其组成,且X₁是R。
- [0079] E62. E1-E53、E60和E61中任一项的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述重链CDR2包含SEQ ID N0:11的序列或由其组成,且X₂是S。
- [0080] E63. E1-E53、E60和E61中任一项的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述重链CDR2包含SEQ ID N0:11的序列或由其组成,且X₂是G。
- [0081] E64. E1-E53和E60-E63中任一项的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述重链CDR2包含SEQ ID N0:11的序列或由其组成,且X₃是G。
- [0082] E65. E1-E53和E60-E63中任一项的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述重链

CDR2包含SEQ ID NO:11的序列或由其组成,且 X_3 是Y。

[0083] E66. E1的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述轻链CDR1包含以下序列或由其组成:SGSSSNIGSNYVS (SEQ ID NO:1)。

[0084] E67. E1的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述轻链CDR1包含以下序列或由其组成:SGDSIPSFFAS (SEQ ID NO:18)。

[0085] E68. E1的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述轻链CDR1包含以下序列或由其组成:SGDNIGTKYAY (SEQ ID NO:19)。

[0086] E69. E1的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述轻链CDR1包含以下序列或由其组成:SGDNLRKYSAH (SEQ ID NO:20)。

[0087] E70. E1的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述轻链CDR1包含以下序列或由其组成:SGDSLGSKSVH (SEQ ID NO:21)。

[0088] E71. E1和E66-E7中任一项的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述轻链CDR2包含以下序列或由其组成:VLIYKNNHRPS (SEQ ID NO:24)。

[0089] E72. E1和E66-E7中任一项的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述轻链CDR2包含以下序列或由其组成:LVIYRDSNRPS (SEQ ID NO:25)。

[0090] E73. E1和E66-E7中任一项的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述轻链CDR2包含以下序列或由其组成:LVIYGDSDRPS (SEQ ID NO:26)。

[0091] E74. E1和E66-E7中任一项的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述轻链CDR2包含以下序列或由其组成:LVIYYDNKRPS (SEQ ID NO:27)。

[0092] E75. E1和E66-E7中任一项的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述轻链CDR2包含以下序列或由其组成:LVIYRDSKRPS (SEQ ID NO:28)。

[0093] E76. E1和E66-E75中任一项的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述轻链CDR3包含以下序列或由其组成:ASWDHSDRFYV (SEQ ID NO:4)。

[0094] E77. E1和E66-E75中任一项的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述轻链CDR3包含以下序列或由其组成:YVTAPWKSIW (SEQ ID NO:5)。

[0095] E78. E1和E66-E75中任一项的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述轻链CDR3包含以下序列或由其组成:YSADAQQMKA (SEQ ID NO:6)。

[0096] E79. E1和E66-E75中任一项的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述轻链CDR3包含以下序列或由其组成:QVYASVHRM (SEQ ID NO:7)。

[0097] E80. E1和E66-E75中任一项的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述轻链CDR3包含QTYDWSHFGW (SEQ ID NO:8)或由其组成。

[0098] E81. E1和E66-E80中任一项的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述重链CDR1包含以下序列或由其组成:GGTFSSYGVS (SEQ ID NO:31)。

[0099] E82. E1和E66-E80中任一项的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述重链CDR1包含以下序列或由其组成:GFTFSSHAMS (SEQ ID NO:32)。

[0100] E83. E1和E66-E80中任一项的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述重链CDR1包含以下序列或由其组成:GFTFNSSAMS (SEQ ID NO:33)。

[0101] E84. E1和E66-E80中任一项的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述重链CDR1包含以下序列或由其组成:GGTFSSYAIH (SEQ ID NO:34)。

- [0102] E85. E1和E66-E80中任一项的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述重链CDR1包含以下序列或由其组成:GFTFSSAAMH (SEQ ID NO:35)。
- [0103] E86. E1和E66-E85中任一项的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述重链CDR2包含以下序列或由其组成:WMGGIIPHFGIANYAQKFQG (SEQ ID NO:36)。
- [0104] E87. E1和E66-E85中任一项的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述重链CDR2包含以下序列或由其组成:WVGRIKSKADSGTTDYAAPVKG (SEQ ID NO:37)。
- [0105] E88. E1和E66-E85中任一项的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述重链CDR2包含以下序列或由其组成:WVGRIKSKRDGYTTDYAAPVKG (SEQ ID NO:38)。
- [0106] E89. E1和E66-E85中任一项的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述重链CDR2包含以下序列或由其组成:WMGRIIPDFGTANYAQKFQG (SEQ ID NO:39)。
- [0107] E90. E1和E66-E85中任一项的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述重链CDR2包含以下序列或由其组成:WVSVISSDGGSTYYADSVKG (SEQ ID NO:12)。
- [0108] E91. E1和E66-E90中任一项的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述重链CDR3包含以下序列或由其组成:EIGSLDI (SEQ ID NO:13)。
- [0109] E92. E1和E66-E90中任一项的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述重链CDR3包含以下序列或由其组成:DYGVAFAY (SEQ ID NO:14)。
- [0110] E93. E1和E66-E90中任一项的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述重链CDR3包含以下序列或由其组成:DYGGLKFDY (SEQ ID NO:15)。
- [0111] E94. E1和E66-E90中任一项的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述重链CDR3包含以下序列或由其组成:GPTQAIHYFAY (SEQ ID NO:16)。
- [0112] E95. E1和E66-E90中任一项的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述重链CDR3包含以下序列或由其组成:AGFILGSLGVAWMDV (SEQ ID NO:17)。
- [0113] E96. E1的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述轻链CDR2包含以下序列或由其组成:LVIYX₁DX₂X₃RPS (SEQ ID NO:22,其中X₁是R、G或Y,X₂是S或N,且X₃是N、D或K)。
- [0114] E97. E96的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述轻链CDR2包含SEQ ID NO:22的序列或由其组成,且X₁是R。
- [0115] E98. E96的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述轻链CDR2包含SEQ ID NO:22的序列或由其组成,且X₁是G。
- [0116] E99. E96的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述轻链CDR2包含SEQ ID NO:22的序列或由其组成,且X₁是Y。
- [0117] E100. E96-E99中任一项的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述轻链CDR2包含SEQ ID NO:22的序列或由其组成,且X₂是S。
- [0118] E101. E96-E99中任一项的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述轻链CDR2包含SEQ ID NO:22的序列或由其组成,且X₂是N。
- [0119] E102. E96-E101中任一项的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述轻链CDR2包含SEQ ID NO:22的序列或由其组成,且X₃是N。
- [0120] E103. E96-E101中任一项的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述轻链CDR2包含SEQ ID NO:22的序列或由其组成,且X₃是D。
- [0121] E104. E96-E101中任一项的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述轻链CDR2包

含SEQ ID NO:22的序列或由其组成,且X₃是K。

[0122] E105. E1的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述轻链CDR2包含以下序列或由其组成:LVIYRDSX₁RPS (SEQ ID NO:23,其中X₁是N或K)。

[0123] E106. E105的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述轻链CDR2包含SEQ ID NO:23的序列或由其组成,且X₁是N。

[0124] E107. E105的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述轻链CDR2包含SEQ ID NO:23的序列或由其组成,且X₁是K。

[0125] E108. E1的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述重链CDR1包含以下序列或由其组成:GFTFSSX₁AMX₂ (SEQ ID NO:29,其中X₁是H或A,且X₂是S或H)。

[0126] E109. E108的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述重链CDR1包含序列SEQ ID NO:29或由其组成,且X₁是H。

[0127] E110. E108的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述重链CDR1包含序列SEQ ID NO:29或由其组成,且X₁是A。

[0128] E111. E108-E110中任一项的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述重链CDR1包含SEQ ID NO:29的序列或由其组成,且X₂是S。

[0129] E112. E108-E110中任一项的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述重链CDR1包含SEQ ID NO:29的序列或由其组成,且X₂是H。

[0130] E113. E1的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述重链CDR1包含以下序列或由其组成:GFTFX₁SX₂AMS (SEQ ID NO:30,其中X₁是S或N,且X₂是H或S)。

[0131] E114. E113的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述重链CDR1包含序列SEQ ID NO:30或由其组成,且X₁是S。

[0132] E115. E113的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述重链CDR1包含序列SEQ ID NO:30或由其组成,且X₁是N。

[0133] E116. E113-E115中任一项的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述重链CDR1包含SEQ ID NO:30的序列或由其组成,且X₂是H。

[0134] E117. E113-E115中任一项的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述重链CDR1包含SEQ ID NO:30的序列或由其组成,且X₂是S。

[0135] E118. E1的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述轻链CDR1包含以下氨基酸序列或由其组成:SGSSNIGSNYVS (SEQ ID NO:1);所述轻链CDR2包含以下氨基酸序列或由其组成:VLIYKNNHRPS (SEQ ID NO:24);且所述轻链CDR3包含以下氨基酸序列或由其组成:ASWDHSDRFYV (SEQ ID NO:4)。

[0136] E119. E1的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述重链CDR1包含以下氨基酸序列或由其组成:GGTFSSYGVS (SEQ ID NO:31);所述重链CDR2包含以下氨基酸序列或由其组成:WMGGIIPHFGIANYAQKFQG (SEQ ID NO:36);且所述重链CDR3包含以下氨基酸序列或由其组成:EIGSLDI (SEQ ID NO:13)。

[0137] E120. E1的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述轻链CDR1包含以下氨基酸序列或由其组成:SGSSNIGSNYVS (SEQ ID NO:1);所述轻链CDR2包含以下氨基酸序列或由其组成:VLIYKNNHRPS (SEQ ID NO:24);所述轻链CDR3包含以下氨基酸序列或由其组成:ASWDHSDRFYV (SEQ ID NO:4);所述重链CDR1包含以下氨基酸序列或由其组成:GGTFSSYGVS

(SEQ ID NO:31);所述重链CDR2包含以下氨基酸序列或由其组成:WMGGIIPHFGIANYAQKFQG (SEQ ID NO:36);且所述重链CDR3包含以下氨基酸序列或由其组成:EIGSLDI (SEQ ID NO:13)。

[0138] E121. E1的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述轻链CDR1由以下氨基酸序列组成:SGSSNIGSNYVS (SEQ ID NO:1);所述轻链CDR2由以下氨基酸序列组成:VLIYKNNHRPS (SEQ ID NO:24);所述轻链CDR3由以下氨基酸序列组成:ASWDHSDRFYV (SEQ ID NO:4);所述重链CDR1由以下氨基酸序列组成:GGTFSSYGV (SEQ ID NO:31);所述重链CDR2由以下氨基酸序列组成:WMGGIIPHFGIANYAQKFQG (SEQ ID NO:36);且所述重链CDR3由以下氨基酸序列组成:EIGSLDI (SEQ ID NO:13)。

[0139] E122. E1的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述轻链CDR1包含以下氨基酸序列或由其组成:SGDSIPSFFAS (SEQ ID NO:18);所述轻链CDR2包含以下氨基酸序列或由其组成:LVIYRDSNRPS (SEQ ID NO:25);且所述轻链CDR3包含以下氨基酸序列或由其组成:YVTAPWKSIW (SEQ ID NO:5)。

[0140] E123. E1的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述重链CDR1包含以下氨基酸序列或由其组成:GFTFSSHAMS (SEQ ID NO:32);所述重链CDR2包含以下氨基酸序列或由其组成:WVGRIKSKADSGTTDYAAPVKG (SEQ ID NO:37);且所述重链CDR3包含以下氨基酸序列或由其组成:DYGVAFA (SEQ ID NO:14)。

[0141] E124. E1的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述轻链CDR1包含以下氨基酸序列或由其组成:SGDSIPSFFAS (SEQ ID NO:18);所述轻链CDR2包含以下氨基酸序列或由其组成:LVIYRDSNRPS (SEQ ID NO:25);所述轻链CDR3包含以下氨基酸序列或由其组成:YVTAPWKSIW (SEQ ID NO:5);所述重链CDR1包含以下氨基酸序列或由其组成:GFTFSSHAMS (SEQ ID NO:32);所述重链CDR2包含以下氨基酸序列或由其组成:WVGRIKSKADSGTTDYAAPVKG (SEQ ID NO:37);且所述重链CDR3包含以下氨基酸序列或由其组成:DYGVAFA (SEQ ID NO:14)。

[0142] E125. E1的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述轻链CDR1由以下氨基酸序列组成:SGDSIPSFFAS (SEQ ID NO:18);所述轻链CDR2由以下氨基酸序列组成:LVIYRDSNRPS (SEQ ID NO:25);所述轻链CDR3由以下氨基酸序列组成:YVTAPWKSIW (SEQ ID NO:5);所述重链CDR1由以下氨基酸序列组成:GFTFSSHAMS (SEQ ID NO:32);所述重链CDR2由以下氨基酸序列组成:WVGRIKSKADSGTTDYAAPVKG (SEQ ID NO:37);且所述重链CDR3由以下氨基酸序列组成:DYGVAFA (SEQ ID NO:14)。

[0143] E126. E1的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述轻链CDR1包含以下氨基酸序列或由其组成:SGDNIGTKYAY (SEQ ID NO:19);所述轻链CDR2包含以下氨基酸序列或由其组成:LVIYGDSDRPS (SEQ ID NO:26);且所述轻链CDR3包含以下氨基酸序列或由其组成:YSADAQQMKA (SEQ ID NO:6)。

[0144] E127. E1的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述重链CDR1包含以下氨基酸序列或由其组成:GFTFNSSAMS (SEQ ID NO:33);所述重链CDR2包含以下氨基酸序列或由其组成:WVGRIKSKRDGYTTDYAAPVKG (SEQ ID NO:38);且所述重链CDR3包含以下氨基酸序列或由其组成:DYGGLKFDY (SEQ ID NO:15)。

[0145] E128. E1的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述轻链CDR1包含以下氨基酸序

列或由其组成:SGDNIGTKYAY (SEQ ID NO:19);所述轻链CDR2包含以下氨基酸序列或由其组成:LVIYGDSDRPS (SEQ ID NO:26);所述轻链CDR3包含以下氨基酸序列或由其组成:YSADAQQMKA (SEQ ID NO:6);所述重链CDR1包含以下氨基酸序列或由其组成:GFTFNSSAMS (SEQ ID NO:33);所述重链CDR2包含以下氨基酸序列或由其组成:WVGRIKSKRDGYTTDYAAPVKG (SEQ ID NO:38);且所述重链CDR3包含以下氨基酸序列或由其组成:DYGGLKFDY (SEQ ID NO:15)。

[0146] E129. E1的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述轻链CDR1由以下氨基酸序列组成:SGDNIGTKYAY (SEQ ID NO:19);所述轻链CDR2由以下氨基酸序列组成:LVIYGDSDRPS (SEQ ID NO:26);所述轻链CDR3由以下氨基酸序列组成:YSADAQQMKA (SEQ ID NO:6);所述重链CDR1由以下氨基酸序列组成:GFTFNSSAMS (SEQ ID NO:33);所述重链CDR2由以下氨基酸序列组成:WVGRIKSKRDGYTTDYAAPVKG (SEQ ID NO:38);且所述重链CDR3由以下氨基酸序列组成:DYGGLKFDY (SEQ ID NO:15)。

[0147] E130. E1的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述轻链CDR1包含以下氨基酸序列或由其组成:SGDNLRKYS AH (SEQ ID NO:20);所述轻链CDR2包含以下氨基酸序列或由其组成:LVIYYDNKRPS (SEQ ID NO:27);且所述轻链CDR3包含以下氨基酸序列或由其组成:QVYASVHRM (SEQ ID NO:7)。

[0148] E131. E1的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述重链CDR1包含以下氨基酸序列或由其组成:GGTFSSYAIH (SEQ ID NO:34);所述重链CDR2包含以下氨基酸序列或由其组成:WMGRIIPDFGTANYAQKFQG (SEQ ID NO:39);且所述重链CDR3包含以下氨基酸序列或由其组成:GPTQAIHYFAY (SEQ ID NO:16)。

[0149] E132. E1的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述轻链CDR1包含以下氨基酸序列或由其组成:SGDNLRKYS AH (SEQ ID NO:20);所述轻链CDR2包含以下氨基酸序列或由其组成:LVIYYDNKRPS (SEQ ID NO:27);所述轻链CDR3包含以下氨基酸序列或由其组成:QVYASVHRM (SEQ ID NO:7);所述重链CDR1包含以下氨基酸序列或由其组成:GGTFSSYAIH (SEQ ID NO:34);所述重链CDR2包含以下氨基酸序列或由其组成:WMGRIIPDFGTANYAQKFQG (SEQ ID NO:39);且所述重链CDR3包含以下氨基酸序列或由其组成:GPTQAIHYFAY (SEQ ID NO:16)。

[0150] E133. E1的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述轻链CDR1由以下氨基酸序列组成:SGDNLRKYS AH (SEQ ID NO:20);所述轻链CDR2由以下氨基酸序列组成:LVIYYDNKRPS (SEQ ID NO:27);所述轻链CDR3由以下氨基酸序列组成:QVYASVHRM (SEQ ID NO:7);所述重链CDR1由以下氨基酸序列组成:GGTFSSYAIH (SEQ ID NO:34);所述重链CDR2由以下氨基酸序列组成:WMGRIIPDFGTANYAQKFQG (SEQ ID NO:39);且所述重链CDR3由以下氨基酸序列组成:GPTQAIHYFAY (SEQ ID NO:16)。

[0151] E134. E1的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述轻链CDR1包含以下氨基酸序列或由其组成:SGDSLGSKSVH (SEQ ID NO:21);所述轻链CDR2包含以下氨基酸序列或由其组成:LVIYRDSKRPS (SEQ ID NO:28);且所述轻链CDR3包含以下氨基酸序列或由其组成:QTYDWSHFGW (SEQ ID NO:8)。

[0152] E135. E1的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述重链CDR1包含以下氨基酸序列或由其组成:GFTFSSAAMH (SEQ ID NO:35);所述重链CDR2包含以下氨基酸序列或由其组

成:WVSVISSDGGSTYYADSVKG (SEQ ID NO:12);且所述重链CDR3包含以下氨基酸序列或由其组成:AGFILGSLGVAWMDV (SEQ ID NO:17)。

[0153] E136. E1的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述轻链CDR1包含以下氨基酸序列或由其组成:SGDSLGSKSVH (SEQ ID NO:21);所述轻链CDR2包含以下氨基酸序列或由其组成:LVIYRDSKRPS (SEQ ID NO:28);所述轻链CDR3包含以下氨基酸序列或由其组成:QTYDWSHFGW (SEQ ID NO:8);所述重链CDR1包含以下氨基酸序列或由其组成:GFTFSSAAMH (SEQ ID NO:35);所述重链CDR2包含以下氨基酸序列或由其组成:WVSVISSDGGSTYYADSVKG (SEQ ID NO:12);且所述重链CDR3包含以下氨基酸序列或由其组成:AGFILGSLGVAWMDV (SEQ ID NO:17)。

[0154] E137. E1的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述轻链CDR1由以下氨基酸序列组成:SGDSLGSKSVH (SEQ ID NO:21);所述轻链CDR2由以下氨基酸序列组成:LVIYRDSKRPS (SEQ ID NO:28);所述轻链CDR3由以下氨基酸序列组成:QTYDWSHFGW (SEQ ID NO:8);所述重链CDR1由以下氨基酸序列组成:GFTFSSAAMH (SEQ ID NO:35);所述重链CDR2由以下氨基酸序列组成:WVSVISSDGGSTYYADSVKG (SEQ ID NO:12);且所述重链CDR3由以下氨基酸序列组成:AGFILGSLGVAWMDV (SEQ ID NO:17)。

[0155] E138. E1的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中除了轻链CDR1、CDR2和CDR3以及重链CDR1、CDR2和CDR3以外,所述抗体与SEQ ID NO:67的序列的氨基酸1至331具有至少90%(例如,90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更多)序列同一性,或与SEQ ID NO:67的序列的氨基酸1至331具有至少95%序列同一性,或与SEQ ID NO:67的序列的氨基酸1至331具有至少98%序列同一性。

[0156] E139. E1的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中除了轻链CDR1、CDR2和CDR3以及重链CDR1、CDR2和CDR3以外,所述抗体与SEQ ID NO:68的序列的氨基酸1至332具有至少90%(例如,90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更多)序列同一性,或与SEQ ID NO:68的序列的氨基酸1至332具有至少95%序列同一性,或与SEQ ID NO:68的序列的氨基酸1至332具有至少98%序列同一性。

[0157] E140. E1的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中除了轻链CDR1、CDR2和CDR3以及重链CDR1、CDR2和CDR3以外,所述抗体与SEQ ID NO:69的序列的氨基酸1至333具有至少90%(例如,90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更多)序列同一性,或与SEQ ID NO:69的序列的氨基酸1至333具有至少95%序列同一性,或与SEQ ID NO:69的序列的氨基酸1至333具有至少98%序列同一性。

[0158] E141. E1的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中除了轻链CDR1、CDR2和CDR3以及重链CDR1、CDR2和CDR3以外,所述抗体与SEQ ID NO:70的序列的氨基酸1至332具有至少90%(例如,90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更多)序列同一性,或与SEQ ID NO:70的序列的氨基酸1至332具有至少95%序列同一性,或与SEQ ID NO:70的序列的氨基酸1至332具有至少98%序列同一性。

[0159] E142. E1的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中除了轻链CDR1、CDR2和CDR3以及重链CDR1、CDR2和CDR3以外,所述抗体与SEQ ID NO:71的序列的氨基酸1至337具有至少90%(例如,90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更多)序列同一性,或与SEQ ID NO:71的序列的氨基酸1至337具有至少95%序列同一性,或与SEQ ID NO:71的序列的氨基酸1至

337具有至少98%序列同一性。

[0160] E143. E1的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述抗体包含SEQ ID NO:67的序列的氨基酸1至433或由其组成。

[0161] E144. E1的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述抗体包含SEQ ID NO:68的序列的氨基酸1至434或由其组成。

[0162] E145. E1的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述抗体包含SEQ ID NO:69的序列的氨基酸1至435或由其组成。

[0163] E146. E1的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述抗体包含SEQ ID NO:70的序列的氨基酸1至434或由其组成。

[0164] E147. E1的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述抗体包含SEQ ID NO:71的序列的氨基酸1至439或由其组成。

[0165] E148. 分离的抗体或其ALK2结合片段,其包含:(1)轻链可变结构域,其包含:轻链互补决定区(CDR) 1,其包含选自以下的氨基酸序列或由其组成:RASQGISGNWLT (SEQ ID NO:40)、SGDX₁X₂RX₃X₄X₅X₆H (SEQ ID NO:64,其中X₁是N或A,X₂是I或L,X₃是K或Y,X₄是K或Y,X₅是Y或I,且X₆是V或A)和SGSSSNIGQNYVS (SEQ ID NO:58);轻链CDR2,其包含以下氨基酸序列或由其组成:LX₁IYX₂X₃X₄X₅X₆X₇S (SEQ ID NO:65,其中X₁是V或L,X₂是D、R或Y,X₃是A、D或N,X₄是S或N,X₅是K或N,X₆是L或R,且X₇是Q或P);和轻链CDR3,其包含选自以下的氨基酸序列或由其组成:HQSYRGPM (SEQ ID NO:42)、SSAGRDNY (SEQ ID NO:48)、QSYGPGSV (SEQ ID NO:54)和SSWDLISKSR (SEQ ID NO:60);和(2)重链可变结构域,其包含:重链CDR1,其包含以下氨基酸序列或由其组成:GX₁TFX₂X₃X₄X₅X₆X₇ (SEQ ID NO:66,其中X₁是F或G,X₂是G或S,X₃是R、S、D或T,X₄是F、S、Y或H,X₅是V或A,且X₆是M或I,且X₇是H或S);重链CDR2,其包含选自以下氨基酸序列或由其组成:WVSX₁IX₂YX₃X₄SX₅TYADSVKG (SEQ ID NO:76,其中X₁是V或S,X₂是G、H或F,X₃是S或D,X₄是G或S,且X₅是S、E或N)和WMGLIQPRFGTANYAQKFQR (SEQ ID NO:62);和重链CDR3,其包含选自以下的氨基酸序列或由其组成:EPGYYPSPGYRGPYWMVD (SEQ ID NO:45)、DRYFFDV (SEQ ID NO:51)、PKSYASGPFAY (SEQ ID NO:57)和DYYGGMAY (SEQ ID NO:63)。

[0166] E149. E148的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述轻链CDR1包含SEQ ID NO:64的序列或由其组成,且X₁是N。

[0167] E150. E148的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述轻链CDR1包含SEQ ID NO:64的序列或由其组成,且X₁是A。

[0168] E151. E148-E150中任一项的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述轻链CDR1包含SEQ ID NO:64的序列或由其组成,且X₂是I。

[0169] E152. E148-E150中任一项的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述轻链CDR1包含SEQ ID NO:64的序列或由其组成,且X₂是L。

[0170] E153. E148-E152中任一项的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述轻链CDR1包含SEQ ID NO:64的序列或由其组成,且X₃是K。

[0171] E154. E148-E152中任一项的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述轻链CDR1包含SEQ ID NO:64的序列或由其组成,且X₃是Y。

[0172] E155. E148-E154中任一项的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述轻链CDR1

包含SEQ ID NO:64的序列或由其组成,且 X_4 是K。

[0173] E156. E148-E154中任一项的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述轻链CDR1包含SEQ ID NO:64的序列或由其组成,且 X_4 是Y。

[0174] E157. E148-E156中任一项的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述轻链CDR1包含SEQ ID NO:64的序列或由其组成,且 X_5 是Y。

[0175] E158. E148-E156中任一项的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述轻链CDR1包含SEQ ID NO:64的序列或由其组成,且 X_5 是I。

[0176] E159. E148-E158中任一项的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述轻链CDR1包含SEQ ID NO:64的序列或由其组成,且 X_6 是V。

[0177] E160. E148-E158中任一项的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述轻链CDR1包含SEQ ID NO:64的序列或由其组成,且 X_6 是A。

[0178] E161. E148-E160中任一项的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述轻链CDR2包含SEQ ID NO:65的序列或由其组成,且 X_1 是V。

[0179] E162. E148-E160中任一项的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述轻链CDR2包含SEQ ID NO:65的序列或由其组成,且 X_1 是L。

[0180] E163. E148-E162中任一项的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述轻链CDR2包含SEQ ID NO:65的序列或由其组成,且 X_2 是D。

[0181] E164. E148-E162中任一项的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述轻链CDR2包含SEQ ID NO:65的序列或由其组成,且 X_2 是R。

[0182] E165. E148-E162中任一项的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述轻链CDR2包含SEQ ID NO:65的序列或由其组成,且 X_2 是Y。

[0183] E166. E148-E165中任一项的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述轻链CDR2包含SEQ ID NO:65的序列或由其组成,且 X_3 是A。

[0184] E167. E148-E165中任一项的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述轻链CDR2包含SEQ ID NO:65的序列或由其组成,且 X_3 是D。

[0185] E168. E148-E165中任一项的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述轻链CDR2包含SEQ ID NO:65的序列或由其组成,且 X_3 是N。

[0186] E169. E148-E168中任一项的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述轻链CDR2包含SEQ ID NO:65的序列或由其组成,且 X_4 是S。

[0187] E170. E148-E168中任一项的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述轻链CDR2包含SEQ ID NO:65的序列或由其组成,且 X_4 是N。

[0188] E171. E148-E170中任一项的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述轻链CDR2包含SEQ ID NO:65的序列或由其组成,且 X_5 是K。

[0189] E172. E148-E170中任一项的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述轻链CDR2包含SEQ ID NO:65的序列或由其组成,且 X_5 是N。

[0190] E173. E148-E172中任一项的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述轻链CDR2包含SEQ ID NO:65的序列或由其组成,且 X_6 是L。

[0191] E174. E148-E172中任一项的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述轻链CDR2包含SEQ ID NO:65的序列或由其组成,且 X_6 是R。

- [0192] E175. E148-E174中任一项的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述轻链CDR2包含SEQ ID NO:65的序列或由其组成,且 X_7 是Q。
- [0193] E176. E148-E174中任一项的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述轻链CDR2包含SEQ ID NO:65的序列或由其组成,且 X_7 是P。
- [0194] E177. E148-E176中任一项的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述重链CDR1包含SEQ ID NO:66的序列或由其组成,且 X_1 是F。
- [0195] E178. E148-E176中任一项的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述重链CDR1包含SEQ ID NO:66的序列或由其组成,且 X_1 是G。
- [0196] E179. E148-E178中任一项的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述重链CDR1包含SEQ ID NO:66的序列或由其组成,且 X_2 是G。
- [0197] E180. E148-E178中任一项的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述重链CDR1包含SEQ ID NO:66的序列或由其组成,且 X_2 是S。
- [0198] E181. E148-E180中任一项的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述重链CDR1包含SEQ ID NO:66的序列或由其组成,且 X_3 是R。
- [0199] E182. E148-E180中任一项的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述重链CDR1包含SEQ ID NO:66的序列或由其组成,且 X_3 是S。
- [0200] E183. E148-E180中任一项的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述重链CDR1包含SEQ ID NO:66的序列或由其组成,且 X_3 是D。
- [0201] E184. E148-E180中任一项的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述重链CDR1包含SEQ ID NO:66的序列或由其组成,且 X_3 是T。
- [0202] E185. E148-E184中任一项的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述重链CDR1包含SEQ ID NO:66的序列或由其组成,且 X_4 是F。
- [0203] E186. E148-E184中任一项的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述重链CDR1包含SEQ ID NO:66的序列或由其组成,且 X_4 是S。
- [0204] E187. E148-E184中任一项的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述重链CDR1包含SEQ ID NO:66的序列或由其组成,且 X_4 是Y。
- [0205] E188. E148-E184中任一项的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述重链CDR1包含SEQ ID NO:66的序列或由其组成,且 X_4 是H。
- [0206] E189. E148-E188中任一项的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述重链CDR1包含SEQ ID NO:66的序列或由其组成,且 X_5 是V。
- [0207] E190. E148-E188中任一项的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述重链CDR1包含SEQ ID NO:66的序列或由其组成,且 X_5 是V或A。
- [0208] E191. E148-E190中任一项的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述重链CDR1包含SEQ ID NO:66的序列或由其组成,且 X_6 是M。
- [0209] E192. E148-E190中任一项的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述重链CDR1包含SEQ ID NO:66的序列或由其组成,且 X_6 是I。
- [0210] E193. E148-E192中任一项的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述重链CDR1包含SEQ ID NO:66的序列或由其组成,且 X_7 是H。
- [0211] E194. E148-E192中任一项的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述重链CDR1

包含SEQ ID NO:66的序列或由其组成,且 X_7 是S。

[0212] E195. E148-E194中任一项的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述重链CDR2包含SEQ ID NO:76的序列或由其组成,且 X_1 是V。

[0213] E196. E148-E194中任一项的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述重链CDR2包含SEQ ID NO:76的序列或由其组成,且 X_1 是S。

[0214] E197. E148-E196中任一项的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述重链CDR2包含SEQ ID NO:76的序列或由其组成,且 X_2 是G。

[0215] E198. E148-E196中任一项的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述重链CDR2包含SEQ ID NO:76的序列或由其组成,且 X_2 是H。

[0216] E199. E148-E196中任一项的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述重链CDR2包含SEQ ID NO:76的序列或由其组成,且 X_2 是F。

[0217] E200. E148-E199中任一项的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述重链CDR2包含SEQ ID NO:76的序列或由其组成,且 X_3 是S。

[0218] E201. E148-E199中任一项的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述重链CDR2包含SEQ ID NO:76的序列或由其组成,且 X_3 是D。

[0219] E202. E148-E201中任一项的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述重链CDR2包含SEQ ID NO:76的序列或由其组成,且 X_4 是G。

[0220] E203. E148-E201中任一项的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述重链CDR2包含SEQ ID NO:76的序列或由其组成,且 X_4 是S。

[0221] E204. E148-E203中任一项的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述重链CDR2包含SEQ ID NO:76的序列或由其组成,且 X_5 是S。

[0222] E205. E148-E203中任一项的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述重链CDR2包含SEQ ID NO:76的序列或由其组成,且 X_5 是E。

[0223] E206. E148-E203中任一项的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述重链CDR2包含SEQ ID NO:76的序列或由其组成,且 X_5 是N。

[0224] E207. E148的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述轻链CDR1包含以下序列或由其组成:RASQGISGNWLT (SEQ ID NO:40)。

[0225] E208. E148的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述轻链CDR1包含以下序列或由其组成:SGDNIRKKYVH (SEQ ID NO:46)。

[0226] E209. E148的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述轻链CDR1包含以下序列或由其组成:SGDALRYIIAH (SEQ ID NO:52)。

[0227] E210. E148的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述轻链CDR1包含以下序列或由其组成:SGSSSNIGQNYVS (SEQ ID NO:58)。

[0228] E211. E148和E207-E210中任一项的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述轻链CDR2包含以下序列或由其组成:LLIYDASNLQS (SEQ ID NO:41)。

[0229] E212. E148和E207-E210中任一项的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述轻链CDR2包含以下序列或由其组成:LVIYRDSNRPS (SEQ ID NO:47)。

[0230] E213. E148和E207-E210中任一项的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述轻链CDR2包含以下序列或由其组成:LVIYYNNNRPS (SEQ ID NO:53)。

[0231] E214. E148和E207-E210中任一项的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述轻链CDR2包含以下序列或由其组成:LLIYDNSKRPS (SEQ ID NO:59)。

[0232] E215. E148和E207-E214中任一项的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述轻链CDR3包含以下序列或由其组成:HQSYRGPM (SEQ ID NO:42)。

[0233] E216. E148和E207-E214中任一项的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述轻链CDR3包含以下序列或由其组成:SSAGRDNY (SEQ ID NO:48)。

[0234] E217. E148和E207-E214中任一项的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述轻链CDR3包含以下序列或由其组成:QSYGPGSV (SEQ ID NO:54)。

[0235] E218. E148和E207-E214中任一项的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述轻链CDR3包含以下序列或由其组成:SSWDLKSKSR (SEQ ID NO:60)。

[0236] E219. E148和E207-E218中任一项的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述重链CDR1包含以下序列或由其组成:GFTFGRFVMH (SEQ ID NO:43)。

[0237] E220. E148和E207-E218中任一项的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述重链CDR1包含以下序列或由其组成:GFTFSSSAMH (SEQ ID NO:49)。

[0238] E221. E148和E207-E218中任一项的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述重链CDR1包含以下序列或由其组成:GFTFSDYAMH (SEQ ID NO:55)。

[0239] E222. E148和E207-E218中任一项的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述重链CDR1包含以下序列或由其组成:GGTFSTHAIS (SEQ ID NO:61)。

[0240] E223. E148和E207-E222中任一项的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述重链CDR2包含以下序列或由其组成:WVSVIGYSGSSTYYADSVKG (SEQ ID NO:44)。

[0241] E224. E148和E207-E222中任一项的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述重链CDR2包含以下序列或由其组成:WVSVIHYSSETYYADSVKG (SEQ ID NO:50)。

[0242] E225. E148和E207-E222中任一项的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述重链CDR2包含以下序列或由其组成:WVSSIFYSGSNTYYADSVKG (SEQ ID NO:56)。

[0243] E226. E148和E207-E222中任一项的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述重链CDR2包含以下序列或由其组成:WMGLIQPRFGTANYAQKFQR (SEQ ID NO:62)。

[0244] E227. E148和E207-E226中任一项的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述重链CDR3包含以下序列或由其组成:EPGYYPSPGYRGPYWMVD (SEQ ID NO:45)。

[0245] E228. E148和E207-E226中任一项的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述重链CDR3包含以下序列或由其组成:DRYFFDV (SEQ ID NO:51)。

[0246] E229. E148和E207-E226中任一项的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述重链CDR3包含以下序列或由其组成:PKSYASGPFAY (SEQ ID NO:57)。

[0247] E230. E148和E207-E226中任一项的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述重链CDR3包含以下序列或由其组成:DYYGGMAY (SEQ ID NO:63)。

[0248] E231. E148的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述轻链CDR1包含以下氨基酸序列或由其组成:RASQGISGNWLT (SEQ ID NO:40);所述轻链CDR2包含以下氨基酸序列或由其组成:LLIYDASNLQS (SEQ ID NO:41);且所述轻链CDR3包含以下氨基酸序列或由其组成:HQSYRGPM (SEQ ID NO:42)。

[0249] E232. E148的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述重链CDR1包含以下氨基酸

序列或由其组成:GFTFGRFVMH (SEQ ID NO:43);所述重链CDR2包含以下氨基酸序列或由其组成:WVSVIGYSGSSTYYADSVKG (SEQ ID NO:44);且所述重链CDR3包含以下氨基酸序列或由其组成:EPGYYPSPGYRGPYWMDV (SEQ ID NO:45)。

[0250] E233. E148的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述轻链CDR1包含以下氨基酸序列或由其组成:RASQGISGNWLT (SEQ ID NO:40);所述轻链CDR2包含以下氨基酸序列或由其组成:LLIYDASNLQS (SEQ ID NO:41);所述轻链CDR3包含以下氨基酸序列或由其组成:HQSYRGPM (SEQ ID NO:42);所述重链CDR1包含以下氨基酸序列或由其组成:GFTFGRFVMH (SEQ ID NO:43);所述重链CDR2包含以下氨基酸序列或由其组成:WVSVIGYSGSSTYYADSVKG (SEQ ID NO:44);且所述重链CDR3包含以下氨基酸序列或由其组成:EPGYYPSPGYRGPYWMDV (SEQ ID NO:45)。

[0251] E234. E148的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述轻链CDR1由以下氨基酸序列组成:RASQGISGNWLT (SEQ ID NO:40);所述轻链CDR2由以下氨基酸序列组成:LLIYDASNLQS (SEQ ID NO:41);所述轻链CDR3由以下氨基酸序列组成:HQSYRGPM (SEQ ID NO:42);所述重链CDR1由以下氨基酸序列组成:GFTFGRFVMH (SEQ ID NO:43);所述重链CDR2由以下氨基酸序列组成:WVSVIGYSGSSTYYADSVKG (SEQ ID NO:44);且所述重链CDR3由以下氨基酸序列组成:EPGYYPSPGYRGPYWMDV (SEQ ID NO:45)。

[0252] E235. E148的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述轻链CDR1包含以下氨基酸序列或由其组成:SGDNIRKKYVH (SEQ ID NO:46);所述轻链CDR2包含以下氨基酸序列或由其组成:LVIYRDSNRPS (SEQ ID NO:47);且所述轻链CDR3包含以下氨基酸序列或由其组成:SSAGRDNY (SEQ ID NO:48)。

[0253] E236. E148的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述重链CDR1包含以下氨基酸序列或由其组成:GFTFSSAMH (SEQ ID NO:49);所述重链CDR2包含以下氨基酸序列或由其组成:WVSVIHYSSETYYADSVKG (SEQ ID NO:50);且所述重链CDR3包含以下氨基酸序列或由其组成:DRYFFDV (SEQ ID NO:51)。

[0254] E237. E148的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述轻链CDR1包含以下氨基酸序列或由其组成:SGDNIRKKYVH (SEQ ID NO:46);所述轻链CDR2包含以下氨基酸序列或由其组成:LVIYRDSNRPS (SEQ ID NO:47);所述轻链CDR3包含以下氨基酸序列或由其组成:SSAGRDNY (SEQ ID NO:48);所述重链CDR1包含以下氨基酸序列或由其组成:GFTFSSAMH (SEQ ID NO:49);所述重链CDR2包含以下氨基酸序列或由其组成:WVSVIHYSSETYYADSVKG (SEQ ID NO:50);且所述重链CDR3包含以下氨基酸序列或由其组成:DRYFFDV (SEQ ID NO:51)。

[0255] E238. E148的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述轻链CDR1由以下氨基酸序列组成:SGDNIRKKYVH (SEQ ID NO:46);所述轻链CDR2由以下氨基酸序列组成:LVIYRDSNRPS (SEQ ID NO:47);所述轻链CDR3由以下氨基酸序列组成:SSAGRDNY (SEQ ID NO:48);所述重链CDR1由以下氨基酸序列组成:GFTFSSAMH (SEQ ID NO:49);所述重链CDR2由以下氨基酸序列组成:WVSVIHYSSETYYADSVKG (SEQ ID NO:50);且所述重链CDR3由以下氨基酸序列组成:DRYFFDV (SEQ ID NO:51)。

[0256] E239. E148的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述轻链CDR1包含以下氨基酸序列或由其组成:SGDALRYIAH (SEQ ID NO:52);所述轻链CDR2包含以下氨基酸序列或由

其组成:LVIYYNNRPS (SEQ ID NO:53);且所述轻链CDR3包含以下氨基酸序列或由其组成:QSYGPGSV (SEQ ID NO:54)。

[0257] E240. E148的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述重链CDR1包含以下氨基酸序列或由其组成:GFTFSDYAMH (SEQ ID NO:55);所述重链CDR2包含以下氨基酸序列或由其组成:WVSSIFYSGSNTYYADSVKG (SEQ ID NO:56);且所述重链CDR3包含以下氨基酸序列或由其组成:PKSYASGPFAY (SEQ ID NO:57)。

[0258] E241. E148的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述轻链CDR1包含以下氨基酸序列或由其组成:SGDALRYIIAH (SEQ ID NO:52);所述轻链CDR2包含以下氨基酸序列或由其组成:LVIYYNNRPS (SEQ ID NO:53);所述轻链CDR3包含以下氨基酸序列或由其组成:QSYGPGSV (SEQ ID NO:54);所述重链CDR1包含以下氨基酸序列或由其组成:GFTFSDYAMH (SEQ ID NO:55);所述重链CDR2包含以下氨基酸序列或由其组成:WVSSIFYSGSNTYYADSVKG (SEQ ID NO:56);且所述重链CDR3包含以下氨基酸序列或由其组成:PKSYASGPFAY (SEQ ID NO:57)。

[0259] E242. E148的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述轻链CDR1由以下氨基酸序列组成:SGDALRYIIAH (SEQ ID NO:52);所述轻链CDR2由以下氨基酸序列组成:LVIYYNNRPS (SEQ ID NO:53);所述轻链CDR3由以下氨基酸序列组成:QSYGPGSV (SEQ ID NO:54);所述重链CDR1由以下氨基酸序列组成:GFTFSDYAMH (SEQ ID NO:55);所述重链CDR2由以下氨基酸序列组成:WVSSIFYSGSNTYYADSVKG (SEQ ID NO:56);且所述重链CDR3由以下氨基酸序列组成:PKSYASGPFAY (SEQ ID NO:57)。

[0260] E243. E148的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述轻链CDR1包含以下氨基酸序列或由其组成:SGSSSNIGQNYVS (SEQ ID NO:58);所述轻链CDR2包含以下氨基酸序列或由其组成:LLIYDNSKRPS (SEQ ID NO:59);且所述轻链CDR3包含以下氨基酸序列或由其组成:SSWDLLSKSR (SEQ ID NO:60)。

[0261] E244. E148的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述重链CDR1包含以下氨基酸序列或由其组成:GGTFSTHAIS (SEQ ID NO:61);所述重链CDR2包含以下氨基酸序列或由其组成:WMGLIQPRFGTANYAQKFQR (SEQ ID NO:62);且所述重链CDR3包含以下氨基酸序列或由其组成:DYYGGMAY (SEQ ID NO:63)。

[0262] E245. E148的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述轻链CDR1包含以下氨基酸序列或由其组成:SGSSSNIGQNYVS (SEQ ID NO:58);所述轻链CDR2包含以下氨基酸序列或由其组成:LLIYDNSKRPS (SEQ ID NO:59);所述轻链CDR3包含以下氨基酸序列或由其组成:SSWDLLSKSR (SEQ ID NO:60);所述重链CDR1包含以下氨基酸序列或由其组成:GGTFSTHAIS (SEQ ID NO:61);所述重链CDR2包含以下氨基酸序列或由其组成:WMGLIQPRFGTANYAQKFQR (SEQ ID NO:62);且所述重链CDR3包含以下氨基酸序列或由其组成:DYYGGMAY (SEQ ID NO:63)。

[0263] E246. E148的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述轻链CDR1由以下氨基酸序列组成:SGSSSNIGQNYVS (SEQ ID NO:58);所述轻链CDR2由以下氨基酸序列组成:LLIYDNSKRPS (SEQ ID NO:59);所述轻链CDR3由以下氨基酸序列组成:SSWDLLSKSR (SEQ ID NO:60);所述重链CDR1由以下氨基酸序列组成:GGTFSTHAIS (SEQ ID NO:61);所述重链CDR2由以下氨基酸序列组成:WMGLIQPRFGTANYAQKFQR (SEQ ID NO:62);且所述重链CDR3由

以下氨基酸序列组成:DYYGGMAY (SEQ ID NO:63)。

[0264] E247. E148的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中除了轻链CDR1、CDR2和CDR3以及重链CDR1、CDR2和CDR3以外,所述抗体与SEQ ID NO:72的序列的氨基酸1至344具有至少90%(例如,90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更多)序列同一性,或与SEQ ID NO:72的序列的氨基酸1至344具有至少95%序列同一性,或与SEQ ID NO:72的序列的氨基酸1至344具有至少98%序列同一性。

[0265] E248. E148的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中除了轻链CDR1、CDR2和CDR3以及重链CDR1、CDR2和CDR3以外,所述抗体与SEQ ID NO:73的序列的氨基酸1至327具有至少90%(例如,90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更多)序列同一性,或与SEQ ID NO:73的序列的氨基酸1至327具有至少95%序列同一性,或与SEQ ID NO:73的序列的氨基酸1至327具有至少98%序列同一性。

[0266] E249. E148的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中除了轻链CDR1、CDR2和CDR3以及重链CDR1、CDR2和CDR3以外,所述抗体与SEQ ID NO:74的序列的氨基酸1至331具有至少90%(例如,90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更多)序列同一性,或与SEQ ID NO:74的序列的氨基酸1至331具有至少95%序列同一性,或与SEQ ID NO:74的序列的氨基酸1至331具有至少98%序列同一性。

[0267] E250. E148的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中除了轻链CDR1、CDR2和CDR3以及重链CDR1、CDR2和CDR3以外,所述抗体与SEQ ID NO:75的序列的氨基酸1至332具有至少90%(例如,90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更多)序列同一性,或与SEQ ID NO:75的序列的氨基酸1至332具有至少95%序列同一性,或与SEQ ID NO:75的序列的氨基酸1至332具有至少98%序列同一性。

[0268] E251. E148的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述抗体包含SEQ ID NO:72的序列的氨基酸1至446或由其组成。

[0269] E252. E148的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述抗体包含SEQ ID NO:73的序列的氨基酸1至429或由其组成。

[0270] E253. E148的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述抗体包含SEQ ID NO:74的序列的氨基酸1至433或由其组成。

[0271] E254. E148的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述抗体包含SEQ ID NO:75的序列的氨基酸1至434或由其组成。

[0272] E255. E1-E254中任一项的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述抗体是单克隆抗体。

[0273] E256. E1-E255中任一项的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述抗体是人源化抗体。

[0274] E257. E1-E256中任一项的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述ALK2结合片段是Fab。

[0275] E258. E1-E256中任一项的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述ALK2结合片段是Fab'。

[0276] E259. E1-E256中任一项的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述ALK2结合片段是F(ab')₂。

[0277] E260. E1-E256中任一项的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述ALK2结合片段是Fv。

[0278] E261. E1-E260中任一项的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述抗体以不超过14 nM的 K_D 值结合人ALK2。

[0279] E262. E1-E261中任一项的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述抗体以不超过5 nM的 K_D 值结合人ALK2。

[0280] E263. E1-E262中任一项的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述抗体以不超过1 nM的 K_D 值结合人ALK2。

[0281] E264. E1-E263中任一项的分离的抗体或其ALK2结合片段,其中所述抗体以不超过0.5 nM的 K_D 值结合人ALK2。

[0282] E265. 核酸分子,其包含编码E1-E264中任一项的抗体或其ALK2结合片段的核苷酸序列。

[0283] E266. 表达载体,其包含E265的核酸分子。

[0284] E267. 细胞,其包含E266的表达载体。

[0285] E268. 药物组合物,其含有E1-E264中任一项的抗体或其ALK2结合片段、E265的核酸分子或E266的表达载体以及一种或多种药学上可接受的载体或赋形剂。

[0286] E269. E268的药物组合物,其中所述抗体或其ALK2结合片段为治疗有效量。

[0287] E270. 通过向有此需要的受试者施用治疗有效量的E1至E264中任一项的抗体或其ALK2结合片段、E265的核酸分子、E266的表达载体或E268或E269的药物组合物来增加所述受试者中的骨矿物质密度的方法。

[0288] E271. 通过向有此需要的受试者施用治疗有效量的E1至E264中任一项的抗体或其ALK2结合片段、E265的核酸分子、E266的表达载体或E268或E269的药物组合物来降低所述受试者中的骨再吸收(例如,骨损失)的方法。

[0289] E272. 通过向有此需要的受试者施用治疗有效量的E1至E264中任一项的抗体或其ALK2结合片段、E265的核酸分子、E266的表达载体或E268或E269的药物组合物来增加所述受试者中的骨形成的方法。

[0290] E273. 通过向有此需要的受试者施用治疗有效量的E1至E264中任一项的抗体或其ALK2结合片段、E265的核酸分子、E266的表达载体或E268或E269的药物组合物来增加所述受试者中的骨强度的方法。

[0291] E274. 通过向有此需要的受试者施用治疗有效量的E1至E264中任一项的抗体或其ALK2结合片段、E265的核酸分子、E266的表达载体或E268或E269的药物组合物来降低所述受试者中的骨折的风险的方法。

[0292] E275. E270-E274中任一项的方法,其中所述受试者具有原发性骨质疏松症、继发性骨质疏松症、骨质减少症、骨硬化症、骨折、骨癌或癌症转移相关的骨损失、佩吉特氏病、肾性骨营养不良、治疗相关的骨损失、饮食相关的骨损失、与肥胖治疗相关的骨损失、低重力相关的骨损失或与不能移动相关的骨损失或处于发展其的风险中。

[0293] E276. E275的方法,其中所述受试者具有原发性骨质疏松症或处于发展原发性骨质疏松症的风险中。

[0294] E277. E275的方法,其中所述受试者具有继发性骨质疏松症或处于发展继发性骨

质疏松症的风险中。

[0295] E278. E275的方法,其中所述受试者具有骨质减少症或处于发展骨质减少症的风险中。

[0296] E279. 通过向具有骨疾病或处于发展骨疾病的风险中的受试者施用治疗有效量的E1至E264中任一项的抗体或其ALK2结合片段、E265的核酸分子、E266的表达载体或E268或E269的药物组合物来治疗所述受试者的方法。

[0297] E280. E279的方法,其中所述骨疾病是原发性骨质疏松症、继发性骨质疏松症、骨质减少症、骨硬化症、骨折、骨癌或癌症转移相关的骨损失、佩吉特氏病、肾性骨营养不良、治疗相关的骨损失、饮食相关的骨损失、与肥胖治疗相关的骨损失、低重力相关的骨损失或与不能移动相关的骨损失。

[0298] E281. E280的方法,其中所述骨疾病是原发性骨质疏松症。

[0299] E282. E280的方法,其中所述骨疾病是继发性骨质疏松症。

[0300] E283. E280的方法,其中所述骨疾病是骨质减少症。

[0301] E284. 通过向具有原发性骨质疏松症或处于发展原发性骨质疏松症的风险中的受试者施用E1至E264中任一项的抗体或其ALK2结合片段、E265的核酸分子、E266的表达载体或E268或E269的药物组合物来治疗所述受试者的方法。

[0302] E285. 通过向具有继发性骨质疏松症或处于发展继发性骨质疏松症的风险中的受试者施用E1至E264中任一项的抗体或其ALK2结合片段、E265的核酸分子、E266的表达载体或E268或E269的药物组合物来治疗所述受试者的方法。

[0303] E286. 通过向具有骨质减少症或处于发展骨质减少症的风险中的受试者施用E1至E264中任一项的抗体或其ALK2结合片段、E265的核酸分子、E266的表达载体或E268或E269的药物组合物来治疗所述受试者的方法。

[0304] E287. 通过向具有骨折或处于发展骨折的风险中的受试者施用E1至E264中任一项的抗体或其ALK2结合片段、E265的核酸分子、E266的表达载体或E268或E269的药物组合物来治疗所述受试者的方法。

[0305] E288. 通过向具有骨癌或癌症转移相关的骨损失或处于发展骨癌或癌症转移相关的骨损失的风险中的受试者施用治疗有效量的E1至E264中任一项的抗体或其ALK2结合片段、E265的核酸分子、E266的表达载体或E268或E269的药物组合物来治疗所述受试者的方法。

[0306] E289. 通过向具有佩吉特氏病或处于发展佩吉特氏病的风险中的受试者施用治疗有效量的E1至E264中任一项的抗体或其ALK2结合片段、E265的核酸分子、E266的表达载体或E268或E269的药物组合物来治疗所述受试者的方法。

[0307] E290. 通过向具有肾性骨营养不良或处于发展肾性骨营养不良的风险中的受试者施用治疗有效量的E1至E264中任一项的抗体或其ALK2结合片段、E265的核酸分子、E266的表达载体或E268或E269的药物组合物来治疗所述受试者的方法。

[0308] E291. 通过向具有治疗相关的骨损失或处于发展治疗相关的骨损失的风险中的受试者施用治疗有效量的E1至E264中任一项的抗体或其ALK2结合片段、E265的核酸分子、E266的表达载体或E268或E269的药物组合物来治疗所述受试者的方法。

[0309] E292. 通过向具有饮食相关的骨损失或处于发展饮食相关的骨损失的风险中的

受试者施用治疗有效量的E1至E264中任一项的抗体或其ALK2结合片段、E265的核酸分子、E266的表达载体或E268或E269的药物组合物来治疗所述受试者的方法。

[0310] E293. 通过向具有低重力相关的骨损失或处于发展低重力相关的骨损失的风险中的受试者施用治疗有效量的E1至E264中任一项的抗体或其ALK2结合片段、E265的核酸分子、E266的表达载体或E268或E269的药物组合物来治疗所述受试者的方法。

[0311] E294. 通过向具有与不能移动相关的骨损失或处于发展与不能移动相关的骨损失的风险中的受试者施用治疗有效量的E1至E264中任一项的抗体或其ALK2结合片段、E265的核酸分子、E266的表达载体或E268或E269的药物组合物来治疗所述受试者的方法。

[0312] E295. E275、E276、E280、E281和E284中任一项的方法,所述原发性骨质疏松症是年龄相关的骨质疏松症或激素相关的骨质疏松症。

[0313] E296. E275、E278、E280、E282和E285中任一项的方法,其中所述继发性骨质疏松症是固定诱导的骨质疏松症或糖皮质激素诱导的骨质疏松症。

[0314] E297. E275、E280和E288中任一项的方法,其中所述癌症是多发性骨髓瘤。

[0315] E298. E275、E280和E291中任一项的方法,其中所述治疗是FGF-21治疗、GLP-1治疗、癌症疗法或肥胖症或2型糖尿病的治疗。

[0316] E299. E275、E280和E292中任一项的方法,其中所述饮食相关的骨损失是佝偻病。

[0317] E300. E270-E299中任一项的方法,其中所述受试者处于骨折的风险中。

[0318] E301. E270-E300中任一项的方法,其中所述方法增加受试者中的骨形成。

[0319] E302. E270-E301中任一项的方法,其中所述方法减少受试者中的骨再吸收(例如,骨损失)。

[0320] E303. E270-E302中任一项的方法,其中所述方法增加成骨细胞活性或成骨细胞生成。

[0321] E304. E270-E303中任一项的方法,其中所述方法减少破骨细胞活性或减少破骨细胞生成。

[0322] E305. E270-E304中任一项的方法,其中所述方法减少骨折的风险。

[0323] E306. E270-E305中任一项的方法,其中所述方法增加骨矿物质密度。

[0324] E307. E270-E306中任一项的方法,其中所述骨是皮质骨。

[0325] E308. E270-E306中任一项的方法,其中所述骨是松质骨。

[0326] E309. E270-E308中任一项的方法,其中所述方法进一步包括在施用所述抗体或其ALK2结合片段、核酸分子、表达载体或药物组合物之前评估所述受试者的骨矿物质密度(例如,使用标准测试评估骨矿物质密度,诸如双能x-射线吸收测定法)。

[0327] E310. E270-E309中任一项的方法,其中所述方法进一步包括在施用所述抗体或其ALK2结合片段、核酸分子、表达载体或药物组合物之后评估所述受试者的骨矿物质密度(例如,使用标准测试评估骨矿物质密度,诸如双能x-射线吸收测定法)。

[0328] E311. 通过向有此需要的受试者施用治疗有效量的E1至E264中任一项的抗体或其ALK2结合片段、E265的核酸分子、E266的表达载体或E268或E269的药物组合物来增加所述受试者中的红血液细胞水平的方法。

[0329] E312. 通过向有此需要的受试者施用治疗有效量的E1至E264中任一项的抗体或其ALK2结合片段、E265的核酸分子、E266的表达载体或E268或E269的药物组合物来增加所

述受试者中的血红蛋白水平(例如,血清血红蛋白水平)的方法。

[0330] E313. 通过向有此需要的受试者施用治疗有效量的E1至E264中任一项的抗体或其ALK2结合片段、E265的核酸分子、E266的表达载体或E268或E269的药物组合物来增加所述受试者中的红血液细胞计数的方法。

[0331] E314. 通过向有此需要的受试者施用治疗有效量的E1至E264中任一项的抗体或其ALK2结合片段、E265的核酸分子、E266的表达载体或E268或E269的药物组合物来促进或增加所述受试者中的红血液细胞形成的方法。

[0332] E315. 通过向有此需要的受试者施用治疗有效量的E1至E264中任一项的抗体或其ALK2结合片段、E265的核酸分子、E266的表达载体或E268或E269的药物组合物来降低所述受试者中的铁调素水平(例如,血清铁调素浓度)的方法。

[0333] E316. 通过向有此需要的受试者施用治疗有效量的E1至E264中任一项的抗体或其ALK2结合片段、E265的核酸分子、E266的表达载体或E268或E269的药物组合物来增加所述受试者中的铁水平(例如,血清铁水平)的方法。

[0334] E317. E311-E316中任一项的方法,其中所述受试者具有贫血或失血或处于发展贫血或失血的风险中。

[0335] E318. E317的方法,其中所述贫血或失血与以下相关:癌症、癌症治疗、肾病或衰竭(例如慢性肾病或急性肾病或衰竭)、骨髓增生异常综合征、地中海贫血、营养缺乏、对药物的不良反应、炎性或自身免疫性疾病、脾肿大、卟啉症、血管炎、溶血、骨髓缺损、骨髓移植、糖尿病、肝病(例如急性肝病或慢性肝病)、出血(例如急性或慢性出血)、感染、血红蛋白病、吸毒(drug use)、酒精滥用、高龄、丘斯二氏综合征、费尔蒂综合征、移植物抗宿主病、造血干细胞移植、骨髓纤维化、全血细胞减少症、纯红细胞再生障碍、过敏性紫癜、舒瓦克曼综合征(例如舒戴二氏综合征)、输血禁忌证、手术、创伤、伤口、溃疡、泌尿道出血、消化道出血、频繁献血或月经出血过多。

[0336] E319. 通过向具有贫血或处于发展贫血的风险中的受试者施用治疗有效量的E1至E264中任一项的抗体或其ALK2结合片段、E265的核酸分子、E266的表达载体或E268或E269的药物组合物来治疗所述受试者的方法。

[0337] E320. E319的方法,其中在一些实施方案中,所述贫血与以下相关:癌症、癌症治疗、肾病或衰竭(例如慢性肾病或急性肾病或衰竭)、骨髓增生异常综合征、地中海贫血、营养缺乏、对药物的不良反应、炎性或自身免疫性疾病、脾肿大、卟啉症、血管炎、溶血、骨髓缺损、骨髓移植、糖尿病、肝病(例如急性肝病或慢性肝病)、出血(例如急性或慢性出血)、感染、血红蛋白病、吸毒、酒精滥用、高龄、丘斯二氏综合征、费尔蒂综合征、移植物抗宿主病、造血干细胞移植、骨髓纤维化、全血细胞减少症、纯红细胞再生障碍、过敏性紫癜、舒瓦克曼综合征(例如舒戴二氏综合征)、输血禁忌证、手术、创伤、伤口、溃疡、泌尿道出血、消化道出血、频繁献血或月经出血过多。

[0338] E321. E317-E320的方法,其中所述贫血是再生障碍性贫血、缺铁性贫血、维生素缺乏性贫血、炎症性贫血(也称为慢性病性贫血,例如由炎性疾病或病况、诸如感染(例如慢性感染,诸如HIV/AIDS或结核病)、自身免疫性疾病(例如类风湿性关节炎或狼疮)、癌症(例如癌症或癌症治疗)、炎性肠病(例如克罗恩氏病或溃疡性结肠炎)和慢性肾病引起的贫血)、与骨髓疾病相关的贫血、溶血性贫血、镰状细胞性贫血、小红细胞性贫血、低色素性贫血

血、铁粒幼细胞性贫血、戴布二氏贫血、范可尼贫血或难治性贫血伴胚细胞增多。

[0339] E322. E321的方法,其中所述贫血是IRIDA。

[0340] E323. E322的方法,其中所述贫血是炎症性贫血。

[0341] E324. E311-E323中任一项的方法,其中所述贫血与升高的铁调素水平相关。

[0342] E325. E311-E324中任一项的方法,其中所述受试者并未良好响应于用促红细胞生成素(EPO)的治疗,或易受EPO的不利效应影响。

[0343] E326. E311-E325中任一项的方法,其中所述方法增加红血细胞形成、红血细胞计数、血细胞比容或血红蛋白水平。

[0344] E327. E311-E326中任一项的方法,其中所述方法预防或降低升高的铁调素水平。

[0345] E328. E311-E327中任一项的方法,其中所述方法增加铁水平。

[0346] E329. E311-E328中任一项的方法,其中所述方法减少受试者对于输血的需要。

[0347] E330. E311-E329中任一项的方法,其中所述方法进一步包括在施用所述抗体或其ALK2结合片段、核酸分子、表达载体或药物组合物之前评估所述受试者的红血细胞水平、血红蛋白水平、红血细胞计数、铁调素水平或铁水平(例如,使用标准测试、诸如血液测试评估血细胞水平、血红蛋白水平、红血细胞计数、铁调素水平或铁水平)。

[0348] E331. E311-E330中任一项的方法,其中所述方法进一步包括在施用所述抗体或其ALK2结合片段、核酸分子、表达载体或药物组合物之后评估所述受试者的红血细胞水平、血红蛋白水平、红血细胞计数、铁调素水平或铁水平(例如,使用标准测试、诸如血液测试评估血细胞水平、血红蛋白水平、红血细胞计数、铁调素水平或铁水平)。

[0349] E332. 通过向有此需要的受试者施用治疗有效量的E1至E264中任一项的抗体或其ALK2结合片段、E265的核酸分子、E266的表达载体或E268或E269的药物组合物来预防或减少所述受试者中的异位骨化的方法。

[0350] E333. E332的方法,其中所述受试者具有进展性骨化性纤维发育不良(FOP)。

[0351] E334. E333的方法,其中所述FOP是遗传性FOP或散发性FOP。

[0352] E335. 通过向具有FOP或处于发展FOP的风险中的受试者施用治疗有效量的E1至E264中任一项的抗体或其ALK2结合片段、E265的核酸分子、E266的表达载体或E268或E269的药物组合物来治疗所述受试者的方法。

[0353] E336. E335的方法,其中所述FOP是遗传性FOP或散发性FOP。

[0354] E337. E332-E336中任一项的方法,其中所述方法减缓或抑制FOP的进展。

[0355] E338. E332-E337中任一项的方法,其中所述方法延迟FOP的发作(例如,延迟异位骨化的发作)。

[0356] E339. E332-E338中任一项的方法,其中所述方法预防异位骨化(例如,预防处于发展异位骨化的风险中的受试者中的异位骨化,或预防手术切除异位骨后异位骨化的复发)。

[0357] E340. E332-E339中任一项的方法,其中所述方法减少异位骨化(例如,减少受试者中的异位骨化的量,减少受试者中的异位骨化的发生,或减少手术切除异位骨后异位骨化的复发)。

[0358] E341. E332-E340中任一项的方法,其中所述方法减少异位骨的形成。

[0359] E342. E332-E341中任一项的方法,其中所述方法减少异位骨的复发(例如,在手

术切除后)。

[0360] E343. E332-E342中任一项的方法,其中所述方法进一步包括在施用所述抗体或其ALK2结合片段、核酸分子、表达载体或药物组合物之前评估所述受试者中的异位骨化(例如异位骨的量或位置)(例如,使用标准测试、诸如放射照片(例如,X射线)、CT(计算机断层扫描)和/或MRI(磁共振成像)评估异位骨化)。

[0361] E344. E332-E343中任一项的方法,其中所述方法进一步包括在施用所述抗体或其ALK2结合片段、核酸分子、表达载体或药物组合物之后评估所述受试者中的异位骨化(例如异位骨的量或位置)(例如,使用标准测试、诸如放射照片(例如,X射线)、CT(计算机断层扫描)和/或MRI(磁共振成像)评估异位骨化)。

[0362] E345. E332-E344中任一项的方法,其中所述方法进一步包括在施用所述抗体或其ALK2结合片段、核酸分子、表达载体或药物组合物之前确定所述受试者是否携带ALK2(ACVR1)中的激活突变。

[0363] E346. 通过向具有干燥综合症的受试者施用治疗有效量的E1至E264中任一项的抗体或其ALK2结合片段、E265的核酸分子、E266的表达载体或E268或E269的药物组合物来治疗所述受试者的方法。

[0364] E347. E346的方法,其中所述方法减轻或改善干燥综合症的症状。

[0365] E348. E347的方法,其中所述症状是干眼、口干、眼睛刺激、泪腺的纤维化、泪腺的炎症、视力模糊、全身炎症、关节疼痛或疲劳。

[0366] E349. E348的方法,其中所述症状是干眼。

[0367] E350. 通过向具有干燥综合症的受试者施用治疗有效量的E1至E264中任一项的抗体或其ALK2结合片段、E265的核酸分子、E266的表达载体或E268或E269的药物组合物来治疗或减少具有干燥综合症的受试者中的干眼(治疗与干燥综合症相关的干眼)的方法。

[0368] E351. E346-E350中任一项的方法,其中所述方法增加泪液的产生(例如,增加泪液体积产生)。

[0369] E352. E346-E351中任一项的方法,其中所述方法减少眼睛刺激。

[0370] E353. E346-E352中任一项的方法,其中所述方法改善视力(例如,增加视敏度)。

[0371] E354. E346-E353中任一项的方法,其中所述方法减少泪腺的纤维化。

[0372] E355. E346-E354中任一项的方法,其中所述方法减少泪腺的炎症。

[0373] E356. E346-E355中任一项的方法,其中所述方法增加唾液或唾液流的产生。

[0374] E357. E346-E356中任一项的方法,其中所述方法减少全身炎症。

[0375] E358. E346-E357中任一项的方法,其中所述方法减少关节疼痛。

[0376] E359. E346-E358中任一项的方法,其中所述方法减少疲劳。

[0377] E360. 治疗具有多发性骨软骨瘤(MO)的受试者的方法,其包括向所述受试者施用治疗有效量的E1至E264中任一项的抗体或其ALK2结合片段、E265的核酸分子、E266的表达载体或E268或E269的药物组合物。

[0378] E361. 预防或减少具有MO的受试者中的骨软骨瘤的形成(例如,预防尚未发展骨软骨瘤的具有MO的受试者中的骨软骨瘤的形成或减少或预防已经发展一种或多种骨软骨瘤的具有MO的受试者中的骨软骨瘤的形成)的方法,其包括向所述受试者施用治疗有效量的E1至E264中任一项的抗体或其ALK2结合片段、E265的核酸分子、E266的表达载体或E268

或E269的药物组合物。

[0379] E362. 减小具有M0的受试者中的骨软骨瘤的大小的方法,其包括向所述受试者施用治疗有效量的E1至E264中任一项的抗体或其ALK2结合片段、E265的核酸分子、E266的表达载体或E268或E269的药物组合物。

[0380] E363. 减缓或抑制具有M0的受试者中的骨软骨瘤的生长的方法,其包括向所述受试者施用治疗有效量的E1至E264中任一项的抗体或其ALK2结合片段、E265的核酸分子、E266的表达载体或E268或E269的药物组合物。

[0381] E364. 减少具有M0的受试者中的骨软骨瘤的数目的方法,其包括向所述受试者施用治疗有效量的E1至E264中任一项的抗体或其ALK2结合片段、E265的核酸分子、E266的表达载体或E268或E269的药物组合物。

[0382] E365. E360-E364中任一项的方法,其中所述骨软骨瘤在长骨上形成。

[0383] E366. E360-E364中任一项的方法,其中所述骨软骨瘤在扁平骨上形成。

[0384] E367. E360-E366中任一项的方法,其中所述骨软骨瘤在骨的生长末端(干骺端)上形成。

[0385] E368. 治疗具有弥漫性内源性脑桥胶质瘤(DIPG)的受试者的方法,其包括向所述受试者施用治疗有效量的E1至E264中任一项的抗体或其ALK2结合片段、E265的核酸分子、E266的表达载体或E268或E269的药物组合物。

[0386] E369. E368的方法,其中所述方法增加所述受试者的存活时间(例如,延长寿命)。

[0387] E370. E368或E369的方法,其中所述方法减少肿瘤生长。

[0388] E371. E368-E370中任一项的方法,其中所述方法减小肿瘤体积。

[0389] E372. E368-E371中任一项的方法,其中所述方法减少肿瘤转移。

[0390] E373. E368-E372中任一项的方法,其中所述方法进一步包括在施用所述抗体或其ALK2结合片段、核酸分子、表达载体或药物组合物之前确定所述受试者是否携带ALK2(ACVR1)中的突变。

[0391] E374. 减少或预防有此需要的受试者中发展后囊浑浊(PCO)的方法,其包括向所述受试者施用治疗有效量的E1至E264中任一项的抗体或其ALK2结合片段、E265的核酸分子、E266的表达载体或E268或E269的药物组合物。

[0392] E375. 治疗具有PCO或处于发展PCO的风险中的受试者的方法,其包括向所述受试者施用治疗有效量的E1至E264中任一项的抗体或其ALK2结合片段、E265的核酸分子、E266的表达载体或E268或E269的药物组合物。

[0393] E376. E374或E375的方法,其中所述受试者已经经历或即将经历白内障手术(例如,所述受试者计划在6个月、5个月、4个月、3个月、2个月、1个月、2周、1周或更短时间内经历白内障手术)。

[0394] E377. E374-E376中任一项的方法,其中所述方法改善视敏度。

[0395] E378. E374-E377中任一项的方法,其中所述方法降低光敏感度或眩光。

[0396] E379. E374-E378中任一项的方法,其中所述方法减少或抑制纤维化(例如,后囊上或附近的纤维化,例如植入的晶状体附近的纤维化)。

[0397] E380. E374-E379中任一项的方法,其中所述方法减少或抑制眼睛中的炎症。

[0398] E381. 治疗具有心脏肥大或处于发展心脏肥大的风险中的受试者的方法,其包括

向所述受试者施用治疗有效量的E1至E264中任一项的抗体或其ALK2结合片段、E265的核酸分子、E266的表达载体或E268或E269的药物组合物。

[0399] E382. 减缓或预防心脏肥大的发展的方法,其包括向所述受试者施用治疗有效量的E1至E264中任一项的抗体或其ALK2结合片段、E265的核酸分子、E266的表达载体或E268或E269的药物组合物。

[0400] E383. E381或E382的方法,其中所述受试者被鉴定为具有高血压或瓣膜病。

[0401] E384. 治疗具有心脏纤维化或处于发展心脏纤维化的风险中的受试者的方法,其包括向所述受试者施用治疗有效量的E1至E264中任一项的抗体或其ALK2结合片段、E265的核酸分子、E266的表达载体或E268或E269的药物组合物。

[0402] E385. 减缓或预防心脏纤维化的发展的方法,其包括向所述受试者施用治疗有效量的E1至E264中任一项的抗体或其ALK2结合片段、E265的核酸分子、E266的表达载体或E268或E269的药物组合物。

[0403] E386. E384或E385的方法,其中所述受试者被鉴定为具有高血压、糖尿病肥厚性心肌病或特发性扩张型心肌病,或其中所述受试者已经具有心肌梗塞。

[0404] E387. E381-E386中任一项的方法,其中所述方法减少或逆转心脏纤维化。

[0405] E388. E381-E387中任一项的方法,其中所述方法改善心脏肥大或心脏纤维化的一种或多种症状。

[0406] E389. E388的方法,其中所述心脏肥大或心脏纤维化的症状是运动能力降低,射血体积降低,左心室舒张末压增加,肺毛细血管楔压增加,心输出量减少,心脏指数降低,肺动脉压增加,左心室收缩末期和舒张末期尺寸增加,左右心室壁应力增加,壁张力和/或壁厚度增加,心肌收缩力降低,心肌细胞区增加,或心肌中细胞外基质沉积增加。

[0407] E390. E270-E310中任一项的方法,其中所述抗体或其ALK2结合片段、核酸分子、表达载体或药物组合物以足以增加骨矿物质密度、减少骨再吸收(例如,减少骨损失)、降低骨折的风险、增加骨强度、降低骨再吸收的速率(例如,降低骨损失的速率)、增加骨形成、增加骨形成的速率、降低破骨细胞活性、增加成骨细胞活性或治疗骨疾病的量施用。

[0408] E391. E311-E331中任一项的方法,其中所述抗体或其ALK2结合片段、核酸分子、表达载体或药物组合物以足以增加红血细胞水平、增加血红蛋白水平、增加红血细胞形成、增加红血细胞计数、增加血细胞比容、减少输血需要、增加铁水平、减少缺铁、降低升高的铁调素水平或治疗贫血的量施用。

[0409] E392. E332-E345中任一项的方法,其中所述抗体或其ALK2结合片段、核酸分子、表达载体或药物组合物以足以治疗FOP、减缓或停止FOP的进展、延迟FOP的发作、预防异位骨化、减少异位骨化、预防或减少异位骨形成或预防或减少异位骨的复发的量施用。

[0410] E393. E346-E359中任一项的方法,其中所述抗体或其ALK2结合片段、核酸分子、表达载体或药物组合物以足以治疗干燥综合征、治疗或减少与干燥综合征相关的干眼、减少或改善干燥综合征的症状、增加泪液的产生、减少眼睛刺激、改善视力、减少泪腺的纤维化、减少泪腺的炎症或增加唾液或唾液流的产生的量施用。

[0411] E394. E360-E367中任一项的方法,其中所述抗体或其ALK2结合片段、核酸分子、表达载体或药物组合物以足以治疗MO、预防骨软骨瘤的形成、减少骨软骨瘤的形成、减小骨软骨瘤的大小、减少骨软骨瘤的生长或减少骨软骨瘤的数量的量施用。

[0412] E395. E368-E373中任一项的方法,其中所述抗体或其ALK2结合片段、核酸分子、表达载体或药物组合物以足以治疗DIPG、增加存活时间(例如,延长寿命)、减少肿瘤生长、减小肿瘤体积或减少肿瘤转移的量施用。

[0413] E396. E374-E380中任一项的方法,其中所述抗体或其ALK2结合片段、核酸分子、表达载体或药物组合物以足以治疗PCO、预防PCO的发展、改善视敏度、降低光敏感度或眩光、减少或抑制纤维化或减少或抑制眼睛中的炎症的量施用。

[0414] E397. E381-E3889中任一项的方法,其中所述抗体或其ALK2结合片段、核酸分子、表达载体或药物组合物以足以治疗心脏肥大、治疗心脏纤维化、减缓或预防心脏肥大的发展、减缓或预防心脏纤维化的发展或改善心脏纤维化的症状的量施用。

[0415] 定义

[0416] 如本文所用,术语“约”是指在所描述的值之上或之下10%以内的值。

[0417] 如本文所用,“施用”是指通过任何有效途径向受试者提供或给予治疗剂(例如,本文所述的ALK2抗体或其抗原结合片段(例如,ALK2结合片段))。示例性施用途径在下文中描述。

[0418] 术语“抗体”以最广泛的含义使用,并且具体涵盖完整的单克隆抗体、多克隆抗体、由至少两个完整抗体形成的多特异性抗体(例如双特异性抗体)和抗体片段,只要它们表现出期望的生物活性。

[0419] “抗体片段”包括完整抗体的一部分,优选完整抗体的抗原结合区或可变区。抗体片段的实例包括Fab、Fab'、F(ab')₂和Fv片段;双体;线性抗体(Zapata等人 Protein Eng. 8(10):1057-1062 (1995));单链抗体分子;和由抗体片段形成的多特异性抗体。

[0420] 如本文所用,术语“单克隆抗体”是指从基本上同质的抗体群体中获得的抗体,即群体中包括的个体抗体除了可能以少量存在的可能天然发生的突变以外是相同的。单克隆抗体是高度特异性的,针对单个抗原位点。

[0421] 如本文所用的术语“单克隆抗体”具体包括“嵌合”抗体(其中重链和/或轻链的一部分与源自特定物种或属于特定抗体类别或亚类的抗体中的相应序列相同或同源,而链的剩余部分与源自另一物种或属于另一抗体类别或亚类的抗体中的相应序列相同或同源),以及此类抗体的片段,只要它们表现出期望的生物活性(美国专利号4,816,567;Morrison等人, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 81:6851-6855 (1984))。

[0422] 非人(例如,鼠)抗体的“人源化”形式是嵌合抗体、抗体链或其片段(诸如Fv、Fab、Fab'、F(ab')₂或抗体的其他抗原结合亚序列),其含有源自非人抗体的最小序列。对于大部分,人源化抗体是人抗体(受体抗体),其中来自受体的互补决定区(CDR)的残基被具有期望的特异性、亲和力和能力的来自非人物种(供体抗体)(诸如小鼠、大鼠或兔)的CDR的残基替代。在一些情况下,人抗体的Fv框架区(FR)残基被相应的非人残基替代。此外,人源化抗体可以包括既不在受体抗体中也不在输入的CDR或框架序列中发现的残基。

[0423] 如本文所用,术语“骨矿物质密度(BMD)”、“骨密度”和“骨量”是指骨组织中骨矿物质(例如钙)的量的量度。BMD可以通过本领域技术人员已知的良好确立的临床技术(例如,通过单一-1或双能光子或X射线吸收测定法(DEXA))来测量。BMD的概念涉及每体积骨的矿物质质量,尽管临床上其通过代理根据成像后每平方厘米骨表面的光密度来测量。BMD测量值在临床医学中用作骨质疏松症和骨折风险的间接指标。在一些实施方案中,BMD测试结果作

为T-评分提供,其中T-评分代表与健康的30岁成人的理想或峰值骨矿物质密度相比的受试者的BMD。0的评分指示BMD等于健康年轻成人的正常参考值。测量的受试者BMD和健康年轻成人的参考值之间的差异以标准偏差单位(SD)测量。因此,在+1 SD和-1 SD之间的T-评分可以指示正常BMD,在-1 SD和-2.5 SD之间的T-评分可以指示低骨量(例如,骨质减少症),且低于-2.5 SD的T-评分可以指示骨质疏松症或严重的骨质疏松症。在一些实施方案中,将本发明的ALK2抗体或其抗原结合片段(例如,ALK2结合片段)施用于有此需要的受试者,其中所述患者具有低骨量(例如,T-评分在-1 SD和-2.5 SD之间)。在一些实施方案中,将本发明的ALK2抗体或其抗原结合片段(例如,ALK2结合片段)施用于有此需要的受试者,其中所述患者具有骨质疏松症(例如,T-评分小于-2.5 SD)。在一些实施方案中,本发明的ALK2抗体或其抗原结合片段(例如,ALK2结合片段)的施用通过增加受试者的BMD(例如,增加受试者的T-评分)来治疗受试者。

[0424] 如本文所用,术语“骨强度”是指除骨矿物质密度之外,还通过骨质量确定的骨的量度。骨质量受骨几何形状、微结构和构成组织的特性影响。骨强度可以用于评价骨的骨折风险。

[0425] 如本文所用,术语“骨疾病”是指特征在于骨损伤(例如骨矿物质密度减少、骨强度减少和/或骨损失)的病况。此类疾病或病况可能由成骨细胞和/或破骨细胞活性中的失衡(例如骨再吸收增加或骨形成减少)引起。骨疾病包括原发性骨质疏松症、继发性骨质疏松症、骨质减少症、骨硬化症、骨折、骨癌或癌症转移相关的骨损失(例如与多发性骨髓瘤相关的骨损失)、佩吉特氏病、肾性骨营养不良、治疗相关的骨损失、饮食相关的骨损失、与肥胖治疗相关的骨损失、低重力相关的骨损失和与不能移动相关的骨损失。

[0426] 如本文所用,术语“骨重塑”或“骨代谢”是指通过用新合成的蛋白质基质包替代旧骨的离散部分来维持骨强度和离子内稳态的过程。骨被破骨细胞吸收,并且在称为骨化的过程中通过成骨细胞沉积。骨细胞活性在该过程中起关键作用。导致骨量减少的病况可以由再吸收的增加或骨化的减少引起。在健康的个体中,在儿童期期间,骨形成超过再吸收。随着老化过程发生,再吸收超过形成。由于与更年期相关的雌激素缺乏,骨再吸收率在绝经后老年女性中通常也高得多。

[0427] 如本文所用,术语“骨再吸收”或“骨分解代谢活性”是指破骨细胞分解骨中的组织并且释放矿物质、导致矿物质(例如,钙)从骨组织转移至血液的过程。骨再吸收速率的增加与衰老(包括绝经后妇女)相关。高骨再吸收速率或超过骨化速率的骨再吸收速率,与骨骼病症(诸如骨矿物质密度减少,包括骨质减少症和骨质疏松症)相关,并导致骨损失。在一些实施方案中,将本发明的ALK2抗体或其抗原结合片段(例如,ALK2结合片段)施用于有此需要的受试者以减少受试者中的骨再吸收(例如,受试者中的骨再吸收速率)。

[0428] 如本文所用,术语“骨形成”、“骨化”、“骨生成”或“骨合成代谢活性”是指通过成骨细胞形成新骨组织的过程。在一些实施方案中,将本发明的ALK2抗体或其抗原结合片段(例如,ALK2结合片段)施用于有此需要的受试者以增加骨形成(例如,增加受试者中的骨形成或成骨的速率)。

[0429] 如本文所用,术语“细胞类型”是指共享基于基因表达数据在统计上可分离的表型的一组细胞。例如,共同细胞类型的细胞可能共享相似的结构和/或功能特征,诸如相似的基因激活模式和抗原呈递概况。共同细胞类型的细胞可以包括从共同组织(例如,上皮组

织、神经组织、结缔组织、骨组织或肌肉组织)分离的那些和/或从共同器官、组织系统、血管或生物体中的其他结构和/或区域分离的那些。

[0430] 如本文所用,术语“保守突变”、“保守取代”和“保守氨基酸取代”是指一个或多个氨基酸被取代为一个或多个表现出相似物理化学特性(诸如极性、静电电荷和空间体积)的不同氨基酸。下表1中对二十种天然存在的氨基酸中的每一种总结了这些特性。

表 1: 天然存在的氨基酸的代表性物理化学特性

氨基酸	3 字母 代码	1 字母 代码	侧链极 性	在生理 pH (7.4)下 的静电特征	空间体积 [†]
丙氨酸	Ala	A	非极性	中性	小
精氨酸	Arg	R	极性	阳离子的	大
天冬酰胺	Asn	N	极性	中性	中间
天冬氨酸	Asp	D	极性	阴离子的	中间
半胱氨酸	Cys	C	非极性	中性	中间
谷氨酸	Glu	E	极性	阴离子的	中间
谷氨酰胺	Gln	Q	极性	中性	中间
甘氨酸	Gly	G	非极性	中性	小
组氨酸	His	H	极性	在 pH 7.4 在平衡状态下的中性和阳离子形式	大
异亮氨酸	Ile	I	非极性	中性	大
亮氨酸	Leu	L	非极性	中性	大
赖氨酸	Lys	K	极性	阳离子的	大
甲硫氨酸	Met	M	非极性	中性	大
苯丙氨酸	Phe	F	非极性	中性	大
脯氨酸	Pro	P	非极性	中性	中间
丝氨酸	Ser	S	极性	中性	小
苏氨酸	Thr	T	极性	中性	中间
色氨酸	Trp	W	非极性	中性	大体积
酪氨酸	Tyr	Y	极性	中性	大
缬氨酸	Val	V	非极性	中性	中间
[†] 基于以 Å ³ 计的体积: 50-100 为小, 100-150 为中等, 150-200 为大, 且>200 大体积					

[0431]

[0432] 从该表应理解,保守氨基酸家族包括(i) G、A、V、L和I;(ii) D和E;(iii) C、S和T;(iv) H、K和R;(v) N和Q;和(vi) F、Y和W。因此,保守的突变或取代是用一个氨基酸取代同

一氨基酸家族的成员(例如,Ser取代Thr或Lys取代Arg)。

[0433] 如本文所用,术语“分离的抗体”是指基本上不含具有不同抗原特异性的其他抗体的抗体(例如,结合ALK2的分离的抗体,其基本上不含污染物,例如不结合ALK2的抗体)。此外,“分离的”抗体是已从其自然环境的组分鉴定和分离和/或回收的抗体。其自然环境的污染物组分是可能干扰所述抗体的诊断或治疗用途的物质,并且可能包括酶、激素和其他蛋白质或非蛋白质溶质。

[0434] 如本文所用,术语“增加”和“减少”是指相对于参考分别导致度量更大或更小量的功能、表达或活性的调节。例如,在本文描述的方法中施用本发明的ALK2抗体或其抗原结合片段(例如,ALK2结合片段)之后,在受试者中的如本文所述的度量(例如,红血细胞水平、骨矿物质密度、泪液产生、存活时间)的标志物的量相对于施用前的标志物的量或相对于未治疗的受试者增加,或受试者中的如本文所述的度量(例如,异位骨化、或骨软骨瘤大小、数量或形成)的标志物的量相对于施用前的标志物的量或相对于未治疗的受试者减少。通常,度量在施用后的时间进行测量,在所述时间施用已达到所述效应,例如在治疗方案已开始后至少一周、一个月、3个月或6个月。

[0435] 如本文所用,术语“增加红血细胞水平”和“促进红血细胞形成”是指临床上可观察到的度量,诸如血细胞比容、红血细胞计数和血红蛋白测量值的增加,并且关于此类变化通过其发生的机制预期是中性的。如本文所用,术语“低红血细胞水平”是指低于对于受试者的年龄和性别视为正常的值范围的红血细胞计数、血细胞比容和/或血红蛋白测量值。在一些实施方案中,将本发明的ALK2抗体或其抗原结合片段(例如,ALK2结合片段)施用于受试者(例如,具有贫血症的受试者)以增加红血细胞水平(例如,增加血红蛋白水平或红血细胞计数)。

[0436] 如本文所用,术语“红血细胞形成”和“红血细胞产生”是指红血球的生成,诸如其中红血细胞在骨髓中产生的红细胞生成的过程。

[0437] 如本文所用,术语“贫血”是指血红蛋白或红血细胞中导致血液中的氧水平减少的任何异常。贫血可以与红细胞和/或血红蛋白的异常产生、加工或性能相关。术语贫血指相对于正常血液水平,血液中的红血细胞数目和/或血红蛋白水平中的任何减少。

[0438] 如本文所用,术语“炎症性贫血”是指一种类型的贫血,其由炎性细胞因子驱动,并且其特征在于尽管铁储存充足但铁不足,这主要是由于铁调素升高。骨形态发生蛋白(BMP)通过经由ALK2激活SMAD信号传导通路来上调铁调素。炎症性贫血也称为慢性病性的贫血。引起炎症性贫血的慢性病况包括感染(例如,慢性感染,诸如HIV/AIDS或结核病)、自身免疫性疾病(例如,类风湿性关节炎或狼疮)、癌症(例如,癌症或癌症治疗)、炎性肠病(例如,克罗恩氏病或溃疡性结肠炎)和慢性肾病。

[0439] 如本文所用,术语“铁难治性缺铁性贫血”和“IRIDA”是指缺铁性贫血的遗传形式。IRIDA的主要特征包括终生贫血(血红蛋白6-9 g/dL);非常低的红血细胞大小(小细胞),其中平均血球体积(MCV)为45-65 fL;血液中的铁水平非常低(转铁蛋白饱和度<5%);口服铁吸收异常 - 对口服铁补充剂无应答或“口服铁挑战”失败;铁利用异常 - 对肠胃外铁(静脉内注射的铁)的缓慢、不完全和短暂的应答;和其他具有常染色体隐性遗传模式的受影响家族成员。IRIDA的诊断可以通过测量血液中的铁调素水平来证实。已经发现TMPRSS6中的突变与IRIDA相关。

[0440] 如本文所用,术语“异位骨化”、“异位骨形成(heterotopic bone formation)”和“异位骨形成(ectopic bone formation)”是指骨在非骨骼组织、诸如肌肉、肌腱和其他软组织中的异常生长。“异位骨”是指在非骨骼组织中形成的骨。在具有FOP的患者中可能发生异位骨化。

[0441] 如本文所用,术语“进展性骨化性纤维发育不良”和“FOP”是指其中骨骼肌和结缔组织、诸如肌腱和韧带逐渐被骨骼替代(骨化)的病症。该病况导致骨骼外的骨骼形成(外骨骼或异位骨骼),其限制运动。该过程通常在儿童早期变得明显,从颈部和肩部开始,并且沿身体向下移动并且到四肢。具有FOP的人天生具有异常的大脚趾(趾外翻),这可能有助于进行诊断。创伤、诸如跌倒或侵入性医疗程序或病毒性疾病可能触发肌肉肿胀和炎症(肌炎)的发作。这些突然发作持续数天至数月,并且经常导致受伤区域中的永久性骨骼生长。FOP由ACVR1基因的突变引起,并且以常染色体显性方式遗传。

[0442] 如本文所用,术语“纤维化”是指纤维结缔组织的过度形成的病理过程。纤维化的特征在于成纤维细胞积累和胶原蛋白沉积超过任何特定组织中的正常沉积。响应炎症或组织损害,附近的成纤维细胞可以迁移到伤口内,增殖并产生大量的胶原细胞外基质。当纤维化响应损害而发生时,术语“疤痕”可以作为同义词使用。纤维化可以发生在身体的许多组织中,包括例如肺、皮肤、肝、肾、心脏、眼、泪腺、腱、软骨、胰腺组织、子宫组织、神经组织、睾丸、卵巢、肾上腺、动脉、静脉、结肠、小肠和大肠、胆道和肠道。

[0443] 如本文所用,术语“心脏肥大”是指由其中成体心肌细胞通过肥大生长对应激作出应答的过程导致的心肌的异常增大或增厚。这种生长的特征在于细胞大小增加而没有细胞分裂,在细胞内组装额外的肌节以使力生成最大化,以及胎儿心脏基因程序的激活。心脏肥大经常与发病率和死亡率的风险增加相关,并且已发现其与心脏间质中的纤维组织沉积伴有细胞外基质支架的改变(例如,心脏纤维化)相关。

[0444] 如本文所用,术语“心脏纤维化”,也称为心肌纤维化,是指心肌纤维化,并且其特征在于壁变硬、收缩性降低和整体心脏性能受损。心脏肌成纤维细胞通过结缔组织(例如细胞外基质)在间质空间的过度沉积来介导纤维化。心脏纤维化经常被发现与心脏肥大相关。

[0445] 如本文所用,术语“干眼”是指当眼睛不能产生足够的泪液(例如,泪液产生或泪液体积减少)或当泪液蒸发太快时发生的慢性病况。干眼可伴有眼部不适和视功能异常。

[0446] 如本文所用的术语“干燥综合征”是指特征在于口干、流泪减少和其他粘膜干燥的全身性炎性病症。眼睛和嘴巴干燥是这种综合征的最常见的症状。

[0447] 如本文所用,“与干燥综合征相关的干眼”是指与原发干燥综合征相关的干眼和与继发性干燥综合征相关的干眼。与干燥综合征相关的干眼通常被归类为泪液分泌减少的干眼。

[0448] 如本文所用,术语“多发性骨软骨瘤”或“MO”是指与骨上、例如长骨末端或扁平骨上的骨软骨瘤形成相关的病况或疾病。具有MO的受试者经常在exostosin基因(例如EXT1或EXT2)中携带功能丧失突变。MO也称为多发性遗传性外生骨疣、Bessel-Hagen病、骨干续连症、多发性软骨性外生骨疣、多发性先天性外生骨疣和遗传性多发性骨软骨瘤。

[0449] 如本文所用,术语“骨软骨瘤”是指在儿童期或青春期间发展的良性(非癌性)肿瘤。它是通常在生长板附近的骨骼表面上形成的软骨和骨骼的异常过度生长。骨软骨瘤最经常形成于腿部和手臂的长骨上以及扁平骨、诸如骨盆和肩胛骨(肩胛骨)上。

[0450] 如本文所用,术语“弥漫性内源性脑桥胶质瘤”是指高度侵袭性且难以治疗的脑肿瘤,其起源于脑桥,,并且占有所有小儿脑肿瘤的近似20%。具有弥漫性内源性脑桥胶质瘤(DIPG)的儿童的中值总体存活期为9-11个月,其中一年和两年存活率分别为近似30%和不到10%。已发现DIPG在分子上不同于成人神经胶质瘤,并且经常在编码组蛋白变体的基因中含有突变。在DIPG中也已经观察到ALK2 (ACVR1)中的突变。

[0451] 如本文所用,术语“后囊浑浊”是指在20%至40%的患者中发生的白内障手术最常见的术后并发症。在后囊浑浊(PCO)中,由于晶状体上皮细胞的迁移、增殖和分化,后囊经历二次浑浊。PCO可以引起明显的视觉症状,尤其是当它涉及中央视轴时,并且可以通过后囊(例如,晶状体植入物后面)上纤维化(例如,疤痕组织)的形成来鉴定。PCO的症状包括视力逐渐下降、视力模糊、对阳光敏感、观察到灯光周围的眩光或光晕。

[0452] 相对于参考多肽序列的“百分比(%)氨基酸序列同一性”被定义为在比对序列并引入空位(如果必需)以在比较长度内实现最大百分比序列同一性并且不考虑任何保守取代作为序列同一性的一部分后,候选序列中与参考多肽序列中的氨基酸残基相同的氨基酸残基的百分比。为了确定百分比氨基酸序列同一性的目的的比对可以以本领域技术内的各种方式,例如,使用公开获得的计算机软件诸如BLAST、BLAST-2、ALIGN或Megalign (DNASTAR)软件来实现。在某些实施方案中,本氨基酸序列同一性为至少80%、90%、95%、98%或99%。

[0453] 如本文所用,术语“亲和力”或“结合亲和力”是指两个分子之间的结合相互作用的强度。通常,结合亲和力是指分子和其结合配偶体(诸如ALK2抗体或其抗原结合片段(例如,ALK2结合片段)和ALK2蛋白)之间的非共价相互作用的总和的强度。除非另有说明,否则结合亲和力是指内在结合亲和力,其反映结合对的成员之间的1:1相互作用。两个分子之间的结合亲和力通常通过解离常数(K_D)或亲和常数(K_A)来描述。两个对彼此具有低结合亲和力的分子通常缓慢结合,倾向于容易解离,并且表现出大的 K_D 。两个对彼此具有高亲和力的分子通常容易结合,倾向于保持更长的结合,并且表现出小的 K_D 。可以使用本领域中众所周知的方法和技术,例如表面等离子共振,确定两个相互作用分子的 K_D 。 K_D 计算为 k_{off}/k_{on} 的比率。

[0454] 如本文所用,术语抗体或其ALK2结合片段(例如,Fab、Fab'、F(ab')₂或Fv片段)的“特异性结合”是与靶分子的结合,其可测量地不同于与非靶分子的分子的结合。如本文所用,特异性结合是指对结合特定抗原相比于背景(“非特异性”)结合的偏好大于95%。“基本上特异性”结合是指对结合特定抗原相比于背景的偏好大于约80%。可以使用各种方法测量结合,所述方法包括但不限于Western印迹、免疫印迹、酶联免疫吸附测定(“ELISA”)、放射免疫测定(“RIA”)、免疫沉淀、表面等离子共振、生物层干涉测量、化学发光、荧光偏振、磷光、免疫组织化学分析、基质辅助激光解吸/电离飞行时间(“MALDI-TOF”)质谱、微细胞计数、微阵列、显微镜、荧光激活细胞分选(“FACS”)和流式细胞术。在某些实施方案中,特异性结合靶标(例如,ALK2)的抗体具有不超过0.1nM、0.15nM、0.2nM、0.3nM、0.5nM、0.7nM、1.0nM、2.0nM、4.0nM、5.0nM、7.0nM、10.0nM、14.0nM或15.0nM的解离常数(K_D)。

[0455] 如本文所用,术语“多肽”描述单一聚合物,其中单体是通过酰胺键共价缀合在一起的氨基酸残基。多肽旨在涵盖天然存在的、重组的或合成产生的任何氨基酸序列。

[0456] 如本文所用,术语本文所述的组合物或ALK2抗体或其抗原结合片段(例如,ALK2结合片段)的“有效量”、“治疗有效量”和“足够量”是指当施用于受试者时足以实现有益的或

期望的结果、包括临床结果的量,且因此,“有效量”或其同义词取决于其应用的背景。例如,在治疗具有疾病、诸如骨疾病(例如,骨质疏松症,或涉及骨损伤的病况,例如,原发性骨质疏松症、继发性骨质疏松症、骨质减少症、骨硬化症、骨折、骨癌或癌症转移相关的骨损失、佩吉特氏病、肾性骨营养不良、治疗相关的骨损失、饮食相关的骨损失、与肥胖治疗相关的骨损失、低重力相关的骨损失或与不能移动相关的骨损失)、涉及低红血细胞水平的疾病或病况(例如,贫血或失血)、异位骨化(例如,由FOP导致的异位骨化)、干燥综合征(例如,与干燥综合征相关的干眼)、DIPG、MO、PCO或心脏肥大和/或纤维化或处于发展所述疾病的风险中的患者的背景下,其为所述组合物或ALK2抗体或其抗原结合片段(例如,ALK2结合片段)足以与在不施用所述组合物或ALK2抗体或其抗原结合片段(例如,ALK2结合片段)的情况下获得的应答相比实现治疗应答的量。将对这种量应答的本文所述的给定组合物的量将取决于各种因素(诸如给定的药剂、药物制剂、施用途径、疾病或病症的类型、受试者的身份(例如年龄、性别、重量)或所治疗的宿主等)而变化,但仍可由本领域技术人员通过本领域已知的常规方法常规确定。可以调整剂量方案以提供最佳治疗应答。

[0457] 如本文所用,“局部”或“局部施用”意指在机体的特定部位施用,旨在实现局部效应而不是全身效应。局部施用的实例是表皮、吸入、关节内、鞘内、阴道内、玻璃体内、宫内、病灶内施用、淋巴结施用、肿瘤内施用和对受试者的粘膜施用,其中所述施用旨在具有局部效应而非全身效应。

[0458] 如本文所用,术语“药物组合物”是指含有治疗剂任选地与一种或多种药学上可接受的赋形剂、稀释剂和/或载体的组合的混合物,其待施用于受试者以预防、治疗或控制影响或可能影响受试者的特定疾病或病况。药物组合物可以呈用于口服施用的片剂或胶囊形式,或者呈用于静脉内或皮下施用的水性形式。

[0459] 如本文所用,术语“药学上可接受的载体或赋形剂”是指药物组合物中的赋形剂或稀释剂。药学上可接受的载体必须与制剂的其他成分相容并且适合与受试者的组织接触而没有过度的毒性、刺激、过敏应答和与合理的益处/风险比相称的其他问题并发症。在本发明中,药学上可接受的载体或赋形剂必须为本发明的ALK2抗体或其抗原结合片段(例如,ALK2结合片段)提供足够的药物稳定性。载体或赋形剂的性质随着施用模式而不同。例如,对于静脉内施用,通常使用水溶液载体;对于口服施用,优选固体载体。

[0460] 如本文所用,术语“样品”是指分离自受试者的样本(例如,血液、血液组分(例如,血清或血浆)、尿液、唾液、羊水、脑脊液、组织(例如,神经组织、胎盘组织或真皮组织)、胰液、绒毛膜绒毛样品和细胞(例如,血细胞或骨细胞))。

[0461] 如本文所用,关于疾病或病况的“治疗(treatment)”和“治疗(treating)”是指用于获得有益的或期望的结果、例如临床结果的方法。有益的或期望的结果可包括但不限于减轻或改善一种或多种症状或病况;减少疾病或病况的程度;稳定(即,没有恶化)疾病、病症或病况的状态;预防疾病或病况的传播;延迟或减缓疾病或病况的进展;改善或缓解疾病或病况;和缓解(无论是部分还是全部),无论是可检测的还是不可检测的。“改善”或“减轻”疾病或病况意味着与在没有治疗的情况下的程度或时间进程相比,疾病、病症或病况的程度和/或不期望的临床表现减轻和/或进展的时间进程减慢或延长。“治疗”还可以意指与未接受治疗的预期存活期相比延长存活期。需要治疗的那些包括已经具有该病况或病症的那些,以及易于具有该病况或病症的那些或者其中该病况或病症要被预防的那些。

[0462] 如本文所用,术语“受试者”和“患者”是指哺乳动物,例如人。哺乳动物包括但不限于人和家养和农场动物,诸如猴(例如食蟹猴)、小鼠、狗、猫、马和牛等。待根据本文所述的方法治疗的受试者是已经被诊断为具有骨疾病(例如,涉及骨损伤的疾病或病况,例如,骨质疏松症、骨质减少症、骨硬化症、骨折、骨癌或癌症转移相关的骨损失、佩吉特氏病、肾性骨营养不良、治疗相关的骨损失、饮食相关的骨损失、与肥胖治疗相关的骨损失、低重力相关的骨损失或与不能移动相关的骨损失)、涉及低红血细胞水平的疾病(例如,贫血或失血)、异位骨化(例如,由FOP导致的异位骨化)、干燥综合征(例如,与干燥综合征相关的干眼)、DIPG、MO、PCO或心脏肥大和/或纤维化的受试者,或处于发展这些病况的受试者。诊断可以通过本领域已知的任何方法或技术进行。本领域技术人员将理解,待根据本公开进行治疗的受试者可能已经进行标准测试,或者可能已经在未经检查的情况下被鉴定为由于存在与所述疾病或病况相关的一种或多种风险因素而处于风险中的受试者。

[0463] 附图描述

[0464] 图1A-1B是显示用SMAD1荧光素酶报告子对C2C12细胞进行的抗ALK2 fAB的BMP6抑制剂量响应曲线的一系列图。Graphpad Prism中三参数和四参数曲线拟合的50%抑制值(IC50)显示在每个图的旁边。图1A是来自生成的前四种fAB的剂量响应曲线的图。图1B是来自从快速合并物成熟生成的五个第二轮fAB的剂量响应曲线的图。

[0465] 图2是显示用ALK2抗体治疗对IRIDA的小鼠模型中的血红蛋白水平的影响的图。用ALK2抗体治疗预防与TMPRSS6缺陷相关的血红蛋白减少(*= $p \leq 0.05$; **= $p \leq 0.01$)。

[0466] 图3A-3C是一系列图,其显示用ALK2抗体治疗对IRIDA的小鼠模型中的血红蛋白水平、铁调素浓度和铁水平的影响。用ALK2抗体治疗逆转与TMPRSS6缺陷相关的血红蛋白减少(*= $p \leq 0.05$; **= $p \leq 0.01$,图3A),与TMPRSS6缺陷相关的血清铁调素增加(**= $p \leq 0.01$,图3B),以及与TMPRSS6缺陷相关的血清铁减少(*= $p \leq 0.05$; **= $p \leq 0.01$)。

[0467] 图4是显示用ALK2抗体治疗对骨质疏松症的小鼠模型中的骨矿物质密度的影响的图。用ALK2抗体治疗增加与睾丸切除术相关的骨矿物质密度(减少骨损失)(*= $p \leq 0.05$; ****= $p \leq 0.0001$)。

[0468] 图5显示抗体1的氨基酸序列(SEQ ID NO:67),其中突出显示轻链和重链CDR1、CDR2和CDR3结构域并提供氨基酸位置。还提供了可变轻链、恒定轻链、可变重链、CH1结构域、EcoRI接头、Flag标签、标签接头和六个氨基酸组氨酸标签的开始和结束氨基酸。

[0469] 图6显示抗体2的氨基酸序列(SEQ ID NO:68),其中突出显示轻链和重链CDR1、CDR2和CDR3结构域并提供氨基酸位置。还提供了可变轻链、恒定轻链、可变重链、CH1结构域、EcoRI接头、Flag标签、标签接头和六个氨基酸组氨酸标签的开始和结束氨基酸。

[0470] 图7显示抗体3的氨基酸序列(SEQ ID NO:69),其中突出显示轻链和重链CDR1、CDR2和CDR3结构域并提供氨基酸位置。还提供了可变轻链、恒定轻链、可变重链、CH1结构域、EcoRI接头、Flag标签、标签接头和六个氨基酸组氨酸标签的开始和结束氨基酸。

[0471] 图8显示抗体4的氨基酸序列(SEQ ID NO:70),其中突出显示轻链和重链CDR1、CDR2和CDR3结构域并提供氨基酸位置。还提供了可变轻链、恒定轻链、可变重链、CH1结构域、EcoRI接头、Flag标签、标签接头和六个氨基酸组氨酸标签的开始和结束氨基酸。

[0472] 图9显示抗体5的氨基酸序列(SEQ ID NO:71),其中突出显示轻链和重链CDR1、CDR2和CDR3结构域并提供氨基酸位置。还提供了可变轻链、恒定轻链、可变重链、CH1结构

域、EcoRI接头、Flag标签、标签接头和六个氨基酸组氨酸标签的开始和结束氨基酸。

[0473] 图10显示抗体6的氨基酸序列(SEQ ID NO:72),其中突出显示轻链和重链CDR1、CDR2和CDR3结构域并提供氨基酸位置。还提供了可变轻链、恒定轻链、可变重链、CH1结构域、EcoRI接头、Flag标签、标签接头和六个氨基酸组氨酸标签的开始和结束氨基酸。

[0474] 图11显示抗体7的氨基酸序列(SEQ ID NO:73),其中突出显示轻链和重链CDR1、CDR2和CDR3结构域并提供氨基酸位置。还提供了可变轻链、恒定轻链、可变重链、CH1结构域、EcoRI接头、Flag标签、标签接头和六个氨基酸组氨酸标签的开始和结束氨基酸。

[0475] 图12显示抗体8的氨基酸序列(SEQ ID NO:74),其中突出显示轻链和重链CDR1、CDR2和CDR3结构域并提供氨基酸位置。还提供了可变轻链、恒定轻链、可变重链、CH1结构域、EcoRI接头、Flag标签、标签接头和六个氨基酸组氨酸标签的开始和结束氨基酸。

[0476] 图13显示抗体9的氨基酸序列(SEQ ID NO:75),其中突出显示轻链和重链CDR1、CDR2和CDR3结构域并提供氨基酸位置。还提供了可变轻链、恒定轻链、可变重链、CH1结构域、EcoRI接头、Flag标签、标签接头和六个氨基酸组氨酸标签的开始和结束氨基酸。

[0477] 发明详述

[0478] 本文描述了用于治疗骨疾病、贫血、异位骨化(例如,由FOP引起的异位骨化)、干燥综合征(例如与干燥综合征相关的干眼症)、DIPG、MO、PCO或心脏肥大和/或心脏纤维化。本发明的特征在于ALK2抗体(例如,中和抗体)及其抗原结合片段(例如,ALK2结合片段),以及含有编码抗体或其ALK2结合片段的核苷酸序列的核酸分子,以及包括含有编码抗体或其ALK2结合片段的核苷酸序列的核酸分子的表达载体。本发明的特征还在于使用本文所述的ALK2抗体或其抗原结合片段、核酸分子、表达载体和组合物治疗或预防受试者、诸如人受试者中的骨疾病(例如,涉及骨损伤的疾病或病况,诸如原发性骨质疏松症、继发性骨质疏松症、骨质减少症、骨硬化症、骨折、骨癌或癌症转移相关的骨损失、佩吉特氏病、肾性骨营养不良、治疗相关的骨损失、饮食相关的骨损失、与肥胖治疗相关的骨损失、低重力相关的骨损失或与不能移动相关的骨损失)、低红血细胞水平(例如,低血红蛋白水平或低红血细胞计数,例如贫血)、异位骨化(例如,由FOP导致的异位骨化)、干燥综合征(例如,与干燥综合征相关的干眼)、DIPG、MO、PCO或心脏肥大和/或心脏纤维化。

[0479] ALK2抗体

[0480] ALK2(也称为ACVR1)是转化生长因子 β (TGF- β)超家族中的骨形态发生蛋白(BMP)受体。ALK2在胚胎发育期间在许多组织中广泛表达,并且在出生后发育期间在骨骼中高度表达,并且被认为在成骨和软骨形成两者中都具有重要作用。已经在具有FOP的受试者中发现ALK2中的功能获得突变,包括c.617G>A(p.R206H)、c.619C>G(p.Q207E)、c.1067G>A(p.G356D)、c.982G>T(p.G328W)、c.983G>A(p.G328E)、c.982G>A(p.G328R)、c.774G>C/c.774G>T(P.R258S)、c.1124G>C(p.R375P)、c.587T>C(p.L196P)、c.590-592delCTT(p.P197_F198delinsL)和c.605G>T(p.R202I),并且使用Alk2^{R206H}突变小鼠进行研究表明ALK2调节间充质干细胞的成骨分化。在近似25%的DIPG患者中也已经观察到ALK2中的激活突变,并且已经发现小分子ALK2抑制剂在原位DIPG异种移植模型中延长存活期并减少细胞数量。ALK2也可在贫血中发挥作用,因为SMAD信号传导通路通过ALK2的BMP激活诱导铁调素的上调,所述铁调素是炎症性贫血(也称为慢性病性贫血)和铁难治性缺铁性贫血(IRIDA)中牵涉的铁内稳态的主要调节剂。ALK2在发育期间还促进晶状体上皮细胞的增殖;

因此,ALK2的抑制可以防止或减少导致PCO的晶状体上皮细胞的异常增殖。此外,已经发现小分子ALK2抑制剂在建立的小鼠模型中减少炎症和治疗干燥综合征的症状,并在使用MO的小鼠模型的多项研究中减少骨软骨瘤形成、生长和大小。此外,用小分子ALK2抑制剂治疗和ALK2的心肌细胞特异性缺失两者均减轻小鼠中的心脏肥大和左心室纤维化。此外,ALK2配体在促进纤维化中的作用表明抑制ALK2可用于治疗其中纤维化促进病理的疾病或病况(例如,PCO中的后囊的纤维化、干燥综合征中的泪腺的纤维化,以及心脏纤维化和/或心脏肥大中的纤维化)。

[0481] 本发明部分基于以下发现:本文所述的ALK2抗体恢复IRIDA的小鼠模型中的血红蛋白水平、铁调素浓度和铁水平,并增加骨质疏松症的小鼠模型中的骨密度(例如,减少骨丢失)。不希望受理论束缚,ALK2抗体在IRIDA的TMPRSS6敲低模型中恢复血红蛋白水平的发现表明本文所述的ALK2抗体可用于治疗炎症性贫血,因为TMPRSS6用于抑制铁调素分泌且炎症性贫血经常特征在于升高的铁调素水平。鉴于已在具有FOP和DIPG的患者中鉴定的ALK2功能获得突变,本文所述的ALK2抗体或其抗原结合片段也可用于FOP治疗和/或用于预防或治疗异位骨化和用于治疗DIPG或延长具有DIPG的受试者的存活期。先前的研究也已经表明,小分子ALK2抑制剂可用于治疗干燥综合征、MO(例如,减少骨软骨瘤的形成、生长或大小)以及心脏肥大和心脏纤维化的症状,因此,本文所述的ALK2抗体或其抗原结合片段也可用于治疗这些病况。最后,ALK2用于促进晶状体上皮细胞增殖的必要性表明抑制ALK2可能有效地治疗PCO。因此,可以将本文所述的ALK2抗体或其抗原结合片段)、核酸分子、表达载体和组合物施用于受试者,诸如人受试者,以治疗或预防骨疾病(例如,涉及骨损伤的疾病或病况,诸如原发性骨质疏松症、继发性骨质疏松症、骨质减少症、骨硬化症、骨折、骨癌或癌症转移相关的骨损失、佩吉特氏病、肾性骨营养不良、治疗相关的骨损失、饮食相关的骨损失、与肥胖治疗相关的骨损失、低重力相关的骨损失或与不能移动相关的骨损失)、贫血(例如,IRIDA、炎症性贫血)、异位骨化(例如,由FOP导致的异位骨化)、干燥综合征(例如,与干燥综合征相关的干眼)、DIPG、MO、PCO或心脏肥大和/或心脏纤维化。

[0482] 载体、宿主细胞和蛋白产生

[0483] 本文所述的ALK2抗体及其抗原结合片段(例如,ALK2结合片段)可以从宿主细胞产生。宿主细胞是指包含从其相应的核酸表达本文所述的抗体及其抗原结合片段所需的必需细胞组分(例如,细胞器)的媒介物。核酸可以包括在核酸载体中,所述核酸载体可以通过本领域中已知的常规技术(例如,转化、转染、电穿孔、磷酸钙沉淀、直接显微注射、注射等)引入宿主细胞中。核酸载体的选择部分取决于待使用的宿主细胞。通常,优选的宿主细胞是真核生物(例如,哺乳动物)或原核生物(例如,细菌)来源的。

[0484] 核酸载体构建和宿主细胞

[0485] 编码本文所述的ALK2抗体或其抗原结合片段(例如,ALK2结合片段)的氨基酸序列的核酸序列可以通过本领域中已知的各种方法制备。这些方法包括但不限于寡核苷酸介导的(或定点的)诱变和PCR诱变。编码本文所述的ALK2抗体或其抗原结合片段的核酸分子可以使用标准技术(例如,基因合成)获得。或者,可以使用本领域中的标准技术(例如,QuikChangeTM诱变)突变编码本文所述的ALK2抗体或其抗原结合片段的核酸分子以包括特定氨基酸取代。可以使用核苷酸合成仪或PCR技术合成核酸分子。

[0486] 可以将编码本文所述的ALK2抗体或其抗原结合片段(例如,ALK2结合片段)的核酸

序列插入能够在原核或真核宿主细胞中复制和表达核酸分子的载体中。许多载体在本领域中可得,并且可用于本发明的目的。每种载体可以包括可以针对与特定宿主细胞的相容性进行调整和优化的各种组分。例如,载体组分可以包括但不限于复制起点、选择标记基因、启动子、核糖体结合位点、信号序列、编码目标蛋白的核酸序列和转录终止序列。

[0487] 在一些实施方案中,哺乳动物细胞可用作本发明的宿主细胞。哺乳动物细胞类型的实例包括但不限于人胚肾 (HEK) (例如,HEK293、HEK 293F)、中国仓鼠卵巢 (CHO)、HeLa、COS、PC3、Vero、MC3T3、NS0、Sp2/0、VERY、BHK、MDCK、W138、BT483、Hs578T、HTB2、BT20、T47D、NS0 (不内源性产生任何免疫球蛋白链的鼠骨髓瘤细胞系)、CRL7030和HsS78Bst细胞。在一些实施方案中,大肠杆菌细胞也可用作本发明的宿主细胞。大肠杆菌菌株的实例包括但不限于大肠杆菌294 (ATCC[®] 31,446)、大肠杆菌 λ 1776 (ATCC[®] 31,537,大肠杆菌BL21 (DE3) (ATCC[®] BAA-1025),和大肠杆菌RV308 (ATCC[®] 31,608)。不同宿主细胞具有转录后加工和修饰蛋白产物的特征和特定机制 (例如,糖基化)。可以选择适当的细胞系或宿主系统以确保所表达的多肽的正确的修饰和加工。可以使用本领域中的常规技术 (例如,转化、转染、电穿孔、磷酸钙沉淀和直接显微注射) 将上述表达载体引入适当的宿主细胞中。一旦将载体引入宿主细胞中用于蛋白生产,宿主细胞在适当改良的常规营养培养基中培养,用于诱导启动子、选择转化子或扩增编码期望序列的基因。用于表达治疗性蛋白的方法是本领域中已知的,参见,例如,Paulina Balbas, Argelia Lorence (编) *Recombinant Gene Expression: Reviews and Protocols (Methods in Molecular Biology)*, Humana Press; 第2版 2004以及Vladimir Voynov和Justin A. Caravella (编) *Therapeutic Proteins: Methods and Protocols (Methods in Molecular Biology)* Humana Press; 第2版 2012。

[0488] 蛋白产生、回收和纯化

[0489] 用于产生本文所述的ALK2抗体或抗原结合片段 (例如,ALK2结合片段) 的宿主细胞可以在本领域中已知且适合于培养选择的宿主细胞的培养基中生长。用于哺乳动物宿主细胞的合适培养基的实例包括最小必需培养基 (MEM)、Dulbecco氏改良的Eagle氏培养基 (DMEM)、Expi293™ 表达培养基、补充胎牛血清 (FBS) 的DMEM和RPMI-1640。用于细菌宿主细胞的合适培养基的实例包括Luria肉汤 (LB) 加必需的补充剂,诸如选择剂,例如氨苄青霉素。宿主细胞在合适的温度诸如约20℃至约39℃,例如25℃至约37℃,优选37℃,和CO₂水平,诸如5至10%下培养。培养基的pH通常为约6.8至7.4,例如7.0,这主要取决于宿主生物体。如果在本发明的表达载体中使用诱导型启动子,则在适合于激活启动子的条件下诱导蛋白表达。

[0490] 在一些实施方案中,取决于使用的表达载体和宿主细胞,表达的蛋白可以从宿主细胞 (例如,哺乳动物宿主细胞) 分泌至细胞培养基中。蛋白回收可以涉及过滤细胞培养基以去除细胞碎片。可以进一步纯化蛋白。本文所述的ALK2抗体或其抗原结合片段 (例如,ALK2结合片段) 可以通过蛋白纯化领域中已知的任何方法,例如,通过色谱法 (例如,离子交换、亲和力和大小排阻柱色谱法)、离心、差异溶解度或通过用于蛋白纯化的任何其他标准技术进行纯化。例如,可以通过适当选择和组合亲和柱、诸如蛋白A柱 (例如,POROS蛋白A色谱) 和色谱柱 (例如,POROS HS-50阳离子交换色谱)、过滤、超滤、盐析和透析程序来分离和纯化蛋白。

[0491] 在其他实施方案中,可以破坏宿主细胞,例如通过渗透压休克、超声处理或裂解破坏宿主细胞,以回收表达的蛋白。一旦细胞被破坏,就可以通过离心或过滤除去细胞碎片。在一些情况下,多肽可以与标记序列(诸如肽)缀合以促进纯化。标记氨基酸序列的实例是六组氨酸肽(His-标签),其以微摩尔亲和力结合镍官能化的琼脂糖亲和柱。可用于纯化的其他肽标签包括但不限于血凝素“HA”标签,其对应于衍生自流感血凝素蛋白的表位(Wilson等人, Cell 37:767, 1984)。

[0492] 或者,本文所述的ALK2抗体或其抗原结合片段(例如,ALK2结合片段)可以由受试者(例如,人)的细胞产生,例如,在基因疗法的背景下,通过施用含有编码本文所述的抗体或其抗原结合片段的核酸分子的载体(诸如病毒载体(例如,逆转录病毒载体、腺病毒载体、痘病毒载体(例如,牛痘病毒载体,诸如修饰的牛痘病毒Ankara (MVA))、腺相关病毒载体和甲病毒载体))来产生。载体,一旦在受试者的细胞内(例如,通过转化、转染、电穿孔、磷酸钙沉淀、直接显微注射、感染等),将促进所述抗体或其抗原结合片段的表达,然后所述多肽从细胞分泌。如果疾病或病症的治疗是期望的结果,则可能不需要进一步行动。如果期望收集蛋白,则可以从受试者收集血液,并且通过本领域中已知的方法从血液纯化蛋白。

[0493] 药物组合物和制剂

[0494] 可以将本文所述的ALK2抗体或其抗原结合片段(例如,ALK2结合片段)并入媒介物中,用于施用于患者,诸如人患者,其患有骨疾病、低红血细胞水平(例如,低血红蛋白水平)或低红血细胞计数,例如贫血)、异位骨化(例如,由FOP导致的异位骨化)、干燥综合征(例如,与干燥综合征相关的干眼)、MO、DIPG、PCO,或心脏肥大和/或心脏纤维化。在一些实施方案中,在疗法中,包含本文所述的ALK2抗体或其抗原结合片段(例如,ALK2结合片段)的药物组合物可以与其他药剂(例如,治疗性生物制剂和/或小分子)或组合物组合使用。含有ALK2抗体或其抗原结合片段的药物组合物可以使用本领域已知的方法制备。例如,此类组合物可以使用例如生理学上可接受的载体、赋形剂或稳定剂来制备(Remington: The Science and Practice of Pharmacology 第22版 Allen, L. Ed. (2013);其通过引用并入本文),并且呈期望的形式,例如呈冻干制剂或水溶液的形式。在一些实施方案中,本发明的药物组合物包含编码本文所述的抗体或其ALK结合片段的核酸分子(DNA或RNA,例如mRNA),或含有这种核酸分子的载体。

[0495] 药物组合物中可接受的载体和赋形剂在所用剂量和浓度下对受体无毒。可接受的载体和赋形剂可以包括缓冲剂,诸如磷酸盐、柠檬酸盐、HEPES和TAE,抗氧化剂,诸如抗坏血酸和甲硫氨酸,防腐剂,诸如氯化六甲基铵、十八烷基二甲基苄基氯化铵、间苯二酚和苯扎氯铵,蛋白,诸如人血清白蛋白、明胶、葡聚糖和免疫球蛋白,亲水性聚合物,诸如聚乙烯吡咯烷酮,氨基酸,诸如甘氨酸、谷氨酰胺、组氨酸和赖氨酸,和碳水化合物,诸如葡萄糖、甘露糖、蔗糖和山梨糖醇。本发明的药物组合物可以以可注射制剂的形式肠胃外施用。可以使用无菌溶液或任何药学上可接受的液体作为媒介物配制用于注射的药物组合物。药学上可接受的媒介物包括但不限于无菌水、生理盐水和细胞培养基(例如Dulbecco氏改良的Eagle培养基(DMEM), α -改良的Eagles培养基(α -MEMI))。

[0496] ALK2抗体或其抗原结合片段(例如,ALK2结合片段)的混合物可以在与一种或多种赋形剂、载体或稀释剂合适地混合的水中制备。分散体也可以在甘油、液体聚乙二醇及其混合物和油中制备。在通常的储存和使用条件下,这些制剂可以含有防腐剂以防止微生物的

生长。适用于可注射用途的药物形式包括无菌水溶液或分散体和用于临时制备无菌注射液或分散体的无菌粉末(描述于US 5,466,468,其公开内容通过引用并入本文)。在任何情况下,所述制剂可以是无菌的并且可以是存在容易注射性的程度的流体。制剂在制造和储存条件下可以是稳定的,并且可以针对微生物、诸如细菌和真菌的污染作用进行保存。所述载体可以是含有例如水、乙醇、多元醇(例如甘油、丙二醇和液体聚乙二醇等)、其合适混合物和/或植物油的溶剂或分散介质。例如,可以通过使用涂层、诸如卵磷脂、通过在分散的情况下维持所需的粒径以及通过使用表面活性剂来维持适当的流动性。可以通过各种抗菌剂和抗真菌剂,例如对羟基苯甲酸酯、氯丁醇、苯酚、山梨酸、硫柳汞等来防止微生物的作用。在许多情况下,将优选包括等渗剂,例如糖或氯化钠。可注射组合物的延长吸收可以通过在组合物中使用延迟吸收剂,例如单硬脂酸铝和明胶来实现。

[0497] 例如,如果必需,可以合适地缓冲含有本文所述的药物组合物的溶液,并且首先使液体稀释剂与足够的盐水或葡萄糖等渗。这些特定的水溶液特别适用于静脉内、肌肉内、皮下和腹膜内施用。就此而言,鉴于本公开,本领域技术人员将知道可以采用的无菌水性介质。例如,一个剂量可以溶解在1 ml等渗NaCl溶液中,并且添加至1000 ml皮下裂解液中或注射在提出的输注部位。取决于所治疗受试者的状况,一定将出现剂量的一些变化。

[0498] 本发明的药物组合物可以在微胶囊、诸如羟甲基纤维素或明胶-微胶囊和聚-(甲基丙烯酸甲酯)微胶囊中制备。本发明的药物组合物还可以在其他药物递送系统、诸如脂质体、白蛋白微球、微乳剂、纳米颗粒和纳米胶囊中制备。此类技术描述于Remington: The Science and Practice of Pharmacology 第22版, Allen, L.编(2013)。待用于体内施用的药物组合物必须是无菌的。这可以通过无菌过滤膜过滤而容易地完成。

[0499] 本发明的药物组合物也可以制备为持续释放制剂。持续释放制剂的合适实例包括含有本发明的多肽的固体疏水聚合物的半透性基质。持续释放基质的实例包括聚酯、水凝胶、聚丙交酯、L-谷氨酸和 γ -乙基-L-谷氨酸的共聚物,不可降解的乙烯-乙酸乙烯酯,可降解的乳酸-乙醇酸共聚物诸如LUPRON DEPOT™和聚-D-(-)-3-羟基丁酸。一些持续释放制剂使得能够经几个月、例如一至六个月释放分子,而其他制剂释放本发明的药物组合物较短时间段,例如数天至数周。

[0500] 药物组合物可以根据需要以单位剂型形成。药物制备物中包括的活性成分(例如,本文所述的ALK2抗体或其抗原结合片段(例如,ALK2结合片段))的量是使得提供指定范围内的合适剂量(例如,0.01-100 mg/kg体重范围内的剂量)。

[0501] 用于基因疗法的药物组合物可以在可接受的稀释剂中,或者可以包含其中嵌入基因递送载体的缓释基质。如果使用流体动力学注射作为递送方法,则含有编码本文所述的抗体或其ALK2结合片段的核酸分子或含有所述核酸分子的载体(例如,病毒载体)的药物组合物以大流体体积静脉内快速递送。可用作体内基因递送媒介物的载体包括但不限于逆转录病毒载体、腺病毒载体、痘病毒载体(例如,牛痘病毒载体,诸如修饰的牛痘病毒Ankara)、腺相关病毒载体和甲病毒载体。

[0502] 途径、剂量和施用

[0503] 包含本发明的ALK2抗体或其抗原结合片段(例如,ALK2结合片段)作为治疗剂的药物组合物可以通过各种途径,诸如静脉内、肠胃外、皮内、经皮、肌肉内、鼻内、皮下、经皮、局部、气管内、腹膜内、动脉内、血管内、鞘内、脑室内、吸入、灌注、灌洗和口服施用。所述药物

组合物还可以配制用于口服、眼、鼻、喷雾、气溶胶、直肠或阴道施用或经由口服、眼、鼻、喷雾、气溶胶、直肠或阴道施用而施用。对于可注射制剂,各种有效的药物载体是本领域中已知的。参见,例如,ASHP Handbook on Injectable Drugs, Toissel, 第18版 (2014)。对于眼部施用,制剂可以通过注射(例如,眼内注射)全身递送或局部(例如,作为溶液、悬浮液或软膏,诸如通过滴注(例如,滴眼剂))递送。

[0504] 在一些实施方案中,包含编码本文所述的抗体或其ALK2结合片段的核酸分子或含有这种核酸分子的载体的药物组合物可以通过基因递送的方式施用。基因递送的方法是本领域技术人员众所周知的。可用于体内基因递送和表达的载体包括但不限于逆转录病毒载体、腺病毒载体、痘病毒载体(例如,牛痘病毒载体,诸如修饰的牛痘病毒Ankara (MVA))、腺相关病毒载体和甲病毒载体。在一些实施方案中,编码本发明的多肽的mRNA分子可以直接施用于受试者。

[0505] 在本发明的一些实施方案中,可以使用流体动力学注射平台施用编码本文所述的多肽的核酸分子或含有此类核酸分子的载体。在流体动力学注射方法中,将编码本文所述的抗体或其ALK2结合片段的核酸分子置于工程改造的质粒(例如病毒质粒)中的强启动子的控制下。经常以大流体体积静脉内快速递送质粒。流体动力学注射使用静脉中的受控流体动力学压力来增强细胞通透性,使得来自快速注射大流体体积的升高的压力导致流体和质粒从静脉外渗。核酸分子的表达主要由肝脏驱动。在小鼠中,经常通过将质粒注射至尾静脉中来进行流体动力学注射。在某些实施方案中,可以使用流体动力学注射施用编码本文所述的抗体或其ALK2结合片段的mRNA分子。

[0506] 在任何给定情况下,最合适的施用途径和剂量将取决于施用的特定组合物、患者、药物配制方法、施用方法(例如,施用时间和施用途径)、患者的年龄、体重、性别、所治疗的疾病的严重程度、患者的饮食和患者的排泄率。本发明的药物组合物可以包括范围为如下的本发明的ALK2抗体或其抗原结合片段(例如,ALK2结合片段)的剂量:0.01至500 mg/kg(例如,0.01、0.1、0.2、0.3、0.4、0.5、1、2、3、4、5、10、15、20、25、30、35、40、45、50、100、150、200、250、300、350、400、450或500 mg/kg),并且在一个更具体实施方案中,约0.1至约30 mg/kg,并且在一个更具体实施方案中,约0.3至约30 mg/kg。剂量可以由医师根据常规因素、诸如疾病的程度和受试者的不同参数进行调整。

[0507] 药物组合物以与剂量制剂相容的方式和导致症状的改善或补救的治疗有效的量施用。药物组合物以各种剂型、例如静脉内剂型、皮下剂型和口服剂型(例如,可摄入的溶液、药物释放胶囊)施用。通常,治疗性抗体以0.1-100 mg/kg、例如1-50 mg/kg给药。包含本发明的ALK2抗体或其抗原结合片段(例如,ALK2结合片段)的药物组合物可以施用于有此需要的受试者,例如,每天、每周、每两周、每月、每两月、每季度、每两年、每年一次或多次(例如,1-10次或更多次),或在医疗上必需时。在一些实施方案中,包含本发明的ALK2抗体或其抗原结合片段(例如,ALK2结合片段)的药物组合物可以每周、每两周、每月、每两月或每季度施用于有此需要的受试者。剂量可以以单剂量或多剂量方案提供。随着患者的健康状况下降,随着医疗条件改善或增加,施用之间的时机可以减少。

[0508] 治疗方法

[0509] 本文所述的组合物和方法可用于治疗和/或预防(例如,预防其发展或治疗被诊断为具有其的受试者)医学病况,例如骨疾病、贫血或低红细胞水平(例如,低血红蛋白水平或

低红细胞计数)、异位骨化(例如,由 FOP导致的异位骨化)、干燥综合征(例如,与干燥综合征相关的干眼)、DIPG、MO、PCO或心脏肥大和/或心脏纤维化。在一些实施方案中,施用本文所述的ALK2抗体(例如,中和抗体)或其抗原结合片段(例如,ALK2 结合片段)以在有此需要的受试者中增加骨矿物质密度,增加骨形成,增加骨强度,减少骨再吸收(例如,骨损失),或降低骨折的风险。与治疗前获得的测量值相比或与未治疗受试者中通常观察到的骨矿物质密度、骨强度、骨形成、骨再吸收或骨折的风险相比,本文所述的ALK2抗体或其抗原结合片段(例如,ALK2结合片段)可以增加骨矿物质密度,增加骨形成,增加骨强度,减少骨再吸收(例如,骨损失),或降低骨折的风险。在一些实施方案中,所述受试者可以具有导致骨损伤的疾病(例如,骨质疏松症或骨质减少症)或处于发展其的风险中。在本文所述方法的一些实施方案中,所述受试者具有涉及骨损伤的疾病或病况(例如,原发性骨质疏松症、继发性骨质疏松症、骨质减少症、骨硬化症、骨折、骨癌或癌症转移相关的骨损失、佩吉特氏病、肾性骨营养不良、治疗相关的骨损失、饮食相关的骨损失、与肥胖治疗相关的骨损失、低重力相关的骨损失或与不能移动相关的骨损失)或处于发展其的风险中。本发明还包括通过向受试者施用有效量的本文所述的ALK2抗体或其抗原结合片段(例如,ALK2结合片段)来治疗具有原发性骨质疏松症、继发性骨质疏松症、骨质减少症、骨硬化症、骨折、骨癌或癌症转移相关的骨损失、佩吉特氏病、肾性骨营养不良、治疗相关的骨损失、饮食相关的骨损失、与肥胖治疗相关的骨损失、低重力相关的骨损失或与不能移动相关的骨损失或处于发展其的风险中的受试者的方法。

[0510] 在任何本文所述的方法中,具有骨疾病(例如骨损伤)或处于发展骨疾病(例如骨损伤)的风险中的受试者具有疾病或病况或处于发展疾病或病况的风险中,所述疾病或病况包括原发性骨质疏松症、继发性骨质疏松症、骨质减少症、骨硬化症、骨折、骨癌或癌症转移相关的骨损失、佩吉特氏病、肾性骨营养不良、治疗相关的骨损失、饮食相关的骨损失、与肥胖治疗相关的骨损失、低重力相关的骨损失或与不能移动相关的骨损失。在一些实施方案中,所述原发性骨质疏松症是年龄相关或激素相关的骨质疏松症(例如,与雌激素下降相关)。在一些实施方案中,所述继发性骨质疏松症是固定诱导或糖皮质激素诱导的骨质疏松症。在一些实施方案中,所述骨癌是多发性骨髓瘤或所述癌症转移相关的骨损失由多发性骨髓瘤引起。在一些实施方案中,所述治疗相关的骨损失由于用FGF-21或GLP-1治疗、由于用含有FGF-21或GLP-1的治疗剂治疗或由于2型糖尿病和/或肥胖症的治疗或由于癌症疗法(例如,化学疗法或放射)而发生。在一些实施方案中,所述饮食相关的骨损失是佝偻病(例如,维生素D缺乏)。在一些实施方案中,所述低重力相关的骨损失缺乏负荷相关的骨损失。在一些实施方案中,本文所述的方法增加骨矿物质密度(例如,增加骨量)。在一些实施方案中,与治疗之前获得的测量值相比或与通常在未治疗的受试者中观察到的骨再吸收相比,本文所述的方法减少骨再吸收(例如减少骨分解代谢活性或减少骨损失),例如减少骨再吸收。在一些实施方案中,与治疗之前获得的测量值相比或与通常在未治疗的受试者中观察到的骨形成相比,本文所述的方法增加骨形成(例如增加骨合成代谢活性或增加成骨),例如增加骨形成。在一些实施方案中,与治疗之前获得的测量值相比或与通常在未治疗的受试者中观察到的成骨细胞活性或成骨细胞生成相比,本文所述的方法增加成骨细胞活性或成骨细胞生成,例如增加成骨细胞活性或成骨细胞生成。在一些实施方案中,与治疗之前获得的测量值相比或与通常在未治疗的受试者中观察到的破骨细胞活性或破骨细胞生成相

比,本文所述的方法减少破骨细胞活性或破骨细胞生成,例如减少破骨细胞活性或破骨细胞生成。在一些实施方案中,所述骨是皮质骨或松质骨。

[0511] 在一些实施方案中,施用本文所述的ALK2抗体或其抗原结合片段(例如,ALK2结合片段)以在有此需要的受试者中增加红血细胞水平(例如,增加血红蛋白水平,增加红血细胞计数或增加红血细胞形成或产生)。与治疗前获得的测量值相比或与未治疗的受试者中通常观察到的红血细胞水平相比,本文所述的ALK2抗体或其抗原结合片段(例如,ALK2结合片段)可以增加红血细胞水平(例如,增加血红蛋白水平、红血细胞计数或红血细胞形成)。在一些实施方案中,所述受试者可能具有与低红血细胞水平相关的疾病或病况(例如,贫血或失血)。在本文所述方法的一些实施方案中,所述受试者具有涉及低红血细胞水平的疾病或病况(例如,贫血或失血,诸如再生障碍性贫血、缺铁性贫血、铁难治性缺铁性贫血(IRIDA)、炎症性贫血(也称为慢性疾病的贫血,例如由炎性疾病或病况(诸如感染(例如,慢性感染,诸如HIV/AIDS 或结核病)、自身免疫性疾病(例如,类风湿性关节炎或狼疮)、癌症(例如,癌症或癌症治疗)、炎症肠病(例如,克罗恩氏病或溃疡性结肠炎)和慢性肾病引起的贫血)。本发明还包括通过向受试者施用有效量的本文所述的ALK2抗体或其抗原结合片段(例如,ALK2结合片段)来治疗具有低红血细胞水平(例如,低血红蛋白水平或低红血细胞计数,例如贫血)或处于发展低红血细胞水平(例如,低血红蛋白水平或低红血细胞计数,例如贫血)的风险中的受试者的方法。本文描述的方法可以包括在用本文描述的组合物治疗或施用本文描述的组合物之前针对已知与贫血相关的基因中的一种或多种突变(例如,与IRIDA相关的TMPRSS6中的突变)筛选受试者的步骤。可以使用本领域技术人员已知的标准方法(例如,基因测试)针对基因突变筛选受试者。

[0512] 本发明还包括通过向受试者施用有效量的本文所述的ALK2抗体或其抗原结合片段(例如,ALK2结合片段)来治疗具有贫血或失血或处于发展贫血或失血的风险中的受试者的方法。在任何本文所述的方法中,具有低红血细胞水平(例如,低血红蛋白水平或低红血细胞计数)或处于发展低红血细胞水平(例如,低血红蛋白水平或低红血细胞计数)的风险中的受试者具有贫血或失血或处于发生贫血或失血的风险中。在一些实施方案中,贫血与以下相关或由以下引起:营养缺乏(例如维生素缺乏)、骨髓缺陷(例如阵发性夜间血红蛋白尿)、对药物治疗(例如抗逆转录病毒HIV药物)的不良反应、骨髓增生异常综合征、骨髓移植、癌症(例如实体瘤,诸如乳腺癌、肺癌、结肠癌;淋巴系统肿瘤,诸如慢性淋巴细胞性白血病、非霍奇金淋巴瘤、霍奇金淋巴瘤;或造血系统肿瘤,诸如白血病或多发性骨髓瘤)、癌症治疗(例如放射或化学疗法,例如用含铂试剂的化学疗法)、炎性或自身免疫性疾病(例如类风湿性关节炎、其他炎性关节炎、系统性红斑狼疮(SLE)、急性或慢性皮肤病(例如牛皮癣)、或炎症肠病(例如克罗恩氏病或溃疡性结肠炎)、膀胱炎、胃炎)、急性或慢性肾病或衰竭(例如慢性肾病)包括特发性或先天性病况、急性或慢性肝病、急性或慢性出血、感染(例如疟疾、骨髓炎)、脾肿大、卟啉症、血管炎、溶血、尿道感染、血红蛋白病(例如镰状细胞病)、地中海贫血、丘斯二氏综合征、费尔蒂综合征、移植物抗宿主病、造血干细胞移植、骨髓纤维化、全血细胞减少症、纯红细胞再生障碍、过敏性紫癜、舒瓦克曼综合征(例如舒戴二氏综合征)、吸毒或滥用(例如酒精滥用)、或输血禁忌证(例如老年患者、具有同种或自身抗体的患者、儿科患者、患有心肺疾病的患者、出于宗教原因而反对输血的患者(例如一些耶和华见证人(Jehovah's Witnesses)))。在一些实施方案中,贫血是再生障碍性贫血、缺铁性贫血、

铁难治性缺铁性贫血 (IRIDA)、维生素缺乏性贫血、炎症性贫血 (也称为慢性疾病的贫血, 例如由炎症性疾病或病况 (诸如感染 (例如, 慢性感染, 诸如 HIV/AIDS 或结核病)、自身免疫性疾病 (例如, 类风湿性关节炎或狼疮)、癌症、炎症肠病 (例如, 克罗恩氏病或溃疡性结肠炎), 和慢性肾病)) 引起的贫血、与骨髓疾病相关的贫血、溶血性贫血、镰状细胞性贫血、小红细胞性贫血、低色素性贫血、铁粒幼细胞性贫血、戴布二氏贫血、范可尼贫血或难治性贫血伴胚细胞增多。在一些实施方案中, 贫血与升高的铁调素水平 (例如, 与不具有贫血的受试者中的铁调素水平相比升高) 相关。本文所述的组合物和方法也可以用于治疗并未良好响应促红细胞生成素 (EPO), 或易受 EPO 的不利效应 (例如高血压、头痛、血管血栓形成、流感样综合征、分流阻塞和心肌梗塞) 影响的受试者。在一些实施方案中, 失血是由于手术、创伤、伤口、溃疡、泌尿道出血、消化道出血、频繁献血或月经出血过多 (例如月经过多)。在一些实施方案中, 与治疗之前获得的测量值相比或与在未治疗受试者中通常观察到的红血细胞水平相比, 本文所述的方法增加红血细胞水平 (例如血红蛋白水平、或红血细胞计数)。在一些实施方案中, 与治疗之前获得的测量值相比或与在未治疗受试者中通常观察到的红血细胞水平相比, 本文所述的方法增加或诱导红血细胞形成。在一些实施方案中, 本文所述的组合物和方法减少受试者关于输血的需要 (例如受试者不再需要输血, 或与用本文所述的组合物和方法治疗前相比, 受试者需要更不频繁的输血)。具有正常红血细胞水平的受试者也可以使用本文所述的方法和组合物进行治疗, 以增加红血细胞水平, 使得血液可以抽取且储存用于在以后输血中的使用。

[0513] 在一些实施方案中, 本文所述的 ALK2 抗体或其抗原结合片段 (例如, ALK2 结合片段) 可以施用于受试者以治疗 FOP, 减缓或停止 FOP 的进展, 延迟 FOP 的发作 (例如, 延迟异位骨化的发展), 或预防或减少异位骨化 (例如, 肌肉、肌腱、韧带或其他结缔组织中的骨的形成, 例如, 预防或减少已经经历异位骨化的具有 FOP 的受试者中的异位骨化, 或预防尚未表现出异位骨化的受试者中发展异位骨化), 诸如具有 FOP 的受试者中的异位骨化。FOP 可以是遗传性 FOP (例如, 与突变、诸如常染色体显性突变的种系传递相关的 FOP) 或散发性 FOP (例如, 与自发性、非遗传性突变相关的 FOP)。与未治疗或对照治疗的受试者中观察到的异位骨的量、异位骨的形成或异位骨的复发相比, 本文所述的 ALK2 抗体或其抗原结合片段 (例如, ALK2 结合片段) 可以减少异位骨的量, 减少异位骨的形成, 或减少异位骨的复发 (例如手术切除后的复发)。本文所述的 ALK2 抗体或其抗原结合片段 (例如, ALK2 结合片段) 可以预防异位骨的形成 (例如, 在处于发展异位骨化的风险中的受试者、诸如具有 FOP 的受试者中, 或预防异位骨的复发, 诸如手术切除后复发)。在一些实施方案中, 所述受试者处于发展异位骨化的风险中 (例如, 受试者具有与 FOP 相关的基因突变, 但尚未表现出 FOP 的症状, 例如尚未表现出异位骨化)。本文所述的方法可以包括在用本文所述的组合物治疗或施用本文所述的组合物之前针对已知与 FOP 相关的基因中的一个或多个突变 (例如, ALK2 中的突变, 也称为激活素 A I 型受体 (ACVR1)) 筛选受试者的步骤。可以使用本领域技术人员已知的标准方法 (例如, 基因测试) 针对基因突变筛选受试者。

[0514] 在一些实施方案中, 本文所述的 ALK2 抗体或其抗原结合片段 (例如, ALK2 结合片段) 可以施用于受试者以治疗干燥综合征 (例如, 治疗与干燥综合征相关的干眼) 或减少干燥综合征的一种或多种症状 (例如, 减少与干燥综合征相关的干眼或口干)。与治疗前的受试者中或未治疗的具有干燥综合征的受试者中的眼睛刺激、视力、泪腺的炎症或纤维化、唾

液的产生、泪液的产生、全身炎症、关节疼痛、疲劳或干燥综合征的症状的严重程度或发生率相比,本文所述的ALK2抗体或其抗原结合片段(例如,ALK2结合片段)可以减少眼刺激,减少泪腺的纤维化,减少泪腺的炎症,改善视力,增加唾液的产生,增加泪液的产生(例如,增加泪液体积产生),减少全身炎症,减轻关节疼痛或减轻具有干燥综合征的受试者中的疲劳,或降低干燥综合征的一种或多种症状的严重程度或发生率(例如,减少干眼、口干或与干燥综合征相关的关节疼痛)。

[0515] 在一些实施方案中,本文所述的ALK2抗体或其抗原结合片段(例如,ALK2结合片段)可以施用于受试者以治疗DIPG,增加具有DIPG的受试者的存活期(例如,存活时间,例如寿命),增加具有DIPG的受试者的无进展存活期,减少DIPG肿瘤生长,减少DIPG肿瘤大小或体积,或预防或减少DIPG肿瘤转移。与未治疗或对照治疗受试者相比或与治疗前受试者中的肿瘤生长、肿瘤大小或体积相比,本文所述的ALK2抗体或其抗原结合片段(例如,ALK2结合片段)可以增加具有DIPG的受试者的存活期(例如,存活时间,例如,寿命),增加具有DIPG的受试者的无进展存活期,减少DIPG肿瘤生长,减小DIPG肿瘤大小或体积,或预防或减少DIPG肿瘤转移。在一些实施方案中,所述受试者在ALK2 (ACVR1)中具有激活突变。本文所述的方法可以包括在用本文所述的组合物治疗或施用本文所述的组合物之前针对ALK2 (ACVR1)中的突变筛选受试者的步骤。可以使用本领域技术人员已知的标准方法(例如,基因测试)针对基因突变筛选受试者。

[0516] 在一些实施方案中,本文所述的ALK2抗体或其抗原结合片段(例如,ALK2结合片段)可以施用于受试者以治疗MO,减少或预防具有MO的受试者中的骨软骨瘤的形成,减少具有MO的受试者中骨软骨瘤的数量,减小具有MO的受试者中的骨软骨瘤的大小,或减缓具有MO的受试者中的骨软骨瘤的生长。骨软骨瘤可以在骨的生长端(干骺端)上、长骨(例如,腿、臂或足趾的长骨)上和/或扁平骨(例如,髌骨(骨盆骨)、肋骨或肩胛骨)上形成。与治疗前的受试者中或未治疗的具有MO的受试者中的骨软骨瘤的形成、骨软骨瘤的数量、骨软骨瘤的大小或骨软骨瘤的生长相比,本文所述的ALK2抗体或其抗原结合片段(例如,ALK2结合片段)可以减少或预防骨软骨瘤的形成(例如,预防尚未发展骨软骨瘤的具有MO的受试者中的骨软骨瘤的形成或减少或预防已经发展一种或多种骨软骨瘤的具有MO的受试者中的骨软骨瘤的形成),减少骨软骨瘤的数量,减小骨软骨瘤的大小,或减慢骨软骨瘤的生长。本文所述的方法可以包括在用本文所述的组合物治疗或施用本文所述的组合物之前针对EXT1或EXT2中的突变筛选受试者的步骤。可以使用本领域技术人员已知的标准方法(例如,基因测试)针对基因突变筛选受试者。

[0517] 在一些实施方案中,本文所述的ALK2抗体或其抗原结合片段(例如,ALK2结合片段)可以施用于受试者以治疗PCO,减少或预防PCO的发展(例如,预防已经经历白内障手术但尚未发展PCTO的受试者中或即将经历白内障手术的受试者、例如将在6个月、5个月、4个月、3个月、2个月、1个月、2周、1周或更短时间内将经历白内障手术的受试者、例如处于发展PCO的风险中的受试者中PCO的发展),改善具有PCO的受试者中的视敏度(例如,减少视力模糊或混浊),降低具有PCO的受试者中的光敏感度或眩光,减少或预防纤维化(例如,植入的晶状体附近的纤维化,例如后囊上或附近的纤维化),减少或抑制晶状体上皮细胞增殖,减少或预防晶状体纤维分化,或减少或预防具有PCO或处于发展PCO的风险中的受试者中(例如,在已经经历或即将经历白内障手术的受试者中,例如,将在6个月、5个月、4个月、3个月、

2个月、1个月、2周、1周或更短时间内经历白内障手术的受试者中)的眼部炎症。与未治疗的受试者中的PCO的发展、纤维化(例如,植入的晶状体附近的纤维化,例如,后囊上或附近的纤维化)、晶状体纤维分化、晶状体上皮细胞增殖或眼睛炎症相比,本文所述的ALK2抗体或其抗原结合片段(例如,ALK2结合片段)可以在处于发展PCO的风险中的受试者中减少或预防PCO的发展,减少或预防纤维化(例如,植入晶状体附近的纤维化,例如后囊上或附近的纤维化),减少或预防晶状体纤维分化,减少或抑制晶状体上皮细胞增殖,或减少或预防眼睛炎症,或者与治疗前受试者中的视敏度、光敏感度或眩光、纤维化、眼部炎症、晶状体上皮细胞增殖或晶状体纤维分化相比,可以改善视敏度(例如,减少视力模糊或混浊)或减少光敏感度或眩光,减少纤维化,减少眼睛炎症,减少晶状体上皮细胞增殖,或减少晶状体纤维分化。

[0518] 在一些实施方案中,本文所述的ALK2抗体或其抗原结合片段(例如,ALK2结合片段)可以施用于受试者以治疗心脏肥大,治疗心脏纤维化,减缓或预防心脏肥大的发展(例如,在处于发展心脏肥大的风险中的受试者、诸如具有高血压或瓣膜病的受试者中),减缓或预防心脏纤维化的发展(例如,在处于发展心脏纤维化的风险的受试者、诸如具有高血压的受试者、已经具有心肌梗塞的受试者、具有糖尿病肥厚性心肌病的受试者或具有特发性扩张型心肌病的受试者中),逆转心脏纤维化,减少或抑制心脏瘢痕形成,增加或诱导心脏再生,或改善心脏肥大或心脏纤维化的一种或多种症状(例如,增加运动能力,增加射血体积,降低左心室舒张末压,降低肺毛细血管楔压,增加心输出量,增加心脏指数,降低肺动脉压,减少左心室收缩末期和舒张末期尺寸,减少左右心室壁应力,减少壁张力和/或壁厚度,增加心肌收缩力,减少心肌细胞区,减少心肌中细胞外基质沉积,改善生活质量,和/或降低疾病相关的发病率和死亡率)。与治疗前受试者或未治疗或对照治疗受试者中的心脏肥大的发展、心脏纤维化的发展、心脏纤维化的程度、心脏瘢痕形成、心脏再生、心脏肥大或心脏纤维化的一种或多种症状相比,本文所述的ALK2抗体或其抗原结合片段(例如,ALK2结合片段)在具有心脏肥大或心脏纤维化或处于发展心脏肥大或心脏纤维化的风险中的受试者中减缓或预防心脏肥大的发展,减缓或预防心脏纤维化的发展,逆转心脏纤维化,减少或抑制心脏瘢痕形成,增加或诱导心脏再生,或改善心脏肥大或心脏纤维化的一种或多种症状。

[0519] 本文所述的组合物以足以增加骨矿物质密度、增加骨强度、密度、减少骨再吸收(例如,骨丢失)、降低骨再吸收速率(例如,骨丢失)、增加骨形成、增加骨形成速率、降低破骨细胞活性、增加成骨细胞活性、降低骨折风险、增加红血细胞水平、增加血红蛋白水平、减少输血需要、增加红血细胞形成或增加红血细胞计数、治疗贫血、增加铁水平、减少铁缺乏、降低升高的铁调素水平、治疗FOP、预防异位骨化(例如,预防受试者中异位骨的初始形成或预防手术切除后异位骨的复发)、减缓或阻止FOP的进展、延迟FOP的发生(例如,延迟异位骨化的发生)、减少异位骨化(例如,减少受试者中的异位骨的数量或减少异位骨的形成,诸如异位骨的初始形成或手术切除后异位骨的复发)、治疗干燥综合征、减少与干燥综合征相关的干眼、减少与干燥综合征相关的口干、减少眼睛炎症、增加唾液的产生、增加泪液的产生、减少全身炎症、减轻关节疼痛、减轻疲劳、降低干燥综合征的症状的严重程度或发生(例如,减少干眼、口干、或与干燥综合征相关的关节疼痛)、治疗DIPG、增加具有DIPG的受试者的存活期(例如,存活时间,例如寿命)、增加具有DIPG的受试者的无进展存活期、减少DIPG肿瘤生长、减少DIPG肿瘤大小或体积、预防或减少DIPG肿瘤转移、治疗MO、减少或预防具有MO的

受试者中的骨软骨瘤的形成、减少具有MO的受试者中的骨软骨瘤的数量、减小具有MO的受试者中的骨软骨瘤的大小、减缓具有MO的受试者中的骨软骨瘤的生长、减少或预防PCO的发展、改善具有PCO的受试者中的视敏度(例如,减少视力模糊或混浊)、降低具有PCO的受试者中的光敏感度或眩光、减少或预防纤维化(例如,植入的晶状体附近的纤维化,例如后囊上或附近的纤维化)、减少或抑制晶状体上皮细胞增殖、减少或预防晶状体纤维分化或减少或预防具有PCO的受试者的眼睛炎症、治疗心脏肥大、治疗心脏纤维化、减缓或预防心脏肥大的发展、减缓或预防心脏纤维化的发展、逆转心脏纤维化、减少或抑制心脏瘢痕形成、增加或诱导心脏再生或改善心脏肥大或心脏纤维化的一种或多种症状(例如,增加运动能力,增加射血体积,降低左心室舒张末压,降低肺毛细血管楔压,增加心输出量,增加心脏指数,降低肺动脉压,减少左心室收缩末期和舒张末期尺寸,减少左右心室壁应力,减少壁张力和/或壁厚度,增加心肌收缩力,减少心肌中细胞外基质沉积,改善生活质量,和/或降低疾病相关的发病率和死亡率)的量施用。可以使用本领域技术人员已知的充分建立的临床技术(例如,通过双能x射线吸收测定法)评估骨矿物质密度。可以使用标准血液测试评价红血细胞水平,所述标准血液测试测量红血细胞计数和血红蛋白水平。FOP症状(例如,异位骨化)和MO(例如,骨软骨瘤)可以使用标准成像方法、诸如放射照片(例如X射线)、CT(计算机断层扫描)和/或MRI(磁共振成像)进行评估。DIPG肿瘤大小、生长、体积或转移可以使用成像方法(诸如MRI)进行评价。心脏肥大和/或心脏纤维化的症状可以使用评估心脏功能和形态(例如,压力测试、超声心动图、CT、MRI、心脏磁共振成像、单光子发射计算机断层扫描、正电子发射断层扫描、基于球囊导管的方法或活检的组织学分析)的临床方法来评估。干燥综合征和PCO症状可以通过评估视觉功能和对眼睛进行成像以评价炎症和/或纤维化(例如,使用裂隙灯成像来评估后囊上形成的纤维化)来评价。本文所述的方法还可以包括在用本文所述的组合物治疗或施用本文所述的组合物之前或施用本文所述的组合物或用本文所述的组合物治疗之后评价受试者中的骨矿物质密度、红血细胞水平或FOP、DIPG、MO、PCO的综合征、干燥综合征或心脏肥大和/或心脏纤维化的步骤。可以在施用所述ALK2抗体或其抗原结合片段(例如,ALK2结合片段)或药物组合物后1个月、2个月、3个月、4个月、5个月、6个月或更长时间评估受试者,这取决于用于治疗的剂量和施用途径。取决于评估的结果,所述受试者可能接受额外的治疗。

[0520] 编码本文所述的ALK2抗体或其抗原结合片段(例如,ALK2结合片段)的核酸或含有所述核酸的表达载体也可以根据本文所述的任何方法施用。在任何本文所述的方法中,所述多肽、核酸或载体可以作为药物组合物的一部分施用。

[0521] 试剂盒

[0522] 本文所述的组合物可以提供在试剂盒中用于治疗骨疾病、贫血、FOP、干燥综合征(例如,与干燥综合征相关的干眼)、MO、DIPG、PCO或心脏肥大和/或心脏纤维化。组合物可以包括本文所述的ALK2抗体或其抗原结合片段(例如,ALK2结合片段),并且可以单位剂型任选地在药学上可接受的赋形剂(例如,盐水)中提供,其量足以治疗骨疾病、贫血、FOP、干燥综合征(例如,与干燥综合征相关的干眼)、MO、DIPG、PCO或心脏肥大和/或心脏纤维化。所述试剂盒可以进一步包括包装插页,其指导该试剂盒的使用者,诸如医师,执行本文所述的方法。所述试剂盒可以任选地包括注射器或用于施用所述组合物的其他装置。

实施例

[0523] 提供下述实施例以进一步举例说明本发明的一些实施方案,但并不意欲限制本发明的范围;将由其示例性性质理解,可以可替代地使用本领域技术人员已知的其他程序、方法或技术。

[0524] 实施例1-ALK2抗体的生成

[0525] 抗体通过如下生成:针对识别ALK2的抗体淘选入组合噬菌体文库,随后进行2轮富集,并针对密切相关的抗原进行反选择用于耗竭非特异性抗体。在第二轮富集后,进行快速合并物成熟“RAPMAT®”(Prassler等人, Immunotherapy, 1(4), 571-583, 2009)(RAPMAT®是MorphoSysAG的注册商标)。将CDR变异性的的高度多样化集合克隆至选定的抗体合并物中,因此进一步扩大预选抗体合并物的多样性。使用高严格洗涤条件和在淘选轮中减少抗原量的另外2轮富集针对ALK2淘选所得的扩增抗体文库,并针对密切相关的抗原进行反选择以耗竭非特异性抗体。淘选后,将富集的抗体基因合并物从噬菌体展示载体亚克隆至细菌表达载体中,确定最终的Fab抗体形式,如下表2中所示。

表2: 抗体CDR序列

抗体	VL			VH		
	CDR1	CDR2	CDR3	CDR1	CDR2	CDR3
1	SGSSSNIGSN YVS (SEQ ID NO: 1)	VLIYKNNHRP S (SEQ ID NO: 24)	ASWDHSDRFY V (SEQ ID NO: 4)	GGTFSSYGVS (SEQ ID NO: 31)	WMGGIIPHFG IANYAQKFQG (SEQ ID NO: 36)	EIGSLDI (SEQ ID NO: 13)
2	SGDSIPSFFA S (SEQ ID NO: 18)	LVIYRDSNRP S (SEQ ID NO: 25)	YVTAPWKSIW (SEQ ID NO: 5)	GFTFSSHAMS (SEQ ID NO: 32)	WVGRIKSKAD SGTTDYAAPV KG (SEQ ID NO: 37)	DYGVAFAY (SEQ ID NO: 14)
3	SGDNIGTKYA Y (SEQ ID NO: 19)	LVIYGDSDRP S (SEQ ID NO: 26)	YSADAQQMKA (SEQ ID NO: 6)	GFTFNSSAMS (SEQ ID NO: 33)	WVGRIKSKRD GYTTDYAAPV KG (SEQ ID NO: 38)	DYGGLKFDY (SEQ ID NO: 15)
4	SGDNLRKYSA H (SEQ ID NO: 20)	LVIYYDNKRP S (SEQ ID NO: 27)	QVYASVHRM (SEQ ID NO: 7)	GGTFSSYALH (SEQ ID NO: 34)	WMGRIIPDFG TANYAQKFQG (SEQ ID NO: 39)	GPTQAIHYFA Y (SEQ ID NO: 16)
5	SGDSLGSKSV H (SEQ ID NO: 21)	LVIYRDSKRP S (SEQ ID NO: 28)	QTYDWSHFGW (SEQ ID NO: 8)	GFTFSSAAMH (SEQ ID NO: 35)	WVSVISSDGG STYYADSVKG (SEQ ID NO: 12)	AGFILGSLGV AWMDV (SEQ ID NO: 17)
6	RASQGISGNW LT (SEQ ID NO: 40)	LLIYDASNLQ S (SEQ ID NO: 41)	HQSYRGPM (SEQ ID NO: 42)	GFTFGRFVMH (SEQ ID NO: 43)	WVSVIGYSGS STYYADSVKG (SEQ ID NO: 44)	EPGYYPSCY YRGPYWMVDV (SEQ ID NO: 45)
7	SGDNIRKKYV H (SEQ ID NO: 46)	LVIYRDSNRP S (SEQ ID NO: 47)	SSAGRDNY (SEQ ID NO: 48)	GFTFSSSAMH (SEQ ID NO: 49)	WVSVIHYDSS ETYYADSVKG (SEQ ID NO: 50)	DRYFFDV (SEQ ID NO: 51)
8	SGDALRYIIA H (SEQ ID NO: 52)	LVIYYNNRP S (SEQ ID NO: 53)	QSYGPGSV (SEQ ID NO: 54)	GFTFSDYAMH (SEQ ID NO: 55)	WVSSIFYSGS NTYYADSVKG (SEQ ID NO: 56)	PKSYASGPFA Y (SEQ ID NO: 57)
9	SGSSSNIGQN YVS (SEQ ID NO: 58)	LLIYDNSKRP S (SEQ ID NO: 59)	SSWDLSSKSR (SEQ ID NO: 60)	GFTFSTHAIS (SEQ ID NO: 61)	WMGLIQPRFG TANYAQKFQR (SEQ ID NO: 62)	DYYGGMAY (SEQ ID NO: 63)

[0527] 实施例2-通过表面等离子共振 (SPR) 评估ALK2抗体结合亲和力

[0528] GE Biacore 3000用于测量抗ALK2抗体 (配体) 和ALK2-His/ALK2-mFC (分析物) 之间的相互作用的动力学。使用胺偶联试剂盒, 流动室1-4用来自GE的抗人捕获抗体固定。然后将抗ALK2蛋白捕获在芯片上的流动室2-4中, 其中流动室1留空作为参考室, 以测量并减去任何非特异性结合。当在Biacore上运行动力学分析时, 最好允许100共振单位 (RU) 的最大分析物结合响应 (RMax)。这通过公式 $R_{Max100} = (kDa \text{ 分析物} / kDa \text{ 配体}) \times \text{固定配体 RU}$ 实现。

如果流动室中的配体密度太高,则其将导致接近于芯片表面的未结合分析物的人为低浓度,并且所得的传感图将不代表配体和分析物之间的真实结合。这被称为传质效应,并且这通过计算配体结合芯片表面的适当水平以及使用40μL/min的高流速来防止。HBS-EP+用作运行缓冲液并稀释蛋白。每种配体以一式两份浓度系列运行。在每个循环结束时,用3M MgCl₂再生芯片以除去所有结合的抗ALK2和分析物。还使用ForteBio Octet RED384测量fAB-FH形式的单价fAB抗体和ALK2-FC之间相互作用的动力学。

[0529] 下表3中显示了如通过ForteBio Octet测量的抗体1、抗体2和抗体3的fAB针对ALK2-FC的K_D值,以及通过GE Biacore测量的完整抗体针对ALK2-His的K_D值。表4显示了通过GE Biacore测量的抗体2针对ALK2-mFC的K_D值。表5显示了使用ForteBio Octet RED384测量的fAB-FH形式的单价fAB抗体和ALK2-FC之间的相互作用的k_a、k_d和K_D值。

表3: K_D值

[0530]

抗体	K _D (nM)	
	ForteBio Octet	GE Biacore
1	4.0	3.1
2	0.7	0.4
3	4.4	3.9

表4: 针对ALK2-mFC的 K_D 值

[0531]

抗体	K _D (nM)
	GE Biacore
2	0.145

表5: 通过ForteBio Octet测量的fAB-FH形式的单价fAB抗体的动力学

[0532]

样品ID (抗体)	k _a [1/s]	k _d [1/s]	K _D [nM]
6	1.20E+06	3.49E-03	2.9
7	6.97E+04	1.63E-03	23
8	9.11E+05	5.76E-03	6.3
9	1.02E+06	1.49E-02	14
1	4.30E+05	1.72E-03	4.0
2	5.51E+05	3.57E-04	0.7
3	3.42E+05	1.49E-03	4.4
4	4.20E+05	7.59E-04	1.8
5	2.04E+05	3.64E-04	1.8

[0533] 实施例3 - 使用基因荧光素酶报告子测定法检测评估ALK2抗体

[0534] 将C2C12-BRE-荧光素酶 (SMAD1报告基因) 细胞接种在96孔板上补充有2% FBS的DMEM中,并在培养箱中放置不少于3小时以适应板表面。对于每种fAb变体,在2% DMEM中制备稀释系列并给予至细胞上。剩余孔用于重复阳性对照和背景。然后将细胞置于37℃的培

养箱中45分钟。孔用媒介物(以测定背景值)、BMP6(以测定ALK2刺激值)或用fAB和随后40 ng/mL BMP6处理(以测定fAB的IC50)。作为SMAD1磷酸化的替代,测量BRE-刺激的荧光素酶的程度。将板孵育过夜,且然后使用Promega Steady Glo和Molecular Devices Spectramax M5e读数。抑制被计算为与阳性对照孔相比的信号损失百分比。图1A-1B显示用SMAD1荧光素酶报告子对C2C12细胞进行的抗ALK2 fAB的BMP6抑制剂量响应曲线。Graphpad Prism中三参数和四参数曲线拟合的50%抑制值(IC50)展示在曲线旁边。图1A显示来自生成的前四种fAB的结果,且图1B显示使用快速合并物成熟生成的五个第二轮fAB的结果。

[0535] 实施例4 - ALK2抗体在IRIDA小鼠模型中的作用

[0536] 八周龄的雄性C57BL/6小鼠用媒介物或ALK2抗体(5mg/kg抗体2,每周两次,腹膜内注射)处理。给药开始后六天,对媒介物处理的小鼠静脉内给药脂质包封的针对荧光素酶(对照)或TMPRSS6靶向的siRNA(0.3mg/kg)。TMPRSS6编码跨膜II型丝氨酸蛋白酶,其通过切割铁调素调节蛋白(hemojuvelin)来抑制铁调素的分泌,并且已在具有IRIDA的人受试者中观察到TMPRSS6中的突变。向ALK2抗体处理的小鼠施用TMPRSS6 siRNA(0.3mg/kg)。在施用siRNA后48小时对小鼠实施安乐死。收集全血并测定血液学参数。如图2中所示,用ALK2抗体治疗防止与TMPRSS6缺陷相关的血红蛋白减少(*=p<0.05; **=p<0.01)。

[0537] 在第二项实验中,每三天向8周龄的雌性白化C57BL/6小鼠静脉内给药脂质包封的针对荧光素酶(对照)或TMPRSS6靶向的siRNA(0.75mg/kg)。小鼠接受siRNA治疗,直至接受TMPRSS6 siRNA的群组具有增加的铁调素和降低血清血红蛋白和血清铁的点。此时,小鼠被进一步随机化以接受媒介物或抗ALK2抗体(抗体2,5mg/kg,腹膜内施用)。在其第一次siRNA施用后12天对小鼠实施安乐死。收集全血并测定血液学参数。此外,收集血清并通过ELISA测定铁调素浓度,并且通过比色测定法测定总铁含量。如图3A中所示,用ALK2抗体治疗逆转与TMPRSS6缺陷相关的血红蛋白减少(*=p<0.05; **=p<0.01)。ALK2抗体治疗还逆转与TMPRSS6缺陷相关的血清铁调素增加(**=p<0.01,图3B)和与TMPRSS6缺陷相关的血清铁降低(*=p<0.05; **=p<0.01,图3C)。

[0538] 实施例5 - ALK2抗体在骨质疏松症的小鼠模型中的效应

[0539] C57BL/6小鼠在9周龄时接受睾丸切除术(ORX)或假手术。在六周恢复期之后,在该时间期间,ORX小鼠发展骨质疏松症表型,ORX小鼠接受媒介物或ALK2抗体(5 mg/kg抗体2)的每周两次的腹膜内注射。在开始给药16周后进行全身双能X-射线吸收测定法(Lunar PIXImus, GE Lunar Corp.)。捕获高分辨率数字图片并针对羟基磷灰石幻象(phantom)参考以确定BMD(软件版本2.10)。如图4中所示,用ALK2抗体治疗的ORX小鼠具有比媒介物治疗的小鼠更大的BMD,表明用ALK2抗体治疗提高BMD或减少骨损失。

[0540] 实施例6 - ALK2抗体在M0小鼠模型中的作用

[0541] 使用M0小鼠模型确定ALK2抗体对骨软骨瘤形成的影响。该小鼠具有*Ext1*基因的可诱导的、软骨细胞特异性的、纯合子破坏,并且在P8向泌乳母鼠施用单剂量多西环素后,在100%的突变体中观察到骨软骨瘤形成。小鼠被分成两组,其从P8开始接受ALK2抗体(5mg/kg)或媒介物的每周两次的腹膜内注射。每周进行显微-CT成像,以监测膝关节和胸腔的骨软骨瘤。在四周治疗结束时处死小鼠。在每组的一个子集中,骨骼是整体封固制备的,并用茜素红和阿尔辛蓝染色用于成像目的。在剩余的小鼠中,收获后肢和胸腔的软骨-骨连接部的样品。组织固定在4%多聚甲醛中,在EDTA中脱钙,包埋于石蜡中,并以5 μm厚度切片。然后

使用Safarin O/Fast Green染色来确定软骨形态的改变以及骨软骨瘤的发展。

[0542] 实施例7- ALK2抗体对后囊浑浊的影响

[0543] 使用损伤诱导的PCO的小鼠模型确定ALK2抗体对白内障手术后后囊浑浊 (PCO) 形成的影响。简而言之,将10至16周龄的小鼠分成两组,其在手术前接受ALK2抗体 (5 mg/kg) 或媒介物两周,每周两次。白内障手术在麻醉下进行,并且瞳孔之一用2.5%盐酸去氧肾上腺素和1%托吡卡胺散瞳。使用眼科手术刀,在中央角膜中切开一个延伸到晶状体囊中的切口。用平衡盐溶液的水分离用于将晶状体纤维块与晶状体囊分离,去除晶状体纤维块,闭合切口,并用平衡盐溶液重新填充前房。在每组中,手术后立即和手术后1、5和14天对小鼠子集实施安乐死。小鼠继续每周两次接受ALK2抗体或媒介物,直至它们被安乐死。在紧临解剖之前,麻醉动物,并评价角膜浑浊的存在或不存在、新生血管形成和瞳孔扩张程度。在解剖时,手术和非手术眼(对照)都被收获并包埋,速冻并储存在-80℃。然后使用免疫组织化学评估炎性细胞、纤维化标志物(α SMA、纤连蛋白)和晶状体纤维分化标志物(Prox1、cMaf)的存在程度。

[0544] 实施例8 - ALK2抗体在DIPG的鼠原位异种移植模型中的作用

[0545] 使用DIPG的鼠原位异种移植模型评价ALK2抗体对抑制弥漫性内源性脑桥胶质瘤(DIPG)中的胶质瘤生长的影响。该模型包括将含有HK27M和ACRV1基因中的突变的患者来源的细胞系(HSJD-DIPG-007)移植至免疫缺陷NOD-SCID小鼠的第4脑室。研究的主要结果是接受移植的幼崽的存活持续时间。简而言之,经由立体定向手术用HSJD-DIPG-007细胞移植3周龄的雌性NOD-SCID小鼠。接种后14至21天,将小鼠随机分为两组并每周两次施用媒介物或ALK2抗体(5mg/kg)。预期小鼠在接种的21天内变得有症状,并且在没有干预的情况下,预期其具有~60天的平均寿命。在研究时段持续时间,密切监测小鼠的体重、健康和状况。如果小鼠体重减轻超过20%或显示健康不佳和痛苦的体征,则对其实施安乐死并从研究中移除。终止后,将小鼠的脑部仔细解剖并固定在福尔马林中,用于未来的组织学评价并确定HSJD-DIPG-007细胞的体内生长。

[0546] 实施例9 - ALK2抗体在干燥综合征的小鼠模型中的作用

[0547] 在非肥胖糖尿病(NOD)自身免疫小鼠模型中确定ALK2抗体对改善干燥综合征的症状的影响。除了胰岛炎以外,NOD小鼠在外分泌泪腺和唾液腺中发展免疫浸润,导致最终的分泌功能障碍。在这些小鼠中测量的主要表型结果是泪液体积产生。这每周进行测试,以给出疾病的进展和药物干预的效力的纵向分析。该抗体经由腹膜内注射以5mg/kg每周两次给药。简而言之,在基线时评价NOD小鼠(12周龄)的泪液产生,然后随机分为两组以接受媒介物或ALK2抗体8周。在此持续期间中,每周测试小鼠的泪液产生。在研究结束时,收获泪腺以评价纤维化(MMP9、MMP2、COL1A1、TIMP)和炎性(MCP1、IL6、TNF- α)标志物的mRNA表达。将对侧泪腺解剖并固定在福尔马林中,用于炎症和纤维化的组织学分析。

[0548] 实施例10 - ALK2抗体在心脏肥大的小鼠模型中的作用

[0549] 使用血管紧张素II (A2) -诱导的心脏肥大小鼠模型确定ALK2抗体对心脏肥大和纤维化的发展的影响。将小鼠分成在手术前每周两次接受ALK2抗体 (5 mg/kg) 或媒介物两周的组,或手术后立即开始给药的组。简而言之,麻醉的小鼠用充满A2的渗透性微型泵植入,所述充满A2的渗透性微型泵释放恒定剂量的A2 2或4周以诱导心脏肥大。在2或4周结束时,小鼠在镇静下经历超声心动图分析。将整个心脏和左心室(LV)称重,并将LV分成两半并

保存在液氮或福尔马林中。还测定胫骨长度(TL)。评价心脏重量、心脏重量与TL比率的比率、LV重量和LV与TL比率的变化。此外,确定心室内隔膜和后壁厚度以及心肌细胞面积和纤维化。

[0550] 实施例11 - 通过施用ALK2抗体来治疗贫血

[0551] 根据本文公开的方法,本领域医师可以治疗具有贫血(例如IRIDA或炎症性贫血)的受试者,诸如人患者,以便增加血红蛋白水平、增加红血细胞计数或减少缺铁。治疗方法可以包括基于测量血液学参数的血液测试,将受试者诊断或鉴定为用于治疗的首选者。为了治疗受试者,本领域医师可以向所述受试者施用含有ALK2抗体或其抗原结合片段(例如,ALK2结合片段)的组合物。含有ALK2抗体或其抗原结合片段(例如,ALK2结合片段)的组合物可以例如通过肠胃外注射(例如静脉内注射)施用于受试者,以治疗贫血。所述ALK2抗体或其抗原结合片段(例如,ALK2结合片段)以治疗有效量施用,所述治疗有效量诸如0.01至500 mg/kg(例如0.01、0.1、0.2、0.3、0.4、0.5、1、2、3、4、5、10、15、20、25、30、35、40、45、50、100、150、200、250、300、350、400、450或500 mg/kg)。在一些实施方案中,所述ALK2抗体或其抗原结合片段(例如,ALK2结合片段)每两个月一次、每个月一次、每两周一次、或每周至少一次或更多次(例如每周1、2、3、4、5、6或7次或更多次)施用。所述ALK2抗体或其抗原结合片段(例如,ALK2结合片段)以足以增加血红蛋白水平、增加红血细胞计数或减少缺铁的量施用。

[0552] 在向患者施用所述组合物之后,本领域技术人员可以通过各种方法监测患者响应于疗法的改善。例如,医师可以通过进行血液测试来监测患者的血红蛋白水平、红血细胞计数或缺铁。与施用组合物之前的测试结果相比,在施用组合物之后患者表现出改善的血红蛋白水平、红血细胞计数或缺铁的发现,表明患者良好地响应于治疗。后续剂量可以根据需要进行确定且施用。

[0553] 实施例12 - 通过施用ALK2抗体来治疗骨疾病

[0554] 根据本文公开的方法,本领域医师可以治疗具有骨疾病(例如骨质疏松症或骨质减少症)的受试者,诸如人患者,以便增加骨矿物质密度、增加骨形成、减少骨再吸收(例如骨损失)或降低骨折的风险。治疗方法可以包括基于骨矿物质密度的标准临床测试(例如双能X射线吸收测定法),将受试者诊断或鉴定为用于治疗的首选者。为了治疗受试者,本领域医师可以向所述受试者施用含有ALK2抗体或其抗原结合片段(例如,ALK2结合片段)的组合物。含有ALK2抗体或其抗原结合片段(例如,ALK2结合片段)的组合物可以例如通过肠胃外注射(例如静脉内注射)施用于受试者,以治疗骨疾病。所述ALK2抗体或其抗原结合片段(例如,ALK2结合片段)以治疗有效量施用,所述治疗有效量诸如0.01至500 mg/kg(例如0.01、0.1、0.2、0.3、0.4、0.5、1、2、3、4、5、10、15、20、25、30、35、40、45、50、100、150、200、250、300、350、400、450或500 mg/kg)。在一些实施方案中,所述ALK2抗体或其抗原结合片段(例如,ALK2结合片段)每两个月一次、每个月一次、每两周一次、或每周至少一次或更多次(例如每周1、2、3、4、5、6或7次或更多次)施用。所述ALK2抗体或其抗原结合片段(例如,ALK2结合片段)以足以增加骨矿物质密度、增加骨形成、减少骨再吸收(例如骨损失)或降低骨折的风险的量施用。

[0555] 在向患者施用所述组合物之后,本领域技术人员可以通过各种方法监测患者响应于疗法的改善。例如,医师可以通过进行双能X射线吸收测定法来监测患者的骨矿物质密度。与施用组合物之前的测试结果相比,在施用组合物之后患者表现出增加的骨矿物质密

度、增加的骨形成、减少的骨再吸收(例如骨损失)或降低的骨折的风险的发现,表明患者良好地响应于治疗。后续剂量可以根据需要进行确定且施用。

[0556] 实施例13 - 通过施用ALK2抗体来治疗FOP

[0557] 根据本文公开的方法,本领域医师可以治疗具有FOP的受试者,诸如人患者(例如,在ALK2中具有功能获得突变的患者)以预防或减少异位骨化,减缓FOP的进展,或延迟FOP的发作。治疗方法可以包括基于针对ALK2中的突变的基因测试或进行放射照片成像、CT或MRI来将受试者诊断或鉴定为治疗的候选者。为了治疗受试者,本领域医师可以向所述受试者施用含有ALK2抗体或其抗原结合片段(例如,ALK2结合片段)的组合物。含有ALK2抗体或其抗原结合片段(例如,ALK2结合片段)的组合物可以例如通过肠胃外注射(例如静脉内注射)施用于受试者,以治疗FOP。所述ALK2抗体或其抗原结合片段(例如,ALK2结合片段)以治疗有效量施用,所述治疗有效量诸如0.01至500 mg/kg(例如0.01、0.1、0.2、0.3、0.4、0.5、1、2、3、4、5、10、15、20、25、30、35、40、45、50、100、150、200、250、300、350、400、450或500 mg/kg)。在一些实施方案中,所述ALK2抗体或其抗原结合片段(例如,ALK2结合片段)每两个月一次、每个月一次、每两周一次、或每周至少一次或更多次(例如每周1、2、3、4、5、6或7次或更多次)施用。所述ALK2抗体或其抗原结合片段(例如,ALK2结合片段)以足以减少异位骨化、减缓FOP的进展或延迟FOP的发作的量施用。

[0558] 在向患者施用所述组合物之后,本领域技术人员可以通过各种方法监测患者响应于疗法的改善。例如,医师可以使用射线照片、CT和/或MRI监测患者的异位骨化或疾病进展。与施用组合物之前的测试结果相比或与未治疗的受试者相比在施用组合物之后患者表现出异位骨化减少(例如,异位骨化量减少或形成额外的异位骨)、未能发展异位骨化或FOP的发作延迟或进展缓慢的发现表明患者对治疗良好地应答。后续剂量可以根据需要进行确定且施用。

[0559] 实施例14 - 通过施用ALK2抗体来治疗干燥综合征

[0560] 根据本文公开的方法,本领域医师可以治疗具有干燥综合征的受试者、诸如人患者,以改善或减轻干燥综合征的一种或多种症状(例如,干眼、口干、眼睛刺激、视力模糊、泪腺纤维化、泪腺炎症、关节疼痛或疲劳)。为了治疗受试者,本领域医师可以向所述受试者施用含有ALK2抗体或其抗原结合片段(例如,ALK2结合片段)的组合物。含有ALK2抗体或其抗原结合片段(例如,ALK2结合片段)的组合物可以例如通过肠胃外注射(例如静脉内注射)施用于受试者,以治疗干燥综合征。所述ALK2抗体或其抗原结合片段(例如,ALK2结合片段)以治疗有效量施用,所述治疗有效量诸如0.01至500 mg/kg(例如0.01、0.1、0.2、0.3、0.4、0.5、1、2、3、4、5、10、15、20、25、30、35、40、45、50、100、150、200、250、300、350、400、450或500 mg/kg)。在一些实施方案中,所述ALK2抗体或其抗原结合片段(例如,ALK2结合片段)每两个月一次、每个月一次、每两周一次、或每周至少一次或更多次(例如每周1、2、3、4、5、6或7次或更多次)施用。所述ALK2抗体或其抗原结合片段(例如,ALK2结合片段)以足以改善或减少干燥综合征的一种或多种症状(例如,干眼、口干、眼睛刺激、视力模糊、泪腺纤维化、泪腺炎症、关节疼痛或疲劳,例如通过增加泪液或唾液的产生)的量施用。

[0561] 在向患者施用所述组合物之后,本领域技术人员可以通过各种方法监测患者响应于疗法的改善。例如,医师可以通过评估泪液的产生(例如,泪液体积产生)、唾液的产生、视力、眼睛刺激、泪腺的炎症或纤维化或患者对于关节疼痛或疲劳的报告来监测患者的干燥

综合征的症状。与施用组合物之前的症状相比或与未治疗的受试者相比在施用组合物之后患者表现出干燥综合征的一种或多种症状(例如,干眼、口干、眼睛刺激、视力模糊、泪腺纤维化、泪腺炎症、关节痛或疲劳)减少的发现表明患者对治疗良好地应答。后续剂量可以根据需要进行确定且施用。

[0562] 实施例15 - 通过施用ALK2抗体来治疗M0

[0563] 根据本文公开的方法,本领域医师可以治疗具有M0的受试者、诸如人患者,以预防或减少骨软骨瘤的形成,减小骨软骨瘤的大小,减少骨软骨瘤的数量,或减缓骨软骨瘤的生长。治疗方法可以包括基于EXT1或EXT2中的突变的基因测试或进行放射照片成像、CT或MRI来将受试者诊断或鉴定为治疗的候选者。为了治疗受试者,本领域医师可以向所述受试者施用含有ALK2抗体或其抗原结合片段(例如,ALK2结合片段)的组合物。含有ALK2抗体或其抗原结合片段(例如,ALK2结合片段)的组合物可以例如通过肠胃外注射(例如静脉内注射)施用于受试者,以治疗M0。所述ALK2抗体或其抗原结合片段(例如,ALK2结合片段)以治疗有效量施用,所述治疗有效量诸如0.01至500 mg/kg(例如0.01、0.1、0.2、0.3、0.4、0.5、1、2、3、4、5、10、15、20、25、30、35、40、45、50、100、150、200、250、300、350、400、450或500 mg/kg)。在一些实施方案中,所述ALK2抗体或其抗原结合片段(例如,ALK2结合片段)每两个月一次、每个月一次、每两周一次、或每周至少一次或更多次(例如每周1、2、3、4、5、6或7次或更多次)施用。所述ALK2抗体或其抗原结合片段(例如,ALK2结合片段)以足以减少骨软骨瘤的形成、减小骨软骨瘤的大小、减少骨软骨瘤的数量或减缓骨软骨瘤的生长的量施用。

[0564] 在向患者施用所述组合物之后,本领域技术人员可以通过各种方法监测患者响应于疗法的改善。例如,医师可以使用放射照片、CT和/或MRI监测患者中的骨软骨瘤的生长、数量或大小。与施用组合物之前的测试结果相比或与未治疗的受试者相比在施用组合物之后患者表现出骨软骨瘤形成减少(例如,与未治疗的受试者或治疗前的骨软骨瘤形成相比,不形成新的骨软骨瘤或形成较少的骨软骨瘤)、骨软骨瘤大小减小、骨软骨瘤数量减少或骨软骨瘤生长减慢表明患者对治疗良好地应答。后续剂量可以根据需要进行确定且施用。

[0565] 实施例16 - 通过施用ALK2抗体来治疗DIPG

[0566] 根据本文公开的方法,本领域医师可以治疗具有DIPG的受试者,诸如人患者,以改善存活时间、减少肿瘤生长、减小肿瘤大小或体积、或预防或减少肿瘤转移。治疗方法可以包括基于ALK2中的激活突变的基因测试,将受试者诊断或鉴定为用于治疗的患者。为了治疗受试者,本领域医师可以向所述受试者施用含有ALK2抗体或其抗原结合片段(例如,ALK2结合片段)的组合物。含有ALK2抗体或其抗原结合片段(例如,ALK2结合片段)的组合物可以例如通过肠胃外注射(例如静脉内注射)或通过向中枢神经系统的局部施用(例如,脑室内注射、鞘内注射或脑池内注射)施用于受试者。所述ALK2抗体或其抗原结合片段(例如,ALK2结合片段)以治疗有效量施用,所述治疗有效量诸如0.01至500 mg/kg(例如0.01、0.1、0.2、0.3、0.4、0.5、1、2、3、4、5、10、15、20、25、30、35、40、45、50、100、150、200、250、300、350、400、450或500 mg/kg)。在一些实施方案中,所述ALK2抗体或其抗原结合片段(例如,ALK2结合片段)每两个月一次、每个月一次、每两周一次、或每周至少一次或更多次(例如每周1、2、3、4、5、6或7次或更多次)施用。所述ALK2抗体或其抗原结合片段(例如,ALK2结合片段)以足以改善存活时间、减少肿瘤生长、减小肿瘤大小或体积或预防或减少肿瘤转移的量施用。

[0567] 在向患者施用所述组合物之后,本领域技术人员可以通过各种方法监测患者响应

于疗法的改善。例如,医师可以使用成像(例如,MRI)监测患者的存活时间或肿瘤大小、生长或转移。与未治疗的受试者相比或与施用前受试者中的肿瘤生长、大小或转移相比患者表现出肿瘤生长减少、肿瘤大小或体积减小、肿瘤转移减少或存活时间增加的发现表明患者对治疗良好地应答。后续剂量可以根据需要进行确定且施用。

[0568] 实施例17 - 通过施用ALK2抗体来治疗或预防PCO

[0569] 根据本文公开的方法,本领域医师可以治疗具有PCO或处于发展PCO的风险中的受试者,诸如人患者(例如,具有PCO的患者或已经经历白内障手术或即将经历白内障手术的患者,例如,将在6个月、5个月、4个月、3个月、2个月、1个月、2周、1周或更短时间内经历白内障手术的患者)以预防PCO的发展,减少PCO,改善视敏度(例如,减少视力模糊或浑浊),减少光敏感度或眩光,减少或预防纤维化(例如,后囊上或附近的纤维化,例如,植入晶状体附近的纤维化),减少或预防晶状体纤维分化,减少或抑制晶状体上皮细胞增殖,或减少或预防眼睛的炎症。为了治疗受试者,本领域医师可以向所述受试者施用含有ALK2抗体或其抗原结合片段(例如,ALK2结合片段)的组合物。含有ALK2抗体或其抗原结合片段(例如,ALK2结合片段)的组合物可以例如通过肠胃外注射(例如静脉内注射)或通过向眼睛施用(例如,眼内注射或局部施用)施用于受试者以治疗PCO。所述ALK2抗体或其抗原结合片段(例如,ALK2结合片段)以治疗有效量施用,所述治疗有效量诸如0.01至500 mg/kg(例如0.01、0.1、0.2、0.3、0.4、0.5、1、2、3、4、5、10、15、20、25、30、35、40、45、50、100、150、200、250、300、350、400、450或500 mg/kg)。在一些实施方案中,所述ALK2抗体或其抗原结合片段(例如,ALK2结合片段)每两个月一次、每个月一次、每两周一次、或每周至少一次或更多次(例如每周1、2、3、4、5、6或7次或更多次)施用。所述ALK2抗体或其抗原结合片段(例如,ALK2结合片段)以足以预防PCO的发展、减少PCO、改善视敏度(例如,减少视力模糊或浑浊)、减少光敏感度或眩光、减少或预防纤维化(例如,后囊上或附近的纤维化,例如,植入晶状体附近的纤维化)、减少或预防晶状体纤维分化、减少或抑制晶状体上皮细胞增殖或减少或预防眼睛的炎症的量施用。

[0570] 在向患者施用所述组合物之后,本领域技术人员可以通过各种方法监测患者响应于疗法的改善。例如,医师可以监测患者的视敏度、对光或眩光的敏感性、后囊的浑浊或眼睛炎症。与未治疗的受试者相比或与治疗之前来自患者的测量值相比在施用组合物之后患者没有发展PCO或表现出改善的视敏度、对光或眩光的敏感性降低、纤维化减少或眼睛中的炎症减少的发现表明患者对治疗良好地应答。后续剂量可以根据需要进行确定且施用。

[0571] 实施例18 - 通过施用ALK2抗体来治疗心脏肥大和/或心脏纤维化

[0572] 根据本文公开的方法,本领域医师可以治疗具有心脏肥大和/或心脏纤维化的受试者、诸如人患者,以减缓或预防心脏肥大或心脏纤维化的发展、逆转心脏纤维化、减少或抑制心脏瘢痕形成、增加或诱导心脏再生、或改善心脏肥大或心脏纤维化的一种或多种症状(例如,增加运动能力,增加射血体积,降低左心室舒张末压,降低肺毛细血管楔压,增加心输出量,增加心脏指数,降低肺动脉压,减少左心室收缩末期和舒张末期尺寸,减少左右心室壁应力,减少壁张力和/或壁厚度,增加心肌收缩力,减少心肌中细胞外基质沉积,或减少纤维化)。为了治疗受试者,本领域医师可以向所述受试者施用含有ALK2抗体或其抗原结合片段(例如,ALK2结合片段)的组合物。含有ALK2抗体或其抗原结合片段(例如,ALK2结合片段)的组合物可以例如通过肠胃外注射(例如静脉内注射)施用于受试者,以治疗心脏肥

大和/或心脏纤维化。所述ALK2抗体或其抗原结合片段(例如,ALK2结合片段)以治疗有效量施用,所述治疗有效量诸如0.01至500 mg/kg(例如0.01、0.1、0.2、0.3、0.4、0.5、1、2、3、4、5、10、15、20、25、30、35、40、45、50、100、150、200、250、300、350、400、450或500 mg/kg)。在一些实施方案中,所述ALK2抗体或其抗原结合片段(例如,ALK2结合片段)每两个月一次、每个月一次、每两周一次、或每周至少一次或更多次(例如每周1、2、3、4、5、6或7次或更多次)施用。所述ALK2抗体或其抗原结合片段(例如,ALK2结合片段)以足以减缓或预防心脏肥大或心脏纤维化的发展、逆转心脏纤维化、减少或抑制心脏瘢痕形成、增加或诱导心脏再生、或改善心脏肥大或心脏纤维化的一种或多种症状(例如,增加运动能力,增加射血体积,降低左心室舒张末压,降低肺毛细血管楔压,增加心输出量,增加心脏指数,降低肺动脉压,减少左心室收缩末期和舒张末期尺寸,减少左右心室壁应力,减少壁张力和/或壁厚度,增加心肌收缩力,减少心肌中细胞外基质沉积,或减少纤维化)的量施用。

[0573] 在向患者施用所述组合物之后,本领域技术人员可以通过各种方法监测患者响应于疗法的改善。例如,医师可以使用应力测试、超声心动图、MRI 或其他方法来监测患者的心脏肥大或心脏纤维化的症状(例如,运动能力、射血体积、左心室舒张末压、肺毛细血管楔压、心输出量、心脏指数、肺动脉压、左心室收缩末期和舒张末期尺寸、左右心室壁应力、壁张力和/或壁厚度或心肌收缩力)。与施用组合物之前的测试结果相比或与未治疗的受试者相比,在施用组合物之后患者表现出心脏纤维化减少、心脏再生增加或心脏肥大或心脏纤维化症状的一种或多种改善(例如,增加运动能力,增加血液射血体积,降低左心室舒张末压,降低肺毛细血管楔压,增加心输出量,增加心脏指数,降低肺动脉压力,减少左心室收缩末期和舒张末期尺寸,减少左心室和右心室壁应力,减少壁张力和/或壁厚,增加心肌收缩力,减少心肌中细胞外基质沉积,或减少纤维化)的发现表明患者对治疗良好地应答。后续剂量可以根据需要进行确定且施用。

[0574] 其他实施方案

[0575] 尽管已经结合本发明的具体实施方案描述了本发明,但应该理解,其能够进行进一步的修改,并且本申请旨在覆盖本发明的任何变型、用途或调整,其遵循一般而言本发明的原理且包括属于本发明所属领域内的已知或惯常实践的与本公开的此类偏离,并且可以应用于上文所述的基本特征。

[0576] 所有出版物、专利和专利申请均通过引用以其整体并入本文,其程度如同每个单独的出版物、专利或专利申请被具体和单独地指出通过引用以其整体并入。

[0577] 其他实施方案在以下权利要求内。

序列表

<110> Keros Therapeutics, Inc.
<120> ALK2抗体及其使用方法
<130> 51184-010W02
<150> US 62/749,463
<151> 2018-10-23
<160> 76
<170> PatentIn version 3.5
<210> 1
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<400> 1
Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Ser Asn Tyr Val Ser
1 5 10

[0001]

<210> 2
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (4)..(4)
<223> Xaa是Ser或Asn

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (5)..(5)
<223> Xaa是Ile或Leu

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (6)..(6)
<223> Xaa是Pro, Gly, 或Arg

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (7)..(7)
<223> Xaa是Ser, Thr, 或Lys

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (8).. (8)
 <223> Xaa是Phe, Lys, 或Tyr

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (9).. (9)
 <223> Xaa是Phe, Tyr, 或Ser

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (10).. (10)
 <223> Xaa是Ala或Val

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (11).. (11)
 <223> Xaa是Ser, Tyr, 或His

<400> 2

Ser Gly Asp Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
 1 5 10

[0002]

<210> 3
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成构建体

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (1).. (2)
 <223> Xaa是Val或Leu

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (5).. (5)
 <223> Xaa是Lys, Arg, Gly, 或Tyr

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (6).. (6)
 <223> Xaa是Asn或Asp

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (7).. (7)
 <223> Xaa是Asn或Ser

<220>

<221> MISC_FEATURE
<222> (8)..(8)
<223> Xaa是His, Asn, Asp, 或Lys

<400> 3

Xaa Xaa Ile Tyr Xaa Xaa Xaa Xaa Arg Pro Ser
1 5 10

<210> 4
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

<400> 4

Ala Ser Trp Asp His Ser Asp Arg Phe Tyr Val
1 5 10

<210> 5
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

[0003]

<220>
<223> 合成构建体

<400> 5

Tyr Val Thr Ala Pro Trp Lys Ser Ile Trp
1 5 10

<210> 6
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

<400> 6

Tyr Ser Ala Asp Ala Gln Gln Met Lys Ala
1 5 10

<210> 7
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<400> 7

Gln Val Tyr Ala Ser Val His Arg Met
1 5

<210> 8

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<400> 8

Gln Thr Tyr Asp Trp Ser His Phe Gly Trp
1 5 10

<210> 9

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

[0004]

<220>

<223> 合成构建体

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (2)..(2)

<223> Xaa是Gly或Phe

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (5)..(5)

<223> Xaa是Ser或Asn

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (7)..(7)

<223> Xaa是Tyr, His, Ser, 或Ala

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (8)..(8)

<223> Xaa是Gly或Ala

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (9)..(9)

<223> Xaa是Val, Met, 或Ile

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (10)..(10)
 <223> Xaa是Ser或His

 <400> 9

Gly Xaa Thr Phe Xaa Ser Xaa Xaa Xaa Xaa
 1 5 10

<210> 10
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成构建体

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (4)..(4)
 <223> Xaa是Gly或Arg

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (8)..(8)
 [0005] <223> Xaa是His或Asp

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (11)..(11)
 <223> Xaa是Ile或Thr

<400> 10

Trp Met Gly Xaa Ile Ile Pro Xaa Phe Gly Xaa Ala Asn Tyr Ala Gln
 1 5 10 15

Lys Phe Gln Gly
 20

<210> 11
 <211> 22
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成构建体

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (9)..(9)

<223> Xaa是Ala或Arg

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (11).. (11)

<223> Xaa是Ser或Gly

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (12).. (12)

<223> Xaa是Gly或Tyr

<400> 11

Trp	Val	Gly	Arg	Ile	Lys	Ser	Lys	Xaa	Asp	Xaa	Xaa	Thr	Thr	Asp	Tyr
1				5					10					15	

Ala	Ala	Pro	Val	Lys	Gly
			20		

<210> 12

<211> 20

<212> PRT

<213> 人工序列

[0006] <220>

<223> 合成构建体

<400> 12

Trp	Val	Ser	Val	Ile	Ser	Ser	Asp	Gly	Gly	Ser	Thr	Tyr	Tyr	Ala	Asp
1				5					10					15	

Ser	Val	Lys	Gly
			20

<210> 13

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<400> 13

Glu	Ile	Gly	Ser	Leu	Asp	Ile
1				5		

<210> 14

<211> 8

<212> PRT

	<213>	人工序列
	<220>	
	<223>	合成构建体
	<400>	14
	Asp Tyr Gly Val Ala Phe Ala Tyr	
	1	5
	<210>	15
	<211>	9
	<212>	PRT
	<213>	人工序列
	<220>	
	<223>	合成构建体
	<400>	15
	Asp Tyr Gly Gly Leu Lys Phe Asp Tyr	
	1	5
	<210>	16
	<211>	11
	<212>	PRT
[0007]	<213>	人工序列
	<220>	
	<223>	合成构建体
	<400>	16
	Gly Pro Thr Gln Ala Ile His Tyr Phe Ala Tyr	
	1	5 10
	<210>	17
	<211>	15
	<212>	PRT
	<213>	人工序列
	<220>	
	<223>	合成构建体
	<400>	17
	Ala Gly Phe Ile Leu Gly Ser Leu Gly Val Ala Trp Met Asp Val	
	1	5 10 15
	<210>	18
	<211>	11
	<212>	PRT
	<213>	人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<400> 18

Ser	Gly	Asp	Ser	Ile	Pro	Ser	Phe	Phe	Ala	Ser
1				5					10	

<210> 19

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<400> 19

Ser	Gly	Asp	Asn	Ile	Gly	Thr	Lys	Tyr	Ala	Tyr
1				5					10	

<210> 20

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

[0008]

<220>

<223> 合成构建体

<400> 20

Ser	Gly	Asp	Asn	Leu	Arg	Lys	Tyr	Ser	Ala	His
1				5					10	

<210> 21

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<400> 21

Ser	Gly	Asp	Ser	Leu	Gly	Ser	Lys	Ser	Val	His
1				5					10	

<210> 22

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (5)..(5)

<223> Xaa是Arg, Gly, 或Tyr

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (7)..(7)

<223> Xaa是Ser或Asn

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (8)..(8)

<223> Xaa是Asn, Asp, 或Lys

<400> 22

Leu	Val	Ile	Tyr	Xaa	Asp	Xaa	Xaa	Arg	Pro	Ser
1				5					10	

<210> 23

<211> 11

<212> PRT

[0009] <213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (8)..(8)

<223> Xaa是Asn或Lys

<400> 23

Leu	Val	Ile	Tyr	Arg	Asp	Ser	Xaa	Arg	Pro	Ser
1				5					10	

<210> 24

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<400> 24

Val	Leu	Ile	Tyr	Lys	Asn	Asn	His	Arg	Pro	Ser
1				5					10	

<210> 25
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

<400> 25

Leu	Val	Ile	Tyr	Arg	Asp	Ser	Asn	Arg	Pro	Ser
1				5					10	

<210> 26
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

<400> 26

Leu	Val	Ile	Tyr	Gly	Asp	Ser	Asp	Arg	Pro	Ser
1				5					10	

[0010]

<210> 27
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

<400> 27

Leu	Val	Ile	Tyr	Tyr	Asp	Asn	Lys	Arg	Pro	Ser
1				5					10	

<210> 28
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

<400> 28

Leu	Val	Ile	Tyr	Arg	Asp	Ser	Lys	Arg	Pro	Ser
1				5					10	

<210> 29
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成构建体

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (7)..(7)
 <223> Xaa是His或Ala

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (10)..(10)
 <223> Xaa是Ser或His

<400> 29

Gly Phe Thr Phe Ser Ser Xaa Ala Met Xaa
 1 5 10

[0011]

<210> 30
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成构建体

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (5)..(5)
 <223> Xaa是Ser或Asn

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (7)..(7)
 <223> Xaa是His或Ser

<400> 30

Gly Phe Thr Phe Xaa Ser Xaa Ala Met Ser
 1 5 10

<210> 31
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<400> 31

Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr Gly Val Ser
1 5 10

<210> 32

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<400> 32

Gly Phe Thr Phe Ser Ser His Ala Met Ser
1 5 10

<210> 33

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

[0012] <223> 合成构建体

<400> 33

Gly Phe Thr Phe Asn Ser Ser Ala Met Ser
1 5 10

<210> 34

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<400> 34

Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr Ala Ile His
1 5 10

<210> 35

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<400> 35

Gly Phe Thr Phe Ser Ser Ala Ala Met His
1 5 10

<210> 36

<211> 20

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<400> 36

Trp Met Gly Gly Ile Ile Pro His Phe Gly Ile Ala Asn Tyr Ala Gln
1 5 10 15

Lys Phe Gln Gly
20

<210> 37

<211> 22

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<400> 37

Trp Val Gly Arg Ile Lys Ser Lys Ala Asp Ser Gly Thr Thr Asp Tyr
1 5 10 15

Ala Ala Pro Val Lys Gly
20

<210> 38

<211> 22

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<400> 38

Trp Val Gly Arg Ile Lys Ser Lys Arg Asp Gly Tyr Thr Thr Asp Tyr
1 5 10 15

[0013]

Ala Ala Pro Val Lys Gly
20

<210> 39
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

<400> 39

Trp Met Gly Arg Ile Ile Pro Asp Phe Gly Thr Ala Asn Tyr Ala Gln
1 5 10 15

Lys Phe Gln Gly
20

<210> 40
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

[0014] <220>
<223> 合成构建体

<400> 40

Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Gly Asn Trp Leu Thr
1 5 10

<210> 41
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

<400> 41

Leu Leu Ile Tyr Asp Ala Ser Asn Leu Gln Ser
1 5 10

<210> 42
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

<400> 42

His Gln Ser Tyr Arg Gly Pro Met
1 5

<210> 43

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<400> 43

Gly Phe Thr Phe Gly Arg Phe Val Met His
1 5 10

<210> 44

<211> 20

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

[0015]

<400> 44

Trp Val Ser Val Ile Gly Tyr Ser Gly Ser Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp
1 5 10 15

Ser Val Lys Gly
20

<210> 45

<211> 20

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<400> 45

Glu Pro Gly Tyr Tyr Tyr Pro Ser Gly Tyr Tyr Arg Gly Pro Gly Tyr
1 5 10 15

Trp Met Asp Val
20

<210> 46
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

<400> 46

Ser Gly Asp Asn Ile Arg Lys Lys Tyr Val His
1 5 10

<210> 47
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

<400> 47

Leu Val Ile Tyr Arg Asp Ser Asn Arg Pro Ser
1 5 10

[0016]

<210> 48
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

<400> 48

Ser Ser Ala Gly Arg Asp Asn Tyr
1 5

<210> 49
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

<400> 49

Gly Phe Thr Phe Ser Ser Ser Ala Met His
1 5 10

<210> 50

<211> 20
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成构建体

<400> 50

Trp Val Ser Val Ile His Tyr Asp Ser Ser Glu Thr Tyr Tyr Ala Asp
 1 5 10 15

Ser Val Lys Gly
 20

<210> 51
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成构建体

<400> 51

[0017] Asp Arg Tyr Phe Phe Asp Val
 1 5

<210> 52
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成构建体

<400> 52

Ser Gly Asp Ala Leu Arg Tyr Tyr Ile Ala His
 1 5 10

<210> 53
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成构建体

<400> 53

Leu Val Ile Tyr Tyr Asn Asn Asn Arg Pro Ser
 1 5 10

<210> 54
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

<400> 54

Gln Ser Tyr Gly Pro Gly Ser Val
1 5

<210> 55
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

<400> 55

Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr Ala Met His
1 5 10

[0018]

<210> 56
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

<400> 56

Trp Val Ser Ser Ile Phe Tyr Ser Gly Ser Asn Thr Tyr Tyr Ala Asp
1 5 10 15

Ser Val Lys Gly
20

<210> 57
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

<400> 57

Pro Lys Ser Tyr Ala Ser Gly Pro Phe Ala Tyr
1 5 10

<210> 58
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

<400> 58

Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Gln Asn Tyr Val Ser
1 5 10

<210> 59
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

<400> 59

[0019]

Leu Leu Ile Tyr Asp Asn Ser Lys Arg Pro Ser
1 5 10

<210> 60
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

<400> 60

Ser Ser Trp Asp Leu Leu Ser Lys Ser Arg
1 5 10

<210> 61
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

<400> 61

Gly Gly Thr Phe Ser Thr His Ala Ile Ser
1 5 10

<210> 62
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

<400> 62

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

Lys Phe Gln Arg
20

<210> 63
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

[0020] <220>
<223> 合成构建体

<400> 63

Asp Tyr Tyr Gly Gly Met Ala Tyr
1 5

<210> 64
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (4)..(4)
<223> Xaa是Asn或Ala

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (5)..(5)
<223> Xaa是Ile或Leu

<220>
<221> MISC_FEATURE

<222> (7).. (8)
 <223> Xaa是Lys或Tyr

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (9).. (9)
 <223> Xaa是Tyr或Ile

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (10).. (10)
 <223> Xaa是Val或Ala

<400> 64

Ser Gly Asp Xaa Xaa Arg Xaa Xaa Xaa Xaa His
 1 5 10

<210> 65
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成构建体

[0021]

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (2).. (2)
 <223> Xaa是Val或Leu

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (5).. (5)
 <223> Xaa是Asp, Arg, 或Tyr

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (6).. (6)
 <223> Xaa是Ala, Asp, 或Asn

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (7).. (7)
 <223> Xaa是Ser或Asn

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (8).. (8)
 <223> Xaa是Lys或Asn

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (9).. (9)
 <223> Xaa是Leu或Arg

	<220>
	<221> MISC_FEATURE
	<222> (10).. (10)
	<223> Xaa是Gln或Pro
	<400> 65
	Leu Xaa Ile Tyr Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Ser
	1 5 10
	<210> 66
	<211> 10
	<212> PRT
	<213> 人工序列
	<220>
	<223> 合成构建体
	<220>
	<221> MISC_FEATURE
	<222> (2).. (2)
	<223> Xaa是Phe或Gly
	<220>
[0022]	<221> MISC_FEATURE
	<222> (5).. (5)
	<223> Xaa是Gly或Ser
	<220>
	<221> MISC_FEATURE
	<222> (6).. (6)
	<223> Xaa是Arg, Ser, Asp, 或Thr
	<220>
	<221> MISC_FEATURE
	<222> (7).. (7)
	<223> Xaa是Phe, Ser, Tyr, 或His
	<220>
	<221> MISC_FEATURE
	<222> (8).. (8)
	<223> Xaa是Val或Ala
	<220>
	<221> MISC_FEATURE
	<222> (9).. (9)
	<223> Xaa是Met或Ile
	<220>
	<221> MISC_FEATURE
	<222> (10).. (10)
	<223> Xaa是His或Ser
	<400> 66

Gly Xaa Thr Phe Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
1 5 10

<210> 67

<211> 452

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<400> 67

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

Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Ser Asn
20 25 30

Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Val Leu
35 40 45

[0023] Ile Tyr Lys Asn Asn His Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60

Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Thr Gly Leu Gln
65 70 75 80

Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Ser Trp Asp His Ser Asp
85 90 95

Arg Phe Tyr Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gln
100 105 110

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

Leu Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe Tyr
130 135 140

Pro Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro Val Lys
145 150 155 160

Ala Gly Val Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys Tyr
165 170 175

Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His
180 185 190

Arg Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu Lys
195 200 205

Thr Val Ala Pro Thr Glu Ala Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala
210 215 220

Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser
225 230 235 240

Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr Gly Val Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro
245 250 255

Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met Gly Gly Ile Ile Pro His Phe Gly Ile
260 265 270

Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp
275 280 285

[0024]

Glu Ser Thr Ser Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu
290 295 300

Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Glu Ile Gly Ser Leu Asp Ile
305 310 315 320

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly
325 330 335

Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly
340 345 350

Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val
355 360 365

Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe
370 375 380

Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val
385 390 395 400

Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val
405 410 415

Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys
420 425 430

Ser Glu Phe Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Lys Gly Ala Pro His His
435 440 445

His His His His
450

<210> 68
<211> 453
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

<400> 68

[0025] Asp Ile Glu Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ser Pro Gly Gln
1 5 10 15

Thr Ala Ser Ile Thr Cys Ser Gly Asp Ser Ile Pro Ser Phe Phe Ala
20 25 30

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

Arg Asp Ser Asn Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60

Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Gly Thr Gln Ala Glu
65 70 75 80

Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Tyr Val Thr Ala Pro Trp Lys Ser Ile
85 90 95

Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gln Pro Lys
100 105 110

Ala Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu Glu Leu Gln
115 120 125

Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe Tyr Pro Gly
130 135 140

Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro Val Lys Ala Gly
145 150 155 160

Val Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys Tyr Ala Ala
165 170 175

Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His Arg Ser
180 185 190

Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu Lys Thr Val
195 200 205

Ala Pro Thr Glu Ala Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu
210 215 220

Val Lys Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe
225 230 235 240

[0026]

Thr Phe Ser Ser His Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys
245 250 255

Gly Leu Glu Trp Val Gly Arg Ile Lys Ser Lys Ala Asp Ser Gly Thr
260 265 270

Thr Asp Tyr Ala Ala Pro Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp
275 280 285

Asp Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu
290 295 300

Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Asp Tyr Gly Val Ala Phe Ala
305 310 315 320

Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys
325 330 335

Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly
340 345 350

Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro
355 360 365

Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr
370 375 380

Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val
385 390 395 400

Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn
405 410 415

Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro
420 425 430

Lys Ser Glu Phe Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys Gly Ala Pro His
435 440 445

His His His His His
450

[0027]

<210> 69
<211> 454
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

<400> 69

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

Thr Ala Ser Ile Thr Cys Ser Gly Asp Asn Ile Gly Thr Lys Tyr Ala
20 25 30

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

Gly Asp Ser Asp Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60

Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Gly Thr Gln Ala Glu
65 70 75 80

Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Tyr Ser Ala Asp Ala Gln Gln Met Lys
85 90 95

Ala Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gln Pro Lys
100 105 110

Ala Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu Glu Leu Gln
115 120 125

Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe Tyr Pro Gly
130 135 140

Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro Val Lys Ala Gly
145 150 155 160

Val Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys Tyr Ala Ala
165 170 175

Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His Arg Ser
180 185 190

[0028]

Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu Lys Thr Val
195 200 205

Ala Pro Thr Glu Ala Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu
210 215 220

Val Lys Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe
225 230 235 240

Thr Phe Asn Ser Ser Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys
245 250 255

Gly Leu Glu Trp Val Gly Arg Ile Lys Ser Lys Arg Asp Gly Tyr Thr
260 265 270

Thr Asp Tyr Ala Ala Pro Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp
275 280 285

Asp Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu
290 295 300

Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Asp Tyr Gly Gly Leu Lys Phe
305 310 315 320

Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr
325 330 335

Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser
340 345 350

Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu
355 360 365

Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His
370 375 380

Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser
385 390 395 400

Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys
405 410 415

[0029]

Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu
420 425 430

Pro Lys Ser Glu Phe Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys Gly Ala Pro
435 440 445

His His His His His His
450

<210> 70
<211> 453
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

<400> 70

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

Thr Ala Ser Ile Thr Cys Ser Gly Asp Asn Leu Arg Lys Tyr Ser Ala
20 25 30

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

Tyr Asp Asn Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60

Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Gly Thr Gln Ala Glu
65 70 75 80

Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Val Tyr Ala Ser Val His Arg Met
85 90 95

Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gln Pro Lys Ala
100 105 110

Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu Glu Leu Gln Ala
115 120 125

Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe Tyr Pro Gly Ala
130 135 140

[0030]

Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro Val Lys Ala Gly Val
145 150 155 160

Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys Tyr Ala Ala Ser
165 170 175

Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His Arg Ser Tyr
180 185 190

Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu Lys Thr Val Ala
195 200 205

Pro Thr Glu Ala Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys
210 215 220

Lys Pro Gly Ser Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr
225 230 235 240

Phe Ser Ser Tyr Ala Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly
245 250 255

Leu Glu Trp Met Gly Arg Ile Ile Pro Asp Phe Gly Thr Ala Asn Tyr
260 265 270

Ala Gln Lys Phe Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr
275 280 285

Ser Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala
290 295 300

Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly Pro Thr Gln Ala Ile His Tyr Phe Ala
305 310 315 320

Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys
325 330 335

Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly
340 345 350

Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro
355 360 365

[0031]

Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr
370 375 380

Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val
385 390 395 400

Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn
405 410 415

Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro
420 425 430

Lys Ser Glu Phe Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys Gly Ala Pro His
435 440 445

His His His His His
450

<210> 71

<211> 458

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<400> 71

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

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

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

Arg Asp Ser Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60

Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Gly Thr Gln Ala Glu
65 70 75 80

Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Thr Tyr Asp Trp Ser His Phe Gly
85 90 95

[0032]

Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gln Pro Lys
100 105 110

Ala Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu Glu Leu Gln
115 120 125

Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe Tyr Pro Gly
130 135 140

Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro Val Lys Ala Gly
145 150 155 160

Val Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys Tyr Ala Ala
165 170 175

Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His Arg Ser
180 185 190

Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu Lys Thr Val
195 200 205

Ala Pro Thr Glu Ala Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu
210 215 220

Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe
225 230 235 240

Thr Phe Ser Ser Ala Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys
245 250 255

Gly Leu Glu Trp Val Ser Val Ile Ser Ser Asp Gly Gly Ser Thr Tyr
260 265 270

Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser
275 280 285

Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr
290 295 300

Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Ala Gly Phe Ile Leu Gly Ser Leu Gly
305 310 315 320

[0033]

Val Ala Trp Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser
325 330 335

Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser
340 345 350

Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp
355 360 365

Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr
370 375 380

Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr
385 390 395 400

Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln
405 410 415

Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp
420 425 430

Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Glu Phe Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp
435 440 445

Lys Gly Ala Pro His His His His His His
450 455

<210> 72
<211> 465
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

<400> 72

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

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

[0034] Trp Leu Thr Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu
35 40 45

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

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

Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys His Gln Ser Tyr Arg Gly Pro
85 90 95

Met Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala
100 105 110

Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser
115 120 125

Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu
130 135 140

Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser
145 150 155 160

Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu
165 170 175

Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val
180 185 190

Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys
195 200 205

Ser Phe Asn Arg Gly Glu Ala Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly
210 215 220

Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser
225 230 235 240

Gly Phe Thr Phe Gly Arg Phe Val Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro
245 250 255

Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser Val Ile Gly Tyr Ser Gly Ser Ser
260 265 270

[0035]

Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp
275 280 285

Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu
290 295 300

Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Glu Pro Gly Tyr Tyr Tyr Pro
305 310 315 320

Ser Gly Tyr Tyr Arg Gly Pro Gly Tyr Trp Met Asp Val Trp Gly Gln
325 330 335

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
340 345 350

Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
355 360 365

Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
370 375 380

Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
385 390 395 400

Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
405 410 415

Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
420 425 430

Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Glu Phe
435 440 445

Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys Gly Ala Pro His His His His His
450 455 460

His
465

<210> 73
<211> 448
<212> PRT
<213> 人工序列

[0036]

<220>
<223> 合成构建体

<400> 73

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

Thr Ala Ser Ile Thr Cys Ser Gly Asp Asn Ile Arg Lys Lys Tyr Val
20 25 30

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

Arg Asp Ser Asn Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60

Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Gly Thr Gln Ala Glu
65 70 75 80

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

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gln Pro Lys Ala Ala
100 105 110

Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu Glu Leu Gln Ala Asn
115 120 125

Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe Tyr Pro Gly Ala Val
130 135 140

Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro Val Lys Ala Gly Val Glu
145 150 155 160

Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys Tyr Ala Ala Ser Ser
165 170 175

Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His Arg Ser Tyr Ser
180 185 190

Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu Lys Thr Val Ala Pro
195 200 205

[0037]

Thr Glu Ala Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln
210 215 220

Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe
225 230 235 240

Ser Ser Ser Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu
245 250 255

Glu Trp Val Ser Val Ile His Tyr Asp Ser Ser Glu Thr Tyr Tyr Ala
260 265 270

Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn
275 280 285

Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val
290 295 300

Tyr Tyr Cys Ala Arg Asp Arg Tyr Phe Phe Asp Val Trp Gly Gln Gly
305 310 315 320

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
325 330 335

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
340 345 350

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
355 360 365

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
370 375 380

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

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
405 410 415

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Glu Phe Asp
420 425 430

[0038]

Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys Gly Ala Pro His His His His His His
435 440 445

<210> 74

<211> 452

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<400> 74

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

Thr Ala Ser Ile Thr Cys Ser Gly Asp Ala Leu Arg Tyr Tyr Ile Ala
20 25 30

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

Tyr Asn Asn Asn Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60

Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Gly Thr Gln Ala Glu
65 70 75 80

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

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gln Pro Lys Ala Ala
100 105 110

Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu Glu Leu Gln Ala Asn
115 120 125

Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe Tyr Pro Gly Ala Val
130 135 140

Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro Val Lys Ala Gly Val Glu
145 150 155 160

Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys Tyr Ala Ala Ser Ser
165 170 175

[0039]

Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His Arg Ser Tyr Ser
180 185 190

Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu Lys Thr Val Ala Pro
195 200 205

Thr Glu Ala Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln
210 215 220

Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe
225 230 235 240

Ser Asp Tyr Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu
245 250 255

Glu Trp Val Ser Ser Ile Phe Tyr Ser Gly Ser Asn Thr Tyr Tyr Ala
260 265 270

Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn
275 280 285

Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val
290 295 300

Tyr Tyr Cys Ala Arg Pro Lys Ser Tyr Ala Ser Gly Pro Phe Ala Tyr
305 310 315 320

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly
325 330 335

Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly
340 345 350

Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val
355 360 365

Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe
370 375 380

Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val
385 390 395 400

[0040]

Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val
405 410 415

Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys
420 425 430

Ser Glu Phe Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys Gly Ala Pro His His
435 440 445

His His His His
450

<210> 75
<211> 453
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

<400> 75

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

Arg	Val	Thr	Ile	Ser	Cys	Ser	Gly	Ser	Ser	Ser	Asn	Ile	Gly	Gln	Asn
			20					25					30		
Tyr	Val	Ser	Trp	Tyr	Gln	Gln	Leu	Pro	Gly	Thr	Ala	Pro	Lys	Leu	Leu
		35					40					45			
Ile	Tyr	Asp	Asn	Ser	Lys	Arg	Pro	Ser	Gly	Val	Pro	Asp	Arg	Phe	Ser
	50					55					60				
Gly	Ser	Lys	Ser	Gly	Thr	Ser	Ala	Ser	Leu	Ala	Ile	Thr	Gly	Leu	Gln
65					70					75					80
Ala	Glu	Asp	Glu	Ala	Asp	Tyr	Tyr	Cys	Ser	Ser	Trp	Asp	Leu	Leu	Ser
				85					90					95	
Lys	Ser	Arg	Val	Phe	Gly	Gly	Gly	Thr	Lys	Leu	Thr	Val	Leu	Gly	Gln
			100					105					110		
Pro	Lys	Ala	Ala	Pro	Ser	Val	Thr	Leu	Phe	Pro	Pro	Ser	Ser	Glu	Glu
		115					120					125			
Leu	Gln	Ala	Asn	Lys	Ala	Thr	Leu	Val	Cys	Leu	Ile	Ser	Asp	Phe	Tyr
	130					135					140				
Pro	Gly	Ala	Val	Thr	Val	Ala	Trp	Lys	Ala	Asp	Ser	Ser	Pro	Val	Lys
145					150					155					160
Ala	Gly	Val	Glu	Thr	Thr	Thr	Pro	Ser	Lys	Gln	Ser	Asn	Asn	Lys	Tyr
				165					170					175	
Ala	Ala	Ser	Ser	Tyr	Leu	Ser	Leu	Thr	Pro	Glu	Gln	Trp	Lys	Ser	His
			180					185					190		
Arg	Ser	Tyr	Ser	Cys	Gln	Val	Thr	His	Glu	Gly	Ser	Thr	Val	Glu	Lys
		195					200					205			
Thr	Val	Ala	Pro	Thr	Glu	Ala	Gln	Val	Gln	Leu	Val	Gln	Ser	Gly	Ala
	210					215					220				
Glu	Val	Lys	Lys	Pro	Gly	Ser	Ser	Val	Lys	Val	Ser	Cys	Lys	Ala	Ser
225					230					235					240

[0041]

	Gly	Gly	Thr	Phe	Ser	Thr	His	Ala	Ile	Ser	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	
					245					250					255		
	Gly	Gln	Gly	Leu	Glu	Trp	Met	Gly	Leu	Ile	Gln	Pro	Arg	Phe	Gly	Thr	
				260					265					270			
	Ala	Asn	Tyr	Ala	Gln	Lys	Phe	Gln	Gly	Arg	Val	Thr	Ile	Thr	Ala	Asp	
			275					280					285				
	Glu	Ser	Thr	Ser	Thr	Ala	Tyr	Met	Glu	Leu	Ser	Ser	Leu	Arg	Ser	Glu	
		290					295					300					
	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Ala	Arg	Asp	Tyr	Tyr	Gly	Gly	Met	Ala	
	305					310					315					320	
	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	
					325					330					335		
	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Pro	Leu	Ala	Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly	
				340					345					350			
[0042]	Gly	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	
			355					360					365				
	Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	
		370					375					380					
	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	
	385					390					395					400	
	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	
					405					410					415		
	Val	Asn	His	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Lys	Val	Glu	Pro	
				420					425					430			
	Lys	Ser	Glu	Phe	Asp	Tyr	Lys	Asp	Asp	Asp	Asp	Lys	Gly	Ala	Pro	His	
		435						440					445				
	His	His	His	His	His												
		450															
<210>	76																

	<211>	20
	<212>	PRT
	<213>	人工序列
	<220>	
	<223>	合成构建体
	<220>	
	<221>	MISC_FEATURE
	<222>	(4)..(4)
	<223>	Xaa是Val或Ser
	<220>	
	<221>	MISC_FEATURE
	<222>	(6)..(6)
	<223>	Xaa是Gly, His, 或Phe
[0043]	<220>	
	<221>	MISC_FEATURE
	<222>	(8)..(8)
	<223>	Xaa是Ser或Asp
	<220>	
	<221>	MISC_FEATURE
	<222>	(9)..(9)
	<223>	Xaa是Gly或Ser
	<220>	
	<221>	MISC_FEATURE
	<222>	(11)..(11)
	<223>	Xaa是Ser, Glu, 或Asn
	<400>	76
	Trp Val Ser Xaa Ile Xaa Tyr Xaa Xaa Ser Xaa Thr Tyr Tyr Ala Asp	
	1 5 10 15	
	Ser Val Lys Gly	
	20	

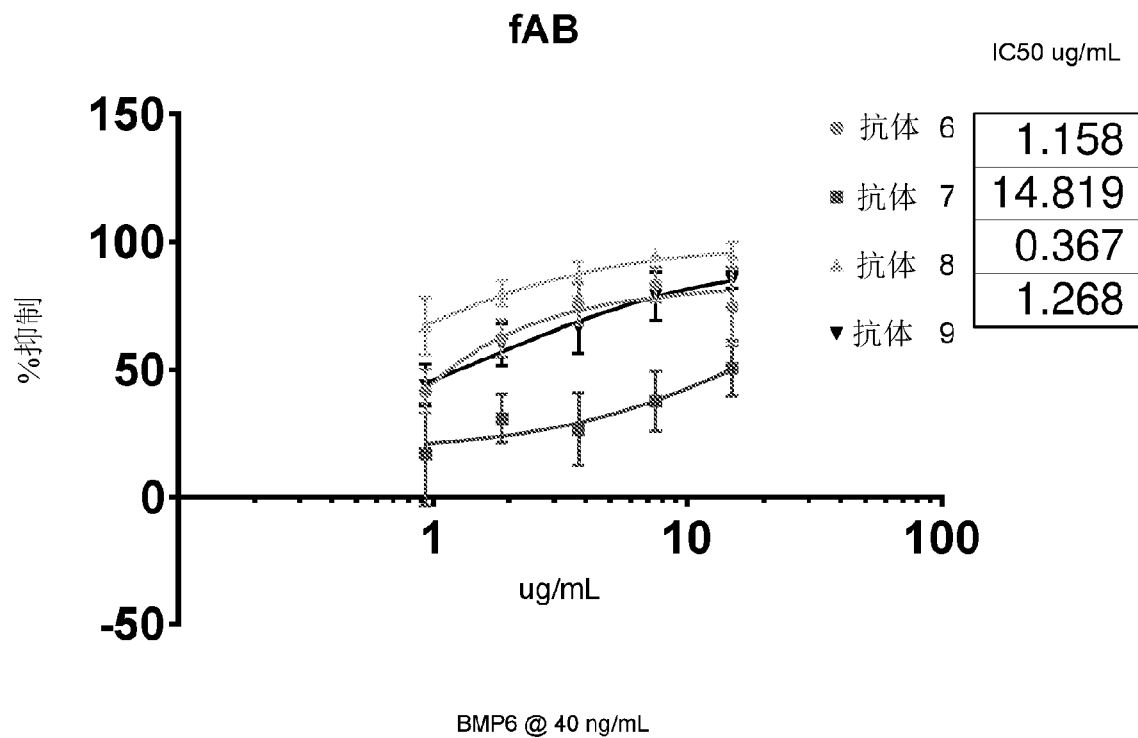


图 1A

n=6, 在 3 块板上铺开
BMP6=40ng/mL

fAB

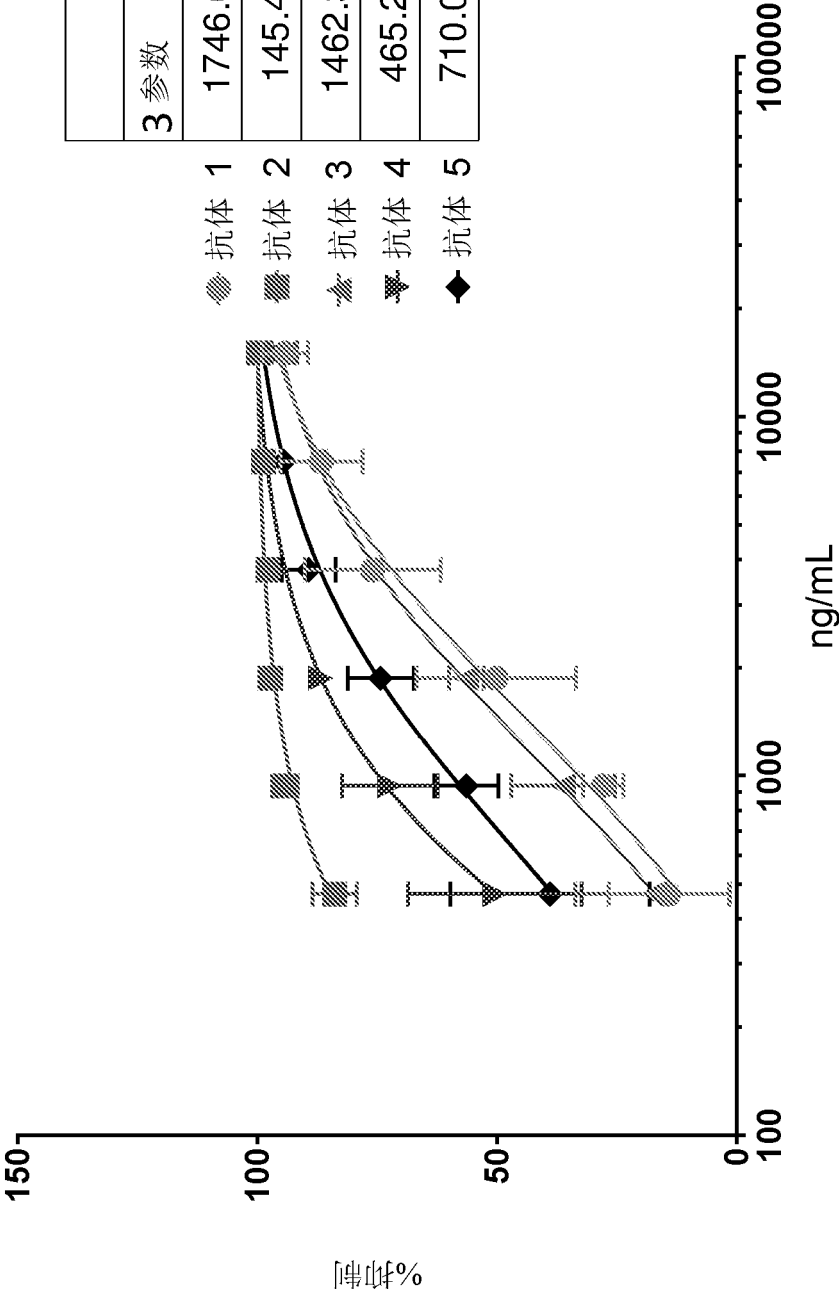


图 1B

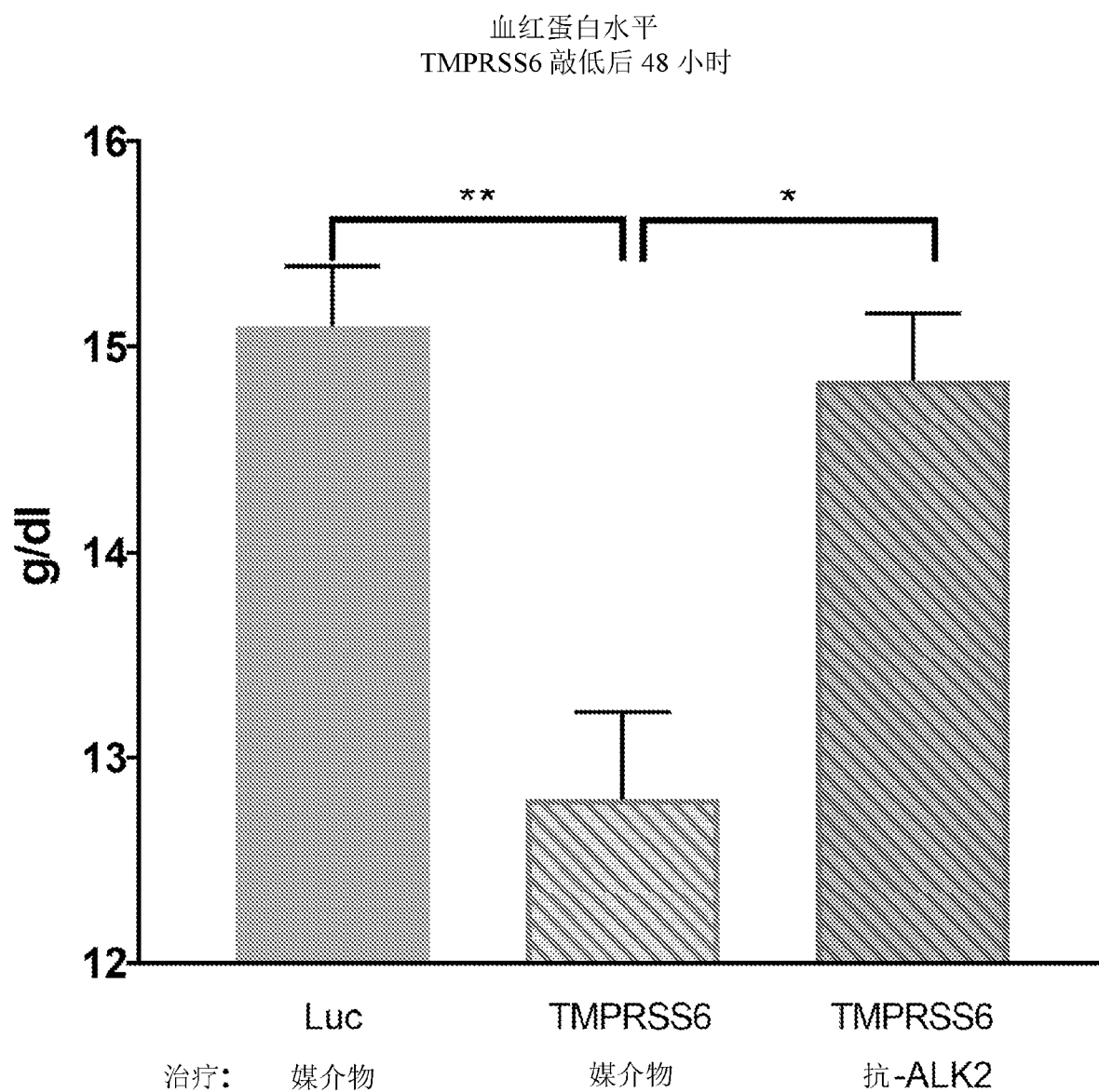


图 2

siRNA 处理后 12 天的血清血红蛋白水平

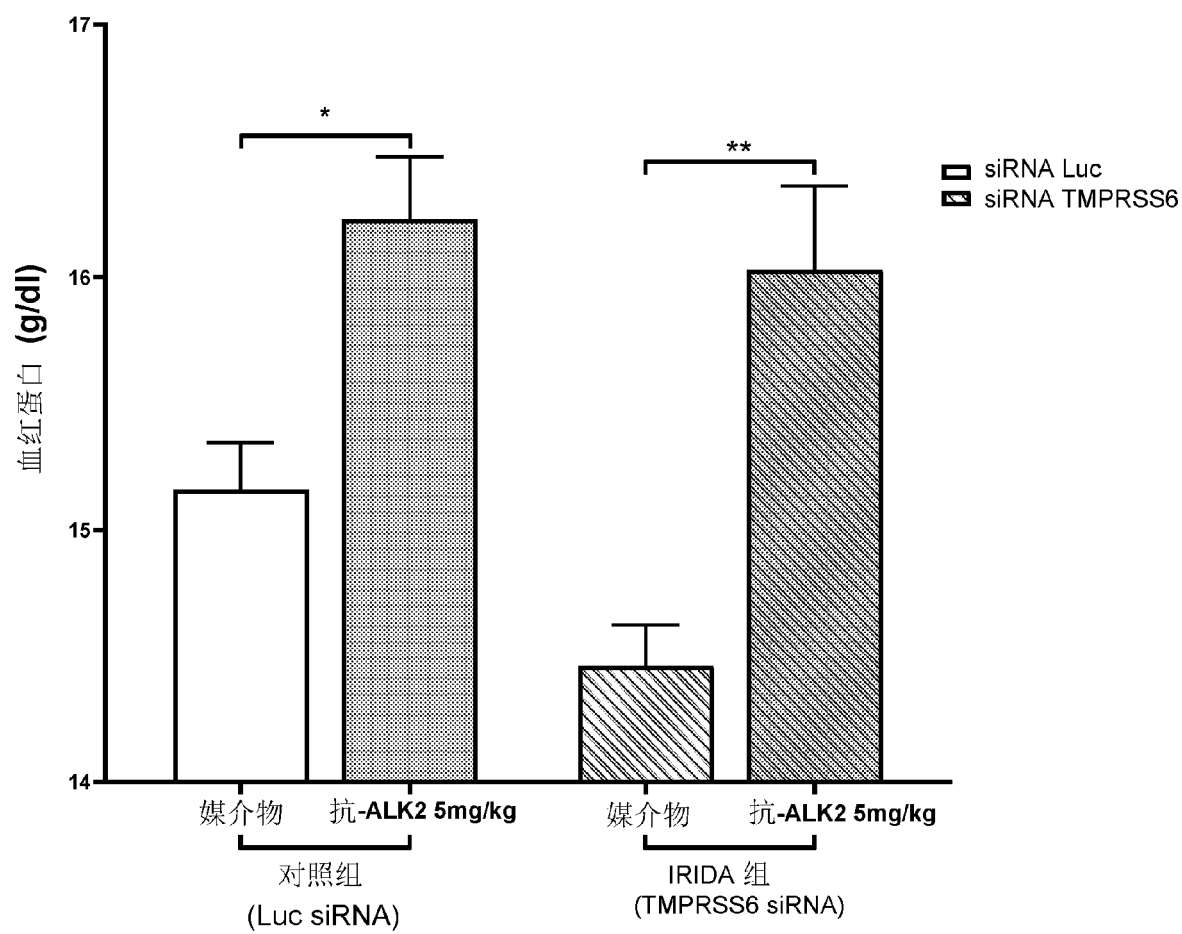


图 3A

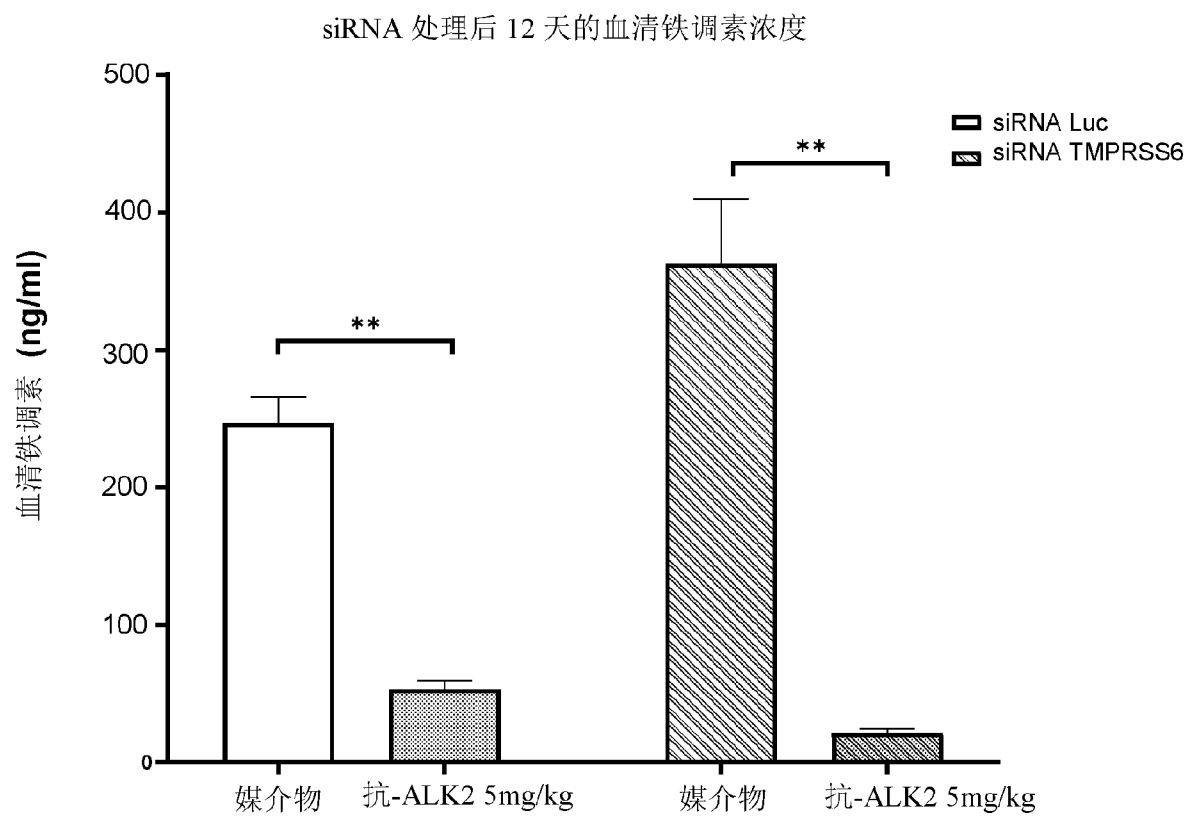


图 3B

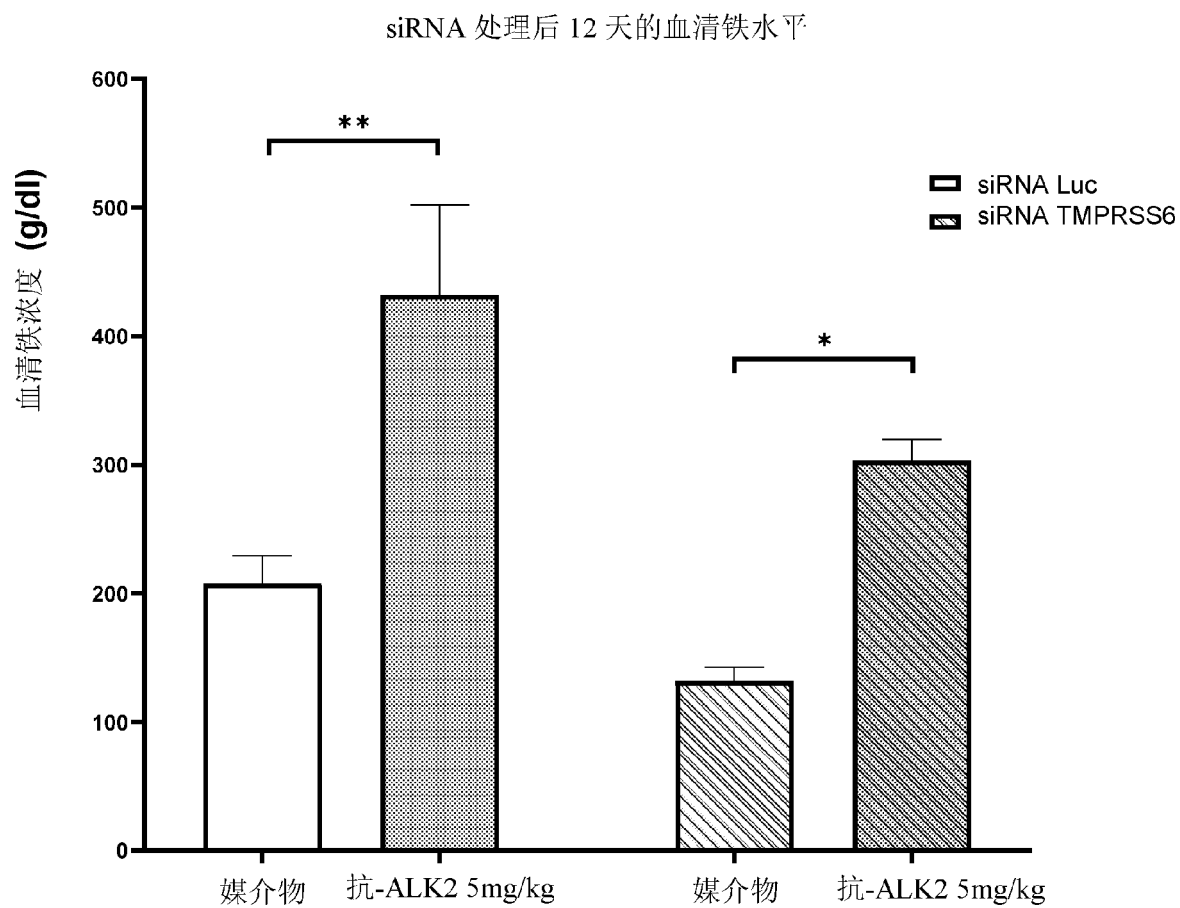


图 3C

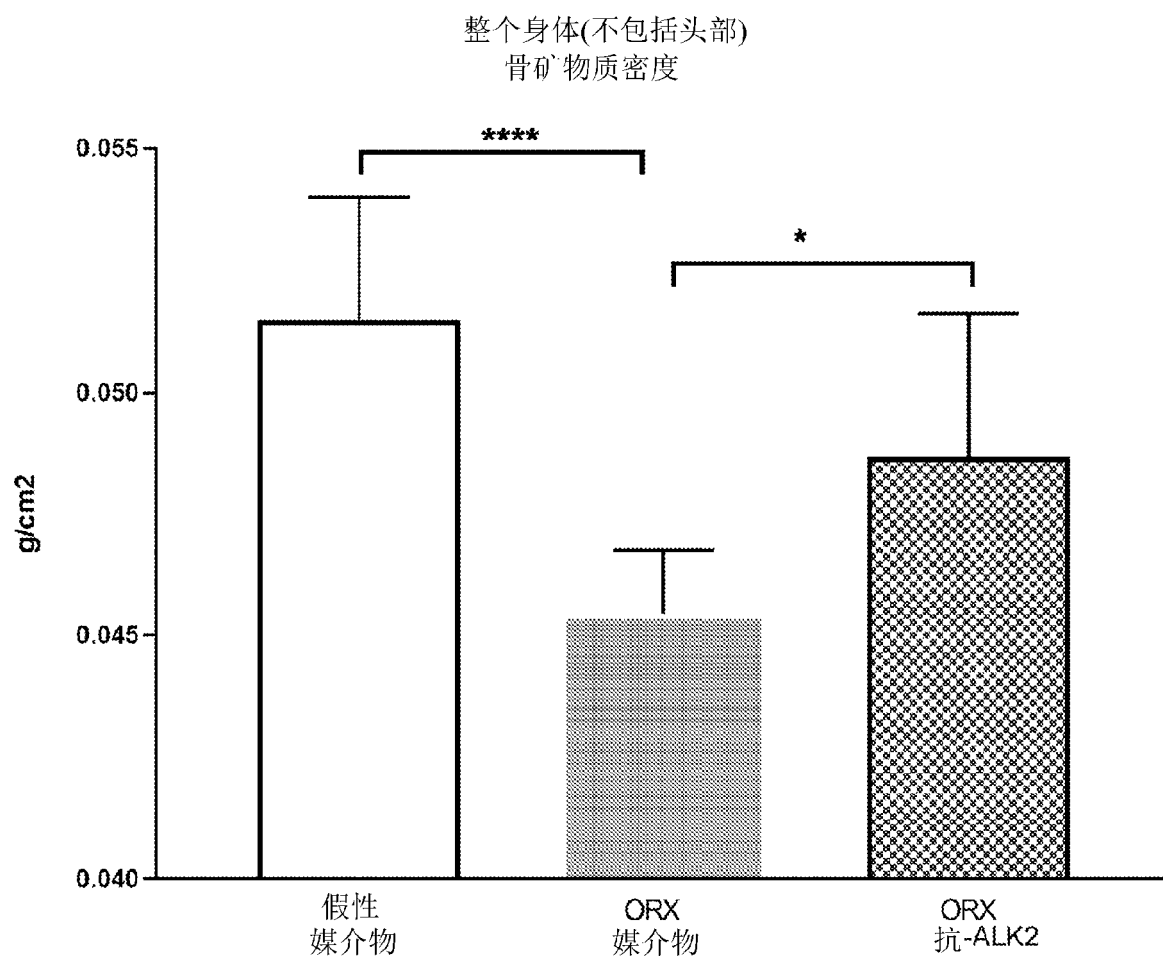


图 4

特征	位置/修饰语
区域	1..112 / 标记 =V11_5a
区域	113..215 / 标记 =CLλ / 注="人Cλ1结构域, Genbank P01842"
区域	217..332 / 标记 =VH1A_4
区域	333..434 / 标记 =CH1 / 注="人IgG1 CH1结构域, Genbank A49444"
区域	435..436 / 标记 =EcoRI 接头 / 注=-
区域	437..444 / 标记 =M2Flag标签 / 注= 被M2抗体识别的8个氨基酸的标签
区域	445..447 / 标记 = 标签接头1 / 注=-
区域	448..453 / 标记 =His6 标签 / 注= 6个氨基酸的组氨酸标签
区域	23..35 / 标记 =VL CDR1
区域	47..57 / 标记 =VL CDR2
区域	90..99 / 标记 =VL CDR3
区域	242..251 / 标记 =VH CDR1
区域	263..282 / 标记 =VH CDR2
区域	315..321 / 标记 =VH CDR3
来源	<pre> 1 DIVLTQPPSV SGAPGQRVTI SC[REDACTED] [REDACTED]WYQQL PGTAPK[REDACTED] [REDACTED]GVP 61 DRFSGSKSGT SASLAITGLQ AEDEADYYQ[REDACTED] [REDACTED]V FGGGTKLTVL GQPKAAPSVT 121 LFPPSSEELQ ANKATLVCLI SDFYPCAVTV AWKADSSPVK AGVETTTPSK QSNNKYAASS 181 YLSLTPEQWK SHRSYSCQVT HEGSTVEKTV APTEA*QVQL VQSGAEVKKP GSSVKVSCKA 241 S[REDACTED] [REDACTED]WVRQAPGQG LE[REDACTED] [REDACTED] [REDACTED]RVTTITADE STSTAYMELS 301 SLRSEDTAVY YCAR[REDACTED] [REDACTED]WGQGTLLTVV SSASTKGPSV FPLAPSSKST SGGTAALGCL 361 VKDYFPEPVT VSWNSGALTS GVHTFPAVLQ SSGLYSLSSV VIVPSSSLGT QTYICNVNHK 421 PSNTKVDKKV EPKSEFDYKD DDDKGAPHHH HHH (SEQ ID NO: 67) </pre>

图 5

特征	位置/修饰语
区域	1..110 / 标记 =V13_4
区域	111..213 / 标记 =CLA / 注="人Cλ1结构域, Genbank P01842"
区域	215..333 / 标记 =VH3_15_1
区域	334..435 / 标记 =CH1 / 注="人IgG1 CH1结构域, Genbank A49444"
区域	436..437 / 标记 =EcoRI接头 / 注=-
区域	438..445 / 标记 =M2Flag标签 / 注=被M2抗体识别的8个氨基酸的标签
区域	446..448 / 标记 = 标签接头I / 注=-
区域	449..454 / 标记 =His6标签 / 注= 6个氨基酸的组氨酸标签
区域	23..33 / 标记 =VL CDR1
区域	45..55 / 标记 =VL CDR2
区域	88..97 / 标记 =VL CDR3
区域	240..249 / 标记 =VH CDR1
区域	261..282 / 标记 =VH CDR2
区域	315..322 / 标记 =VH CDR3
来源	<pre> 1 DIELTQPPSV SVSPGQTASI TC[REDACTED]WYQOKPG QAPV[REDACTED]GIPER 61 FSGSNSGNTA TLTISGTQAE DEADYYC[REDACTED]VFG GGTCLTVLGQ PKAAPSVTLF 121 PPSSEELQAN KATLVCLISD FYPGAVTVAW KADSSPVKAG VETTTPSKQS NNKYAASSYL 181 SLTPEQWKSH RSYSCQVTHE GSTVEKTVAP TEA*EVQLVE SGGGLVKPGG SLRLSCAAS[REDACTED] 241 [REDACTED]VRQAPGKGLE [REDACTED][REDACTED]RFTISRDD SKNTLYLQMN 301 SLKTEDTAVY YCAR[REDACTED]WGQGLVT VSSASTKGPS VFPLAPSSKS TSGGTAAALGC 361 LVKDYFPEPV TVSWNSGALT SGVHTFPAVL QSSGLYSLSS VVIVPSSSLG TQTYICNVNH 421 KPSNTKVDKK VEPKSEFDYK DDDDKGAPHH HHHH (SEQ ID NO: 68) </pre>

//

图 6

特征	位置/修饰语
区域	1..110 / 标记 =V13_4
区域	111..213 / 标记 =CLλ / 注="人Cλ1结构域, Genbank P01842"
区域	215..334 / 标记 =VH3_15_1
区域	335..436 / 标记 =CH1 / 注="人IgG1 CH1结构域, Genbank A49444"
区域	437..438 / 标记 =EcoRI 接头 / 注=-
区域	439..446 / 标记 =M2Flag标签 / 注= 被M2抗体识别的8个氨基酸的标签
区域	447..449 / 标记 = 标签接头I / 注=-
区域	450..455 / 标记 =His6标签 / 注= 6个氨基酸的组氨酸标签
区域	23..33 / 标记 =VL CDR1
区域	45..55 / 标记 =VL CDR2
区域	88..97 / 标记 =VL CDR3
区域	240..249 / 标记 =VH CDR1
区域	261..282 / 标记 =VH CDR2
区域	315..323 / 标记 =VH CDR3
来源	<pre> 1 DIELTQPPSV SVSPGQTASI TC[REDACTED] [REDACTED]WYQQKPG QAPV[REDACTED] [REDACTED]GIPER 61 FSGSNSGNTA TLTISGTQAE DEADYYC[REDACTED] [REDACTED]VFG GGTKLTVLGQ PKAAPSVILF 121 PPSSEELQAN KATLVCLISD FYPGAVTVAW KADSSPVKAG VETTTPSKQS NNKYAASSYL 181 SLTPEQWKSH RSYSCQVTHE GSTVEKTVAP TEA*EVQLVE SGGGLVKPGG SRLSCAAS[REDACTED] 241 [REDACTED]FNSAMSW VRQAPGKCLE [REDACTED]WGRIKSK[REDACTED] [REDACTED]DYAD[REDACTED] [REDACTED]RFTISRDD SKNTLYLQMN 301 SLKTEDTAVY YCAR[REDACTED] [REDACTED]WGQGT[REDACTED] TVSSASTKGP SVFPLAPSSK STSGGTAALG 361 CLVKDYFPEP VTVSWNSGAL TSGVHTFPAV LQSSGLYSLV SVVTVPSSSL GTQTYICNVN 421 HKPSNTKVDK KVEPKSEFDY KDDDDKGAPH HHHHH (SEQ ID NO: 69) </pre>

图 7

特征	位置/修饰语
区域	1..109 / 标记 =V13_4
区域	110..212 / 标记 =CL λ / 注="人Cλ1结构域, Genbank P01842"
区域	214..333 / 标记 =VH1A_4
区域	334..435 / 标记 =CH1 / 注="人IgG1 CH1结构域, Genbank A49444"
区域	436..437 / 标记 =EcoRI接头 / 注=-
区域	438..445 / 标记 =M2Flag标签 / 注= 被M2抗体识别的8个氨基酸的标签
区域	446..448 / 标记 = 标签接头I / 注=-
区域	449..454 / 标记 =His6 标签 / 注= 6个氨基酸的组氨酸标签
区域	23..33 / 标记 =VL CDR1
区域	45..55 / 标记 =VL CDR2
区域	88..96 / 标记 =VL CDR3
区域	239..248 / 标记 =VH CDR1
区域	260..279 / 标记 =VH CDR2
区域	312..322 / 标记 =VH CDR3
来源	<pre> 1 DIELTQPPSV SVSPGQTASI TC[REDACTED] [REDACTED]WYQQKPG QAPV[REDACTED] [REDACTED]GIPER 61 FSGSNSGNTA TLTISGTQAE DEADYYC[REDACTED] [REDACTED]VFGG GTKLTVLGQP KAAPSVTLFP 121 PSSEELQANK ATLVCLISDF YPGAVTVAWK ADSSPVKAGV ETTTPSKQSN NKYAASSYLS 181 LTPEQWKSHR SYSCQVTHEG STVEKTVAPT EA*QVQLVQS GAEVKKPGSS VKVSCKAS[REDACTED] 241 [REDACTED]HWV RQAPGQGLE[REDACTED] [REDACTED]PDEG [REDACTED]R VTITADESTS TAYMELSSLR 301 SEDTAVYYCA R[REDACTED] [REDACTED]WGQGITLV[REDACTED] VSSASTKGPS VFPLAPSSKS TSGGTAALGC 361 LVKDYFPEPV TVSWNSGALT SGVHTFPAVL QSSGLYSLSS VVTVPSSSLG TQTYICNVNH 421 KPSNTKVDKK VEPKSEFDYK DDDDKGAPHH HHHH (SEQ ID NO: 70) </pre>

//

图 8

特征	位置/修饰语
区域	1..110 / 标记 =V13_4
区域	111..213 / 标记 =CL λ / 注="人C λ 1结构域, Genbank P01842"
区域	215..338 / 标记 =VH3_23_4
区域	339..440 / 标记 =CH1 / 注="人IgG1 CH1结构域, Genbank A49444"
区域	441..442 / 标记 =EcoRI接头 / 注=-
区域	443..450 / 标记 =M2Flag标签 / 注=被M2抗体识别的8个氨基酸的标签
区域	451..453 / 标记 = 标签接头I / 注=-
区域	454..459 / 标记 =His6标签 / 注= 6个氨基酸的组氨酸标签
区域	23..33 / 标记 =VL CDR1
区域	45..55 / 标记 =VL CDR2
区域	88..97 / 标记 =VL CDR3
区域	240..249 / 标记 =VH CDR1
区域	261..280 / 标记 =VH CDR2
区域	313..327 / 标记 =VH CDR3
来源	<pre> 1 DIELTQPPSV SVSPCQTASI TC[REDACTED]WYQQKPC QAPV[REDACTED]KIPER 61 FSGSNSGNTA TLTISGTQAE DEADYYC[REDACTED]VFG GGTKITVIGQ PKAAPSVTLF 121 PPSSEELQAN KATLVCLISD FYPGAVTVAW KADSSPVKAG VETTTPSKQS NNKYAASSYL 181 SLTPEQWKSH RSYSCQVTHE GSTVEKTVAP TEA*EVQLLE SGGGLVQPGG SRLSCAAS[REDACTED] 241 [REDACTED]W VRQAPGKGLE [REDACTED][REDACTED]RFTISRDN SK NTLYLQMNSL 301 RAEDTAVYYC AR[REDACTED]WGW GTLVTVSSAS TKGPSVFPLA PSSKSTSGGT 361 AALGCLVKDY FPEPVTVSWN SGALTSGVHT FPAVLQSSGL YSLSSVVTVP SSSLGTQTYI 421 CNVNHKPSNT KVDKKVEPKS EFDYKDDDDK GAPHHHHH (SEQ ID NO: 71) </pre>

//

图 9

特征	位置/修饰语
区域	1..110 / 标记 =Vk1_5
区域	111..215 / 标记 =CL κ / 注 = "人Cκ 轻链恒定区, Genbank P01834"
区域	217..345 / 标记 =VH3_23_4
区域	346..447 / 标记 =CH1 / 注 = "人IgG1 CH1结构域, Genbank A49444"
区域	448..449 / 标记 =EcoRI接头 / 注 = -
区域	450..457 / 标记 =M2Flag 标签 / 注 = 被M2抗体识别的8个氨基酸的标签
区域	458..460 / 标记 - 标签接头I / 注 --
区域	461..466 / 标记 =His6 标签 / 注 = 6个氨基酸的组氨酸标签
区域	24..35 / 标记 =VL CDR1
区域	47..57 / 标记 =VL CDR2
区域	90..97 / 标记 =VL CDR3
区域	242..251 / 标记 =VH CDR1
区域	263..282 / 标记 =VH CDR2
区域	315..334 / 标记 =VH CDR3
来源	<pre> 1 DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCASOGIHWYQQK PGKAPKASNLQSGVP 61 SRFSGSGSGT DFTLTISLQ PEDFATYYCISYRGTTFG QGTVKVEIKRT VAAPSVFIFP 121 PSDEQLKSGT ASVVCLLNMF YPREAKVQWK VDNALQSGNS QESVTEQDSK DSTYSLSSTL 181 TLSKADYEKH KVIACEVTHQ GLSSPVTKSF NRGEA*EVQL LESGGGLVQP GGSRLRLSCAA 241 SPTTIREVYIWRQAPGKGLEIVSVGLSSGAYADYIRFTISRDN SKNTLYLQMN 301 SLRAEDTAVY YCARSPYRGTWYQQKLTITVSSASTKG PSVFPLAPSS 361 KSTSGGTAAL GCLVKDYFPE PVTVSWNSGA LTSGVHTFPA VLQSSGLYSL SSVVTVPSST 421 LGTQTYICNV NHKPSNTKVD KKVEPKSEFD YKDDDDKGAP HHHHHH (SEQ ID NO: 72) </pre>

图 10

特征	位置/修饰语
区域	1..108 / 标记 =V13_4
区域	109..211 / 标记 =CL λ / 注="人CL λ 1结构域, Genbank P01842"
区域	213..328 / 标记 =VH3_23_4
区域	329..430 / 标记 =CH1 / 注="人IgG1 CH1结构域, Genbank A49444"
区域	431..432 / 标记 =EcoRI接头 / 注=-
区域	433..440 / 标记 =M2Flag 标签 / 注= 被M2抗体识别的8个氨基酸的标签
区域	441..443 / 标记 = 标签接头I / 注=-
区域	444..449 / 标记 =His6 标签 / 注= 6个氨基酸的组氨酸标签
区域	23..33 / 标记 =VL CDR1
区域	45..55 / 标记 =VL CDR2
区域	88..95 / 标记 =VL CDR3
区域	238..247 / 标记 =VH CDR1
区域	259..278 / 标记 =VH CDR2
区域	311..317 / 标记 =VH CDR3
来源	<pre> 1 DIELTQPPSV SVSPGQTASI TC[REDACTED] [REDACTED]VHWYQQKPG QAPV[REDACTED] [REDACTED]GIPER 61 FSGSNSGNTA TLTISGTQAE DEADYYC[REDACTED] [REDACTED]VFGGG TKLTVLGQPK AAPSVTLFPP 121 SSEELQANKA TLVCLISDFY PGAVTVAWKA DSSPVKAGVE TTPSKQSNN KYAASSYLSL 181 TPEQWKSHRS YSCQVTHEGS TVEKTVAPTE A*EVQLLESG GGLVQPGGSL RLSCAAS[REDACTED] 241 [REDACTED]WVR QAPGKGLE[REDACTED] [REDACTED]VHYSSE[REDACTED]YADSVK[REDACTED]RF TISRDNKNT LYLQMNSLRA 301 EDTAVYYCAR [REDACTED]WGQ GTLTVTVSSAS TKGPSVFPLA PSSKSTSGGT AALGCLVKDY 361 FPEPVTVSWN SGALTSGVHT FPAVLQSSGL YSLSSVVTVP SSSLGTQTYI CNVNHKPSNT 421 KVDKKVEPKS EFDYKDDDDK GAPHHHHHH (SEQ ID NO: 73) </pre>

//

图 11

特征	位置/修饰语
区域	1..108 / 标记 =VL3_4
区域	109..211 / 标记 =CLλ / 注 = "人Cλ1结构域, Genbank P01842"
区域	213..332 / 标记 =VH3_23_4
区域	333..434 / 标记 =CH1 / 注 = "人IgG1 CH1结构域, Genbank A49444"
区域	435..436 / 标记 =EcoRI 接头 / 注 = -
区域	437..444 / 标记 =M2Flag 标签 / 注 = 被M2抗体识别的8个氨基酸的标签
区域	445..447 / 标记 = 标签接头I / 注 = -
区域	448..453 / 标记 =His6 标签 / 注 = 6个氨基酸的组氨酸标签
区域	23..33 / 标记 =VL CDR1
区域	45..55 / 标记 =VL CDR2
区域	88..95 / 标记 =VL CDR3
区域	238..247 / 标记 =VH CDR1
区域	259..278 / 标记 =VH CDR2
区域	311..321 / 标记 =VH CDR3
来源	<pre> 1 DIELTQPPSV SVSPGQTAS TC [REDACTED] [REDACTED] WYQQKPG QAPV [REDACTED] [REDACTED] GIPER 61 FSGSNSCNTA TLTISGTQAE DEADYYC [REDACTED] [REDACTED] VFCCG TKLTVLCQPK AAPSVTLFPP 121 SSEELQANKA TLVCLISDFY PGAVTVAWKA DSSPVKAGVE TTPSKQSNN KYAASSYLSL 181 TPEQWKSHRS YSCQVTHEGS TVEKTVAPTE A*EVQLLESG GGLVQPGGSL RLSCAAS [REDACTED] 241 [REDACTED] WVR QAPGKGLE [REDACTED] [REDACTED] [REDACTED] RF TISRDN SKNT LYLQMNSLRA 301 EDTAVYYCAR [REDACTED] [REDACTED] WGQGILVTV SSASTKGPSV FPLAPSSKST SGGTAALGCL 361 VKDYFPEPVT VSWNSGALTS GVHTFPAVLQ SSGLYSLSSV VTPSSSLGT QTYICNVNHK 421 PSNTKVDKKV EPKSEFDYKD DDDKGAPHHH HHH (SEQ ID NO: 74) </pre>

图 12

特征	位置/修饰语
区域	1..112 / 标记 =V11_5a
区域	113..215 / 标记 =CL λ / 注="人Cλ1结构域, Genbank P01842"
区域	217..333 / 标记 =VH1A_4
区域	334..435 / 标记 =CH1 / 注="人IgG1 CH1结构域, Genbank A49444"
区域	436..437 / 标记 =EcoRI接头 / 注=-
区域	438..445 / 标记 =M2Flag 标签 / 注=被M2抗体识别的8个氨基酸的标签
区域	446..448 / 标记 = 标签接头I / 注=-
区域	449..454 / 标记 =His6 标签 / 注=6个氨基酸的组氨酸标签
区域	23..35 / 标记 =VL CDR1
区域	47..57 / 标记 =VL CDR2
区域	90..99 / 标记 =VL CDR3
区域	242..251 / 标记 =VH CDR1
区域	263..282 / 标记 =VH CDR2
区域	315..322 / 标记 =VH CDR3
来源	<pre> 1 DIVLTQPPSV SGAPGQRVTI SC[REDACTED] [REDACTED]WYQQL PGTAPK[REDACTED] [REDACTED]GVP 61 DRFSGSKSGT SASLAITGLQ AEDEADYYC[REDACTED] [REDACTED]V FGGGTKLTVL GQPKAAPSVT 121 LFPPSSEELQ ANKATLVCLI SDFYPGAVTV AWKADSSPVK AGVEITTPSK QSNNKYAASS 181 YLSLTPEQWK SHRSYSCQVT HEGSTVEKTV APTEA*QVQL VQSGAEVKKP GSSVKVSCKA 241 S[REDACTED] [REDACTED] [REDACTED]WVRQAPGQG LE[REDACTED] [REDACTED] [REDACTED]RVITADE STSTAYMELS 301 SLRSEDNAVY YCAR[REDACTED] [REDACTED]WGQGTQVTV VSSASTKGPS VFPLAPSSKS TSGGTAALGC 361 LVKDYFPEPV TVSWNSGALT SGVHTFPAVL QSSGLYSLSS VVTVPSSSLG TQTYICNVNH 421 KPSNTKVDKK VEPKSEFDYK DDDDKGAPHH HHHH (SEQ ID NO: 75) </pre>

//

图 13